

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

ODDĚLENÍ KNIHOVNA
MINISTERSTVA ZEMĚDĚLSTVÍ
ČESKÉ REPUBLIKY
PRAHA 1 - TESNOVÝ 12

ROSTLINNÁ VÝROBA

Plant Production

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

9

VOLUME 44
PRAHA
ZÁŘÍ 1998
CS ISSN 0370-663X

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření Ministerstva zemědělství České republiky a pod gescí České akademie zemědělských věd

An international journal published under the authorization by the Ministry of Agriculture and under the direction of the Czech Academy of Agricultural Sciences

Redakční rada – Editorial Board

Předseda – Chairman

Doc. Ing. Josef Šimon, CSc. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně, ČR)

Členové – Members

Prof. Dr. Márta Birkás (Agrártudományi Egyetem, Gödöllő, Hungária)

Ing. Helena Donátová, CSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

Prof. Ing. Václav Fric, DrSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

Prof. Dr. Günter Kahnt (Institut für Pflanzenbau und Grünland, Universität Hohenheim, Stuttgart, BRD)

Prof. Ing. Josef Kozák, DrSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

Prof. Ing. Lubomír Minx, DrSc. (Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, ČR)

Ing. Timotej Mištin, CSc. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Piešťany, SR)

Doc. Ing. Jan Moudrý, CSc. (Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, České Budějovice, ČR)

Prof. RNDr. Lubomír Nátr, DrSc. (Karlova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Praha, ČR)

Dr. Peter Newbould (The Macaulay Land Use Research Institute, Aberdeen, Scotland, UK)

Ing. Jaromír Procházka, CSc. (Výzkumný ústav pícninářský, Troubsko u Brna, ČR)

Prof. Ing. Stanislav Procházka, DrSc. (Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, ČR)

Doc. Ing. Vlastimil Rasocho, CSc. (Výzkumný ústav bramborářský, Havlíčkův Brod, ČR)

Prof. Dr. Heinrich W. Scherer (Agrikulturchemisches Institut der Rheinischen Friedrich Wilhelms-Universität, Bonn, BRD)

Doc. Ing. Ladislav Slávik, DrSc. (Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, Praha, ČR)

Prof. Ing. Václav Vaněk, CSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

Ing. Marie Váňová, CSc. (Zemědělský výzkumný ústav, Kroměříž, ČR)

Prof. Ing. Karel Voříšek, CSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

Doc. Ing. František Vrkoč, DrSc. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně, ČR)

Prof. Dr. hab. Kazimiera Zawislak (Akademia Rolniczo-Techniczna, Olsztyn, Polska)

Vedoucí redaktorka – Editor-in-Chief

RNDr. Eva Stříbrná

Cíl a odborná náplň: Časopis publikuje původní vědecké práce, výsledky výzkumu a studie z oborů rostlinná výroba, půdoznalství, meliorace a z navazujících disciplín.

Časopis je citován v bibliografickém časopise Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences. Abstrakty z časopisu jsou zahrnuty v těchto databázích: Agricola, Agris, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicita: Časopis vychází měsíčně (12x ročně), ročník 44 vychází v roce 1998.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve dvou vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: RNDr. Eva Stříbrná, vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz. Den doručení rukopisu do redakce je publikován jako datum přijetí k publikaci.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze na celý rok (leden–prosinec) a měly by být zaslané na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1998 je 744 Kč.

Aims and scope: The journal publishes scientific papers, results of research and studies of the branches plant production, pedology, amelioration and related disciplines.

The journal is cited in the bibliographical journal Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences. Abstracts from the journal are comprised in the databases: Agricola, Agris, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicity: The journal is published monthly (12 issues per year), Volume 44 appearing in 1998.

Acceptance of manuscripts: Two copies of manuscript should be addressed to: RNDr. Eva Stříbrná, editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz. The day the manuscript reaches the editor for the first time is given upon publication as the date of reception.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year (January–December) and should be sent to: Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Subscription price for 1998 is 177 USD (Europe), 195 USD (overseas).

DENITRIFIKACE V PŮDĚ – TERMINOLOGIE A METODOLOGIE (STUDIE)

ODBORNÁ KNIHOVNA
ministerstva zemědělství
České republiky
PRAHA 1 - TESNOV č. 17

DENITRIFICATION IN SOIL – TERMINOLOGY AND METHODOLOGY (REVIEW)

M. Šimek

Institute of Soil Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic; University of South Bohemia, Faculty of Biological Sciences, České Budějovice, Czech Republic

ABSTRACT: Respiratory denitrification, i.e. the process of reduction of oxidized forms of NO_3^- and NO_2^- to gaseous diatomic nitrogen compounds N_2O and N_2 , is one of the main biological processes of conversion of nitrogen in soil. Respiratory denitrification in soil is the phenomenon mostly undesirable because (1) it withdraws nutrients of plants and microorganisms, (2) it produces nitrous oxide N_2O – radiation-active, the so-called greenhouse gas. Nitrates and nitrites are except respiratory denitrification metabolized also by other biological processes: by dissimilative reduction to ammonia (to acquire energy) and by assimilative reduction (to produce biomass). Gaseous compounds of nitrogen are also produced by other processes than respiratory denitrification, particularly by nitrification as well as during N_2 fixation, during denitrification of nitrifiers, in processes of assimilative and dissimilative reduction of nitrates and during mineralization of organic substances (Fig. 1). Biological denitrification should be distinguished from chemodenitrification. Denitrification can be determined by a lot of methods, the most wide spread are those using isotope ^{15}N and methods based on acetylene inhibition of reduction of N_2O . The advantage of the method of acetylene inhibition consists in its simplicity and sensitivity, disadvantages include undesirable side effects of acetylene on microorganisms and also acetylene metabolism in soil. An ability of respiratory denitrification belongs to many bacteria. Typical denitrification bacteria are aerobic chemoorganotrophic heterotrophs, they can be also autotrophs (Tab. II). The majority of soil denitrifiers are classified in the genera *Pseudomonas* and *Alcaligenes*. Denitrification activity is on the cell level regulated by three basic factors: partial pressure of O_2 , NO_3^- concentration and availability of C. Efficiency of these factors is connected with many other parameters of environment (Fig. 3). The source of energy for most of denitrifiers are organic substances. Their availability is the result of interactive action of factors, such as soil moisture, plants as a primary source of organic substances, physical processes in soil (freezing and thawing, moistening and drying, cultivation), C excretion by other organisms or on the contrary competition. Nitrate and nitrite concentrations in soil and in close environment of denitrifiers is understandably a significant factor influencing denitrification activity. Except fertilization as a source of NO_3^- -N, nitrification is a main process of the production of nitrates in soil (Fig. 1). Therefore all significant factors influencing nitrification affect also denitrification. With respect to the possible existence of microenvironments with basically different aeration status, nitrification (obligately aerobic process) and denitrification (typically anaerobic or hypoxic process) can take place simultaneously, also in the close neighbourhood. In fertilized soils and particularly directly after fertilization a great surplus of nitrates is in soil which cannot be quickly removed by other processes but which is typically metabolized by respiratory denitrification. Intensity of denitrification can be increased many times by suitable soil moisture, e.g. in the time of heavier rains. Here again an advantageous interplay of factors concurs for denitrification: abundance of NO_3^- , high moisture and deficiency of O_2 . Aeration status and soil moisture, or ratio of air and water in soil pores, resp., significantly affect denitrification activity. Molecular oxygen suppresses synthesis of new and activity of existing denitrification reductases. Oxygen is continuously withdrawn from soil microenvironment by (oxic) respiration and replaced from atmosphere by diffusion and mass flow. Since O_2 diffusion in water is much slower than in gaseous phase, the motion of O_2 molecules from atmosphere into soil microenvironment is connected unambiguously with saturation of soil pores with water. Other important soil factors affecting intensity of denitrification are pH and temperature. The majority of typical denitrification bacteria have pH optimum about 7.0 to 8.0. At decreasing pH denitrification activity falls but the ratio of $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ as denitrification products is increasing. Provable denitrification was found in soil at the temperature close to 0 °C as well as at temperatures even 70 °C. The process of respiration denitrification is of a complex character. Its intensity is affected by a lot of environmental factors, therefore this process is very dynamic. A great time variability and space heterogeneity of respiration denitrification in soil is very typical.

denitrification; reduction of nitrates; nitrous oxide; methods; regulatory factors; ecology

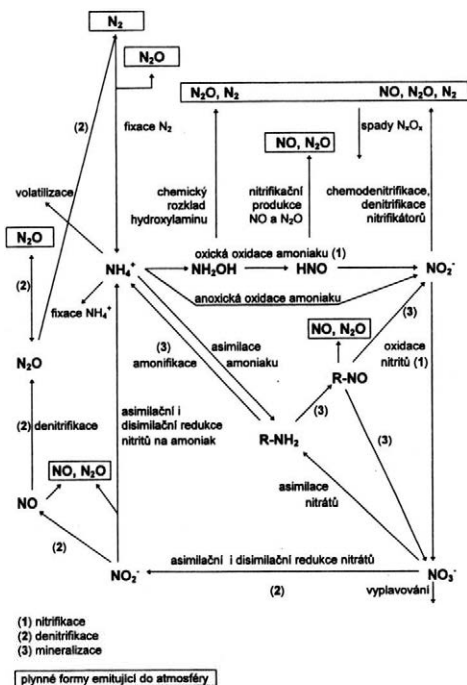
ABSTRAKT: Denitrifikace představuje jeden z nejvýznamnějších procesů přeměny dusíku v půdě. Přesto bývá v bilančních studiích opomíjena a někdy panuje i nejistota v problematice terminologie denitrifikace a možnosti jejího měření. V práci jsou shrnuty soudobé poznatky z oblasti terminologie, metodologie a ekologie denitrifikace. Je charakterizována respirační a aerobní denitrifikace, denitrifikace nitrifikátorů, asimilační redukce nitrátů a disimilační redukce nitrátů na amoniak. Dále jsou uvedeny hlavní metodické přístupy studia denitrifikace a podrobněji je popsána metoda acetylenové inhibice redukce oxidu dusného. Jsou shrnuty informace o denitrifikujících organismech, včetně jejich příslušnosti do trofických skupin organismů. Podrobněji jsou popsány hlavní regulační faktory respirační denitrifikace.

denitrifikace; redukce nitrátů; oxid dusný; metody; regulační faktory; ekologie

ÚVOD

Dusík jako důležitá mikrobiální, rostlinná i živočišná živina (esenciální makrobiotický prvek, nezbytná součást aminokyselin, bílkovin, ribonukleových kyselin a dalších látek) prodává v půdě a prostředí mnoho přeměn. Přeměny dusíku a transformace jeho forem souvisejí zejména s metabolismem organismů; z menší části jde o fyzikální a chemické procesy. Přeměny dusíku v prostředí, podobně jako přeměny jiných významných elementů, je zvykem popisovat a znázorňovat jako cyklus čili koloběh. **Cyklus dusíku** v terestrickém ekosystému sestává většinou z několika základních procesů (obr. 1). Plyný N_2 je procesem fixace molekulárního dusíku redukován na amoniak (NH_3 , resp. NH_4^+). Fixace N_2 probíhá i v atmosféře účinkem elektrických výbojů a působením slunečního záření, avšak naprostá většina fixovaného N_2 připadá na mikrobiální proces, jenž je katalyzován enzymem nitrogenázou. Amoniakální dusík je v různých sloučeninách zabudován do biomasy. Po jejím odumření je amoniak z organických vazeb uvolněn. Může být znovu využit jako živina, vázán v půdě, volatilizován do atmosféry nebo nitrifikací převeden na nitrátovou formu (NO_3^-). Nitrátový dusík může být také využit jako živina nebo denitrifikací převeden na plyný oxid dusný (N_2O) a molekulární dusík (N_2). V těchto formách se dusík vrací do atmosféry a cyklus se uzavírá. I když jednotlivé procesy přeměny dusíku mají často velmi odlišné nároky na faktory prostředí, mohou v půdě probíhat současně, a to vzhledem k existenci gradientů těchto faktorů, jež jsou navíc v mnoha vzájemných vazbách a vytvářejí v půdě nepřehledné množství mikroprostředí, mnohdy s velice specifickými podmínkami.

Plyné formy dusíku představují významnou položku v cyklu dusíku i v bilanci dusíku v terestrických ekosystémech. Jedním z nejvýznamnějších procesů jejich tvorby a přeměn je **denitrifikace**. Mohlo by se proto zdát podivné, že denitrifikace patří k často opomíjeným složkám cyklu dusíku a část dusíku transformovaného denitrifikací se v bilančních studiích buď zcela zanedbává, nebo jen velmi přibližně odhaduje. Vysvětlení tohoto stavu, neznámého i v domácí odborné literatuře, je přinejmenším zčásti v oblasti metodologie. Kvantifikovat procesy přeměny dusíku, do nichž vstupují nebo z nichž vystupují plyné formy, je jistě metodicky obtížné. Úroveň poznání procesu a soudobý stupeň přístrojového a technického vybavení půdně-biologických



1. Cyklus dusíku v půdě a prostředí – Nitrogen cycle in soil and environment (Klemetsson et al., 1990; Atlas, Barth, 1993; Cleemput, 1994)

pracovišť však umožňují vyrovnat se s mnoha metodickými problémy. Navíc kromě kvantifikace vlastního procesu, tj. celkové produkce N_2O a N_2 v určitém ekosystému, lze často poměrně snadněji získat cenné informace o denitrifikační aktivitě a denitrifikujících mikroorganismech za pomoci dnes běžně dostupných metod. O těchto skutečnostech panují však i v části odborné veřejnosti nejasné, nepřesné a někdy nesprávné názory.

Cílem tohoto příspěvku je poukázat na možnosti studia denitrifikace v půdě a dále přispět k vyjasnění a sjednocení české terminologie v oblasti denitrifikace, jejího měření a její ekologie. V navazujícím příspěvku jsou pak uvedeny některé výsledky měření denitrifikace v půdě.

BIOLOGICKÉ A BIOCHEMICKÉ ASPEKTY DENITRIFIKACE, TERMINOLOGIE

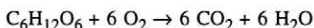
Jako denitrifikace se nejčastěji označuje proces, kterým jsou *oxidované formy dusíku*, tj. NO_3^- a NO_2^- , *redukovány na plynné dvojmolekulové dusíkaté sloučeniny* N_2O a N_2 (Tiedje, 1988; Groffman, 1995). Mosier, Heinemeyer (1985) ve své definici denitrifikace upřesňují, že jde o *disimilační redukcí*. Denitrifikátoři se často považují za heterotrofní mikroorganismy, jindy se hovoří o autotrofní nebo chemoautotrofní denitrifikaci (Groffman, 1995). Jaká je tedy správná terminologie podle současného stavu poznání? V nejširším slova smyslu pojem denitrifikace znamená redukci oxidovaných sloučenin (nitrátů aj.) a tvorbu plyných sloučenin dusíku. Hned zpočátku je třeba upozornit, že takový proces může, ale také nutně nemusí, být biologickým procesem. V zásadě tedy existuje **biologická denitrifikace** a **chemodenitrifikace**. Při chemodenitrifikaci vznikají plyné sloučeniny dusíku fyzikálně chemickými pochody. Dosud byly popsány nejméně dva různé procesy chemodenitrifikace: rozklad nitritů v kyselém prostředí např. některých zaplavených půd, jehož výsledkem je tvorba molekulárního dusíku (N_2), oxidu dusného (N_2O), ale typicky zejména oxidu dusnatého (NO), a dále oxidace organických dusíkatých látek nitrity (NO_2^-) vedoucí k tvorbě N_2 , k níž může docházet např. ve zmrzlé půdě – tzv. Van Slykuv typ reakce (Cleemput et al., 1976; Christianson, Cho, 1983; Weier, Gilliam, 1986). V obou těchto procesech hraje významnou úlohu nitritová forma dusíku, která se však v půdě vyskytuje ve vyšší koncentraci jen ojediněle, a proto chemodenitrifikace může být významnější pouze výjimečně za specifických podmínek. Daleko běžnějším denitrifikačním procesem v půdě je tedy **biologická denitrifikace**. (Je třeba striktně rozlišovat *chemodenitrifikaci*, tj. chemickou denitrifikaci, a biologickou denitrifikaci prováděnou různými trofickými skupinami organismů, jež se podle jejich způsobu výživy může označovat např. jako *chemoautotrofní* nebo *chemoheterotrofní* denitrifikace. O trofických skupinách denitrifikátorů viz níže.)

Za typickou biologickou denitrifikaci či za denitrifikaci v užším slova smyslu lze považovat **respirační denitrifikaci**. Právě tento pojem označuje proces, který se nejčastěji považuje za denitrifikaci (a pro nějž se i pro potřeby tohoto příspěvku používá zjednodušený termín denitrifikace). Při respirační denitrifikaci jsou za anoxických (bez přítomnosti O_2) nebo hypoxických (při sníženém parciálním tlaku O_2) podmínek využívány nitráty nebo nitrity jako konečný akceptor elektronů v řetězci respiračních reakcí, a to místo kyslíku. Přitom se generuje energie ve formě ATP, jež může být využita pro tvorbu nové nebo zachování staré biomasy. Tato denitrifikace je tedy disimilačním procesem (procesem tvorby energie) a probíhá podle schématu:

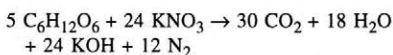


přičemž každá jednotlivá reakce je katalyzována specifickým enzymem nebo enzymy. Pro respirační denitrifikaci je typické, že se nitrity nehromadí, ale jsou rychle redukovány na NO a N_2O , jehož určitá část je dále redukována na N_2 . Pro respirační denitrifikaci je také typické téměř stechiometrické ubývání NO_3^- za současné tvorby N_2O a N_2 .

Při respirační (disimilační) denitrifikaci tedy typicky dochází k využívání NO_3^- jako akceptoru elektronů místo O_2 až tehdy, když se sníží přístupnost (koncentrace, parciální tlak) kyslíku. Tato anaerobní respirace s využitím NO_3^- je totiž energeticky méně výhodná než aerobní respirace s využitím O_2 . Zatímco při aerobní (také oxické, kyslíkové) respiraci podle sumární rovnice:



se na 1 mol spotřebované glukózy získá teoreticky 686 kcal (2 874 kJ) energie, při anaerobní respiraci (nitratové respiraci, disimilační denitrifikaci) podle rovnice:



se získá teoreticky jen 570 kcal (2 388 kJ) (Horvátová, 1996). Při obou způsobech respirace je zdrojem energie organická látka (glukóza). Jde tedy o chemotrofii.

U některých mikroorganismů byla potvrzena existence souběžného využívání jak O_2 , tak NO_3^- jako terminálních akceptorů elektronů (Lloyd, 1993). Tento proces se nazývá **aerobní denitrifikace** a jeho význam pro takto metabolizující organismy je nejasný.

Samotná produkce N_2O není spolehlivým indikátorem respirační (disimilační) anaerobní či aerobní denitrifikace. Určité množství N_2O i N_2 vzniká také např. při **nitrifikaci**. Nitrifikační bakterie jsou normálně aerobní organismy využívající oxidaci NH_4^+ na NO_2^- a NO_3^- pro získávání energie. Při sníženém parciálním tlaku kyslíku ve svém okolí mohou ale využít část produktů nitrifikace, tj. část jimi dříve vytvořeného NO_2^- nebo NO_3^- , jako „nouzové“ akceptory elektronů, a tak vlastně přejít k respirační denitrifikaci. Ta umožňuje nitrifikátorům pokračovat v produkci energie a biosyntéze i při dočasném nedostatku O_2 , byť za energeticky méně výhodných podmínek, a pochopitelně vede k tvorbě N_2O a N_2 . Proces se nazývá **denitrifikace nitrifikátorů**. Určité množství N_2O , N_2 i NO se uvolňuje i při samotné nitrifikaci, a to oxidací meziproductu [HNO] a rozkladem hydroxylaminu.

Podobně jako produkce N_2O ani spotřeba NO_3^- není jednoznačným důkazem probíhající denitrifikace. Naopak v půdě a dalších prostředích je poměrně častá redukce nitrátů na amoniak, a to jak asimilační, tak disimilační. **Asimilační redukce nitrátů** podle schématu:



probíhá u rostlin i mnoha aerobních i anaerobních mikroorganismů a jejím účelem je získání N pro syntézu organických dusíkatých sloučenin. Označuje se také ja-

ko **nerespirační denitrifikace** nebo **nerespirační tvorba N_2O** , neboť přímo nesouvisí se získáváním energie danými organismy. Na úrovni organismů je regulována zejména amoniakem a organickými N-látkami. Tím se odlišuje od respirační anaerobní denitrifikace regulované molekulárním kyslíkem a na rozdíl od nitrifikace není inhibována parciálním tlakem 10 Pa acetyleny. Může být významnější v kyselých lesních půdách a byla pozorována i u mikroorganismů trávicího traktu živočichů.

Disimilační redukce nitrátů na amoniak probíhá formálně podle stejné rovnice není regulována koncentrací NH_4^+ , ale molekulárním kyslíkem O_2 . Je typická v anoxických prostředích bohatých na organické látky, kde je nedostatek akceptorů elektronů. Disimilační redukce nitrátů na amoniak je vlastně paralelním procesem k disimilační denitrifikaci. V obou případech se využívá NO_3^- jako akceptor elektronů. Podstatný rozdíl je ovšem v produktech těchto reakcí. Při denitrifikaci vznikají plynné formy N_2O a N_2 , jež povětšinou emitují do atmosféry, zatímco disimilační redukce nitrátů na amoniak vede ke konzervování anorganické formy N v prostředí. Disimilační redukce nitrátů na amoniak byla zjištěna u velkého množství bakterií patřících především ke striktním a fakultativním anaerobům (zástupci rodů *Clostridium*, *Desulfovibrio* aj., resp. zástupci rodů *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* aj.) ale i aerobů (např. druhů rodů *Pseudomonas*, *Bacillus*) (Tiedje, 1988). Pravděpodobně jde o běžně se vyskytující a velice rozšířený proces. Tři hlavní procesy metabolismu nitrátů, tj. respirační denitrifikace, asimilační redukce nitrátů a disimilační redukce nitrátů na amoniak, jsou uvedeny na obr. 2.

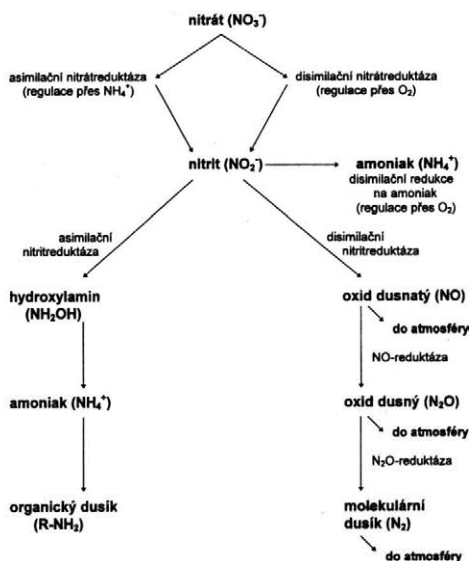
Shrneme-li problematiku terminologie denitrifikace, můžeme konstatovat, že typická a většinou převažující denitrifikace v půdě je proces redukce NO_3^- na N_2O a N_2 . Je to proces biotický, vlastní mnoha aerobním chemoorganoheterotrofním bakteriím, které jej využívají za hypoxických a anoxických podmínek jako alternativní disimilační proces získávání energie pro metabolismus. Za denitrifikaci nelze jednoduše označit ani spotřebu nitrátů (a nitritů) v prostředí (k té může vedle respirační denitrifikace docházet i při denitrifikaci nitrifikátorů, při nerespirační denitrifikaci, tj. asimilační redukci nitrátů, i při disimilační redukci nitrátů na amoniak), ani tvorbu N_2O (k té dochází i při nitrifikaci, fixaci N_2 , denitrifikaci nitrifikátorů, v procesech asimilační a disimilační redukce nitrátů a při mineralizaci organických látek). Biologickou denitrifikaci je třeba dále odlišit od chemodenitrifikace.

METODY STUDIA DENITRIFIKACE

Metodologie denitrifikace je předmětem mnoha dílčích studií i rozsáhlejších přehledných prací, publikovaných v odborné literatuře v posledních asi 25 letech (např. Knowles, 1981; Tiedje, 1982; Nieder et al., 1989; Tiedje et al., 1989; Klemetsson

ASIMILAČNÍ REAKCE (rostliny, mikroorganismy)

DISIMILAČNÍ REAKCE (mikroorganismy)



2. Asimilační a disimilační procesy metabolismu nitrátů – Assimilative and dissimilative processes of the nitrate metabolism (Brock, Madigan, 1988)

et al., 1990; Knowles, 1990; Myrold, 1990; Payne, 1991; Mosier et al., 1996). Není cílem tohoto příspěvku podat podrobný popis všech používaných metod, je však přesto možné přiblížit základní metodické přístupy ke studiu denitrifikace. Podrobnější přehled metod uvádí Šimek (1993).

Jak upozorňují Tiedje et al. (1989), nehledě na to, že denitrifikace byla jako proces popsána před více než stoletím, právě absence vhodných metod dlouhou dobu limitovala důkladnější poznání tohoto procesu. Je to dáno zejména třemi skupinami faktorů:

1. Obecně nejlepší metodou pro studium procesu je měření jeho reakčního produktu. V případě denitrifikace jsou konečnými produkty N_2O a N_2 , který však tvoří téměř 80 % obj. zemské atmosféry. Je proto velmi obtížné dokonale izolovat studovaný systém od okolní atmosféry; prakticky to lze provést jen v přesně kontrolovaných laboratorních podmínkách. Alternativním přístupem je měření úbytku substrátu procesu, čili v tomto případě NO_3^- nebo NO_2^- . Vzhledem k existenci různých zdrojů i procesů spotřeby NO_3^- v půdě není ani tento přístup příliš praktický.
2. V pořadí druhým obecně vhodným přístupem je využití radioaktivních izotopů. V případě dusíku jde o ^{15}N , který však má velmi krátký poločas rozpadu (asi 10 min), a tak je jeho použití v denitrifikačních studiích více než problematické a omezené.

3. Denitrifikace je ze všech biogeochemických procesů asi nejdynamičtější procesem s velkou časovou proměnlivostí a prostorovou heterogenitou, což je dáno existencí velkého množství faktorů prostředí ovlivňujících přímo či nepřímo denitrifikaci. Kvantifikovat proto denitrifikaci dostatečně přesně může být nákladné, pracné a někdy i nemožné.

Nehledě na tato omezení bylo vývoji metod vhodných ke studiu denitrifikace věnováno velké úsilí a lze se oprávněně domnívat, že v současné době jsou již k dispozici dostatečně přesné a přiměřeně dostupné metody, umožňující kvantifikovat různé aspekty denitrifikace včetně možnosti studovat ekologii tohoto významného procesu.

PRÉHLED HLAVNÍCH METODICKÝCH PŘÍSTUPŮ

Relativně velké množství existujících metod pro studium denitrifikace lze dělit podle různých hledisek, např. jedno ze základních rozdělení může být na metody pro měření na stanovišti a na metody pro laboratorní použití. Jiné členění, respektující tři hlavní problémové okruhy spojené s denitrifikací (zúčastněné organismy, distribuce a rychlost procesu, dopady pro životní prostředí), spočívá v rozdělení na:

- 1) metody studia denitrifikačních organismů (jejich biologie, ekofyziologie, taxonomie atd.);
- 2) metody studia denitrifikační aktivity (v půdě, vodě, sedimentu atd.);
- 3) metody studia emisí denitrifikačních produktů N_2O a N_2 z půdy (vody, sedimentu atd.) do atmosféry.

Vlastní metody lze podle zvoleného metodického přístupu rozdělit do několika skupin:

Metody měření produktů denitrifikace. Teoreticky jde o nejvhodnější metody, které však v praxi většinou nejsou dostatečně citlivé. Pro laboratorní studie se inkubační atmosféra nahrazuje inertním plynem, a pak je možné za jistých podmínek kvantifikovat jak produkci N_2O , tak produkci N_2 . Pro měření v terénu byly vyzkoušeny tři metodické postupy: 1) vzorkování a analýza složení půdního vzduchu, 2) vzorkování a analýza atmosféry nad půdním povrchem (tzv. mikrometeorologická metoda), 3) analýza vzorků plynů zachycených pod různými „poklopy“ a komorami umístěnými na povrch půdy (např. Williams, Davidson, 1993; Kaiser et al., 1996).

Metody měření úbytku reakčních substrátů, NO_3^- a NO_2^- . Vzhledem k tomu, že nitráty i nitrity jsou v půdě metabolizovány i jinými procesy než denitrifikací, jde o málo citlivé metody, které nelze obecně doporučit.

Metody měření úbytku přidaného N_2O či přírůstku NO . Tyto metody se příliš nerozšířily, i když při vhodném metodickém uspořádání by mohly být perspektivní (Garcia, 1975; Payne, 1991).

Metody využívající izotop ^{15}N . I přes řadu omezení a nevýhod patří tyto metody k nepoužívanějším a čas-

to i nejpřesnějším metodám studia denitrifikace (Myrland, 1990; Payne, 1991). Principiálně jde o několik skupin metod, které lze charakterizovat takto:

- 1) metody měřící změny v přirozené koncentraci ^{15}N , resp. změny poměrného zastoupení ^{15}N a ^{14}N (zjednodušeně řečeno, lehčí izotop ^{14}N reaguje při denitrifikaci rychleji než těžší ^{15}N , takže v reakčním substrátu se relativně zvyšuje obsah ^{15}N ; u jiných procesů přeměny dusíku to může být podobné, ale i právě naopak);
- 2) metody izotopického ředění (studovaný systém se obohatí o ^{15}N a měří se buď časové změny v zastoupení ^{15}N půdního NO_3^- , nebo změny v obsahu ^{15}N u plyných produktů denitrifikace);
- 3) metody používající hnojiva obohacená o ^{15}N spočívající v následné detekci tohoto izotopu v hlavních subsystémech; nevýhodou použití v polních podmínkách je, že se většinou musí použít poměrně velká množství ^{15}N .

Metoda acetylenové inhibice redukce N_2O . Metodický přístup spočívající v inhibici redukce N_2O na N_2 vhodnou koncentrací acetyleny je rozpracovaný i v našich podmínkách (např. Úlehlová, 1987; Šimek, 1993; Šimek, Kromka, 1993; Králová et al., 1997). Ve skutečnosti jde o řadu metod umožňujících kvantifikaci denitrifikační aktivity v polních i laboratorních experimentech, u kultur denitrifikátorů, v půdě, ve vodě aj. Standardizované postupy pro použití v různých podmínkách uvádějí např. Tiedje et al. (1989), Knowles (1990), Klemetsson et al. (1990), Zechmeister-Boltenstern (1996). Jako každá z metod má i metoda acetylenové inhibice vedle zřejmých výhod (např. citlivost, jednoduchost a levnost) i nedostatky (metabolismus acetyleny u mikroorganismů). Příklad metodického uspořádání pro měření denitrifikační aktivity metodou acetylenové inhibice jsou uvedeny v tab. I. Ve všech případech jde o to, že se acetylenem přítomným v inkubační atmosféře (nebo v půdním vzduchu) inhibuje redukce N_2O na N_2 . Jediným produktem denitrifikace je pak N_2O , který se dá na rozdíl od molekulárního dusíku relativně dobře kvantitativně i kvalitativně stanovit plynovou chromatografií.

Při měření denitrifikační aktivity v laboratorii se často **optimalizují podmínky pro denitrifikaci**: upravuje se vlhkost půdy, včetně možnosti přípravy půdní suspenze, přidává se zdroj dobře dostupného uhlíku (glukóza aj.), zvyšuje se koncentrace nitrátů a vzorky se inkubují v bezkyslíkaté atmosféře (helium, argon, dusík). Optimalizace může být částečná nebo úplná, tj. postihující všechny hlavní regulační faktory denitrifikace. Změřený parametr pak představuje jakousi **schopnost půdy denitrifikovat za méně nebo více optimalizovaných podmínek** a označuje se např. jako denitrifikační kapacita, denitrifikační potenciál, potenciální denitrifikace, aktivita denitrifikačních enzymů apod. (Šimek, 1993).

Vzorek ¹	Způsob inkubace ²	Místo inkubace ³	Další charakteristika ⁴
směsný vzorek půdy ⁵ (případně dovlhčené na určitou vlhkost) ⁶ nebo ⁷ půdní suspenze ⁸ (připravená jako směs půdy a vody nebo roztoku glukózy, nitrátů apod.) ⁹ nebo půdní monolit ¹⁰ (odebraný jako co nejméně porušený vzorek) ¹¹	v uzavřené láhvi, případně v kovových nebo plastových válcích (v případě monolitů) ¹³	v laboratorii nebo v terénu (např. v půdě v otvorech po odběru vzorků) ¹⁶	statický systém ¹⁸ (jednorázový přídavek acetylenu, jednorázová nebo postupná analýza vnitřní atmosféry) ¹⁹ nebo dynamický systém ²⁰ (nucená cirkulace plynů inkubačními nádobami, někdy průběžná automatická analýza inkubační atmosféry) ²¹
povrch půdy uzavřen komorou (poklopem) ¹²	jednorázový přídavek acetylenu do prostoru uzavřeného komorou ¹⁴ jednorázový nebo opakovaný přídavek acetylenu do půdy ¹⁵	v terénu ¹⁷	statický systém nebo dynamický systém

¹sample, ²method of incubation, ³place of incubation, ⁴other characteristics, ⁵mixed soil sample, ⁶eventually additionally moistened to certain moisture, ⁷or, ⁸soil suspension, ⁹prepared as a mixture of soil and water or solution of glucose, nitrates etc., ¹⁰soil monolith, ¹¹taken as least defected sample, ¹²soil surface closed by chamber (cover), ¹³in closed bottle or in metallic or plastic cylinders (in case of monoliths), ¹⁴single addition of acetylene into the space closed by chamber, ¹⁵single or repeated addition of acetylene into soil, ¹⁶in the laboratory or in the field (e.g. in soil in holes after samplings), ¹⁷in the field, ¹⁸static system, ¹⁹single addition of acetylene, single or gradual analysis of internal atmosphere, ²⁰dynamic system, ²¹forced circulation of gases by incubation vessels, sometimes continuous automatic analysis of incubation atmosphere

EKOLOGIE DENITRIFIKACE

Denitrifikátoři

Schopnost disimilační redukce nitrátů, tj. respirační denitrifikace, má mnoho taxonomicky velmi odlišných bakterií. Např. M a t ě j ů et al. (1992) uvádějí seznam 27 rodů bakterií a archebakterií, které obsahují denitrifikující druhy a T i e d j e (1988) připsuje schopnost denitrifikace 28 rodům (včetně taxonomicky nejistých). L l o y d (1993) hovoří o stovkách druhů denitrifikátorů vyskytujících se v půdách a sedimentech. Přesto většina denitrifikátorů izolovaných z půdy a vody patří mezi druhy rodů *Pseudomonas* a *Alcaligenes* (T a t e, 1995), zařazované v systému bakterií do sekce aerobních gramnegativních tyčinek a koků. Do stejné skupiny bakterií patří i fixátoři molekulárního dusíku z čeledi *Azotobacteraceae* a *Rhizobiaceae*; u mnoha z nich byla prokázána denitrifikace (např. druhy rodů *Azospirillum* a *Rhizobium*). Denitrifikace byla dále zjištěna např. u fermentujících bakterií (druhy rodu *Bacillus*), u patogenů (druhy rodů *Neisseria*, *Kingella*), u bezbarvých sirných bakterií (např. druhy rodu *Thiobacillus*), u purpurových nesirných bakterií (druhy rodu *Rhodospseudomonas*), u metylotrofních bakterií (druhy rodu *Hyphomicrobium*), u některých termofilních a halofilních archebakterií (např. druhy rodu *Halobacterium*). Je tedy jasné, že denitrifikátoři patří mezi taxonomicky i biochemicky (fyziologicky) velmi odlišné skupiny bakterií a že jen pro jejich schopnost denitrifikace je nelze sloučit do jedné skupiny. Jak dále uvádí T a t e (1995), mnoho mikroorganismů, které mají schopnost respirační denitrifikace, nelze považovat za „pravé de-

nitrifikátory“. Takto lze označovat jen bakterie, které vyhovují těmto kritériím:

- 1) nejméně 80 % redukováného NO_3^- musí být převedeno na N_2O a N_2 ,
- 2) organismy musí vykazovat růst (zisk energie) na úkor redukce NO_3^- , NO_2^- nebo N_2O ,
- 3) denitrifikace musí zajišťovat významnou část potřebné energie, ne být pouhým minoritním zdrojem,
- 4) buňky musí obsahovat cytochrom *cd* nebo disimilační nitratreduktázu.

Je zřejmé, že mnoho bakteriálních kmenů i houby a případně jiné organismy, u nichž byla zjištěna produkce N_2O nebo N_2 v omezeném množství, nevyhovují těmto kritériím, a nelze je tedy považovat za „pravé denitrifikátory“.

Typické denitrifikační bakterie získávají elektrony pro redukci oxidovaných dusíkatých sloučenin (NO_3^- , NO_2^- , NO , N_2O) rozkladem nejrozumnějších organických látek, např. glukózy a jiných cukrů, alkoholů, organických kyselin, acetonu a toluenu a také mnoha dalších xenobiotických látek (polutantů), které mohou být zároveň zdrojem uhlíku biomasy. (Použití právě denitrifikátorů na bioremediaci prostředí znečištěného organickými polutanty je zvláště slibné. Pro takovou biotechnologii hovoří některé významné vlastnosti denitrifikátorů a jejich substrátů: rostou nejrychleji a mají největší výnos biomasy ze všech anoxických bakterií, pseudomonády patří k nejlépe poznaným mikroorganismům, levně a dobře rozpustné nitráty mohou být snadno použity na stimulaci růstu denitrifikátorů ve znečištěném prostředí. Výzkum ukazuje, že denitrifikátoři mohou biodegradovat nejrůznější organické polutanty.) Podle způsobu získávání energie, vodíku a elektronů

a uhlíku jsou tedy **chemoorganotrofními heterotrofy** (tab. II). Někteří denitrifikátoři jsou však metabolicky plastičtí (mixotrofní) a mohou také patřit mezi **chemolitoheterotrofní** i **chemolitoautotrofní** organismy. Méně obvyklá je pak příslušnost k jiným trofickým skupinám (např. fotoorganotrofní heterotrofní druhy rodu *Rhodospseudomonas*).

Denitrifikační bakterie jsou normálně aerobní organismy a preferují O_2 jako terminální akceptor elektronů. Na rozdíl od jiných aerobů však při poklesu parciálního tlaku kyslíku syntetizují příslušné reduktázy, enzymy potřebné pro redukci nitrátů případně až na N_2 . Takto může být ustaven plně funkční denitrifikační systém během 1 až 3 h po změně aerobních podmínek na anaerobní (Tate, 1995). Denitrifikační enzymy tedy nejsou konstitutivní, ale indukční, a jejich syntéza je regulována např. právě dostupností kyslíku. Většina dosud izolovaných kmenů heterotrofních denitrifikačních bakterií je vybavena kompletní sadou enzymů k redukci NO_3^- na N_2 . Pouze výjimečně u některých denitrifikátorů chybí enzymy pro redukci NO_3^- na NO_2^- nebo N_2O na N_2 (Tiedje, 1988). Reduktázy denitrifikačního respiračního řetězce jsou metaloenzymy, obsahují kovové ionty ve svém aktivním centru. Nitrátreduktáza obsahuje buď Mo, nebo Fe-S klastr, nebo kombinaci obou, nitrátreduktáza obsahuje Cu nebo cytochromy, NO-reduktáza obsahuje Fe a N_2O -reduktáza obsahuje atomy Cu. Všechny denitrifikační reduktázy jsou lokalizovány v cytoplazmatické membráně buněk denitrifikátorů (Schultess et al., 1995).

Regulační faktory denitrifikace

Na buněčné (organismální) úrovni je denitrifikační aktivita denitrifikátorů regulována třemi základními faktory. Jsou to: 1) parciální tlak O_2 , 2) koncentrace NO_3^- a 3) zdroje C. Je evidentní, že tyto faktory, jejich intenzita a účinnost souvisí s dalšími parametry prostředí, jak znázorňuje obr. 3. Proto mezi nejdůležitější faktory ovlivňující a regulující denitrifikační aktivitu *in situ* v půdě zahrnuje Tate (1995): 1) povahu a množství organické hmoty jako zdroje energie, 2) koncentraci nitrátů v půdě, 3) aerační a vodní status půdy, 4) půdní pH a 5) teplotu.

Půdní organická hmota je zdrojem energie pro většinu denitrifikačních bakterií (tab. II). Ne vždy je však k dispozici dostatek dostupných organických látek, o čemž svědčí to, že přídavek lehce využitelného zdroje energie do půdy (glukózy, acetátu, alkoholu aj.) v naprosté většině případů vede k rychlému a podstatnému zvýšení denitrifikační aktivity. Dalším důkazem je i často zjišťovaná těsná závislost denitrifikační aktivity na obsahu buď celkového, nebo vodorozpuštěného C v půdě. Z těsného vztahu mezi organickým uhlíkem a denitrifikátory by bylo možné usoudit, že denitrifikace bude zvláště intenzivní v rhizosféře, kde jsou mnohé zdroje C (exsudáty, kořenové buňky, rychlejší obrát, a tedy větší odumělá biomasa mikroorganismů). Ve skutečnosti však není v případě denitrifikace výskyt rhizosférického efektu zcela jednoznačný a poměrně dost prací jeho existenci popírá nebo alespoň nepotvrzuje.

II. Rozdělení organismů podle výživy (zdrojů energie, H^+ a e^- a uhlíku biomasy) a příslušnost respiračních denitrifikátorů do jednotlivých trofických skupin – Classification of organisms according to their nutrition (sources of energy, H^+ and e^- and biomass carbon) and affiliation of respiratory denitrifiers to individual trophic groups (Knowles, 1981; Tiedje, 1988; Tate, 1995)

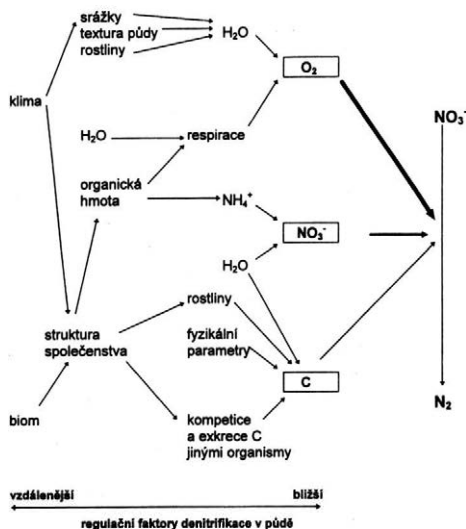
Zdroj energie ²	Světlo ⁶ fototrof ⁷				Chemická látka ⁸ chemotrof ⁹			
Zdroj H^+ a e^-	anorganická látka ¹⁰ litolitotrof ¹²		organická látka ¹¹ organotrof ¹³		anorganická látka litolitotrof		organická látka organotrof	
Zdroj C biomasy ³	CO_2 autotrof ¹⁴	organická látka heterotrof ¹⁵	CO_2 autotrof	organická látka heterotrof	CO_2 autotrof	organická látka heterotrof	CO_2 autotrof	organická látka heterotrof
Úplný název ⁴	fotolitolitotrofní ¹⁶ autotrof	fotolitolitotrofní heterotrof	fotoorganotrofní ¹⁷ autotrof	fotoorganotrofní heterotrof	chemolitolitotrofní ¹⁸ autotrof	chemolitolitotrofní heterotrof	chemoorganotrofní ¹⁹ autotrof	chemoorganotrofní heterotrof
Výskyt denitrifikátorů ⁵	1 ?	2 ?	3 ?	4 ano ²⁰	5 ano	6 ano	7 ?	8 ano

(4) purpurové nesírné bakterie, např. druhy rodu *Rhodospseudomonas* – purple nonsulfur bacteria, e.g. species of the genus *Rhodospseudomonas*
(5) nitrifikační bakterie (např. druhy rodu *Nitrococcus*, *Nitrosomonas*), sírné bakterie (např. druhy rodu *Thiobacillus*, *Thiosphera*), vodíkové bakterie (např. druhy rodu *Paracoccus*, *Alcaligenes*) – nitrification bacteria (e.g. species of the genera *Nitrococcus*, *Nitrosomonas*), sulfur bacteria (e.g. species of the genera *Thiobacillus*, *Thiosphera*), hydrogen bacteria (e.g. species of the genera *Paracoccus*, *Alcaligenes*)

(6) bakterie ze skupiny (5) při heterotrofní výživě – bacteria of the group (5) at heterotrophic nutrition

(8) typičtí respirační denitrifikátoři, např. aerobní bakterie z rodu *Pseudomonas* a *Alcaligenes*, dále druhy rodu *Azospirillum*, *Bacillus* a *Halobacterium*, patogenní bakterie rodu *Neisseria* a *Moraxella* aj. – typical respiratory denitrifiers, e.g. aerobic bacteria of the genera *Pseudomonas* and *Alcaligenes*, in addition species of the genera *Azospirillum*, *Bacillus* and *Halobacterium*, pathogenic bacteria of the genera *Neisseria* and *Moraxella* etc.

¹source, ²energy, ³biomass C, ⁴full name, ⁵occurrence of denitrifiers, ⁶light, ⁷phototroph, ⁸chemical substance, ⁹chemotroph, ¹⁰inorganic substance, ¹¹organic substance, ¹²lithotroph, ¹³organotroph, ¹⁴autotroph, ¹⁵heterotroph, ¹⁶photolithotrophic, ¹⁷photoorganotrophic, ¹⁸chemolithotrophic, ¹⁹chemoorganotrophic, ²⁰yes



3. Kontrolní a regulační faktory denitrifikace v půdě – Control and regulatory factors of denitrification in soil (Tiedje, 1988; Paul, Clark, 1996)

Faktory jsou ve schématu seřazeny podle účinnosti: čím výše a více vpravo je faktor umístěn, tím větší je jeho vliv na denitrifikační aktivitu; síla čáry (šipky) je úměrná relativní intenzitě vlivu tří základních regulačních faktorů denitrifikace – Factors are ordered by their efficiency: the higher and more on the right side placed factor, the greater influence of denitrification activity; the thickness of the line (arrow) is related to a relative intensity of the influence of three basic regulatory factors of denitrification

Tento zdánlivě nelogický závěr dobře ilustruje komplexní povahu procesu a interaktivní působení jeho regulačních prvků. V rhizosféře, ač relativně bohaté na zdroje C, patrně často nejsou k dispozici ionty NO_3^- pro denitrifikaci, neboť je zde velká konkurence v příjmu nitrátů rostlinami. Jak je patrné ze schematického modelu regulace denitrifikace (obr. 3), dostupné organické látky jako zdroj energie pro denitrifikaci jsou výslednicí působení více faktorů. Jsou to zejména: 1) vlhkost půdy ovlivňující dekompoziční procesy a transport C-látek, 2) rostliny jako primární zdroj organických látek, 3) fyzikální procesy (mrznutí a tání, vlnutí a vysoušení půdy, kultivace aj.), 4) kompetice nebo naopak exkrece C jinými organismy.

Koncentrace nitrátů a nitrátů v půdě a v bezprostředním okolí denitrifikátorů je pochopitelně významným faktorem ovlivňujícím denitrifikační aktivitu. Difuze nitrátů do dosahu denitrifikátorů je regulována zejména vlhkostí půdy (vyšší vlhkost usnadňuje a urychluje difuzi) a rychlostí tvorby NO_3^- v půdě. Kromě hnojení jako zdroje NO_3^- -N je hlavním procesem tvorby nitrátů v půdě nitrifikace (obr. 1). Proto všechny významné faktory ovlivňující aerobní nitrifikaci zprostředkovaně ovlivňují denitrifikaci. Zde je vhodné zmínit názor, podle kterého v dobře aerované půdě nebo

oxické zóně odpadních vod a podobných prostředí připadá většina produktů denitrifikace na denitrifikaci nitrifikačních bakterií (Benckiser et al., 1996; Inubushi et al., 1996; Webster, Hopkins, 1996). Navíc dnes obecně přijatý koncept simultánního výskytu mikroprostředí v půdě, mikroprostředí se zásadně odlišným aeračním statusem, dovoluje akceptovat existenci aktivní nitrifikace (obligátně aerobní proces) a denitrifikace (typicky anoxický nebo hypoxický proces) v těsném sousedství, např. uvnitř jednotlivých půdních agregátů. V oxickém prostředí produkovaný NO_3^- se tak lehce dostává do prostředí, kde může být denitrifikován. Půdní prostředí je však silně konkurenční, pokud jde o využití NO_3^- . Kromě respirační denitrifikace jsou nitráty metabolizovány i disimilační redukcí nitrátů na amoniak, jsou asimilovány jako zdroj N a jsou také z půdy snadno vyplavovány. Nejvíce konkurenční je však příjem nitrátů rostlinami, který v nehojených a málo hnojených půdách představuje hlavní proces odčerpávání NO_3^- z půdy. Ve hnojených půdách a zejména bezprostředně po hnojení je ovšem v půdě velký přebytek nitrátů, který nemůže být rychle odstraněn jinými procesy, ale který je typicky metabolizován respirační denitrifikací. Intenzita denitrifikace je ještě mnohonásobně zvýšena vhodnou vlhkostí půdy, např. v období po silnějších deštích. Zde opět spolupůsobí pro denitrifikaci výhodná souhra faktorů: nadbytek NO_3^- , vysoká vlhkost a nedostatek O_2 .

Aerační status a vlhkost půdy, resp. poměr vzduchu a vody v půdních pórech významně ovlivňují denitrifikační aktivitu. Molekulární kyslík potlačuje syntézu denitrifikačních reduktáz, proto není nijak překvapující nepřímá závislost mezi parciálním tlakem O_2 (pO_2) a denitrifikační aktivitou. Kyslík je z půdních mikroprostředí neustále odčerpáván (oxický) respirací a nahrazován z atmosféry difúzí a prouděním (difuze je nejčastějším hlavním mechanismem výměny plynů, včetně kyslíku v půdě). Protože je však difuze O_2 ve vodě mnohem pomalejší než v plynné fázi, souvisí jednoznačně pohyb molekul O_2 z atmosféry do půdních mikroprostředí s nasyceností půdních pórů vodou (viz modelové schéma regulace denitrifikace na obr. 3). Tate (1995) uvádí, že respirační denitrifikace je tak silně svázána s pO_2 jako regulačním faktorem, že neliší se od další kontrolní faktory, jež mohou být i ve svém optimu, není v půdě detekována při vlhkosti pod 60 % polní vodní kapacity. Je také dobře známo, že denitrifikace je proces typický pro zaplavované půdy (ryžoviště, mokřady, hlubší vrstvy půdy, resp. půda po silnějších deštích).

Dalšími důležitými půdními faktory ovlivňujícími intenzitu denitrifikace jsou pH a teplota. Většina typických denitrifikačních bakterií má **optimum pH** kolem 7,0 až 8,0 (Knowles, 1981). Při snižujícím se pH se snižuje denitrifikační aktivita, avšak zvyšuje se poměr N_2O/N_2 jako denitrifikačních produktů. Při pH kolem 4,0 může být N_2O i jediným produktem denitrifikace. Existují doklady o adaptaci společenstva denitrifikátorů na nízké pH v kyselých půdách – denitrifikace zde

má nižší pH optimum, než je obvyklé (Parkin et al., 1985), ale jiné práce tuto adaptabilitu nepotvrzují. Teplota ovlivňuje denitrifikaci podobně, jako obecně ovlivňuje biologické procesy v půdě. Prokazatelná denitrifikace byla zjištěna v půdě při teplotě blízké 0 °C (Smith, Beauchamp, 1976), avšak také při teplotách až 70 °C (Knowles, 1981). Q_{10} nabývá v tomto rozsahu teplot hodnoty kolem 2. Podobně jako v případě pH, také teplota reguluje kromě intenzity procesu i jeho reakční produkty: při nižších teplotách se tvoří relativně více N_2O a méně N_2 .

Z uvedeného jasně vyplývá komplexní povaha procesu respirační denitrifikace. Je to proces vlastní mnoha taxonomicky odlišným půdním mikroorganismům. Jeho intenzitu ovlivňuje řada faktorů prostředí, z nichž v polních podmínkách dominuje aerační a vlhkostní status, a dále přítomnost nitrátů a organických zdrojů energie. Zprostředkovaně ovlivňují denitrifikaci i jiné půdní faktory a procesy, zejména nitrifikace. Konkurenčně působí, tj. denitrifikaci snižuje, příjem nitrátů rostlinami, ale i metabolismus jinými mikroorganismy a cestami, z nichž významná může být disimilační redukce nitrátů na amoniak.

Poděkování

Práce vznikla při řešení projektu č. 206/96/0169 *Mikrobiální aspekty emisí oxidu uhličitého, oxidu dusíkatého a metanu z orných půd*, podporovaného GA ČR.

LITERATURA

ATLAS, R. M. – BARTHA, R.: Microbial ecology. Fundamentals and applications. 3rd ed. Redwood City, Benjamin/Cummings 1993. 563 s.
 BENCKISER, G. – EILTS, R. – LINN, A. – LORCH, H. J. – SUMER, E. – WEISKE, A. – WENZHOFFER, F.: N_2O emissions from different cropping systems and from aerated, nitrifying and denitrifying tanks of a municipal waste water treatment plant. *Biol. Fertil. Soils*, 23, 1996: 257–265.
 BROCK, T. D. – MADIGAN, M. T.: Biology of microorganisms. 5th ed. New Jersey, Prentice-Hall 1988. 835 s.
 CLEEMPUT, O. VAN: Biogeochemistry of nitrous oxide in wetlands. *Curr. Top. Wetland Biogeochem.*, 1, 1994: 3–14.
 CLEEMPUT, O. VAN – PATRICK, W. H. – McILHENNY, R. C.: Nitrite decomposition in flooded soil under different pH and redox potential conditions. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 40, 1976: 55–60.
 GARCIA, J. L.: Evaluation de la denitrification dans les rizières par la méthode de réduction de N_2O . *Soil Biol. Biochem.*, 7, 1975: 251–256.
 GROFFMAN, P. M.: A conceptual assessment of the importance of denitrification as a source of soil nitrogen loss in tropical agro-ecosystems. *Fertil. Res.*, 42, 1995: 139–148.
 HORVÁTHOVÁ, E.: Biologické procesy čištění vod. *Vod. Hosp.*, 46, 1996: 406–408.
 CHRISTIANSON, C. B. – CHO, C. M.: Chemical denitrification of nitrite of frozen soils. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 47, 1983: 38–42.

INUBUSHI, K. – NAGANUMA, H. – KITAHARA, S.: Contribution of denitrification and autotrophic and heterotrophic nitrification to nitrous oxide production in andosols. *Biol. Fertil. Soils*, 23, 1996: 292–298.
 KAISER, E. A. – MUNCH, J. CH. – HEINEMEYER, O.: Importance of soil cover box area for the determination of N_2O emissions from arable soils. *Pl. Soil*, 181, 1996: 185–192.
 KLEMETSSON, L. – HANSSON, G. – MOSIER, A.: The use of acetylene for the quantification of N_2 and N_2O production from biological processes in soil. In: REVSBECH, N. P. – SORENSEN, J. (eds): Denitrification in soil and sediment. New York, Plenum Press 1990: 167–180.
 KNOWLES, R.: Denitrification. In: PAUL, E. A. – LADD, J. N. (eds): Soil biochemistry. Vol. 5. New York, Marcel Dekker 1981: 323–369.
 KNOWLES, R.: Acetylene inhibition technique: development, advantages, and potential problems. In: REVSBECH, N. P. – SORENSEN, J. (eds): Denitrification in soil and sediment. New York, Plenum Press 1990: 151–166.
 KRÁLOVÁ, M. – RŮŽEK, P. – KREJČOVÁ, J.: Denitrifikace v hnědé půdě. *Rostl. Vyr.*, 43, 1997: 457–462.
 LLOYD, D.: Aerobic denitrification in soils and sediments: from fallacies to facts. *TREE*, 8, 1993: 352–356.
 MATĚJŮ, V. – ČIŽINSKÁ, S. – KREJČÍ, J. – JANOCH, T.: Biological water denitrification – a review. *Enzyme Microbiol. Technol.*, 14, 1992: 170–183.
 MOSIER, A. R. – HEINEMEYER, O.: Current methods used to estimate N_2O and N_2 emissions from field soils. In: COLLEMAN, H. L. (ed.): Denitrification in the nitrogen cycle. NATO Conf. Ser. I. Ecology, Vol. 9, New York, Plenum Press 1985: 79–99.
 MOSIER, A. R. – DUXBURY, J. M. – FRENEY, J. R. – HEINEMEYER, O. – MINAMI, K.: Nitrous oxide emissions from agricultural fields: assessment, measurement and mitigation. *Pl. Soil*, 181, 1996: 95–108.
 MYROLD, D. D.: Measuring denitrification in soils using ^{15}N techniques. In: REVSBECH, N. P. – SORENSEN, J. (eds): Denitrification in soil and sediment. New York, Plenum Press 1990: 181–198.
 NIEDER, R. – SCHOLLMAYER, G. – RICHTER, J.: Denitrification in the rooting zone of cropped soils with regard to methodology and climate: a review. *Biol. Fertil. Soils*, 8, 1989: 219–226.
 PARKIN, T. B. – SEXSTONE, A. J. – TIEDJE, J. M.: Adaptation of denitrifying populations to low soil pH. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 1985: 1053–1056.
 PAUL, E. A. – CLARK, F. E.: Soil microbiology and biochemistry. 2nd ed. San Diego, Acad. Press 1996. 340 s.
 PAYNE, W. J.: A review of methods for field measurement of denitrification. *Forest Ecol. Mgmt.*, 44, 1991: 5–14.
 SCHULTHEISS, R. V. – KUHN, M. – GUJER, W.: Release of nitric and nitrous oxides from denitrifying activated sludge. *Wat. Res.*, 29, 1995: 215–226.
 SMID, A. E. – BEAUCHAMP, E. G.: Effects of temperature and organic matter on denitrification in soil. *Can. J. Soil Sci.*, 56, 1976: 385–391.
 ŠIMEK, M.: Metody studia denitrifikace. In: ŠIMEK, M. – NOVÁK, F. – ŠANTRŮČKOVÁ, H. (eds): Metody studia

přeměn dusíku v půdě. In: Sbor. Přísp. Semin. České Budějovice, ÚPB AV ČR 1993: 131–148.

ŠIMEK, M. – KROMKA, M.: Denitrifikace jako parametr biologické aktivity půdy. Rostl. Výr., 39, 1993: 797–804.

TATE, R. L.: Soil microbiology. New York, John Wiley 1995. 398 s.

TIEDJE, J. M.: Denitrification. In: PAGE, A. L. – MILLER, R. H. – KEENEY, D. R. (eds): Methods of soil analyses, part 2. Agron. Monogr. No. 9, Madison, Wis., Amer. Soc. Agron. 1982: 1011–1026.

TIEDJE, J. M.: Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In: ZEHNDER, A. J. B. (ed.): Biology of anaerobic microorganisms. New York, John Wiley 1988: 179–244.

TIEDJE, J. M. – SIMKINS, S. – GROFFMAN, P. M.: Perspectives on measurement of denitrification in the field including recommended protocols for acetylene based methods. In: CLARHOLM, M. – BERGSTROM, L. (eds): Ecology of arable land. Dordrecht, Kluwer Acad. Publ. 1989: 217–240.

ŮLEHLOVÁ, B.: Stanovení denitrifikace půdy metodou acetylenové inhibice redukce N_2O na N_2 . In: RYCHNOVSKÁ, M. (ed.): Metody studia travinných ekosystémů. Praha, Academia 1987: 242–245.

WEBSTER, E. A. – HOPKINS, D. W.: Contributions from different microbial processes to N_2O emission from soil under different moisture regimes. Biol. Fertil. Soils, 22, 1996: 331–335.

WEIER, K. L. – GILLIAM, J. W.: Effect of acidity on denitrification and nitrous oxide evolution from Atlantic coastal plain soils. Soil Sci. Soc. Amer. J., 50, 1986: 1202–1205.

WILLIAMS, E. J. – DAVIDSON, E. A.: An intercomparison of two chamber methods for the determination of emission of nitric oxide from soil. Atmosph. Envir., 27A, 1993: 2107–2113.

ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S.: Denitrification enzyme activity. In: SCHINNER, F. – OHLINGER, R. – KANDLER, E. – MARGESIN, R. (eds): Methods in soil biology. Berlin, Springer Verlag 1996: 179–184.

Došlo 19. 3. 1998

Kontaktní adresa:

Ing. Miloslav Šimek, CSc., Ústav půdní biologie AV ČR; Jihočeská univerzita, Biologická fakulta, Na sádkách 7, 370 05 České Budějovice, Česká republika, tel.: 038/422 60, fax: 038/410 01, e-mail: misim@upb.cas.cz

VLIV HNOJENÍ A PŮDNÍCH VLASTNOSTÍ NA DENITRIFIKACI VE VYBRANÝCH ORNÝCH PŮDÁCH ČR

INFLUENCE OF FERTILIZATION AND SOIL PROPERTIES ON DENITRIFICATION IN SOME ARABLE LANDS IN THE CZECH REPUBLIC

M. Šimek

Institute of Soil Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic; University of South Bohemia, Faculty of Biological Sciences, České Budějovice, Czech Republic

ABSTRACT: In the years 1993 to 1996 at 13 sites in Bohemia and Moravia soil samples were taken from upper 15cm layer and denitrification capacity was determined. A part of the sites belongs to the set of areas investigated within monitoring of agricultural lands of the Czech Republic, partially these are long-term field trials. A brief characteristics of sites and studied soils is presented in Tab. I. In 1993 samples of 27 soils at 12 sites were taken, in 1994 samples of 31 soils at 12 sites and in 1995 samples of 24 soils at 5 sites. Samples were homogenized and fractions smaller than 5 mm were kept in polyethylene bags in the dark at the temperature 4 °C for 4 to 5 weeks. At the site Libějovice (Lb) soil samples were taken in total four times in 1994 and five times in 1995 of the fertilization treatments NIL, org+, N₁P₁K₁+ and N₃P₃K₃ of the stationary field trial; in 1996 soil samples of all fertilization treatments were taken here (Tab. II). Basic soil characteristics and yields of cultivated crops are presented in Tab. III. Soil samples were always processed in the day of sampling, without putting away. Denitrification capacity is one of the characteristics of potential denitrification. It is measured in soil after addition of 0.3 mg NO₃-N.g⁻¹ of dry soil, under the presence of 10% volume of acetylene, at anoxic incubation at 25 °C for 24 hours. The amount of N₂O produced by denitrification was determined by gas chromatography on the device Hewlett-Packard HP 5890A equipped with TC detector. Denitrification capacity ranging from 4.39 to 18.60 µg N₂O-N.g⁻¹.d⁻¹ (Tab. IV) was found in studied soils. Denitrification capacity depended statistically significantly on the C_{ox} content in soils and significantly on soil pH(H₂O). No dependence of denitrification capacity on soil texture (Fig. 1) was found. At the site Libějovice only manuring and manure applied together with inorganic fertilization led to increase of denitrification capacity in soil (Fig. 2, treatments org+ and N₁P₁K₁+). In most fertilized treatment (N₃P₃K₃, i.e. 160 kg N + PK) further increase of denitrification capacity was not recorded. Denitrification capacity in this soil, on the contrary, was even lower than in unfertilized soil. This unexpected result is doubtless connected with the changes in soil caused by long-term application of high doses of inorganic fertilizers. As it follows from Tab. III, in the soil intensively fertilized and not limed by the treatments N₃P₃K₃ against fertilized in the same way but limed at the treatment N₃P₃K₃+ a marked decrease of pH occurred. In unlimed soil the content of C_{ox} and cations Mg and Ca is also lower. Changes in soil chemistry and particularly decrease of pH affected directly or indirectly the community of denitrifiers and resulted in decrease of potential denitrification capacity. The result is in congruency with the relationship found between denitrification capacity and soil pH (Fig. 1B). P fertilization at medium N and K fertilization (Fig. 3A) increased denitrification capacity in soil compared with unfertilized treatment but growing P dose did not lead to unambiguously increasing denitrification capacity. On the other hand increasing K dose at medium N and P fertilization increased denitrification capacity (Fig. 3B). Mechanism of the effect of K on denitrification capacity is not clear, the action may be direct or indirect. Increasing intensity of NPK fertilization led to growing denitrification capacity in soil. Maximum denitrification capacity was found in the soil of treatments N₂P₂K₂+ and N₃P₃K₃+, i.e. treatments fertilized by 120 or 160 kg N.ha⁻¹.year⁻¹, resp., and by corresponding doses of P and K (Fig. 3C). In intensively fertilized (160 kg N + PK.ha⁻¹.year⁻¹) but not limed soil a significant decrease of denitrification capacity was confirmed. Results confirm an existence of close relationship between soil pH and denitrification activity. Fertilization too has a fundamental effect on potential denitrification. Except direct action of N fertilization the effect of other nutrients, e.g. K, may be applied.

denitrification; denitrification capacity; nitrous oxide; carbon; pH; fertilization

ABSTRAKT: Celkem na 13 stanovištích v Čechách a na Moravě byly v letech 1993 až 1996 odebrány půdní vzorky ze svrchní 15cm vrstvy a byla měřena denitrifikační kapacita (DK). Část stanovišť patří do souboru ploch sledovaných v rámci monitoringu zemědělských půd ČR, částečně jde o dlouhodobé polní pokusy ÚKZÚZ a VÚRV. DK charakterizuje potenciální

denitrifikaci. Měři se v půdě po přidání NO_3^- a při anoxické inkubaci při 25 °C po dobu 24 h. Ve studovaných půdách byla zjištěna DK v rozmezí 4,39 až 18,60 $\mu\text{g N}_2\text{O-N g}^{-1}\text{d}^{-1}$. DK statisticky vysoce průkazně závisela na obsahu C_{ox} v půdách a průkazně na půdním pH (H_2O). Na stanovišti Libějovice byl s využitím dlouhodobého stacionárního pokusu ÚKZÚZ studován vliv hnojení na DK. Intenzita hnojení významně ovlivňovala DK v půdě (se zvyšující se NPK dávkou rostla DK), stejný vliv měla i zvyšující se dávka K hnojení. V intenzivně hnojené (dávka v $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{rok}^{-1}$: 160 N, 120 P_2O_5 , 160 K_2O), avšak nevápněné půdě byl zjištěn průkazný pokles DK, pravděpodobně v souvislosti s poklesem pH v této půdě.

denitrifikace; denitrifikační kapacita; oxid dusný; uhlík; pH; hnojení

ÚVOD

Respirační denitrifikace, tj. redukce nitrátů nebo nitrátů na oxid dusný (N_2O) a molekulární dusík (N_2), je v obhospodařovaných půdách většinou jev nežádoucí, vedoucí ke ztrátám přijatelného dusíku z ekosystému. Denitrifikace však nejen odebírá z půdy nezbytnou a důležitou živinu, ale také produkuje oxidované plynné formy dusíku, které jsou následně emitovány z půdy do atmosféry.

Cílem předložené práce, která je součástí širšího projektu, zaměřeného na studium mikrobiálních aspektů emisí N_2O ze zemědělských půd, bylo stanovit úroveň potenciální denitrifikace v půdách s různými fyzikálně-chemickými a biologickými vlastnostmi a zjistit, zda a jak dlouhodobé hnojení minerálními i organickými hnojivy ovlivňuje potenciální denitrifikaci v půdě. Výzkum zahrnul jednak půdy konvenčně velkoplošně obdělávané, jednak půdy z dlouhodobých maloparcelových polních pokusů.

Oxid dusný a další oxidy dusíku vznikající denitrifikací jsou považovány za jeden z významných zdrojů tzv. skleníkových plynů, ovlivňujících tepelný režim Země (Bowden, 1986; Matson, Vitousek, 1990) a podporujících narušování ochranné ozonové vrstvy ve stratosféře (Crutzen, 1981). Nehledě na jeho nízkou koncentraci v troposféře, jež je v současné době kolem 310 ppbv, a na její jen pomalé (0,3 % ročně) zvyšování, se odhaduje, že specifický efekt oxidu dusného jako skleníkového plynu je 300krát větší než vliv CO_2 (Mosier, Schimel, 1991) a že podíl N_2O na globálním oteplování je v posledních 100 letech asi 5% (Bouman, 1990). Protože je N_2O poměrně inertní a má v atmosféře dlouhý poločas výskytu (130 až 150 roků, Granli, Bockman, 1994), dostávají se emitované molekuly N_2O až do stratosféry, kde se mohou stát zdrojem stratosférického NO (Cicerone, 1987). NO zde působí jako katalyzátor různých reakcí, mj. ovlivňujících distribuci a koncentraci ozonu a vedoucích k redukci tzv. ozonové vrstvy, což má za následek zvýšené pronikání ultrafialového záření k povrchu Země.

Z důvodů odčerpávání nitrátů a produkce N_2O je denitrifikace v půdě nežádoucím procesem. Na druhou stranu je denitrifikace např. vitaným a účinným způsobem odstraňování nadbytečných nitrátů z pitné vody nebo z odpadních vod. Denitrifikace v přirozených ekosystémech je také nutnou součástí cyklu dusíku a je

procesem, kterým se fixovaný molekulární dusík imobilizovaný v biomase vrací zpět do atmosféry. V agroekosystémech však může denitrifikací docházet k velkým ztrátám dusíku dodávaného ve formě minerálních a organických hnojiv. Je proto překvapivé (Mosier, 1994), že přes zvýšený zájem o problematiku globálních změn v ekosystému Země v poslední době a přes zřetelnou úlohu tzv. skleníkových plynů v těchto změnách je k dispozici jen málo informací o emisích N_2O ze zemědělsky využívaných půd. Platí to i pro ČR, kde kromě několika starších prací (Munzarová et al., 1983; Úlehlová, 1987; Šimek, Kromka, 1993) a laboratorních studií (Králová et al., 1997, 1998) pravděpodobně neexistují žádné další údaje o denitrifikaci v půdách a terestrických ekosystémech.

MATERIÁL A METODA

Pokusná stanoviště a studované půdy

Půdní vzorky byly odebírány v letech 1993 až 1995, vždy koncem dubna, ze svrchní 15 cm vrstvy půdy, a to jako směsné vzorky z 10 dílčích vzorků z každé studované půdy nebo varianty hnojení. Stručná charakteristika stanovišť a studovaných půd je uvedena v tab. I (analýzy z roku 1993, půdy jsou seřazeny vzestupně podle obsahu celkového uhlíku). Stanoviště Hlincova Hora (Hh), Klec (Kl), Hrdějovice (Hr), Libějovice (Li), Měšice (Me), Stráž (St) a Lomnice (Lo) patří do souboru ploch sledovaných Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZÚZ) v rámci projektu monitoringu zemědělských půd ČR a vesměs se nacházejí v jižních Čechách. Tyto plochy jsou součástí honů, na nichž se provozuje běžná velkovýrobní technologie včetně běžné agrotechniky a hnojení. Čb představuje půdu z pokusné plochy Zemědělské fakulty JU v Českých Budějovicích. Lb je půda z pokusné plochy ÚKZÚZ v Libějovicích nedaleko Vodňan, a to z různých hnojených variant 1, 2, 10 a 12 dlouhodobého stacionárního polního pokusu (tab. II). Stanoviště Lukavec (Lu), Pohorelice (Po), Čáslav (Ca) a Ivanovice na Hané (Iv) jsou pokusné plochy Výzkumného ústavu rostlinné výroby Praha-Ruzyně (Baier, 1993). Pro účely předložené práce zde byly vzorky odebírány z variant hnojení 11, 12, 14, 15 a 21 dlouhodobého polního pokusu (tab. II). Půdy byly vybrány s ohledem na dostupnost a tak, aby zahrnuly široké rozpětí fyzikálně-chemických vlastností a reprezentovaly půdy typické pro větší

I. Základní charakteristika stanovišť – Basic characteristics of sites

Stanoviště ¹	Půdní typ ²	Průměrné roční srážky (mm)	Průměrná roční teplota (°C)	Nadmorská výška ⁵	Textura ⁶ frakce ⁷ (%)			pH(H ₂ O)	C _{ox}
					písek ⁸ (2–0,02 mm)	prach ⁹ (0,02–0,002 mm)	jíl ¹⁰ (> 0,002 mm)		
Libějovice (Li)	kambizem ¹¹	575	7,9	465	49	25	26	5,62	0,82
Libějovice ÚKZÚZ (Lb)	kambizem	575	7,9	450	69	15	16	6,58	0,88
České Budějovice (Cb)	kambizem	620	7,8	380	69	19	12	6,78	1,08
Hlincova Hora (Hh)	kambizem	–	–	570	72	9	19	6,27	1,12
Klec (Kl)	pseudoglej ¹²	–	–	420	68	10	22	7,15	1,13
Čáslav (Ca)	černozem luvická ¹³	590	8,1	263	33	27	40	6,92	1,21
Hrdějovice (Hr)	fluvisem ¹⁴	–	–	370	65	19	16	6,76	1,22
Pohořelice (Po)	černozem	478	9,2	180	36	28	36	7,53	1,33
Lukavec (Lu)	kambizem	686	6,8	620	49	26	25	6,61	1,37
Lomnice (Lo)	glej ¹⁵	–	–	425	41	28	31	6,66	1,43
Měšice (Me)	luvisem ¹⁶	–	–	455	42	28	30	6,95	1,45
Stráž (St)	fluvisem	–	–	440	42	22	36	7,61	1,55
Ivanovice (Iv)	černozem	556	9,0	225	22	40	38	7,77	1,65

¹site, ²great soil group, ³average annual precipitation, ⁴average annual temperature, ⁵altitude, ⁶texture, ⁷fraction, ⁸sand, ⁹silt, ¹⁰clay, ¹¹cam-bisol, ¹²gleyic, ¹³luvisol chernozem, ¹⁴fluvisol, ¹⁵glej, ¹⁶luvisol

II. Varianty hnojení na stanovištích Libějovice (Lb), Čáslav (Ca), Pohořelice (Po), Lukavec (Lu) a Ivanovice (Iv) – Fertilization treatments at the sites Libějovice (Lb), Čáslav (Ca), Pohořelice (Po), Lukavec (Lu) and Ivanovice (Iv)

Stanoviště ¹	Varianta ²	Označení ³	Vápnění (t.ha ⁻¹ za 4 roky ⁷)	Hnojení hnojem ⁵ (t.ha ⁻¹ za 4 roky)	Hnojení minerálními hnojivy ⁶ (kg.ha ⁻¹ za 1 rok ⁸)
Lb	1	NIL	0	0	0
	2	org+	5	40	0
	3	N ₂ P ₂ +	5	40	120 N, 60 P ₂ O ₅
	4	N ₂ P ₂ K ₁ +	5	40	120 N, 60 P ₂ O ₅ , 40 K ₂ O
	5	N ₂ P ₂ K ₂ +	5	40	120 N, 60 P ₂ O ₅ , 80 K ₂ O
	6	N ₂ P ₂ K ₃ +	5	40	120 N, 60 P ₂ O ₅ , 160 K ₂ O
	7	N ₂ K ₂ +	5	40	120 N, 80 K ₂ O
	8	N ₂ P ₁ K ₂ +	5	40	120 N, 30 P ₂ O ₅ , 80 K ₂ O
	9	N ₂ P ₃ K ₂ +	5	40	120 N, 120 P ₂ O ₅ , 80 K ₂ O
	10	N ₁ P ₁ K ₁ +	5	40	80 N, 30 P ₂ O ₅ , 40 K ₂ O
	11	N ₃ P ₃ K ₃ +	5	40	160 N, 120 P ₂ O ₅ , 160 K ₂ O
	12	N ₃ P ₃ K ₃	0	40	160 N, 120 P ₂ O ₅ , 160 K ₂ O
Ca, Po, Lu, Iv	21	–	–	0	0
	11	–	–	40	0
	12	–	–	40	100 P ₂ O ₅ , 100 K ₂ O
	14	–	–	40	80 N, 100 P ₂ O ₅ , 100 K ₂ O
	15	–	–	40	120 N, 100 P ₂ O ₅ , 100 K ₂ O

+ vápnění – liming

¹site, ²plot, ³abbreviation, ⁴lime application, ⁵manure application, ⁶inorganic fertilization, ⁷per 4 years, ⁸per 1 year

oblasti. Půdy byly v jednotlivých letech vzorkovány takto: v roce 1993 všechna stanoviště kromě Ca (12 stanovišť, 27 půd), v roce 1994 všechna stanoviště kromě Me (12 stanovišť, 31 půd), v roce 1995 stanoviště

Lb, Lu, Po, Ca, Iv (5 stanovišť, 24 půd). Celkový počet hodnocených půd byl tedy 82. Na stanovištích, kde byly vzorky odebrány z více ploch, byly půdní rozborů (tab. I) provedeny u varianty 10 (Lb) nebo 14 (Lu, Po,

Číslo ¹	Označení ²	pH(H ₂ O)	pH(KCl)	C _{ox} (% hm.) ⁶	N _{tot} (% hm.)	C _{org} /N _{tot}	P (mg.kg ⁻¹)	K (mg.kg ⁻¹)	Mg (mg.kg ⁻¹)	Ca (mg.kg ⁻¹)	Výnos ³ brambor ⁴ 1996 (t.ha ⁻¹)	Výnos ⁵ ječmene ⁵ 1997 (t.ha ⁻¹)
1	NIL	6,21	5,50	0,71	0,07	10,1	49	95	97	1 050	20,10	3,27
2	org+	6,22	5,91	0,76	0,11	6,9	75	104	112	1 230	22,82	2,78
3	N ₂ P ₂ +	6,60	6,49	0,96	0,13	7,4	173	109	156	1 590	47,17	6,07
4	N ₂ P ₂ K ₁ +	6,78	6,32	1,02	0,13	7,8	143	131	136	1 470	54,61	6,66
5	N ₂ P ₂ K ₂ +	7,22	6,72	1,12	0,14	8,0	173	214	172	1 880	55,13	6,66
6	N ₂ P ₂ K ₃ +	6,53	6,30	1,01	0,14	7,2	151	276	118	1 360	55,31	6,79
7	N ₂ K ₂ +	6,54	6,41	1,11	0,12	9,3	112	185	127	1 420	55,30	6,54
8	N ₂ P ₁ K ₁ +	6,58	6,08	1,09	0,14	7,8	115	190	119	1 290	55,21	6,69
9	N ₂ P ₃ K ₂ +	6,71	5,92	1,01	0,14	7,2	169	155	125	1 430	55,02	6,27
10	N ₁ P ₁ K ₁ +	6,64	6,33	0,95	0,12	7,9	109	116	127	1 410	47,53	6,02
11	N ₃ P ₃ K ₃ +	6,34	6,43	1,04	0,12	8,7	182	152	124	1 360	55,33	7,02
12	N ₃ P ₃ K ₃	5,51	4,90	0,94	0,12	7,8	191	187	88	1 060	55,64	5,85

¹number, ²abbreviation, ³yield, ⁴potatoes, ⁵spring barley, ⁶weight %

Ca, Iv). Po odběru a převezení do laboratoře byly vzorky homogenizovány a frakce menší než 5 mm byla uschována v polyetylenových pytlích ve tmě při teplotě 4 °C po dobu 4 až 5 týdnů.

Na stanovišti Lb, tj. na dlouhodobém stacionárním polním pokusu ÚKZÚZ v Libějovicích, byly odebrány půdní vzorky častěji: celkem čtyřikrát v roce 1994 a pětikrát v roce 1995 z variant hnojení 1, 2, 10, 12; v roce 1996 zde byly odebrány půdní vzorky ze všech variant hnojení (tab. II). Základní půdní charakteristiky a výnosy pěstovaných plodin jsou uvedeny v tab. III. Půdní vzorky byly vždy zpracovány ještě v den odběru, bez uložení.

Laboratorní analýzy

Zrnitostní složení půd bylo stanoveno sedimentační hustoměrnou metodou dle Casagrande. Velikostní frakce (tab. I) byly rozděleny podle stupnice ISSS, pH bylo měřeno v suspenzi půda : voda nebo půda : 1M KCl (1 : 2,5) po 30 min ustalování. Obsah oxidovatelného uhlíku C_{ox} byl stanoven metodou oxidace na mokré cestě kyselým dichromátem, obsah celkového dusíku N_{tot} a obsah přijatelných živin (P, K, Mg, Ca) standardními metodami ÚKZÚZ (Zbírka, 1995). Vlhkost půd byla zjištěna gravimetrickou metodou po 24 h vysoušení při 105 °C.

Charakteristika potenciální denitrifikace, nazývaná jako denitrifikační kapacita (DK), byla měřena publikovanou metodou (Yeoman et al., 1992) s drobnými úpravami. Vzorky 12 g vlhké půdy byly inkubovány ve 350ml lahvích na séra s přidávkou 5 ml roztoku obsahujícího 3 mg N ve formě KNO₃, což představuje přibližně 0,3 mg NO₃-N.g⁻¹ suché půdy. Po uzavření byl vzduch v lahvích vyměněn za helium vysoké čisto-

ty (99,99%) s 10% obj. acetyleny. Ihned a po 24h inkubaci ve tmě při 25 °C byly odebrány vzorky vnitřní atmosféry a analyzovány na obsah N₂O a CO₂. Objem inkubační atmosféry byl zjištěn naplněním lahví vodou. Všechny výsledky denitrifikační kapacity jsou průměrné hodnoty ze čtyř opakování.

Analýzy plynů byly prováděny na plynovém chromatografu Hewlett-Packard HP 5890A vybaveném TC detektorem, na koloně 3,2 mm x 2,70 m s Porapakem Q. Jako nosný plyn bylo použito helium o průtoku 0,5 ml.s⁻¹, teplota injektoru, kolony a detektoru byla 80 °C. Analýzy byly kalibrovány kalibrační plynovou směsí o známé koncentraci CO₂ a N₂O v N₂. Plochy píků byly vyhodnocovány s použitím integrátoru HP 3393A. Celková množství CO₂ a N₂O v inkubačních lahvích byla korigována o plyny rozpuštěné v kapalně fázi (Tiedje, 1982).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Vliv půdních vlastností na denitrifikační kapacitu

Souhrnné výsledky měření denitrifikační kapacity (DK) ve studovaných půdách ve třech pokusných letech a za celé období jsou uvedeny v tab. IV. Ačkoliv celkové zjištěné hodnoty minimální (4,39 μg N₂O-N.g⁻¹.d⁻¹) a maximální (18,60 μg N₂O-N.g⁻¹.d⁻¹) DK byly různé, ve většině studovaných půd se ve skutečnosti v průběhu tří let příliš nelišily. Dokládají to poměrně úzká variační rozpětí (minimální a maximální průměrné hodnoty) DK jednotlivých půd. U tak časově proměnlivého a prostorově heterogenního procesu, jakým denitrifikace bezesporu je (např. Folunso, Rolston, 1984; Parkin, 1987; Arah, 1990), by

IV. Denitrifikační kapacita v půdách na sledovaných stanovištích v jednotlivých pokusných letech a celkem za 3 roky; průměry ze 4 opakování (stanoviště Li, Cb, Hh, Kl, Hr, Lo, Me, St) a průměrné hodnoty ze všech půd, resp. variant hnojení (stanoviště Lb: 4 varianty, 4 opakování; stanoviště Ca, Po, Lu, Iv: 5 variant, 4 opakování); v závorkách směrodatné odchylky ($\mu\text{g N}_2\text{O-N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$) – Denitrification capacity in soils from different sites in individual years and totally in the whole 3 years; means from 4 replicates (sites Li, Cb, Hh, Kl, Hr, Lo, Me, St) and mean values of all studied soils and fertilization treatments, resp. (site Lb: 4 treatments, 4 replicates; sites Ca, Po, Lu, Iv: 5 treatments, 4 replicates); standard deviations in parentheses ($\mu\text{g N}_2\text{O-N g}^{-1} \text{ d}^{-1}$)

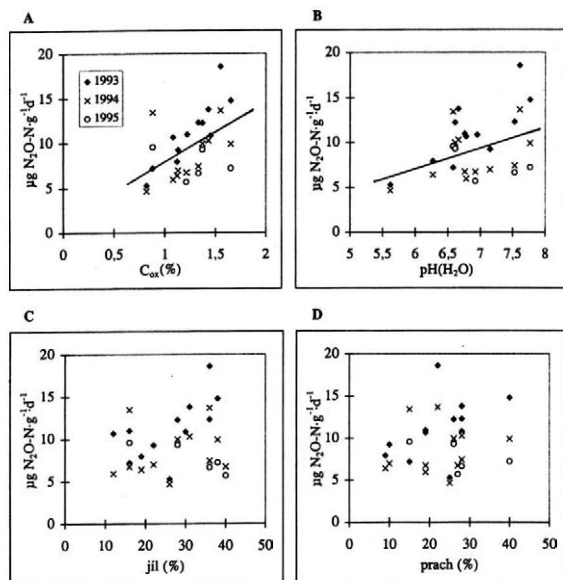
Stanoviště ¹	1993	1994	1995	Celkem ² 1993–1995 min–max
Li	5,30 (0,36)	4,68 (0,59)	–	4,68–5,30
Lb	6,75 (1,28)	9,52 (1,12)	7,59 (1,88)	4,39–13,38
Cb	10,66 (0,32)	5,96 (0,24)	–	5,96–10,66
Hh	7,96 (0,05)	6,42 (0,43)	–	6,42–7,96
Kl	9,26 (0,46)	6,99 (1,59)	–	6,99–9,26
Ca	–	7,30 (0,75)	6,67 (0,33)	5,71–10,04
Hr	10,97 (0,37)	6,75 (0,79)	–	6,75–10,97
Po	11,88 (0,73)	6,30 (0,64)	6,95 (0,42)	5,48–12,33
Lu	12,12 (0,61)	9,51 (1,25)	9,13 (0,28)	7,29–12,78
Lo	13,81 (0,36)	10,29 (1,34)	–	10,29–13,81
Me	10,85 (0,45)	–	–	10,85
St	18,60 (0,64)	13,69 (0,36)	–	13,69–18,60
Iv	15,07 (0,91)	9,70 (1,35)	8,40 (0,27)	7,16–15,74
Min–max	4,39–18,60	4,68–13,69	5,71–10,24	4,39–18,60
Počet půd ³	27	31	24	82

¹site, ²total, ³number of soils

se dala očekávat podstatně větší variabilita. Je však třeba mít na paměti, že DK představuje do značné míry potenciální denitrifikační aktivitu. Míra optimalizace podmínek, za nichž se DK měří, je značná a zahrnuje dva ze tří hlavních regulačních faktorů denitrifikace: vylučuje se negativní vliv O_2 (vzorky se inkubují v inertním heliu s přidávkou acetyleny) a měření probíhá za přebytku NO_3^- při poměrně vysoké teplotě. Vyšším stupněm optimalizace již může být jen přidávek lehkého dostupného C (např. glukózy – měření tzv. denitrifikačního potenciálu, Yeomans et al., 1992). Podobně postupovala řada autorů ve snaze stanovit potenciální denitrifikační schopnost půdy. Např. Struwe, Kjoller (1991) měřili potenciální denitrifikaci v půdní suspenzi obohacené KNO_3 a acetačem, Wilison, Anderson (1991) pak v půdních monolitech po jejich předchozím ponoření na 1 h do roztoku nitrátu nebo glukózy nebo postupně do obou roztoků, Jarvis, Hatch (1994) stanovovali potenciální denitrifikaci v půdě dovlhčené na 90 % polní vodní kapacity a obohacené roztokem nitrátu a glukózy.

Problematické je však vzájemné porovnávání publikovaných výsledků. Zatímco není sporu o tom, které faktory mají největší a bezprostřední vliv na denitrifikaci (O_2 , NO_3^- , C), konkrétní metodické postupy jejich optimalizace se liší, buď zásadně v tom, že některý regulační faktor pomíjejí, nebo v nejrůznějších detailech metodického postupu (velikost a typ vzorků, vlhkost vzorků, koncentrace přidávaných optimalizačních činidel, složení inkubační atmosféry, teplota a doba inkubace atd.). Zdá se, že vhodný metodický postup navrhli

Yeomans et al. (1992). Tímto postupem změřená DK představuje jakousi maximální, avšak stále ještě poměrně reálnou schopnost denitrifikační aktivity v půdě. Inkubující-li se paralelně vzorky navíc s přidávkou glukózy jako lehkého dostupného zdroje energie, měří se tzv. denitrifikační potenciál (DP). DP pak vyjadřuje maximální odpověď společenstva denitrifikátorů na optimální konstelaci tří nejdůležitějších kontrolních faktorů denitrifikace. K té asi reálně v půdě často (nebo vůbec) nedochází, přesto může mít takový parametr cennou vypovídací hodnotu o denitrifikačním potenciálu dané půdy. Údaje o velikosti DK uvedené v tab. IV pravděpodobně představují dosud nejobsáhlejší publikovanou informaci o potenciální denitrifikační aktivitě v půdách ČR. Korelační a regresní analýza vztahů mezi DK a půdními charakteristikami (obr. 1) ukázala statisticky průkaznou závislost mezi DK a obsahem C_{ox} v půdách. Tento výsledek je v souladu s literaturou (Iqbal, 1992; Pavel et al., 1996). Podobně byla zjištěna průkazná závislost DK na $\text{pH}(\text{H}_2\text{O})$ (obr. 1B), zatímco žádnou souvislost neměla DK s texturou studovaných půd (obr. 1C, D). O vztahu mezi půdní reakcí a denitrifikací není v literatuře mnoho informací, i když se má za to, že pH je jedním z důležitých faktorů ovlivňujících denitrifikační aktivitu. Optimální pro denitrifikaci v čistých kulturách denitrifikátorů je hodnota pH asi 7 až 8. Drury et al. (1991) však nenalezli žádný vztah mezi bazální, resp. potenciální denitrifikací a pH ve 13 různých půdách v Kanadě. K podobnému negativnímu výsledku dospěla Robertson (1994) při měření produkce N_2O ve 14 různých



1. Závislost denitrifikační kapacity na: A. obsahu uhlíku C_{ox} , B. $pH(H_2O)$, C. obsahu jílové frakce (pod 0,002 mm), D. obsahu prachové frakce (0,002–0,02 mm); rovnice přímek jsou: $y = 1,515 + 6,389 (C_{ox})$, $r^2 = 0,483^{**}$; $y = -7,108 + 2,405 (pH)$, $r^2 = 0,420^{*}$; do analýzy byly zahrnuty tyto půdy: Lb10, Lu14, Po14, Ca14 a Iv14 (1995), Cb, Hh, Kl, Hr, Li, Lo, St + stejné jako 1995 (1994), Me + stejné jako 1994, avšak bez Ca14 (1993), celkem $n = 29$ – Relationship between denitrification capacity and: A. C_{ox} content, B. $pH(H_2O)$, C. clay content (fraction below 0.002 mm), D. silt content (fraction 0.002–0.02 mm); equations of lines are as follows: $y = 1.515 + 6.389 (C_{ox})$, $r^2 = 0.483^{**}$; $y = -7.108 + 2.405 (pH)$, $r^2 = 0.420^{*}$; following soils were analysed: Lb10, Lu14, Po14, Ca14 and Iv14 (1995), Cb, Hh, Kl, Hr, Li, Lo, St + same as in 1995 (1994), Me + same as in 1994, but without Ca14 (1993), altogether $n = 29$

jíl – clay
prach – silt

ných půdách ve Švédsku. Naopak Bandibas et al. (1994) a Vermoesen et al. (1996) zjistili, že půdní pH bylo nejdůležitějším faktorem, ovlivňujícím celkovou produkci a emisi N_2O z půdy. Naše výsledky potvrzují existenci poměrně těsného vztahu mezi pH půdy a denitrifikační aktivitou.

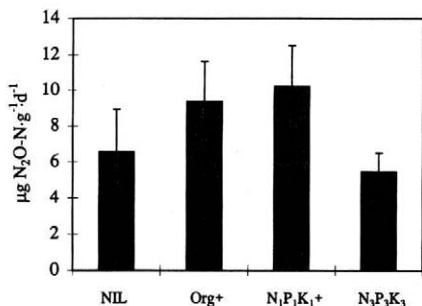
Vliv hnojení na denitrifikační kapacitu

Hnojení hnojem i v kombinaci s minerálními hnojivy vedlo ke zvýšení DK v půdě na stanovišti Libějovce (obr. 2, varianty org+ a $N_1P_1K_1$). Tento výsledek je v souladu s obecně přijatou představou o přímé závislosti emisí N_2O na intenzitě hnojení. Bowman (1996) po detailní analýze publikovaných údajů odvodil vztah mezi množstvím N aplikovaným v hnojivech (F ; $kg \cdot ha^{-1} \cdot rok^{-1}$) a celkovými přímými emisemi N_2O-N (E ; $kg \cdot ha^{-1} \cdot rok^{-1}$): $E = 1 + 0,0125F$. Ze vztahu vyplývá, že v průměru na každých 100 kg N v hnojivech připadá 2,25 kg N v emisích. Uvedený odhad však nezahrnuje emisi N_2 ani dalších plynů forem N, nebere v úvahu použitý druh hnojiva a zřejmě podhodnocuje celkové ztráty N z půdy denitrifikací. V našem případě nebyl oproti očekávání zjištěn u nejvíce hnojené varianty ($N_3P_3K_3$) další nárůst DK, ale naopak zcela evidentní pokles. DK v této půdě byla dokonce nižší než v půdě nehnojené (obr. 2). Tento na první pohled těžko vysvětlitelný výsledek souvisí nepochybně se změnami v půdě, vyvolanými dlouhodobou aplikací vysokých dávek minerálních hnojiv. Jak vyplývá z tab. III, v půdě intenzivně hnojené a nevápněné varianty 12 oproti stejné hnojené, avšak vápněné variantě 11 došlo ke zřetelnému poklesu

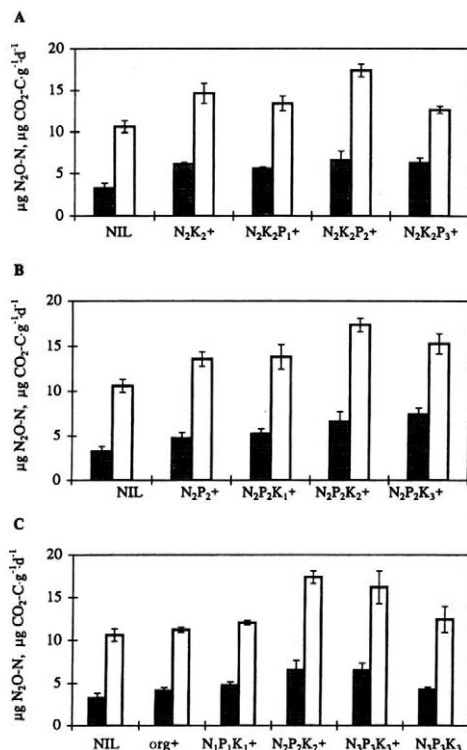
pH. V nevápněné půdě je i nižší obsah C_{ox} a nižší obsah dvojmocných kationtů Mg^{2+} a Ca^{2+} . Změny v chemismu půd a zřejmě zejména snížení pH přímo nebo nepřímo ovlivnily společenstvo denitrifikátorů a měly za následek snížení potenciální schopnosti denitrifikace. Výsledek je v souladu se zjištěným vztahem mezi DK a pH půd (obr. 1B).

Detailnější pohled na souvislost DK s intenzitou hnojení nabízí obr. 3, kdy DK byla měřena jednorázově ve všech 12 variantách hnojení. Hnojení P (obr. 3A) zvýšilo DK v půdě oproti nehnojené variantě, avšak rostoucí dávka P nevedla k jednoznačně se zvyšující DK. Naproti tomu zvyšující se dávka K při středním N a P hnojení zvyšovala DK. Příčina takového vlivu K na DK není vysvětlena ani v literatuře. Působení K na denitrifikační aktivitu může být přímé i nepřímé. Watson et al. (1994) analogicky zjistili těsný vztah mezi aktivitou denitrifikačních enzymů a obsahem výměnného Mg^{2+} v půdě, aniž by mohli nabídnout jednoznačné vysvětlení této závislosti. Vliv Mg^{2+} byl však spíše nepřímý. Zvyšující se intenzita NPK hnojení vedla k rostoucí DK. Maximální DK byla zjištěna v půdě variant $N_2P_2K_2$ a $N_3P_3K_3$ (obr. 3C). Podobně jako při opakovaném šetření v letech 1994 až 1995 (obr. 2) byl i v tomto jednorázovém měření zjištěn pokles DK v půdě intenzivně hnojené nevápněné varianty $N_3P_3K_3$.

Výsledky měření DK v půdách ukazují, že denitrifikace může být ovlivněna různými fyzikálně-chemickými vlastnostmi půd. Kromě obsahu C_{ox} je významným regulačním faktorem denitrifikace půdní pH. Na potenciální denitrifikaci má zásadní vliv též hnojení. Kromě přímého působení N hnojení má rovněž uplatnit i vliv dalších živin, např. K. Mechanismus tohoto vlivu však je prozatím nejasný.



2. Denitrifikační kapacita v půdě čtyř různých hnojených variant polního pokusu v Libějovicích; průměrné hodnoty a směrodatné odchylky celkem z 9 měření v období 1994 až 1995 ($n = 9 \times 4$, tj. 36), označení variant viz tab. II – Denitrification capacity in four differently fertilized plots at Libějovice site; means and standard deviations from 9 measurements in 1994 to 1995 ($n = 9 \times 4$, i.e. 36), for abbreviations see Tab. II



3. Denitrifikační kapacita v půdě 12 různých hnojených variant polního pokusu v Libějovicích (A. vliv P, B. vliv K, C. vliv NPK); průměrné hodnoty a směrodatné odchylky ze 4 opakování; označení variant viz tab. II (N₂O: šrafované sloupce, CO₂: prázdné sloupce) – Denitrification capacity in 12 differently fertilized plots at Libějovice site (A. effect of P, B. effect of K, C. effect of NPK); means and standard deviations from 4 replicates; for abbreviations see Tab. II (N₂O: filled columns, CO₂: empty columns)

Poděkování

Autor děkuje pracovníkům ÚKZÚZ, zejména J. Hruškovi, Ing. K. Trávníkovi a RNDr. J. Staňovi, za umožnění odběrů vzorků z polních pokusů a za provedení některých chemických analýz, dále pracovníkům VÚRV Praha-Ruzyně, zvláště Ing. P. Růžkovi, CSc., za vřelou pomoc s odběry půdních vzorků.

Práce byla realizována částečně díky podpoře GA ČR (projekt č. 206/96/0169 *Mikrobiální aspekty emisí oxidu uhličitého, oxidu dusného a metanu z orných půd*).

LITERATURA

- ARAH, J. R. M.: Modelling spatial and temporal variability of denitrification. *Biol. Fert. Soils*, 9, 1990: 71–77.
- BAIER, J.: 35 let dlouhodobých stacionárních výživářských pokusů v Čechách, na Moravě a na Slovensku. *Rostl. Vyr.*, 39, 1993: 1149–1151.
- BANDIBAS, J. – VERMOESEN, A. – GROOT, C. J. DE – CLEMPUT, O. VAN: The effect of different moisture regimes and soil characteristics on nitrous oxide emission and consumption by different soils. *Soil Sci.*, 158, 1994: 106–114.
- BOWDEN, W. B.: Gaseous nitrogen emissions from undisturbed terrestrial ecosystems: an assessment of their impacts on local and global nitrogen budgets. *Biogeochemistry*, 2, 1986: 249–279.
- BOUWMAN, A. F.: Soils and the greenhouse effect. New York, Wiley 1990. 298 s.
- BOUWMAN, A. F.: Direct emission of nitrous oxide from agricultural soils. *Nutr. Cyc. Agroecos.*, 46, 1996: 53–70.
- CICERONE, R. J.: Changes in stratospheric ozone. *Science*, 237, 1987: 35–42.
- CRUTZEN, P.: Atmosphere chemical processes of the oxides of nitrogen, including nitrous oxide. In: DELWICHE, C. C. (ed.): Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide. New York, Wiley 1981: 17–44.
- DRURY, C. F. – MCKENNEY, D. J. – FINDLAY, W. I.: Relationships between denitrification, microbial biomass and indigenous soil properties. *Soil Biol. Biochem.*, 23, 1991: 751–755.
- FOLORUNSO, O. A. – ROLSTON, D. E.: Spatial variability of field-measured denitrification gas fluxes. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 48, 1984: 1214–1219.
- GRANLI, T. – BOCKMAN, O. C.: Nitrous oxide from agriculture. *Norw. J. Agric. Sci. Suppl.*, 12, 1994: 128.
- IQBAL, M. M.: Potential rates in two field soils in southern England. *J. Agric. Sci.*, 118, 1992: 223–227.
- JARVIS, S. C. – HATCH, D. J.: Potential for denitrification at depth below long-term grass swards. *Soil Biol. Biochem.*, 26, 1994: 1629–1636.
- KRÁLOVÁ, M. – RŮŽEK, P. – KREJČOVÁ, J.: Denitrifikace v hnědé půdě. *Rostl. Vyr.*, 43, 1997: 457–462.
- KRÁLOVÁ, M. – RŮŽEK, P. – KREJČOVÁ, J.: Denitrifikace v hnědozemí. *Rostl. Vyr.*, 44, 1998: 25–30.
- MATSON, P. A. – VITOUSEK, P. M.: Ecosystem approach to a global nitrous oxide budget. *Bioscience*, 40, 1990: 667–675.

- MOSIER, A. R.: Nitrous oxide emissions from agricultural soils. *Fertil. Res.*, 37, 1994: 191–200.
- MOSIER, A. R. – SCHIMMEL, D. S.: Influence of agricultural nitrogen on atmospheric methane and nitrous oxide. *Chem. Ind.*, 23, 1991: 874–877.
- MUNZAROVÁ, M. – TESÁŘÍK, K. – ŮLEHLOVÁ, B.: Vliv vlhkosti na velikost ztrát dusíku denitrifikací z luční půdy. *Rostl. Výr.*, 29, 1983: 677–689.
- PARKIN, T. B.: Soil microsites as a source of denitrification variability. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 51, 1987: 1194–1199.
- PAVEL, E. W. – RENEAU, R. B. jr. – BERRY, D. F. – SMITH, E. P. – MOSTAGHIMI, S.: Denitrification potential of nontidal riparian wetland soils in the Virginia coastal plain. *Wat. Res.*, 30, 1996: 2798–2804.
- ROBERTSON, K.: Nitrous oxide emission in relation to soil factors at low to intermediate moisture levels. *J. Envir. Qual.*, 23, 1994: 805–809.
- STRUWE, S. – KJOLLER, A.: Denitrification in wet forest soil systems in situ and in slurry experiments. *For. Ecol. Mgmt.*, 44, 1991: 41–52.
- ŠIMEK, M. – KROMKA, M.: Denitrifikace jako parametr biologické aktivity půdy. *Rostl. Výr.*, 39, 1993: 797–804.
- TIEDJE, J. M.: Denitrification. In: PAGE, A. L. – MILLER, R. H. – KEENEY, D. R. (eds): *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*. 2 ed. Agron. Monogr. No 9, Madison, Wis., USA, ASA-SSSA 1982: 1011–1026.
- ŮLEHLOVÁ, B.: Stanovení denitrifikace půdy metodou acetylenové inhibice redukce N_2O na N_2 . In: RYCHNOVSKÁ, M. (ed.): *Metody studia travinných ekosystémů*. Praha, Academia 1987: 242–245.
- VERMOESEN, A. – GROOT, C. J. DE – NOLLET, L. – BOECKX, P. – CLEEMPUT, O. VAN: Effect of ammonium and nitrate application on the NO and N_2O emission out of different soils. *Pl. Soil*, 181, 1996: 153–162.
- WATSON, C. J. – JORDAN, C. – ALLEN, M. D. B.: Relationships between denitrifying enzyme activity and soil properties. *Biology and Environment. Proc. Roy. Ir. Acad.*, 94B, 1994: 237–244.
- WILLISON, T. W. – ANDERSON, J. M.: Denitrification potentials, controls and spatial patterns in a Norway spruce plantation. *For. Ecol. Mgmt.*, 44, 1991: 69–76.
- YEOMANS, J. C. – BREMNER, J. M. – McCARTY, G. W.: Denitrification capacity and denitrification potential of sub-surface soils. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.*, 23, 1992: 919–927.
- ZBÍRAL, J.: *Analýza půd. Jednotné pracovní postupy*. Brno, SKZÚZ 1995.

Došlo 19. 3. 1998

Kontaktní adresa:

Ing. Miloslav Šimek, CSc., Ústav půdní biologie AV ČR; Jihočeská univerzita, Biologická fakulta, Na sádkách 7, 370 05 České Budějovice, Česká republika, tel.: 038/422 60, fax: 038/410 01, e-mail: misim@upb.cas.cz

DENITRIFIKACE V HNĚDOZEMI S MINIMÁLNÍM ZPRACOVÁNÍM PŮDY

DENITRIFICATION IN ORTHIC LUVISOLS WITH MINIMUM SOIL TREATMENT

M. Králová, P. Růžek

Research Institute of Crop Production, Praha-Ruzyně, Czech Republic

ABSTRACT: Soil redox intensity effects of denitrification/nitrification on the soil cores of orthic Luvisols were observed. The soil cores were sampled in the arable soil treated by the non-tillage techniques with the disc machine John Deere. After full water saturation of soil cores, the variant A was enriched with glucose (5 mg C/100 g dry soil), the variant B was enriched with glucose (5 mg C/100 g dry soil) and KNO_3 (5 mg $\text{NO}_3\text{-N}/100$ g dry soil). The soil cores were incubated during 26 days at temperature 20 to 22 °C. The experiments were treated with acetylene (1% vol.) repeatedly (three times) to depress the N_2O -reductase activity. Amounts of $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, N_2O , CO_2 , extractable C_{ox} , redox potentials and pH showed the low N_2O production in the variant A containing a low amount of nitrates. Limiting factors were a low amount of extractable C_{ox} and a low content of oxygen during 26-day incubation. The variant B enriched with nitrates produced a higher emission of N_2O on account of the higher content of nitrates created from the added nitrates as well as from the nitrification process. A content of extractable C_{ox} as well as the amount of oxygen limited the stage of denitrification in the full water saturated soil system. Redox potentials documented very well the alternating denitrification and nitrification processes.

nitrification; orthic Luvisols; nitrates; nitric oxide; redox potential; extractable C_{ox}

ABSTRAKT: Byly sledovány oxidačně-redukční procesy denitrifikace a nitrifikace v půdních monolitech hnědozemí, které byly odebrány z honu s ozimou pšenici, setou bezorebným kotoučovým strojem John Deere, a plně nasyceny vodou. Varianta (A) byla obohacena glukózou (5 mg C/100 g sušiny půdy) a varianta (B) glukózou (5 mg C/100 g sušiny půdy) a KNO_3 (5 mg $\text{NO}_3\text{-N}/100$ g sušiny půdy). Monolity byly inkubovány při teplotě 20 až 22 °C po dobu 26 dnů. Obě varianty byly opakovaně ošetřeny (třikrát) acetylenem (1% obj.) k potlačení aktivity N_2O -reduktázy. Stanovení obsahu $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, N_2O , CO_2 , extrahovatelného C_{ox} , Eh a pH ukázalo, že varianta A obohacená glukózou produkovala nízké emise N_2O , a to do vyčerpání dusičnanů. Limitujícím faktorem bylo malé množství extrahovatelného C_{ox} a nízká koncentrace kyslíku. U varianty B, která byla obohacena glukózou a KNO_3 , byla zaznamenána vyšší produkce N_2O vzhledem k nitrátům, a to dodaným i vzniklým nitrifikací. Limitujícím faktorem bylo množství extrahovatelného C_{ox} a obsah kyslíku. Množství CO_2 odpovídalo mikrobiologickým podmínkám v půdě plně nasycené vodou. Hodnoty redox potenciálů dokumentovaly střídání denitrifikace a nitrifikace.

nitrifikace; hnědozem; dusičnany; oxid dusný; redox potenciál; extrahovatelný C_{ox}

ÚVOD

Struktura půdy a její pórovitost jsou vedle obsahu vody, nitrátů a C_{ox} důležitými faktory, které ovlivňují denitrifikační procesy v půdě. Oxid dusný, unikající ze slabě aerované půdy, patří mezi plynné produkty, které se podílejí na skleníkovém efektu (Bouwman, 1990) a poškozují stratosférický ozon (Crutzen, 1981). Denitrifikaci pozorujeme, jsou-li nitráty přítomny v anaerobních mikrozonách, ve kterých nedostatek kyslíku pro půdní mikroflóru převyšuje jeho zásoby zprostředkované difúzí (Arah, Smith, 1989). Tento případ nastane, je-li difúze kyslíku omezoována vodou v centrech půdních agregátů (Smith, 1980) nebo v půdě bez struktury, ale nasycené vodou (Arah, 1988), tedy také tam, kde je lokální nedostatek kyslíku výjimečně vysoký (Parkin, 1987).

Řešení této problematiky navazuje na výsledky našich předcházejících pokusů s emisemi N_2O z půdních suspenzí naplavených jílovitých půd (Králová et al., 1991), resp. na modelové pokusy s hnědozemí (Králová et al., 1998) a hnědou půdou (Králová et al., 1997). V předložené práci jsou shrnuty výsledky sledování denitrifikace v monolitech hnědozemí odebraných v přirozených polních podmínkách s minimálním zpracováním půdy a následně inkubovaných v laboratoři.

MATERIÁL A METODA

Odběr vzorků

Vzorky monolitů hnědozemí (průměr 7 cm, výška 20 cm) byly odebrány v listopadu 1997 z honu s ozi-

mou pšenici, zasetou 8. 10. 1997 bezorebným kotoučovým secím strojem John Deere. Předplodinou byla vjetška, která byla 23. 9. 1997 (10 dní po třetí seči) ošetřena herbicidem Roundup. Bylo použito 10 monolitů a zároveň byly odebrány půdní vzorky pro stanovení fyzikálních charakteristik a hydrolimitů půdy.

Inkubace monolitů

Monolity půdy v novodurových válcích byly opatřeny silonovou sítkou na spodní části nádoby a vloženy do skleněných lahví (objem 3500 ml). Půda byla vzliáním plně nasycena vodou. Do každého válce byla přidána glukóza (5 mg C/100 g sušiny půdy) a do jedné ze sledovaných variant (B) také KNO₃ (5 mg N/100 g sušiny půdy). Varianta A nebyla obohacena nitráty. Nádoby byly uzavřeny gumovou zátkou a utěsněny silikonovým tmelem. Inkubace probíhala 26 dnů při teplotě 20 až 22 °C. První odběr plynů byl proveden po 6 dnech inkubace, další po 7, 12, 15, 20, 22 a 26 dnech inkubace. Vzorky zeminy byly odebrány po 15, 22 a 26 dnech inkubace.

Fyzikální a chemické metody

Byla stanovena objemová hmotnost, redukováná objemová hmotnost, měrná hmotnost, pórovitost, objem kapilárních a nekapilárních pórů a vodní kapilární kapacita (Králová et al., 1990). Tyto parametry jsou uvedeny v tab. I.

Obsahy NH₄-N, NO₃-N, NO₂-N v půdě byly stanoveny průtokovým analyzátozem FIA STAR 5020 z půdních extraktů s 1% K₂SO₄ (poměr zeminy a extrakčního činidla byl 1 : 5). Extrahovatelný C_{ox}, získaný z půdního extraktu 1% K₂SO₄, byl změněn potenciometrickou titrací (Krejčová et al., 1996).

Vzorky plynů o objemu 4 ml byly odebrány z horního prostoru skleněné nádoby. V plynných vzorcích byly změněny koncentrace N₂O, CO₂ a O₂ plynovým chromatografem Hewlett Packard 5890 A za použití ECD a TCD detektorů (Šimek, Kromka, 1993; Šimek, 1998).

V tab. I a II a na obr. 1 až 5 jsou uvedeny výsledky analýz přepočítané na 100 g sušiny půdy. Redox potenciál Eh byl změněn v půdní pastě pomocí Pt elektrody kombinované s kalomelovou (Králová, 1992). Hod-

noty pH byly měřeny skleněnou elektrodou ve vodním výluhu (1 : 2,5).

Statistické vyhodnocení bylo realizováno z 18 opakování pro všechny udané hodnoty metodou standardní odchylky (SD) a korelačním koeficientem (r).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Emise N₂O z půdních monolitů hnědozemě po 26 dnech inkubace jsou znázorněny na obr. 1. Emise N₂O byly relativně nízké ve variantě A (bez přidavku KNO₃). První emise N₂O se objevily po 7 dnech inkubace a byly pozorovány až do 22. dne inkubace. Maximálních hodnot dosáhla produkce N₂O po 20. dnu inkubace (0,15 mg N₂O-N/100 g sušiny půdy) ve variantě A. Tyto hodnoty byly analyzovány s relativní chybou 0,1 %. Po 22 dnech inkubace již nedocházelo k emisím N₂O, ani když byl do systému opakovaně přidán acetylen. Lze konstatovat, že nitráty byly redukovány až do jejich vyčerpání (obr. 2). Nitrifikace jako zdroj dusičnanů byla velmi nízká (obr. 3). Redox potenciál postupně klesal (22 dnů) až na hodnotu 255 mV (tab. II). Pokračující inkubace indikovala nitrifikaci (Eh 348 mV), kterou lze dokumentovat i mírným nárůstem obsahu nitrátů v závěru experimentu (0,05 mg NO₃-N/100 g sušiny půdy po 26 dnech inkubace).

I. Fyzikálně-chemické charakteristiky hnědozemě v půdním monolitu – Physical and chemical characteristics of orthic Luvisols in the soil cores (Praha-Ruzyně)

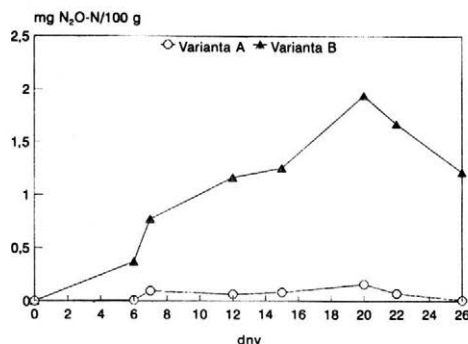
Sušina ¹ (105 °C)	86,25 %
Specifická hmotnost ²	2,54 g.cm ⁻³
Vodní kapilární kapacita ³	31,03 %
Pórovitost ⁴	32,28 % obj. ⁹
Kapilární póry ⁵	17,88 % obj.
Nekapilární póry ⁶	14,40 % obj.
Objemová hmotnost ⁷	1,71 g.cm ⁻³
Redukovaná objemová hmotnost ⁸	1,47 g.cm ⁻³
pH (H ₂ O)	7,2
C _{ox}	1,19 %

¹dry soil, ²specific weight, ³water holding capacity, ⁴porosity, ⁵water filled pore space, ⁶air filled pore space, ⁷bulk density, ⁸reduced bulk density, ⁹volume

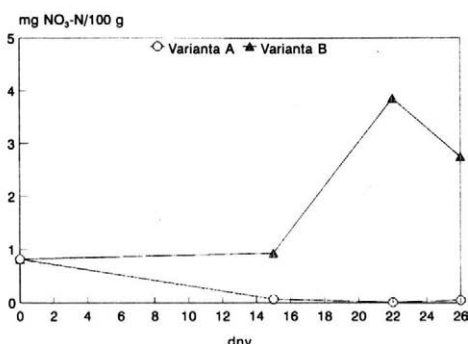
II. Množství kyslíku, dusitanů a hodnoty redox potenciálů v monolitech hnědozemě během inkubace (20–22 °C); varianta A bez přidavku KNO₃, varianta B s přidavkem KNO₃ – Amounts of oxygen, nitrites and redox potential values in incubated soil cores (20–22 °C); variant A without KNO₃ addition, variant B with KNO₃ addition

Inkubace ¹ (dny ³)	O ₂ (% obj. ²)		NO ₂ -N (μg/100 g)		Eh (mV)	
	A	B	A	B	A	B
0	13,00	13,00	0,002	0,002	380	380
15	11,11	10,23	0,002	0,003	270	357
22	6,36	9,57	0,002	0,003	255	295
26	5,28	10,05	0,001	0,003	348	346

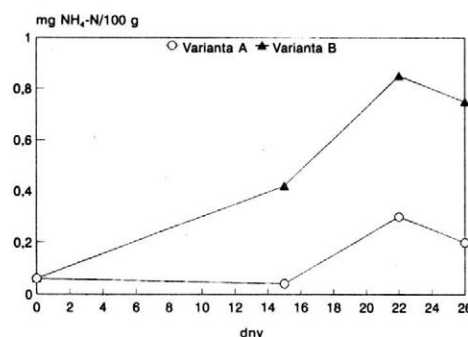
¹incubation, ²volume, ³days



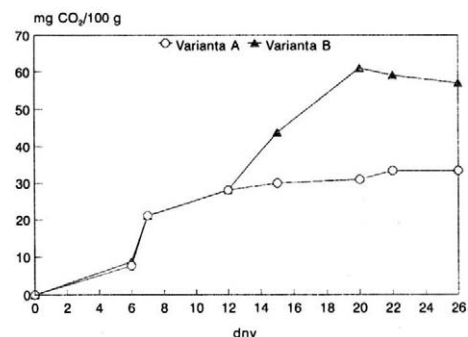
1. Obsah $\text{N}_2\text{O-N}$ v monolitu hnědozemě během 26denní inkubace (20–22 °C); varianta A (obohacená 5 mg C) a varianta B (obohacená 5 mg C a 5 mg $\text{NO}_3\text{-N}$) – Content of $\text{N}_2\text{O-N}$ in cores of orthic Luvisols during 26-day incubation (20–22 °C); variant A (enriched with 5 mg C) and variant B (enriched with 5 mg C and 5 mg $\text{NO}_3\text{-N}$)



2. Obsah $\text{NO}_3\text{-N}$ v monolitu hnědozemě během 26denní inkubace (20–22 °C); varianta A (obohacená 5 mg C) a varianta B (obohacená 5 mg C a 5 mg $\text{NO}_3\text{-N}$) – Content of $\text{NO}_3\text{-N}$ in cores of orthic Luvisols during 26-day incubation (20–22 °C); variant A (enriched with 5 mg C) and variant B (enriched with 5 mg C and 5 mg $\text{NO}_3\text{-N}$)



3. Obsah $\text{NH}_4\text{-N}$ v monolitu hnědozemě během 26denní inkubace (20–22 °C); varianta A (obohacená 5 mg C) a varianta B (obohacená 5 mg C a 5 mg $\text{NO}_3\text{-N}$) – Content of $\text{NH}_4\text{-N}$ in cores of orthic Luvisols during 26-day incubation (20–22 °C); variant A (enriched with 5 mg C) and variant B (enriched with 5 mg C and 5 mg $\text{NO}_3\text{-N}$)

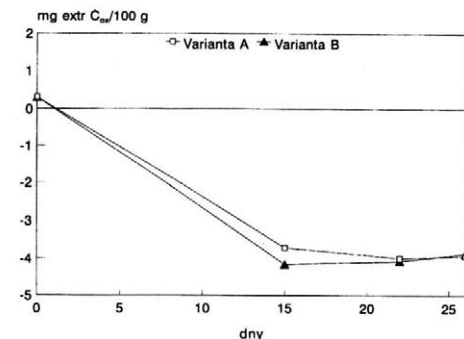


4. Kumulační křivka CO_2 monolitu hnědozemě během 26denní inkubace (20–22 °C); varianta A (obohacená 5 mg C) a varianta B (obohacená 5 mg C a 5 mg $\text{NO}_3\text{-N}$) – Cumulative curve of CO_2 of cores of orthic Luvisols during 26-day incubation (20–22 °C); variant A (enriched with 5 mg C) and variant B (enriched with 5 mg C and 5 mg $\text{NO}_3\text{-N}$)

U varianty B s přidávkou KNO_3 došlo k výraznému zvýšení produkce N_2O (obr. 1). Maxima emisí bylo dosaženo po 20 dnech inkubace (1,9 mg $\text{N}_2\text{O-N}/100\text{ g}$ sušiny půdy). Pokračující inkubací se emise N_2O snižovaly. Opakovaná aplikace acetyleny potlačovala rozpad oxidu dusného na N_2 . Hodnota redox potenciálu 295 mV (tab. II) sice indikovala redukční prostředí, ale v kombinaci s klesajícími hodnotami N_2O (obr. 1) a zvyšujícím se množstvím nitrátů (obr. 2) postupně docházelo ke změnám redukčního prostředí na oxidační. Nastupující nitrifikaci dokumentovalo zvýšení hodnot redox potenciálu (346 mV) stejně jako postupné zvyšování množství $\text{NH}_4\text{-N}$ a jeho následná oxidace na $\text{NO}_3\text{-N}$ (obr. 3). Hodnoty Eh byly měřeny s chybou $\pm 25\text{ mV}$. Z literatury (Bohn, 1971) je známo, že hodnoty redox potenciálů charakterizují anaerobní a aerobní podmínky v půdě. Ob-

last hodnot Eh mezi 200 a 400 mV odpovídá střídajícím se oxidačně-redukčním procesům, což potvrzují i naše výsledky.

Velmi důležitou roli měl v našich pokusech vysoký stupeň utužení půdy (tab. I) a obsahy kyslíku (tab. II). V hnědozemí s konvenčním zpracováním půdy (podmítka, orba) byla zjištěna objemová hmotnost 1,44 g cm^{-3} (Králková et al., 1998) s obsahem kyslíku 18 % obj. V monolitu s utuženou hnědozemí po bezorebném seti ozimé pšenice byla zjištěna objemová hmotnost 1,7 g cm^{-3} a obsah kyslíku 13 % obj. Během inkubace klesaly obsahy kyslíku až na 6 % obj., což v monolitu vytvořilo anaerobní podmínky. Arah et al. (1991) studovali závislost denitrifikace na hloubce půdního profilu a produkci N_2O a zjistili, že koncentrace N_2O byla vyšší ve 20 cm než v 5 cm půdního profilu. Ve 40 cm půdního profilu zjistili jen nepatrné



5. Obsah extrahovatelného C_{ox} v monolitu hnědozemě během 26denní inkubace (20–22 °C); varianta A (obohacená 5 mg C) a varianta B (obohacená 5 mg C a 5 mg NO_3-N) – Content of extractable C_{ox} in cores of orthic Luvisols during 26-day incubation (20–22 °C); variant A (enriched with 5 mg C) and variant B (enriched with 5 mg C and 5 mg NO_3-N)

Hodnoty C_{ox} z přidání glukózy byly eliminovány – Values of C_{ox} from glucose addition were eliminated

zvýšení množství N_2O . Tyto emise byly ovlivněny i způsobem zpracování půdy.

K půdním charakteristikám je třeba přidat i pórovitost půdy. Ve sledovaných půdních monolitech byly naměřeny hodnoty vodní kapilární kapacity 31 % a poměr kapilárních a nekapilárních pórů byl 3 : 2 (tab. I). Tyto hodnoty byly nižší než hodnoty, které byly u hnědozemě s konvenčním zpracováním (Králová et al., 1998). Loro et al. (1997) sledovali závislost mezi denitrifikací a pórovitostí půdy a zjistili, že dostatek kyslíku, nitrátů a využitelného uhlíku limituje denitrifikaci, podobně jako množství přítomné vody ovlivňuje difuzi O_2 .

Po zhodnocení korelujících faktorů, kterými byly koncentrace nitrátů, extrahovatelného C_{ox} , množství kyslíku, emise N_2O a nízká pórovitost půdy, předpokládáme současný výskyt aerobních a anaerobních mikroorganismů. Docházelo nejen k emisím N_2O v důsledku redukce nitrátů, ale i k tvorbě nitrátů v důsledku nitrifikace. Vodní kapilární kapacita a pórovitost ovlivňovaly rychlost výměny vzduchu v centrech půdních agregátů i mezi agregáty. K podobnému závěru došli také Zanner, Bloom (1995).

Obsahy nitrátů byly velmi nízké a pohybovaly se v rozmezí 0,001 až 0,004 $\mu g NO_3-N/100 g$ sušiny půdy (tab. II). Hodnoty pH se pohybovaly v intervalu 6,9 až 7,4.

Mikrobiální aktivita kontrolovaná produkcí CO_2 (obr. 4) odpovídala dobré respirační aktivitě hnědozemě plně nasycené vodou. Pro aktivaci mikrobiální činnosti byla dodána glukóza (5 mg C/100 g sušiny půdy) na počátku inkubačního pokusu do obou variant (A i B). Z obr. 4 je patrné, že produkce CO_2 byla vyšší u varianty B (obohacené KNO_3), kde byl také zjištěn vyšší obsah kyslíku (tab. II) a vyšší hodnoty redox potenciálu (tab. II).

V konvenčně zpracované hnědozemě byly nalezeny hodnoty celkového C_{ox} 1,19 % hm. (Králová et al., 1998), přičemž podíl extrahovatelného C_{ox} činil 2 % celkového obsahu C_{ox} . V monolitech hnědozemě nekonvenčně zpracované bylo množství extrahovatelného C_{ox} 10krát nižší (obr. 5). Přidaná glukóza byla využita půdní mikroflórou k tvorbě CO_2 a velmi málo ovlivnila obsahy extrahovatelného C_{ox} . Z obr. 5 je zřejmé, že extrahovatelný C_{ox} byl vyčerpán po 15 dnech inkubace, což bylo v souladu s emisemi N_2O v monolitu. V dalších dnech inkubace se nezvýšily emise N_2O , naopak převládaly nitrifikační procesy. Yeomans et al. (1992) zjistili, že nízká denitrifikační rychlost v hlubších částech půdního profilu nemusí být způsobena pouze nepřítomností denitrifikačních bakterií, ale i nedostatečným množstvím využitelného organického uhlíku, využívaného mikroflórou pro redukci nitrátů. McCarty, Bremner (1992) studovali počty denitrifikačních bakterií v půdním profilu 150 až 200 cm a zjistili, že rychlost denitrifikace klesá s hloubkou profilu. Byl-li však do spodních vrstev půdy přidán snadno metabolizovatelný uhlík, pak byla denitrifikace zaznamenána.

ZÁVĚR

Inkubace (20 až 22 °C) vodou nasycených půdních monolitů, které byly odebrány z hnědozemě s bezorebným setím ozimé pšenice po vojtěšce, prokázaly možnost současně probíhající denitrifikace a nitrifikace. U varianty A (neobohacené KNO_3) byly nitráty redukovány do svého vyčerpání a výsledkem byly nízké emise N_2O . Limitujícím faktorem anaerobního procesu byl nízký obsah nejen nitrátů, ale i extrahovatelného C_{ox} a nízký obsah kyslíku jako důsledek vysoké utuženosti půdy a nedostatečné difuze O_2 . Současně probíhající nitrifikace měla za následek produkci malého množství nitrátů. Těmto oxidačně-redukčním procesům odpovídaly střídající se hodnoty redox potenciálů. Vzájemná závislost emisí N_2O a obsahu extrahovatelného C_{ox} měla korelační koeficient 0,89.

U varianty B obohacené KNO_3 se zvýšila produkce N_2O . Denitrifikací byly redukovány nejen dodané nitráty, ale i nitráty vzniklé nitrifikací. Limitujícím faktorem bylo množství extrahovatelného C_{ox} a nižší obsah kyslíku. Korelační faktor pro tento vzájemný vztah byl 0,91. Hodnoty redox potenciálu ukazovaly na střídání procesů denitrifikace a nitrifikace.

Poděkování

Analýzy plynů provedl, stejně jako při předchozích experimentech (Králová et al., 1997, 1998), Ing. M. Šimek, CSc., z Ústavu půdní biologie AV ČR v Českých Budějovicích a byly umožněny díky finanční podpoře grantu GA ČR *Mikrobiální aspekty emisí oxidu uhlíkového, oxidu dusného a metanu z orných půd*, reg. č. 206/96/0169.

Výsledky byly získány při řešení projektu MZe ČR
č. EP 096/000/64/77.

LITERATURA

ARAH, J. R. M.: Modelling denitrification in aggregated and structureless soils. In: JENKINSON, D. S. – SMITH, K. A. (eds): Nitrogen efficiency in agricultural soils. London, Elsevier 1988: 433–444.

ARAH, J. R. M. – SMITH, K. A.: Steady-state denitrification in aggregated soils: A mathematical model. *J. Soil Sci.*, 40, 1989: 139–149.

ARAH, J. R. M. – SMITH, K. A. – CRICHTON, T. J. – LI, H. S.: Nitrous oxide production and denitrification in Scottish arable soils. *J. Soil Sci.*, 43, 1991: 351–367.

BOHN, H. L.: Redox potentials. *Soil Sci.*, 112, 1971: 39–41.

BOUWMAN, A. F. (ed.): Soils and the greenhouse effect. Chistors, John Wiley 1990.

CRUTZEN, P. J.: Atmospheric chemical process of the oxide of nitrogen, including nitrous oxide. In: DELWICHE, C. C. (ed.): Denitrification, nitrification, and atmospheric nitrous oxide. New York, John Wiley 1981: 17–44.

KRÁLOVÁ, M.: Měření oxidačně-redukčních potenciálů v půdě. *Rostl. Výr.*, 38, 1992: 39–46.

KRÁLOVÁ, M. a kol.: Vybrané metody chemické analýzy půd a rostlin. Studie 12. Praha, Academia 1990: 26–44.

KRÁLOVÁ, M. – MASSCHELEYN, P. H. – LINDAU, C. W. – PATRICK, W. H. jr.: Production of dinitrogen and nitrous oxide in soil suspensions as affected by redox potential. *Wat. Air. Soil. Pollut.*, 61, 1991: 37–45.

KRÁLOVÁ, M. – RŮŽEK, P. – KREJČOVÁ, J.: Denitrifikace v hnědé půdě. *Rostl. Výr.*, 43, 1997: 457–462.

KRÁLOVÁ, M. – RŮŽEK, P. – KREJČOVÁ, J.: Denitrifikace v hnědozemí. *Rostl. Výr.*, 44, 1998: 25–30.

KREJČOVÁ, J. – KRÁLOVÁ, M. – RŮŽEK, P. – ZIKOV, I.: Stanovení půdního uhlíku titračně a potenciometricky. *Rostl. Výr.*, 42, 1996: 115–117.

LORO, P. J. – ERGSTROM, D. W. – BEAUCHAMP, E. G.: Intensity and duration of denitrification following application of manure and fertilizer to soil. *J. Envir. Qual.*, 26, 1997: 706–713.

MCCARTY, G. W. – BREMNER, J. M.: Availability of organic carbon for denitrification of nitrate in subsoils. *Biol. Fertil. Soils*, 4, 1992: 219–222.

PARKIN, T. B.: Soil microsites as a source of denitrification variability. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 57, 1987: 1194–1199.

SMITH, K. A.: A model of the extent of anaerobic zones in aggregated soils, and its potential application to estimates of denitrification. *J. Soil Sci.*, 31, 1980: 263–277.

ŠIMEK, M.: Vliv hnojení a půdních vlastností na denitrifikaci ve vybraných orných půdách ČR. *Rostl. Výr.*, 44, 1998: 395–402.

ŠIMEK, M. – KROMKA, M.: Denitrifikace jako parametr biologické aktivity půdy. *Rostl. Výr.*, 39, 1993: 797–804.

YEOMANS, J. C. – BREMNER, J. M. – MCCARTY, G. W.: Denitrification capacity and denitrification potential of sub-surface soils. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.*, 23, 1991: 919–927.

ZANNER, C. W. – BLOOM, P. R.: Mineralization, nitrification, and denitrification in Histosols of Northern Minnesota. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 59, 1995: 1505–1511.

Došlo 19. 3. 1998

Kontaktní adresa:

Ing. Marie Králová, DrSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika,
tel.: 02/33 02 21 11, fax: 02/36 52 28

Upozornění pro autory vědeckých časopisů

Z důvodu rychlejšího a kvalitnějšího zpracování grafických příloh (grafů, schémat apod.) příspěvků zasílaných do redakce Vás žádáme o jejich dodání kromě tištěné formy i na disketách.

Pérovky mohou být zpracovány jako předloha pro skenování nebo mohou být dodány též jako bitmapa ve formátu ***.TIF** (600 DPI). Pro skenování by grafy neměly obsahovat šedivé plochy. Místo šedí se mohou použít různé typy černobílého šrafování.

Grafy je třeba dodat **včetně zdrojových dat** (jako tabulku) v programu EXCEL.

Prosíme **nezasílejte** obrázky ve formátu **Harvard Graphics**, nýbrž vyexportované do některého z výše uvedených formátů.

Redakce časopisu

INDIKACE ZÁTĚŽÍ PŮD RIZIKOVÝMI PRVKY POMOCÍ MIKROBIOLOGICKÝCH A BIOCHEMICKÝCH METOD

INDICATION OF SOIL POLLUTION BY MICROBIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL METHODS

J. Němeček¹, E. Podlešáková², H. Macurová²

¹*Czech University of Agriculture, Praha, Czech Republic*

²*Research Institute for Soil and Water Conservation, Praha, Czech Republic*

ABSTRACT: Microbiological and biochemical methods (Novák, 1960, 1963; Filip et al., 1994) have been used to identify the ecotoxicologically relevant soil loads by hazardous elements. We used the simulated contamination (Cd 10 and 3, Cu 150, Ni 150, Zn 400 mg.kg⁻¹ in form of sulphates) of samples from the Ap horizons of agriculturally used soils (arenic Regosol, gossalbic Luvisol, dystic Cambisol, cambic Podsol, histic Gleysol, calcic and pelic Chernozem). Barley was grown on soils, contamination of which slightly surpassed the maximum permissible limits of trace hazardous elements (TEs). Soil units are in the first experiment characterized (Tab. I) by soil-specific and by liming affected (pH 6.5 to 6.8) differences in the amount of aerobic bacteria, actinomycetes and micromycetes, especially in the first turn of the experiment. Inhibition of aerobic bacteria by Zn manifests itself especially in Regosol and Luvisol, by Cd in Podsol. Actinomycetes show opposite responses due to the competition. Micromycetes number was reduced only in Regosol by Zn. Chernozem was not affected. Biochemical tests (Tab. II) proved that soil-specific characteristics were more expressive than contamination impacts. Inhibition of N mineralization, potential nitrification and N immobilization by Zn (Cu) was found in Regosol and Luvisol, by Cd in Podsol. High values of N immobilization by the end of the experiment were caused by the gradual increase of synthetic activities of microorganisms; in Chernozem they reflect the soil-specific features. The mentioned results reflect soil vulnerability relationships among soils, testified (Podlešáková, Němeček, 1991) by plant uptakes of TEs in the sequence Regosol > Luvisol > Podsol > Chernozem for Zn (Ni, Cu), which is shifting to the sequence with Podsol on the first place for Cd. They also correspond to phytotoxicity responses. In the next experiment the comparison between limed and nonlimed variants expressed (Tab. III) the strong influence of the pH regulation on the raise of bacteria and actinomycetes amount in all soils with a low buffering capacities and increase of Azotobacter. Inhibition of bacteria and actinomycetes by Zn was observed in most soils (except of Chernozems) before the pH regulation, after liming only in Regosol and Luvisol, inhibition of Azotobacter in Regosol. Micromycetes were affected by Zn (Ni) in nonlimed Regosol, by Cd (Ni) in Podsol. Tab. IV presents the use of a new set of methods (Filip et al., 1994) for identification of Zn impacts. The most conspicuous feature of these results is the stimulating influence of Zn in the last turn of experiments on bacteria, including the oligotrophic ones in Podsol and Chernozem. This effect is accompanied by an increased N mineralization, followed in Chernozem by nitrification and by decrease of dehydrogenase activities. No inhibition was identified in Regosol and Luvisol. When we compare the obtained results with TEs mobilities and plant uptakes (Podlešáková, Němeček, 1996) we arrive at the statement that microbiological and biochemical tests cannot replace methods destined for the direct indication of hazards for defined transfer pathways. But they are able to confirm findings of direct prediction methods. We are also aware of the fact that data from artificially contaminated soils have to be interpreted in terms of soil vulnerability. The research with soils polluted in the field continues.

microbiological methods; biochemical methods; soil pollution testing; trace elements Cd, Cu, Ni, Zn

ABSTRAKT: Bylo ověřováno použití mikrobiologických a biochemických klasických i novějších metod k indikaci intoxikace zemědělsky využívaných půd ČR umělou zátěží Cd, Ni, Cu a Zn bez úpravy a s úpravou půdní reakce. Je demonstrováno, že počty mikroorganismů i jejich činnost jsou specifické pro jednotlivé půdy a specifická je i reakce na vápnění podle stupně stability půdních systémů. Teprve na pozadí těchto hodnot lze hodnotit vliv zátěže. Zátěže půdy, převyšující maximálně přípustné obsahy rizikových prvků pro zemědělské půdy, se podle klasických metod inhibičně projeví v počtu bakterií, aktinomycet a přeměňacích N, hlavně Zn u regozemí a luvizemí, a to i po vápnění, které snižuje jeho mobilitu. Nebyla zjištěna inhibice ani počtu, ani činnosti mikroorganismů u černozemí. Nové metody naopak prokázaly stimulaci počtu bakterií včetně oligotrofních, doprovázenou mineralizací N u kryptopodzolů a následnou nitrifikací u černozemí Zn. Uvedené rozporné výsledky prokazují nutnost dalšího studia příčin těchto jevů při hodnocení zranitelnosti půd pomocí testů s uměle kontaminovanými půdami.

mikrobiologické metody; biochemické metody; testování zátěží půd; stopové prvky Cd, Cu, Ni, Zn

Výzkum specifických rysů mobility jednotlivých stopových prvků v půdě a zákonitostí závislosti jejich mobility na půdních faktorech v podmínkách různého stupně kontaminace a jejího charakteru (antropická imisní, antropická fluvialní a geogenní zátěž) je východním pedologickým základem řešení zatížení půd rizikovými prvky (Podlešáková, Němeček, 1996). Ekologická relevance této zátěže a ekotoxikologické chování rizikových prvků však musí být indikovány v další fázi řešení biologickými metodami.

Tento přístup byl dosud důsledně použit pouze při stanovení limitů silného zatížení půd, vyžadujících radikální sanaci půd pro transferovou cestu půdy – člověk. Limity jsou budovány na humánně-toxikologickém principu. Zatím však nejsou dopracovány soubory biologických testů pro ochranu půdních funkcí ve vztahu k jiným transferovým cestám (Mayer, 1996).

Většina z novějších rozpracovaných mikrobiologických a mikroedafonologických postupů (Bachmann et al., 1993; Kopeszki, 1996; Necker, 1996), s předpokládanou možností využití pro legislativu, směřuje ke stanovení hranice toxicity ve vztahu k principu obezřetnosti (Vorsorgewerte). Postupně se opouštějí metody používané v akvatických systémech a údaje o NOEC a LOEC (též NOAEC: non-observed adverse effect = koncentrace nevyvolávající záporný efekt; LOAEC: lowest observed adverse effect = nejnižší koncentrace vyvolávající negativní efekt) se získávají na základě metod terestrických ekologických šetření. Stále se ve větší míře k tomuto účelu používá metod postihujících jak strukturní, tak i funkční diverzitu společenstev půdních organismů. Samotné metodické a organizační problémy hodnocení jak diverzity nejširšího souboru půdních organismů, tak i jejich funkcí (Munch, 1996) činí řešení obtížným. Metodické problémy se týkají pojetí a identifikace druhů půdních mikroorganismů a otázek rychlé kompenzace organismů jinými. Řešení vyžaduje široký tým půdních biologů. Kolektiv mikrobiologů připravil pro tato sledování soubor standardních metod (Filip et al., 1994). Ve VÚMOP byla jejich podstatná část akceptována pro další práci (Macurová et al., 1997). Dosud se však v ČR často pracuje s mikrobiologickými a biochemickými testy, které zavedl Novák (1960, 1963). Nepřímý redukční test ($Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$) k hodnocení vlivu půdních kontaminantů na činnost půdních mikroorganismů navrhli Welp, Brümmer (1984).

Použití biologických testů k indikaci zátěží půd však zahrnuje v současné době nejen půdní mikroorganismy včetně půdní zvířeny, ale i vyšší organismy. Otázkou je, co považujeme za pasivní bioindikátory a co za organismy, jejichž zátěží kritické stavy kontaminací půd přímo měříme.

Z naznačeného hlediska mají testy s použitím půdních mikroorganismů a mikroedafonu úlohu buď přímou, tj. slouží k stanovení ekotoxikologicky kritické zátěže půdních organismů vlastních, nebo nepřímou v indikaci

ekotoxikologicky relevantního zatížení půd vůbec z hlediska principu obezřetnosti (Vorsorgewerte). Přímou úlohu mají např. testy k stanovení kritické zátěže lesních půd, která má za následek brzdění biologických procesů transformace C a N a uvolňování živin v nadložním humusu, a tím ovlivnění celého lesního ekosystému.

Většina navrhovaných mikrobiologických metod směřuje k druhému z uvedených cílů. Při aplikaci těchto metod na zemědělské půdy však řada autorů chybě v těchto postupech vidí obecně platné nebo dokonce rychlé metody ke stanovení reálné ekotoxikologické zátěže půdy. Přitom si neuvědomují nutnost přihlížet k požadovným hodnotám a ke konkrétním transferovým cestám. Na to upozorňují němečtí autoři, např. Mayer (1996), který uvádí, že mikrobiologické metody nebudou používány k indikaci nebezpečí pro určité transferové cesty (pro stanovení Gefahrenwerte). Např. pro hodnocení potřeb asanací silně zatížených (hlavně urbanických) půd, ohrožujících přímým transferem škodlivin (perorální, inhalační, dermatický) zdraví člověka, slouží humánně-toxikologické metody odvozování kritických zátěží. Pro transferovou cestu půda – podzemní voda se uplatní fyzikálně-chemické a fyzikální metody predikce složení a transportu půdního roztoku v relaci k hygienickým normám vody.

Nejčastějším případem je však hodnocení zátěží zemědělských půd z hlediska fytotoxicity, zootoxicity a nakonec humánní toxicity. Rozložíme-li transferové cesty na složky půda – rostlina, rostlina – živočich a rostlina a živočich – člověk, pak pro prvou transferovou cestu je ekotoxikologicky relevantním kritériem transfer prvků (či organických xenobiotik) do rostliny, vyvolávající kritickou zátěž potravního řetězce. Pedologická část problému je řešena ve VÚMOP a hlavně v Německu (škola Brümmerova) na základě mobility prvků v půdě a jejich transferů do rostlin. Další část problematiky, včetně detailní specifiky výše transferu do různých rostlin, by měla být předmětem názvných ekotoxikologických řešení rostlinnými fyziology, veterinárními a humánními lékaři – toxikology.

Na uvedených problémech jsme se snažili demonstrovat, že mikrobiologické (mikroedafonologické) metody při aplikaci zejména na zemědělské půdy nemohou být spojovány s indikací kritických zátěží půdy z hlediska konkrétních transferových cest (Transferpfade). Stanovení nejnižší ekotoxikologicky relevantní zátěže (Vorsorgewerte), která je hlavním cílem půdně-biologických testů, však závisí na použití testovacích půdních organismů, metodice stanovení jejich množství a činnosti a na rozdílu podmínek testování v přírodních a laboratorních podmínkách. Prozatímni aplikace různých metod vede k rozporným poznatkům:

- indikaci kritických hodnot rizikových prvků níže požadí (např. Straalen, Denneman, 1989),
- zjištění vysoké rezistence mikroorganismů vůči zatížení rizikovými prvky (RP).

Dalším problémem mikrobiologických testů je strategie sledování odezvy na zatížení půd rizikovými prvky. Nejrozšířenější způsob studia odezvy na odstupňo-

vané zatížení půd rizikovými prvky z rozpustných solí (např. Sauerbeck, 1989; Aoyama, Nagumo, 1997a, b aj.) se zdá být nejexaktnější. Zaručuje srovnatelnost s nezatiženým standardem a zátěží různých půd odlišných vlastností. Tato exaktnost je vykoupena tím, že mobilita vnesených prvků neodpovídá reálným podmínkám v půdě v důsledku pomalé reakce kontaminantů v rostlé či sypané půdě a kritických koncentrací může být dosaženo rychle (Hornburg, Brümmer, 1991). Výsledky této strategie výzkumu by měly být interpretovány spíše jako zhodnocení citlivosti půdy vůči zátěži či zranitelnosti půd. Tento přístup musí být kombinován s výzkumem odezvy na reálné zátěže v terénních podmínkách. Problémem se tu stává srovnávací nezatižený standard a zátěž půdy řadou kontaminantů. U zemědělských půd je obtížnost vyhledání srovnávacího vzorku znásobena tím, že každý zásah do půdy, jako je úprava půdní reakce (vápněním), resp. hnojení, zvláště pak organické, vyvolává většinou intenzivnější odezvu v půdě než zátěž kontaminanty.

Při hodnocení vlivu zátěží půd rizikovými prvky se obecně projevují specifické rysy hlavních půdních jednotek ČR a výrazné zásahy do půdního systému, zejména vápnění, úpravou vodního režimu a organickým hnojením.

Na základě půdně-mikrobiologických a biochemických sledování hlavních půdních jednotek můžeme rozlišit tři typy půdních systémů (Podlešáková, Němeček, 1990; Němeček et al., 1990):

- velmi stabilizované (černozemě),
- středně stabilizované (hnědozemě, luvizemě, pseudogleje, kambizemě modální),
- labilní (kryptopodzoly, kambizemě dystrické, těž regozemě arenické se specifickým chováním, daným nízkými obsahem humusu při extrémní zrnitosti, zčásti i luvizemě).

První typ se vyznačuje obecně vysokou biologickou aktivitou silně pufovaného systému. Projevují se vysokými hodnotami potenciální respirace, nízkou bazální respirací, nízkým potenciálem jejího ovlivnění přidáváním N, svědčícím o dostatku zdrojů, vysokými hodnotami stabilizace labilního podílu organických látek a vysokým využitím N při dostatku energetických zdrojů. Podmínky pro stabilizaci organických látek jsou v celém solu. Vyznačují se zvýšeným potenciálem mineralizace N a nejvyšším potenciálem nitrifikace ze všech půd.

Druhý typ je reprezentován střední biologickou aktivitou a schopností v kratších časových intervalech pufovat výkvy rovnovážných stavů. Je charakterizován vysokou potenciální respirací, příznivými podmínkami pro využití N a C pro rozvoj mikroorganismů a sníženými podmínkami pro nitrifikaci, zejména při acidifikaci.

Třetí typ půdních systémů je pak charakterizován nízkou biologickou aktivitou. Projevuje se nízkou potenciální (a zvýšenou bazální) respirací, nízkým potenciálem stabilizace organických látek, přeměny N a syntetické činnosti půdních mikroorganismů. Nízkou biologickou činností je však možno extrémně zvýšit úpravou půdní

reakce, vodního režimu, vnášením organických látek či změnou teploty u laboratorních pokusů. Tím můžeme dosáhnout na delší dobu destabilizace systému, spojené s uvolněním organických látek o malé molekule a N, zhoršení kvality humusu, a tím i v terénních podmínkách ohrožení životního prostředí N a výnosovými depresiemi.

Uvedení těchto výsledků sleduje cíl ukázat, že jiné faktory než zatížení půd rizikovými prvky mohou, a to v některých případech specificky, u některých půdních jednotek zastítní efekt škodlivin.

MATERIÁL A METODA

Byly realizovány dva vegetační nádobové pokusy se simulovaným zatížením orní zemědělsky využívaných půd, jejichž součástí bylo i mikrobiologické a biochemické testování.

První nádobový pokus byl založen se zeminou z orní regozemě arenické (RGa) z písku, luvizemě modální (LUM) z prachovic, kryptopodzolu modálního (KPM) ze svařovin rul a černozemě modální (ČMm) ze spraší. Půdy byly po úpravě pH na 6,5 zatíženy rizikovými prvky (sulfáty) v odstupňovaných dávkách, z nichž pro mikrobiologické a biochemické sledování byly použity pouze nejvyšší zátěže, a to u Cd 10, Cu 150, Ni 150 a Zn 400 mg.kg⁻¹. Byly třikrát po sobě osety jarním ječmenem. Na konci každého z těchto cyklů byly odebrány vzorky k mikrobiologickému a biochemickému sledování.

Druhý nádobový pokus proběhl se zeminami z orní regozemě arenické (RGa) z písku, luvizemě modální (LUM) z prachovic, kambizemě modální okyselené (KMa) ze svařovin rul, kryptopodzolu modálního (KPM) ze svařovin rul, gleje organozemního (GLO) ze svařovin a černozemě pelické (ČMP) ze slínu. Část půd byla vyvápněna na pH kolem 6,0, část ponechána v původním pH. Půdy byly odstupňovaně kontaminovány rizikovými prvky. Pro mikrobiologická a biochemická sledování byly použity pouze nejvyšší zátěže, a to u Cd 3, Ni 150 a Zn 400 mg.kg⁻¹. Nádoby byly osety v několika cyklech rostlinami (ječmen, špenát, ředkvička). Odběry pro mikrobiologická a biochemická šetření byly provedeny až po sklizni ředkvičky po pěti letech, kdy zapravené rizikové prvky mohly být výrazněji zabudovány do přirozených vazeb v půdě.

Mikrobiologické a biochemické testy byly u prvního pokusu provedeny podle metod, které zavedl Novák (1960, 1963), u druhého pokusu mimoto souborem největších metod (Filip et al., 1994), které jsou zaváděny i ve VÚMOP (Macurová et al., 1997). Mikrobiologické testy byly realizovány ve dvou opakováních, přičemž očkovaní na agarové desky proběhlo ze tří různých ředění. Výsledky biochemických testů jsou průměrem ze tří opakování. Relativní směrodatná odchylka u všech použitých testů činí 20 %. K mikrobiologickým testům, sledujícím počty základních skupin půdních organismů (colony forming units) podle dřívějších metod (bakterie na Thorntonově a škrobovém agaru, plísňe na Jensenově agaru), přistoupilo stanovení oligotrofních bakterií

a plísni podle novějších metod a stanovení C biomasy fumigačně-extrakční metodou (ISO/DIS 14240-2). Z klasických biochemických metod (v podstatě identických s novými) byla sledována respirace a dynamika N. Tyto metody byly rozšířeny o enzymatickou metodu – stanovení dehydrogenázové aktivity, která je spjata s většinou oxidoredukčních metabolických pochodů.

Mezi biochemickými metodami podle Nováka (tab. II) a novějšími postupy (tab. IV) existují určité rozdíly. Amonifikace podle Nováka představuje rozdíl mezi hodnotami $\text{NH}_4\text{-N}$ na počátku a na konci inkubace, která probíhala osm dnů při 28 °C. Potenciální amonifikace vyjadřuje rozdíly po inkubaci s přidáním peptonu, bazální amonifikace výsledek prosté inkubace. Záporné hodnoty u bazální amonifikace svědčí o souběžné nitrifikaci. Obdobné je to s nitrifikací, kde potenciální hodnoty jsou odvozovány z inkubace s $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Záporné hodnoty u bazální nitrifikace značí, že došlo k procesům denitrifikace a imobilizace. Imobilizaci N hodnotíme na základě úbytku $\text{NH}_4\text{-N}$ po 48h inkubaci, poté co $\text{NH}_4\text{-N}$ byl dodán do vzorku s glukózou. Potenciální respirace je interferometricky měřena po uvolnění CO_2 v průběhu 48h inkubace při 28 °C; údaje jsou přepočteny na hodinovou hodnotu. V tab. IV uvedené výsledky biochemických postupů podle mikrobiologických a biochemických metod (Filip et al., 1994) byly získány za poněkud jiných podmínek pokusu. Respirační, amonifikační a nitrifikační procesy byly stanoveny po měsíční inkubaci při 20 °C. Jako zdroj organického N i C byla přidána vojtěšková moučka. Nižší teplota inkubace sice zpomaluje biochemické procesy, ale přibližuje je reálným podmínkám. Dehydrogenázová aktivita byla stanovena metodou TTC po 24h inkubaci při 37 °C.

V práci podáváme rovněž jen zčásti publikované výsledky mikrobiologických a biochemických testů (Podlešáková, Němeček, 1990), indikujících specifiku půdních jednotek a jejich odezvy, zejména na vápnění.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V prvním z našich pokusů s reprezentativními půdami ČR, umělé (síraný) zatíženími Cd, Zn, Ni a Cu na hodnoty převyšující kritické zátěže pro ochranu potravního řetězce (10, 400, 150 mg.kg^{-1}), vyvážněnými na pH 6,5, byl mikrobiologickými a biochemickými testy prokázán diferencovaný vliv kontaminace. V tab. I a II jsou uvedeny výsledky mikrobiologických šetření. Specifické rysy hlavních půdních jednotek se projeví i po úpravě půdní reakce jako podmínky pro platnost tzv. maximálně přípustných hodnot. Srovnání nezatížených variant ukazuje na konci prvního cyklu pokusu rozdíly v počtu aerobních bakterií a aktinomycet, narůstajících v pořadí regozem < kryptopodzol < luvizem < černozem; výrazně vysoký počet aktinomycet byl zjištěn oběma použitými metodami u černozemí. Mikromycety mají naopak maximum u regozemí a zvýšený obsah u kryptopodzolu, kde v nepříznivých podmínkách nahrazují ostatní skupiny mikroorganismů. Po ukončení druhého

cyklu pokusu dochází k nápadnému vyrovnání počtu mikroorganismů. Vyšší počty aktinomycet nalézáme u černozemě. Po aplikaci stopových prvků se v prvním cyklu pokusu projevuje především Zn inhibičním vlivem na aerobní bakterie u regozemí a luvizemí, u vysocí zranitelné regozemě všechny studované rizikové prvky, u kryptopodzolu pak Cd. V druhém cyklu pokusu se tento trend udržuje, u luvizemí se rozšiřuje o ostatní prvky. Aktinomycety reagují opačně, zejména po aplikaci Zn v důsledku konkurenčních vztahů. Mikromycety jsou inhibovány výrazněji pouze u regozemí. Skutečnost, že u černozemí nebyl inhibiční vliv rizikových prvků prokázán, svědčí o její malé zranitelnosti.

Výsledky biochemických testů, provedených ve třech cyklech pokusu, jsou uvedeny v tab. II. Obecně je možné konstatovat, že odezvy dané specifikou půdních jednotek převyšují vlivy zátěže rizikovými prvky. Projevují se nejvyššími hodnotami a nejvyšší amplitudou hodnot potenciální mineralizace N mezi cykly sledování u regozemí a luvizemí. U těchto půd lze zaznamenat v prvním a druhém cyklu inhibiční vliv Zn a Cu na amonifikaci. Při větší vyrovnanosti ukazatelů potenciální amonifikace mezi jednotlivými cykly pokusu u kryptopodzolu zjišťujeme v prvních dvou cyklech inhibiční vlivem Cd. Černozem se vyznačuje nejvyrovnanějšími hodnotami mezi cykly, neovlivněnými zátěží rizikových prvků. Bazální amonifikace narůstá v sledu jednotlivých cyklů nejvýrazněji u regozemí, s inhibicí Zn v poslední fázi. Potenciální nitrifikace, která dosahuje obecně nejvyšších hodnot v druhé fázi, stoupá z nejnižších hodnot nejrychleji u regozemí, a je v tomto cyklu brzděna zátěží Zn. U kryptopodzolu je snižován obsah Cd v první fázi. Specifickou charakteristikou zkoumaných půd jsou nejnižší hodnoty potenciální nitrifikace na počátku a na konci pokusu u regozemí a nejvyšší v druhé fázi u černozemí. Bazální nitrifikace vykazuje v prvním období pokusu nejvyšší hodnoty v systému s vysokým podílem organických látek, tedy u kryptopodzolu, kde je stimulována vápněním, nejnižší, obdobně jako potenciální nitrifikace, u regozemí. Imobilizace N neboli syntetická činnost půdních mikroorganismů vykazuje vyrovnané hodnoty v prvních dvou cyklech u všech půd, v třetím pak odráží negativní vliv zátěže Zn (Cu) u regozemí a luvizemí. Vysoké hodnoty zejména na konci pokusu u kryptopodzolu jsou znakem postupně se rozvíjející syntetické činnosti po úpravě pH prostředí a u černozemí jsou charakteristické výrazné syntetické procesy, projevující se i v zabudování N do organických vazeb. Respirace neodráží v tomto pokusu podstatné rozdíly mezi půdami ani vlivy zátěže.

Obdobné výsledky získali Brunner, Schinner (1984), Doelman, Haanstra (1984) a Wilke (1988). Naše výsledky (Podlešáková, Němeček, 1991) potvrzují identifikaci zranitelnosti půd, která byla u tohoto pokusu dokumentována diferencovaným příjmem stopových prvků testovací plodinou v pořadí regozem > luvizem > kryptopodzol < černozem u Zn, Ni a Cu a v pořadí kryptopodzol > regozem > luvizem > černozem u Cd. V souladu s těmito zákonitostmi příj-

I. Mikrobiologické testy (Novák 1960, 1963) zatížení půd Cd (10), Ni (150), Cu (150) a Zn (400 mg.kg⁻¹) po úpravě půdní reakce na pH 6,5 až 6,8; 1. a 2. cyklus (KTJ.g⁻¹ sušiny) – Microbiological testing (Novák, 1960, 1963) of soil pollution by Cd (10), Ni (150), Cu (150) and Zn (400 mg.kg⁻¹) with pH adapted to pH 6.5 to 6.8; 1st and 2nd cycles (CFU.g⁻¹ of dry matter)

Půda ¹	Zátěž ²	Aerobní bakterie ³ (Thornton 10 ⁶)	Aktinomycety ⁴ (Thornton 10 ⁴)	Mikromycety ⁵ (Jensen 10 ⁴)	Aerobní bakterie (šrob ⁶ 10 ⁷)	Aktinomycety (šrob 10 ⁵)
RGa	0	3,8	0,5	25,4	0,5	3,9
	Cd	2,6	0,0	17,7	0,4	1,7
	Ni	1,6	0,0	25,7	0,4	0,5
	Cu	0,7	5,5	12,1	0,3	0,5
	Zn	0,4	5,4	19,6	0,1	2,9
KPM	0	5,5	10,0	4,9	1,5	2,8
	Cd	4,1	73,0	5,4	0,5	0,0
	Ni	6,8	14,3	3,6	1,4	4,3
	Cu	8,2	72,3	4,5	1,7	2,9
	Zn	7,5	71,4	6,2	1,5	0,0
LUm	0	35,9	11,8	13,3	4,8	2,9
	Cd	30,0	5,9	7,2	4,8	2,9
	Ni	42,6	41,5	6,7	4,4	1,2
	Cu	29,1	11,8	11,4	3,1	2,4
	Zn	19,5	52,5	8,0	3,5	6,6
ČMm	0	20,2	25,6	5,0	6,0	38,4
	Cd	35,3	45,0	3,0	5,6	38,6
	Ni	41,1	51,4	6,4	6,2	70,6
	Cu	21,9	12,8	3,5	4,7	25,7
	Zn	25,1	19,3	6,1	5,1	19,3
RGa	0	2,6	0,0	2,8	6,0	0,0
	Cd	0,8	0,6	5,6	1,2	0,0
	Ni	1,1	0,0	5,4	1,4	0,0
	Cu	0,6	0,0	2,8	1,8	0,0
	Zn	0,7	0,0	1,2	1,2	0,0
KPM	0	6,4	1,9	3,2	10,0	0,6
	Cd	1,4	7,1	3,7	2,3	4,2
	Ni	5,6	1,2	2,4	6,3	2,4
	Cu	5,4	6,3	3,7	8,0	2,5
	Zn	5,5	12,8	3,4	5,4	7,7
LUm	0	6,4	0,0	3,7	6,6	0,1
	Cd	2,5	0,6	4,6	3,9	0,3
	Ni	0,7	0,0	5,9	3,4	0,4
	Cu	2,5	0,0	5,3	4,2	0,2
	Zn	1,1	0,0	4,6	2,5	0,2
ČMm	0	5,6	12,4	3,6	6,6	3,7
	Cd	7,2	24,1	2,4	9,7	1,2
	Ni	3,9	1,2	2,9	6,8	1,2
	Cu	7,2	1,2	4,5	10,1	3,0
	Zn	10,7	1,0	3,1	10,7	2,4

Vysvětlivky k tab. I až IV – Explanations to Tab. I to IV:

RGa – regozem arenická – arenic Regosol
 KPM – kryptopodzol modální – cambic Podzol (Cryptopodzol)
 LUm – luvizem modální – glossalbic Luvisol
 ČMm – černozem modální – calcic Chernozem
 KMa – kambizem kyselá – dystic Cambisol
 GLo – glej organozemní – histic Gleysol
 ČMp – černozem pelická – pelic Chernozem

¹soil, ²loads, ³aerobic bacteria, ⁴actinomycetes, ⁵micromycetes, ⁶starch

II. Biochemické testy (Novák, 1960, 1963) zatížení půd Cd (10), Ni (150), Cu (150) a Zn (400 mg.kg⁻¹) po úpravě půdní reakce na pH 6,5 až 6,8; tři cykly pokusu: amonifikace a imobilizace (mg N.kg⁻¹.2 d⁻¹), nitrifikace (mg N.kg⁻¹.8 d⁻¹), respirace (mg CO₂.kg⁻¹.h⁻¹); hodnoty přepočteny na sušinu – Biochemical testing (Novák, 1960, 1963) of soil pollution by Cd (10), Ni (150), Cu (150) and Zn (400 mg.kg⁻¹) with pH adapted to pH 6.5 to 6.8; three cycles of experiment: ammonification and immobilization (mg N.kg⁻¹.2 d⁻¹), nitrification (mg N.kg⁻¹.8 d⁻¹), respiration (mg CO₂.kg⁻¹.h⁻¹); data in soil dry matter

Půda ¹	Zatěž ²	Amonifikace ³ N						Nitrifikace ⁶ N						Imobilizace ⁷ N (syntetická činnost ⁸)			Respirace ⁹ potenciální		
		potenciální ⁴ (pepton)			bazální ⁵			potenciální (NH ₄) ₂ SO ₄			bazální								
RGa	0	72	34	148	-0,96	-0,20	0,28	7	36	1,4	0,82	-2,27	0,51	29	36	24	11,3	6,5	5,9
	Cd	90	36	105	-0,97	-0,26	1,40	5	51	1,7	1,77	10,58	0,18	36	26	18	14,6	10,1	8,2
	Ni	82	19	111	-0,96	-0,02	1,40	7	34	1,6	0,60	-2,30	0,56	36	30	26	12,7	8,4	8,2
	Cu	54	8	110	-0,55	0,17	0,56	6	38	1,1	1,05	1,82	0,45	41	28	28	11,3	6,7	6,6
	Zn	60	8	124	0,27	0,72	0,04	11	25	1,2	2,13	-3,10	0,05	37	28	17	14,3	8,4	10,0
LUM	0	139	56	149	-0,44	0,53	0,95	31	53	2,5	0,71	-3,51	0,65	29	29	24	12,1	10,3	9,2
	Cd	144	40	136	-0,59	0,84	0,00	30	50	7,6	4,90	12,6	0,13	35	32	26	13,8	8,8	12,8
	Ni	100	56	101	-0,45	1,18	0,27	27	58	10,4	2,01	15,8	0,14	38	41	21	15,6	8,6	8,9
	Cu	121	36	119	-0,15	1,18	0,53	24	45	7,1	-0,77	-2,01	0,24	32	38	14	15,6	10,4	7,1
	Zn	85	35	128	0,00	0,39	0,00	26	58	8,1	2,18	-2,77	-0,09	36	39	8	15,5	5,2	12,3
KPM	0	33	51	31	0,15	-0,30	1,03	28	69	19,7	13,7	-3,72	0,96	35	34	45	13,3	7,0	8,0
	Cd	10	28	90	0,30	0,00	1,08	15	56	12,6	13,8	-1,81	0,38	40	23	48	8,1	6,1	12,1
	Ni	39	69	80	0,29	-0,11	0,66	22	50	8,5	10,7	2,16	0,23	38	29	47	9,9	10,6	15,4
	Cu	28	51	85	0,29	0,47	0,34	21	64	9,2	13,7	0,00	-0,14	37	34	48	11,5	9,2	14,1
	Zn	32	43	80	0,16	0,47	1,70	17	69	13,6	14,5	-18,65	1,39	38	34	47	13,0	11,1	14,0
ČMP	0	48	56	43	0,00	0,91	0,0	21	127	6,8	6,9	-3,17	0,12	37	33	43	10,5	10,7	14,4
	Cd	30	48	62	0,14	0,32	0,32	26	96	10,1	5,3	1,3	0,31	39	37	47	14,3	6,9	11,0
	Ni	58	62	51	0,14	0,14	0,31	25	78	5,7	3,1	12,4	0,00	30	33	47	13,8	3,4	11,1
	Cu	36	43	61	-0,14	0,43	0,31	24	83	6,0	1,6	-1,04	-0,06	33	37	47	8,7	10,2	14,0
	Zn	30	54	51	0,42	0,44	0,62	22	69	8,1	1,9	-2,71	-1,06	36	37	46	5,6	12,1	13,0

¹soil, ²loads, ³ammonification, ⁴potential, ⁵effective, ⁶nitrification, ⁷immobilization, ⁸synthetic activities, ⁹respiration

mu stopových prvků se projevuje i fitotoxicita Zn > Ni > Cu, testovaná průkazným snížením výnosu ječmene v sekvenci regozem > kryptopodzol > luvizem > černozem.

V dalším pokusu byl zkoumán vliv zatížení reprezentativních půd ČR (nevápněných i vápněných) Zn, Ni a Cd (400, 150, 3 mg.kg⁻¹) na půdní mikroorganismy a jejich činnost. Sledování proběhlo po pěti letech od zapravení do půdy, tedy po zabudování rizikových prvků do vazeb v půdě. Napřed bylo známo, zda specifika půdních jednotek a úprava půdní reakce, použita v prvním popsaném pokusu, není významnějším faktorem ovlivnění půdních mikroorganismů než zatížení stopovými prvky. Výsledky (tab. III) získané klasickými metodami ukazují gradaci počtu aerobních bakterií a aktinomyct (Thorntonův agar), plynule narůstající v řadě půd s rostoucí kvalitou a jejím ovlivněním kultivací od regozemí k černozemím. Vápnění má na zvýšení počtu aerobních bakterií i aktinomyct pronikavý vliv zejména u regozemí, kryptopodzolů a glejů, ale i luvizemí, tedy u půd s nejnižší pufrací schopností vůči vnějším zásahům v důsledku nedostatku či ochuzení koloidů nebo zvýšeného obsahu nestabilních organických látek. Pouze u kryptopodzolů s původně nejvyšším zastoupením mikromycet jejich počet vápněním

neklešá (u kontrolní varianty), jako je tomu běžně u ostatních půd. Výraznější zvýšení počtu azotobacteria, jehož vysoké zastoupení je charakteristické pro černozemě, bylo vápněním dosaženo u všech půd vyjma regozemě a kryptopodzolu. Uvedené rozdíly v odezvě mikrobiologických charakteristik půd svědčí o různém počtu mikroorganismů v jednotlivých půdách, jakož i o významných reakcích na vápnění u půd s nižší pufrávností a nízkou stabilitou organických látek. Aplikace klasických metod ke stanovení počtu mikroorganismů ukázala též relativní odezvy mikroorganismů na zatížení půd (Cd, Ni a Zn). Výrazné snížení počtu bakterií a aktinomyct mezi sledovanými rizikovými stopovými prvky vyvolala pouze aplikace Zn u regozemě, luvizemě, kambizemě, kryptopodzolu a gleje, po vápnění pouze u regozemě a luvizemě, aplikace Ni pak u nevápněné regozemě. U mikromycet působila inhibičně aplikace Zn a Ni u nevápněné regozemě a aplikace Cd a Ni u vápněného i nevápněného kryptopodzolu. Nepříznivý vliv na počet azotobacteria má hlavně aplikace Zn u regozemě.

Použití klasických metod (Novák, 1960, 1963) ve srovnání s novými metodami (Filip et al., 1994) dává vedle pochopitelných rozdílů v počtu mikroorganismů a vyšší biochemických ukazatelů často i jiné relace mezi

III. Mikrobiologické testy (Novák, 1960, 1963) zatížení půd Cd (3), Ni (150) a Zn (400 mg.kg⁻¹) vápněných a nevápněných (KTJ.g⁻¹ sušiny) – Microbiological testing (Novák, 1960, 1963) of soil pollution by Cd (3), Ni (150) and Zn (400 mg.kg⁻¹) limed and nonlimed (CFU.g⁻¹ of dry matter)

Půda ¹ pH*	C _{ox}	Zátěž ²	Aerobní bakterie ³ (Thornton 10 ⁶)		Aktinomycety ⁴ (Thornton 10 ⁶)		Mikromycety ⁵ (Jensen 10 ⁶)		Aerobní bakterie (škrab ⁶ 10 ⁵)		Aktinomycety (škrab ⁶ 10 ⁵)		Azotobacter (Ashby 10 ¹)	
			nevápněno ⁷	vápněno ⁸	nevápněno	vápněno	nevápněno	vápněno	nevápněno	vápněno	nevápněno	vápněno	nevápněno	vápněno
RGa 5,1–6,3	0,72	0	3,7	80	0,1	12,6	46	19	2,0	44	0,0	11,1	17	8
		Cd	7,0	111	1,0	10,5	46	24	2,5	60	0,0	10,5	59	46
		Ni	7,5	72	0,3	5,0	33	24	0,5	21	0,0	5,0	22	28
		Zn	2,5	34	0,5	1,5	20	17	0,5	4	0,0	1,0	3	9
LUm 5,6–6,5	1,33	0	27	42	27	42	46	18	8,7	36	0,5	2,5	32	113
		Cd	19	35	19	35	38	13	7,1	35	1,0	2,0	95	136
		Ni	36	92	36	92	41	62	6,6	78	0,0	2,0	148	343
		Zn	9	12	9	12	71	45	6,6	24	0,0	0,0	35	32
KMa 5,3–6,1	2,12	0	61	99	61	99	44	3	39	62	5,1	11,7	130	88
		Cd	62	65	62	66	17	4	39	40	5,6	6,1	27	251
		Ni	75	165	75	165	23	7	32	80	3,5	2,5	30	102
		Zn	15	139	15	139	39	15	15	93	1,0	11,7	92	47
KPM 5,5–6,0	3,88	0	65	256	65	256	71	102	72	373	2,0	2,0	28	3
		Cd	79	544	79	544	58	35	82	451	3,1	12,3	21	17
		Ni	84	190	84	190	69	27	65	211	0,0	2,6	12	32
		Zn	36	349	36	349	92	84	37	353	0,0	5,1	77	46
GLO 4,8–6,0	5,23	0	62	252	62	252	41	41	47	378	0,0	7,4	34	264
		Cd	19	625	19	625	43	65	12	481	0,5	2,6	67	847
		Ni	38	480	39	481	69	58	44	564	0,0	1,6	33	117
		Zn	13	246	13	246	67	57	107	288	0,0	5,2	360	110
ČMp 7,1	2,88	0	126		126		34		278		0,0		316	
		Cd	75		75		30		108		0,5		299	
		Ni	65		55		14		57		0,0		22	
		Zn	164		163		112		329		0,0		141	

* před, resp. po úpravě – before or after liming, resp.

¹soil, ²loads, ³aerobic bacteria, ⁴actinomycetes, ⁵micromycetes, ⁶starch, ⁷nonlimed, ⁸limed

IV. Mikrobiologické a biochemické testy (nové metody, Filip et al., 1994); odezvy na zatížení Zn (400 mg.kg⁻¹) – Microbiological and biochemical testing (new methods, Filip et al., 1994); responses on Zn pollution (400 mg.kg⁻¹)

Půda ¹	Zátěž ²	Bakterie ³ (10 ⁶)	Bakterie oligotrofní ⁴ (10 ⁶)	Aktinomycety ⁵ (10 ⁴)	Mikromycety ⁶ (10 ⁴)	Azotobacter (10 ²)	C biomasy ⁷ (mg.kg ⁻¹)	Dehydrogenázová aktivita ⁸ (mg TPF.kg ⁻¹ .d ⁻¹)	Respirace ⁹ (mg CO ₂ .kg ⁻¹ .h ⁻¹)		Amonifikace ¹¹ (vojtěšková moučka ¹² N-NH ₄)	Nitrifikace ¹³ (vojtěšková moučka ¹² N-NO ₃)
									inkubace ¹⁰			
									24 h	měsíc ¹⁴		
RGa	0	5,4	85	187	28	16	374	49	0,42	0,32	10	297
	Zn	5,0	54	21	59	6	425	46	0,82	0,36	48	407
LUm	0	47	59	47	42	0	404	23	0,99	0,51	16	463
	Zn	43	66	34	67	0	180	15	1,15	0,62	88	561
KMa	0	66	57	43	45	9	294	62	1,05	0,41	3	459
	Zn	88	94	60	43	37	343	89	1,63	0,56	1	472
KPm	0	43	141	33	37	11	563	92	1,16	0,50	6	549
	Zn	2 754	2 851	41	39	1	327	62	1,14	0,52	179	462
ČMp	0	73	65	44	65	5	280	124	1,79	0,64	1	482
	Zn	1 864	1 771	32	53	4	198	75	1,60	0,34	6	893

* mg.kg⁻¹ sušiny, 28denní inkubace – mg.kg⁻¹ of dry matter, 28-day incubation

¹soil, ²loads, ³bacteria, ⁴oligotrophic, ⁵actinomycetes, ⁶micromycetes, ⁷biomass, ⁸dehydrogenases activity, ⁹respiration, ¹⁰incubation, ¹¹ammonification, ¹²lucerne meal, ¹³nitrification, ¹⁴month

nimi navzájem. V tab. IV uvádíme výsledky použití souboru novějších metodik testování vlivu zátěže půd Zn ($400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), který se v dřívějších pokusech ukázal jako prvek s největšími inhibičními vlivy, indikovanými mikrobiologickými a biochemickými testy. Nejnápadnějším rysem těchto výsledků je naopak výrazný stimulační vliv Zn na počty aerobních bakterií, včetně oligotrofních, doprovázený snížením činnosti dehydrogenáz. Vzhledem k tomu, že tyto výsledky byly získány až v třetím cyklu pokusu, lze je vysvětlit stimulací rozkladných procesů u nejlabilnějšího systému kryptopodzolu v teplotních podmínkách pokusu s úpravou půdní reakce, který vyvolává dočasné snížení redukčně-oxidačního potenciálu. K tomu přispívá skutečnost, že v uměle kontaminovaných půdách dochází k postupnému snižování mobility Zn jeho zabudováním do pevnějších vazeb. Stimulovaná mineralizace N, výrazná hlavně u kryptopodzolu, je pouze u černozemě doprovázena silnou nitrifikací. U ostatních půd nebyl těmito postupy výraznější stimulační vliv Zn potvrzen.

Z uvedených výsledků vyplývá, že zatím nelze využít mikrobiologické testy jednoduchým způsobem tak, aby sloužily jako rychlé a expeditivní zkoušky ekotoxikologicky relevantní zátěže půd pro účely prevence. K indikaci hodnot nebezpečných zátěží potravního řetězce nebude možné biologické testy použít ani v budoucnosti. V ověřování použití mikrobiologických a biochemických metod se bude pokračovat jak v pokusech se simulovanými zátěžemi reprezentativních půd rizikovými prvky, tak i šetřením půd zatížených v terénu z různých zdrojů.

LITERATURA

- AOYAMA, M. – NAGUMO, T.: Comparison of the effects of Cu, Pb and As on plant residue decomposition, microbial biomass and soil respiration. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, 43, 1997a (3): 613–622.
- AOYAMA, M. – NAGUMO, T.: Effects of heavy metal accumulation in apple orchard soils on microbial biomass and microbial activities. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, 43, 1997b (3): 601–612.
- BACHMANN, U. – MATEJKO, C. – KLIMANEK, E. M.: Die Erfassung von Schadstoffbelastungen des Bodens mit Hilfe bodenbiologischer Parameter. *MDBG*, 72, 1993: 1327–1330.
- BRUNNER, I. – SCHINNER, F.: Einfluß von Blei und Cadmium auf mikrobielle Aktivität eines Bodens. *Bodenkultur*, 35, 1984 (1): 1–12.
- DOELMAN, P. – HAANSTRA, L.: Short-term and long-term effects of cadmium, chromium, copper, nickel, lead and zinc on soil microbial respiration in relation to abiotic soil factors. *Pl. and Soil*, 79, 1984: 317–327.
- HORNBERG, V. – BRÜMMER, G. W.: Schwermetall-Verfügbarkeit und Transfer in Abhängigkeit von pH und Stoff-

bestand des Bodens. *Mitt. Dtsch. Bodenk. Gesell.*, 1991: 661–664.

- FILIP, Z. et al.: Methods of soil analysis for research project Development and evaluation of biological methods for the characterization of undisturbed or anthropogenic polluted soils. *Langen* 1994. 48 s.
- KOPESZKI, H.: Collenbolen als aktive Bioindikatoren bei Fragen des Schadstoffbelastung von Waldböden. *MDBG*, 81, 1996: 259–262.
- MACUROVÁ, H. et al.: Rozšíření sortimentu metod užívaných v OL VÚMOP o nové fyzikálně chemické a biologické metody používané v Evropě jako kritéria půdní kvality. [Závěrečná zpráva.] Praha, VÚMOP 1997. 56 s.
- MAYER, S.: Biologische Kennzeichnung stofflicher Bodenbelastungen. *MDBG*, 80, 1996: 85–88.
- MUNCH, J. C.: Neue methodische Ansätze in der Bodenmikrobiologie – neue Möglichkeiten. *MDBG*, 81, 1996: 3–6.
- NECKER, U.: Wirkungsbezogene Bewertung der Schadstoffbelastung von Böden in Hinblick auf deren Lebensraum und Stoffumsatzfunktion: Konzepte – Sachstand – Ausblick. *MDBG*, 81, 1996: 267–270.
- NĚMEČEK, J. et al.: Vlastnosti určující produkční i neprodukční funkce půd. [Závěrečná zpráva.] Praha, VÚZP 1990. 69 s.
- NOVÁK, B.: Mikrobiologie při studiu geneze půd. *Rostl. Vyr.*, 6, 1960 (6–7): 1029–1032.
- NOVÁK, B.: Beitrag zur Methodik des Studiums mikrobieller Umwandlung organischer Stoffe im Boden. *Albrecht-Thaer-Arch.*, 7, 1963: 553–563.
- PODLEŠÁKOVÁ, E. – NĚMEČEK, J.: Vliv vápnění na procesy přeměn a migrace uhlíku a dusíku v půdě z hlediska úrodnosti a životního prostředí. *Rostl. Vyr.*, 36, 1990 (12): 1249–1257.
- PODLEŠÁKOVÁ, E. – NĚMEČEK, J.: Microbial activity of soils influenced by heavy metals content. *Proc. 10th Int. Symp. Humus et Planta*, 1991. 10 s.
- PODLEŠÁKOVÁ, E. – NĚMEČEK, J.: Criteria for soil contamination by organic and inorganic pollutants in the Czech Republic. 9th Conf. Int. Soil Conserv. Org. Bonn, 1996.
- STRAALEN, N. M. VAN – DENNEMAN, C. A. J.: Ecotoxicological evaluation of soil quality criteria. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 18, 1989: 241–251.
- SAUERBECK, D.: Der Transfer von Schwermetallen in die Pflanze. *DEHEMA-Gruppe Bewertung von Gefährdungspotentialen in Bodenschutz*, 1989: 281–316.
- WELP, G. – BRÜMMER, G.: Der Fe (III) – Reduktionstest – ein einfaches Verfahren zur Abschätzung der Wirkung von Umweltchemikalien auf die mikrobielle Aktivität in Böden. *Z. Pfl.-Ernähr. Bodenkde*, 148, 1984: 10–23.
- WILKE, B. M.: Langzeitwirkungen potentieller anorganischer Schadstoffe auf die mikrobielle Aktivität einer sandigen Braunerde. *Z. Pfl.-Ernähr. Bodenkde*, 151, 1988: 131–136.
- ISO/DIS 14240-2: Soil quality – Determination of soil microbial biomass. Part 2. Fumigation extraction method.

Došlo 19. 3. 1998

Kontaktní adresa:

Prof. RNDr. Jan Němeček, DrSc., Česká zemědělská univerzita, 165 21 Praha 6-Suchbát, Česká republika, tel.: 02/24 38 27 52, fax: 02/24 38 27 56

First 'green' trade exhibiton in Prague for 30 years attracts many international companies

**HORTIFLORA EUROPE '98: Prague International Flower Show,
Horticulture and Gardening Exhibition, 8-11 October 1998
The Fairgrounds, Prague, Czech Republic**

Hortiflora Europe '98, the international Flower Show, Horticulture and Gardening Exhibition will take place from 8 to 11 October at the Fairgrounds in Prague, Czech Republic. This exhibition will be attended by highly qualified companies in the flowers and plants branch like:

Gasa Odense from Denmark, Guaber from Italy, Ludvig Svensson from Sweden and Kemira Agro from Finland. Professional growers and traders as well as the general public will have the opportunity to see the fresh flowers and live plants, combined with professional horticulture and gardening products. The **Holland Flower Council** will be present with a Pavilion of 10 leading Dutch flower exporters.

The following companies from the machinery and equipment branch will participate: Mountfield (CZ) representative of: Hozelock (UK), Roth (D), Mogatec (D), Garstelgarden (I) and Gardena (CZ/D) representative of BASF (D) and Brill (D) will participate.

Hortiflora '98 will be **fully supported by The Czech Ministry of Agriculture** and gives the international companies the unique chance to promote their business in the Czech Republic.

For more information:

"Hortiflora-HOTLINE" - tel.: ++ 31 30 2400525, fax: ++ 31 30 2400637

Organisation and sales:

BTO Beurs- en Tentoonstellings- Organisatie BV
St. Jacobsstraat 331, 3511 BP Utrecht, the Netherlands
Tel.: +31 30 2400 425, fax: +31 30 2400 637
E-mail: bto.exhibitions@wxs.nl

*Member of the ITE Exhibitions Group
London-Hamburg-Paris-Milan-Moscow-Kiev*

**horti
flora**
EUROPE 98

SPECIES OF Al IONS AS RELATED TO SOME CHARACTERISTICS OF BOTH AGRICULTURAL AND FOREST SOILS OF THE ŠUMAVA REGION

FORMY Al IONTŮ VE VZTAHU K VYBRANÝM CHARAKTERISTIKÁM ZEMĚDĚLSKÝCH A LESNÍCH PŮD ŠUMAVY

J. Kozák, L. Borůvka

Czech University of Agriculture, Praha, Czech Republic

ABSTRACT: In soil samples taken from 18 soil profiles situated in the Šumava region on both forest and adjacent meadow stands, total content of Al in 1M KCl extract and labile forms of Al were determined. Al bound in organic complexes was determined in 0.05M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ extract. Basic soil characteristics were also determined. Multiple analysis of variation of particular Al forms showed that the greatest differences resulted from the differences in soil cover. The content of exchangeable Al, both total and labile, was significantly higher in forest soils than in grassland soils. The content of labile Al in 1M KCl extract was in close correlation with the total exchangeable Al, the content of Al extracted by 0.05M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ was not significantly correlated to exchangeable forms. In factor analysis, two common factors were selected explaining more than 75% of the total variation. According to weights distribution among all variables it was possible to describe the first factor as a factor of soil reaction showing significant influence on the content of exchangeable forms of Al in soil. The second factor was described as a factor of soil organic matter.

toxic forms of Al; fractionation of Al; content of Al in soil solution; factor analysis

ABSTRAKT: V oblasti Šumavy byly odebrány půdní vzorky z 18 lokalit, a to vždy ze svrchních a vnitřních horizontů. Výběr půdních profilů byl zvolen tak, aby zahrnoval jak lesní porosty, tak přilehlé lokality pod trvalými travními porosty. Ve všech vzorcích byl stanoven celkový Al ve výluhu 1M KCl a v extraktech tzv. labilní Al podle publikované metody (James et al., 1983). Celkový Al byl stanoven metodou AAS a Al v komplexech s organickými sloučeninami v extraktu 0,05M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$. Současně byly určeny základní půdní charakteristiky ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$, pH_{KCl} , V_a , C_{org} , humus a $Q_{4/6}$). Obsah výměnného Al, labilního i celkového, je výrazně vyšší v lesních půdách než v půdách trvalých travních porostů; je obdobný, jaký uvádějí Ponette et al. (1996), resp. Makovnicková, Kaniánska (1996), ale vyšší, než udávají Porebská, Mulder (1996). Rozdíly lze vysvětlit poněkud kyselější půdní reakcí u vzorků z oblasti Šumavy. Vícenásobná analýza rozptylu obsahů jednotlivých forem Al ukazuje, že největší rozdíly v obsazích výměnných forem Al jsou způsobeny druhem porostu: výrazně vyšší obsah výměnného Al je v lesních půdách. Obsah labilního Al ve výluhu KCl byl v těsné korelaci s celkovým obsahem výměnného Al ($r = 0,988^{***}$). Obsah Al extrahovatelný $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ nevykázal významnou korelaci s obsahem výměnných forem Al. Vliv půdních charakteristik na obsah sledovaných forem Al byl dále zkoumán pomocí faktorové analýzy. Byly vybrány dva společné faktory, které v obou případech objasňují více než 75 % celkového rozptylu. První faktor u obou horizontů vysvětluje většinu (více než 60 %) celkového rozptylu. Podle rozložení závažných zátěží u jednotlivých proměnných jej lze v obou případech označit za faktor půdní reakce, který rozhodujícím způsobem ovlivňuje obsah výměnných forem Al v půdě. Druhý faktor má významnou zátěž u obsahu Al extrahovatelného $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ a bylo by možné označit jej za faktor organické hmoty, protože většinu tohoto Al tvoří komplexy s organickými látkami. Projekce faktorových skóre ukazuje odlišnost mezi půdami lesními a půdami trvalých travních porostů.

toxické formy Al; frakcionace Al; obsah Al v půdním roztoku; faktorová analýza

INTRODUCTION

Cambisols and Podzols derived from acid and strongly acid parent materials comprise approximately 32% of the soil cover of the Czech Republic. Another roughly 13% of our soils developed on similar substrates underwent hydromorphic development (Ně-

meček, 1996). Both soil groups are supposed to have a high content of Al, especially in the free or labile forms, which may produce toxic effects.

Al constitutes approximately 8% of soil minerals and is found mainly in hydrated forms (Smith, 1971). When Al salt is dissolved in water, the spontaneous hydrolysis of Al^{3+} yields monomeric species, such as

AlOH^{2+} and $\text{Al}(\text{OH})_3^+$. In addition to the monomeric species, Al polymers are formed under certain conditions, particularly on the addition of OH^- ions (Hsu, 1968). Raupach (1963) reported higher toxicity of AlOH^{2+} based on the monomer model of dissolution of $\text{Al}(\text{OH})_3$. Tanaka et al. (1987) found that also Al^{3+} is very toxic.

The abundance of different species of Al ions is commonly related to soil acidity. Relationship between pH value, composition of soil solution and toxicity of Al ions was indicated by many authors. The following soil components showed the strongest influence: Ca^{2+} , Mg^{2+} and P^{5+} content, complexing fraction of soil organic matter and ionic strength of soil solution. As an indicator of stress in forest ecosystems especially the Ca/Al ratio is reported (Ulrich, 1983; Sverdrup et al., 1992; Cronan, Crigal, 1995). Free forms of Al and forms complexed with fulvic acids are easily mobile in soil profiles and thus could be found in ground water, which is very often used as a source of drinking water. According to data given by Boudot et al. (1996), under conditions of high precipitations in the soils with spodic horizon the transport of soil solutions vertically through the surface horizons and then laterally through the upper part of the spodic horizon takes place, while amorphous forms of Al and many trace elements are dissolved. With regard to the chemical composition of spodic horizons, the authors consider this phenomenon, accelerated by the acid deposition, as a chemical time bomb.

The deterioration of forests is often explained by high concentrations of toxic Al forms. According to Brummer (1989), concentrations of Al in the range 10 to 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, commonly present in soil solution, could be toxic for some trees, whereas for field crops the toxic level of Al is much lower (0.1 to 0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Percival et al. (1996) concluded that for the evaluation of toxic effects of particular Al forms it could be more appropriate to use their concentration in soil solution rather than extractions by salt solutions. Those authors supposed that extraction by 1M KCl and 0.02M CaCl_2 provided a misleading indication of potential Al toxicity status of the soils probably due to the generation of artificially elevated concentrations in their soil samples.

In spite of the ecological importance of potentially toxic Al forms the mechanisms of their solubility in acid mineral soils are not well explained (Mulder, Stein, 1994). Berggren, Mulder (1995) concluded that in strongly acid soils the Al solubility is controlled in particular by organically bound Al. This opinion was supported by the results of Porebska, Mulder (1996).

The aim of this study was to assess selected forms of Al ions in forest soils and adjacent grassland soils in the Šumava region which is considered as a relatively clear area in the aspect of immission load, with forests affected very little with acid deposition. At the same time, an attempt to reveal the influence of se-

lected soil characteristics on the above mentioned Al forms in soil profiles was made.

MATERIAL AND METHODS

Soil sampling

Soil samples were collected from the whole Šumava region in July 1996. Samples were collected from forest soils and adjacent agricultural soils, namely soils under grass cover. Samples were taken from surface and subsurface horizons. In total, 36 samples were collected. The major part of sampled soils was formed by Dystric Cambisols (13 stands). Stagno-gleyic Cambisol and Spodo-dystric Cambisol were found on two sites each and Fluvisol was recorded on one site. Distribution of sampling sites can be seen from the map (Fig. 1), the description of the localities is given in Tab. I. Samples were air dried and sieved through 2 mm mesh.

Analytical methods

Exchangeable Al was determined in the 1M KCl extract. The mixture with ratio soil : solution 1 : 10 (w/v) was shaken for 24 hours and centrifuged. Labile Al was determined by the method proposed by James et al. (1983), when Al^{3+} is bound on 8-hydroxyquinoline and the solution is then measured spectrophotometrically. Total Al in the extract was determined by means of atomic absorption spectrometry in the acetylene-nitrous oxide flame.

For Al complexed with organic substances determination an extraction of soil with 0.05M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ at pH 12 modified according to Pospíšil (1981) and Porebska, Mulder (1996) was done. The mixture of soil : solution ratio 1 : 20 (w/v) was shaken again for 24 hours and centrifuged. In the solution the total content of Al by means of AAS was measured. In pyrophosphate extracts also labile Al forms according to James et al. (1983) were determined.

Basic soil properties were determined using commonly used methods ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$, pH_{KCl} , exchangeable acidity by titration of 1M KCl extract), organic carbon was determined oxidimetrically and the quality of humus was described by A4/A6 ratio (ratio of absorbance in soil 0.05M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ extract at wavelengths 400 nm and 600 nm).

Statistics

Statistical treatment was proceeded with software Statgraphics version 5.0. Multiple analysis of variation was used to determine effects of different factors of heterogeneity, interrelations between Al content and soil characteristics were assessed by factor analysis.

I. Description of the sampling localities and the depth of sample collection

Number	Locality	Cover	Soil unit	Horizon	Depth (cm)
1	Špičák	grass	Dystric Cambisol	Ah	0-20
		forest	Spodo-dystric Cambisol	Bw	20-50
2	Alžbětín	grass	Stagno-gleyic Cambisol	Ah	0-10
				Bg	10-35
3	Železná Ruda	forest	Dystric Cambisol	Ah	0-20
				Bw	20-60
4	Nová Hůrka	forest	Dystric Cambisol	Ah	0-15
				Bw	15-50
5	Hartmanice	forest	Dystric Cambisol	Ah	0-15
		grass	Stagno-gleyic Cambisol	Bg	15-50
6	Kvilda	forest	Dystric Cambisol	Ah	0-10
				Bw	10-40
7	Borová Lada	forest	Dystric Cambisol	Ah	0-20
		grass	Dystric Cambisol	Bw	20-45
8	Horní Vltavice	forest	Spodo-dystric Cambisol	Ah	0-15
		grass	Fluvisol	Bw	15-40
9	Strážný	forest		Ah	0-8
				Cg	8-25
10	Větší Vltavice	forest	Dystric Cambisol	Ah	0-15
		grass	Dystric Cambisol	Bw	15-45
11	Borová Lada	forest	Dystric Cambisol	Ah	0-15
		grass	Dystric Cambisol	Bw	15-45
12	Horní Vltavice	forest	Dystric Cambisol	Ah	0-15
		grass	Dystric Cambisol	Bw	15-35
13	Strážný	forest	Dystric Cambisol	Ah	0-15
		grass	Dystric Cambisol	Bw	15-45
14	Větší Vltavice	forest	Dystric Cambisol	Ah	0-25
		grass	Dystric Cambisol	Bw	25-45
15	Větší Vltavice	forest	Dystric Cambisol	Ah	0-12
		grass	Dystric Cambisol	Bw	12-45
16	Větší Vltavice	forest	Dystric Cambisol	Ah	0-15
		grass	Dystric Cambisol	Bw	15-45

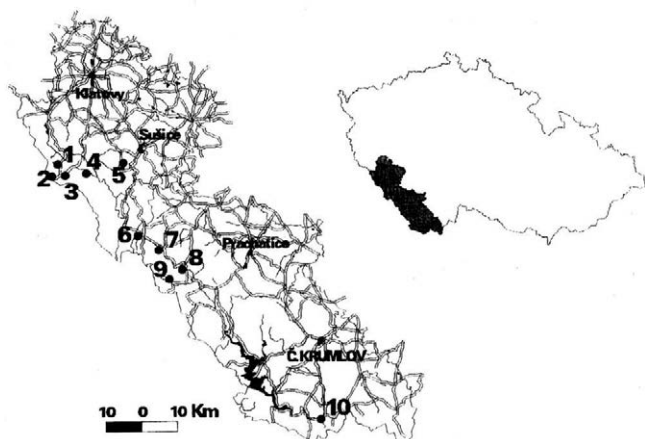
RESULTS AND DISCUSSION

Mean values of determined soil characteristics are given in Tab. II. It is apparent that forest soils are significantly more acid than soils under grassland and they contain higher amount of humus. Quality of this humus is, however, lower. Humus content in both forest and grassland soils can be evaluated as high.

Exchangeable Al content, both labile and total, is significantly higher in forest soils than in grassland ones (Tab. III). This content is (after calculation to mmol.kg^{-1}) similar to that given by Ponette et al. (1996) and Makovnicková, Kaniánska (1996),

but higher than that in Podzols on sands of lower altitude reported by Porebska, Mulder (1996). Labile Al content is also in most cases higher than 3 mg.kg^{-1} which is a limit value proposed for agricultural soils (Kozák et al., 1994). Content of Al extractable with $0.05\text{M Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ was also higher than values given by Porebska, Mulder (1996) for Podzols with lower organic matter content on sands. Influence of small differences in methodology of the extraction cannot be excluded, either. Labile Al forms in $0.05\text{M Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ extracts were not found.

Multiple analysis of variance of content of different Al forms (Tab. IV) showed that most important differ-



I. The map showing localization of soil pits

- localization of soil pits
- districts boundaries
- ~ streams and rivers
- == roads

II. Mean values of basic soil characteristics: soil pH in water suspension and KCl extract ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$, pH_{KCl}), exchangeable acidity (V_a), organic carbon content (C_{org}), humus content and A4/A6 ratio

Vegetation cover	Horizon	$\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$	pH_{KCl}	V_a (mmol/100 g)	C_{org} (%)	Humus (%)	A4/A6
Grass	surface	5.18	3.94	1.52	5.38	9.28	7.32
	subsurface	5.23	3.87	1.92	3.19	5.50	6.91
Forest	surface	3.23	2.53	9.74	8.73	15.05	8.21
	subsurface	3.83	3.22	8.55	3.95	6.80	8.25

III. Mean contents of Al in the extracts ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); total organically bound Al was determined as a difference between Al extracted by $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ and KCl (Porebská, Mulder, 1996); in parentheses variation coefficients in % are given

Vegetation cover	Horizon	Al extracted by 1M KCl		Al extracted by 0.05M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$	Total organically bound Al
		labile	total		
Grass	surface	92.2 (110.1)	129.4 (114.1)	3 062.4 (62.1)	2 933.0 (63.6)
	subsurface	132.7 (108.8)	155.5 (110.9)	3 221.6 (63.2)	3 066.0 (65.7)
Forest	surface	665.8 (32.5)	957.0 (31.4)	3 303.1 (28.6)	2 346.1 (33.7)
	subsurface	508.5 (43.8)	636.9 (38.4)	4 391.6 (34.2)	3 754.7 (38.0)

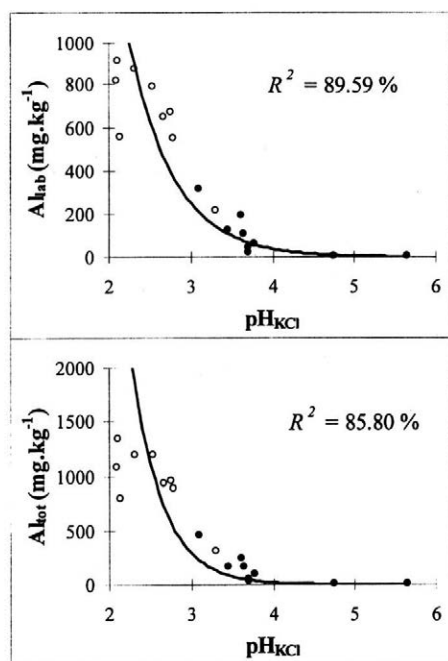
ences in exchangeable Al forms were caused by the vegetation cover. In forest soils the exchangeable Al content was significantly higher than in grassland soils. Influence of horizon was not found in this whole data set, because according to the pair comparisons content of exchangeable Al in forest soils was significantly higher in the surface horizons than in subsurface ones, while in the grassland soils, in the contrary, the content in the surface horizons was lower than in the subsurface ones (this difference was found statistically significant, however, only for the labile form). Influence of soil classification unit was not found. Only in Spodo-dystric Cambisols the content of exchangeable Al was found

higher by means of one-way analysis of variation in the whole data set. In the group of forest sites, where exclusively the Spodo-dystric Cambisols were present, this difference was not found. Content of Al extractable with 0.05M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ was insignificantly higher in forest soils than in grassland soils. This content in surface horizons was lower than in subsurface horizons, this difference was statistically significant only in forest soils.

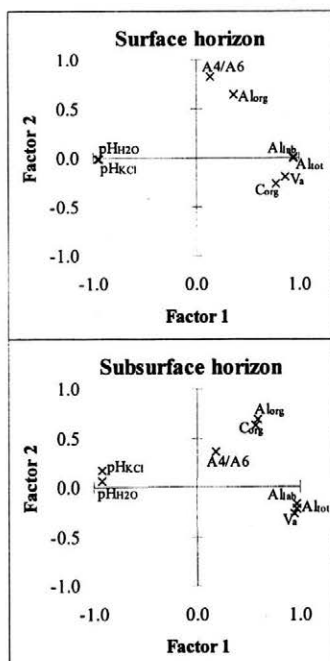
Labile Al content in the KCl extracts was in close correlation with total exchangeable Al content ($r = 0.988^{***}$). Al extractable with 0.05M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ was not significantly correlated with exchangeable Al.

IV. Multiple analysis of variation of particulate Al forms with classification according to vegetation cover, soil horizon and soil classification unit

Source of variation	d.f.	KCl extract (labile Al)		KCl extract (total Al)		Na ₄ P ₂ O ₇ extract	
		mean square	F-ratio	mean square	F-ratio	mean square	F-ratio
Cover	1	1 266.3 x 10 ³	38.58***	2 568.7 x 10 ³	43.47***	327.2 x 10 ³	0.12
Horizon	1	30.7 x 10 ³	0.93	194.6 x 10 ³	3.29	3 501.9 x 10 ³	1.29
Soil unit	3	41.4 x 10 ³	1.26	36.2 x 10 ³	0.61	2 631.9 x 10 ³	0.97
Residual	30	32.8 x 10 ³		59.1 x 10 ³		2 715.1 x 10 ³	



2. Regression of dependence of labile (Al_{lab}) and total (Al_{tot}) Al content in KCl extract on soil pH in the surface horizon (black points – grassland soils, white points – forest soils)



3. Factor analysis of Al forms content and soil characteristics: projection of weights of the first and second common factors (for labels see Tab. VII)

Correlation analysis showed that the most important soil property controlling exchangeable Al content in soil is soil acidity, both determined in water solution and KCl solution (Tab. V). Organic carbon (C_{org}) content exhibited lower influence. In forest soils the organic carbon influence was more important in subsurface horizons, in grassland soils it was more important in the surface horizons. Content of Al extractable with 0.05M Na₄P₂O₇ was not in an important way influenced by soil reaction, influence of organic carbon was significant only in subsurface horizons of grassland soils. Influence of humus quality expressed by A4/A6 ratio value on Al forms was not found by means of correlation analysis.

Regression curves of dependence of labile and total Al in KCl extract on soil reaction in surface horizon

(Fig. 2) show the decrease in the content of these forms with increasing pH value. It corresponds to results of other authors (e.g. Ponette et al., 1996). In the graphs, the difference between forest and grassland soils is well apparent: forest soils are generally more acid and they contain higher amount of exchangeable Al.

The influence of soil characteristics was then studied by means of factor analysis. With regard to the fact that there was no significant difference between forest and grassland soils in distribution of common factors weights, the analysis was calculated for all sites, however, separately for surface and subsurface horizons, because there were some differences in weights distribution between those horizons. Eigenvalues and the percentage of total variation explained by the factors

V. Correlation coefficients of linear relation between particulate Al forms in soil and soil characteristics

Vegetation cover	Horizon	pH _{H₂O}	pH _{KCl}	V _a (mmol/100 g)	C _{org} (%)
Labile Al in 1M KCl extract (mg.kg ⁻¹)					
Grass	surface	-0.724*	-0.672*	0.994***	0.508
	subsurface	-0.765*	-0.823**	0.957***	0.071
Forest	surface	-0.766*	-0.799**	0.139	0.141
	subsurface	-0.916***	-0.920***	0.966***	0.666
Total Al in 1M KCl extract (mg.kg ⁻¹)					
Grass	surface	-0.714*, -0.660	0.988***	0.499	
	subsurface	-0.757*	-0.822**	0.983***	0.021
Forest	surface	-0.726*	0.751*	0.219	0.210
	subsurface	-0.961***	-0.949***	0.988***	0.671*
Total Al in 0.05M Na ₄ P ₂ O ₇ extract (mg.kg ⁻¹)					
Grass	surface	-0.640	-0.590	0.260	0.086
	subsurface	-0.507	-0.399	0.024	0.825**
Forest	surface	-0.080	-0.054	0.490	0.104
	subsurface	-0.276	-0.247	0.328	0.531

VI. Factor analysis of Al forms content and soil characteristics: eigenvalues of common factors and their share on total variation of the variables

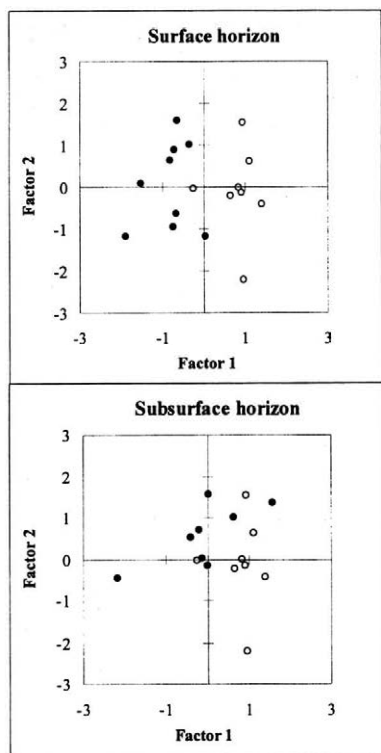
Factor	Surface horizon			Subsurface horizon		
	eigenvalue	% of variation	cumulative percentage	eigenvalue	% of variation	cumulative percentage
1	5.076	63.5	63.5	5.145	64.3	64.3
2	1.188	14.8	78.3	1.176	14.7	79.0
3	0.794	9.9	88.2	0.989	12.4	91.4
4	0.462	5.8	94.0	0.407	5.1	96.5
5	0.340	4.2	98.2	0.198	2.5	98.9
6	0.133	1.7	99.9	0.075	0.9	99.9
7	0.005	0.1	100.0	0.008	0.1	100.0
8	0.003	0.0	100.0	0.003	0.0	100.0

VII. Factor analysis of Al forms content and soil characteristics: weights of common factors and communalities of the variables (Al_{lab} = labile and Al_{tot} = total content of Al in KCl extract, Al_{org} = total Al extracted by Na₄P₂O₇)

Variable	Surface horizon			Subsurface horizon		
	factor 1	factor 2	communality	factor 1	factor 2	communality
Al _{lab}	0.940	0.009	0.885	0.964	-0.165	0.956
Al _{tot}	0.946	-0.002	0.896	0.962	-0.213	0.972
Al _{org}	0.371	0.638	0.544	0.594	0.691	0.830
pH _{H₂O}	-0.958	-0.006	0.918	-0.922	0.065	0.855
pH _{KCl}	-0.942	-0.006	0.887	-0.918	0.171	0.872
V _a	0.862	-0.196	0.781	0.939	-0.269	0.955
C _{org}	0.769	-0.261	0.660	0.571	0.622	0.713
A4/A6	0.140	0.821	0.693	0.188	0.365	0.168

are given in Tab. VI. For each group, two common factors explaining more than 75% of total variation were selected (Tab. VII). First factor for both horizons explains majority (more than 60%) of total variation. According to the distribution of weights at variables this factor can be described as the factor of soil reac-

tion, which decisively influences the content of exchangeable Al forms in soil. The second factor has significant weight at content of Al extractable with Na₄P₂O₇. This factor can be interpreted as the factor of organic matter as most of that Al constitutes Al complexed with organic substances. However, there is



4. Factor analysis of Al forms content and soil characteristics: projection of factor scores of the first and second common factors (black points – grassland soils, white points – forest soils)

a difference between horizons: while for the surface horizon a significant weight of the second factor was found at A4/A6 ratio as the humus quality parameter, for the subsurface horizon there is more important the influence of humus content so that there is a significant weight of the second factor at organic carbon content. These results describe well the fact that in the humus layer the complexation depends mainly on the proportion of complexing organic substances, whereas the part of organic matter present in the subsurface horizons is dominated by mobile fulvic-acids-like organic compounds that can be transported through the soil profile and form easily the complexes with Al ions.

According to the values of communalities of the variables, the best explained there are contents of exchangeable Al forms (both labile and total) and soil pH values, the poorest explanation by the factor analysis models is for Al extractable with $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, especially in surface horizons ($h^2 = 0.544$), and parameters of humus quality and quantity (in the subsurface horizon there is the communality of A4/A6 ratio as low as 0.168). Factor weights projection (Fig. 3) shows well interrelations among the variables. Contents of ex-

changeable Al forms (both labile and total), soil pH and exchangeable acidity are placed close to the axis of the first factor, which means very small effect of the second factor. Content of Al extractable with 0.05M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ and characteristics of humus content and quality were more influenced by the second factor so that their position is more distant from the axis of the first factor. The projection of score of the first two factors (Fig. 4) shows difference between forest and grassland soils.

Acknowledgement

This research was supported by the grant No. 526/96/1180 of the Grant Agency of the Czech Republic.

REFERENCES

- BERGGREN, D. – MULDER, J.: The role of organic matter in controlling aluminum solubility in acidic mineral soil horizons. *Geochim. et Cosmochim. Acta*, 59, 1995: 4167–4180.
- BOUDOT, J. P. – MAITAT, O. – MERLET, D. – ROUILLE, J.: Evidence for the redissolution of soil spodic horizons under the influence of acid deposition in the Vosges mountains (north-eastern France). *Sci. Tot. Envir.*, 184, 1996: 211–214.
- BRÜMMER, G.: Schadstoffe. In: SCHEFFER, F. – SHACHTSCHABEL, P. (eds): *Lehrbuch der Bodenkunde*. Stuttgart, Enke Verlag 1989. 316 pp.
- CRONAN, C. S. – GRIGAL, D. S.: Use of calcium/aluminum ratios as indicators of stress in forest ecosystems. *J. Envir. Qual.*, 24, 1995: 209–226.
- HSU, P. H.: Interaction between aluminum and phosphate in aqueous solution. *Adv. Chem. Ser.*, 73, 1968: 115–127.
- JAMES, B. R. – CLARK, C. J. – RIHA, S. J.: An 8-hydroxyquinoline method for labile and total aluminum in soil extracts. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 47, 1983: 893–897.
- KOZÁK, J. – BORŮVKA, L. – KRÍŠTOUKOVÁ, S. – MACH, J.: Toxické formy Al v půdním roztoku a možnosti jejich eliminace. [Závěrečná zpráva.] Praha 1994. 12 pp.
- MAKOVNÍKOVÁ, J. – KANIANSKA, R.: Aktivní hliník a jeho současný stav v půdách SR. *Rostl. Vyr.*, 42, 1996 (7): 289–292.
- MULDER, J. – STEIN, A.: The solubility of aluminum in acidic forest soils: Long-term changes due to acid deposition. *Geochim. et Cosmochim. Acta*, 58, 1994: 85–94.
- NĚMEČEK, J.: Soil map of the Czech Republic. Detail of scale 1 : 1 000 000. 1996.
- PERCIVAL, H. J. – GIDDENS, K. M. – LEE, R. – WHITTON, J. S.: Relationships between soil solution aluminium and extractable aluminium in some moderately acid New Zealand soils. *Austral. J. Soil Res.*, 34, 1996: 769–779.
- PONETTE, Q. – ANDRE, D. – DUFEY, J. E.: Chemical significance of aluminium extracted from three horizons of an acid forest soil, using chloride salt solutions. *Eur. J. Soil Sci.*, 47, 1996: 89–95.

- POREBSKA, G. – MULDER, J.: The chemistry of aluminum in strongly acidified sandy soil in Poland. *Eur. J. Soil Sci.*, 47, 1996: 81–87.
- POSPÍŠIL, F.: Group- and fractional composition of the humus of different soils. In: *Trans. Vth Int. Soil Sci. Conf. Vol. I. Res. Inst. Soil Improv. Praha*, 1981.
- RAUPACH, M.: Solubility of simple aluminum compounds expected in soil. IV. Reaction of aluminum hydroxide under acid conditions. *Austral. J. Soil Res.*, 1, 1963: 55–62.
- SMITH, R. W.: Relations among equilibrium and non-equilibrium aqueous species of aluminum hydroxy complexes. *Adv. Chem. Ser.*, 106, 1971: 250–279.
- SVERDRUP, H. – WARFVINGE, P. – ROSEN, K. A. J.: A model for the impact of soil solution Ca : Al ratio, soil moisture, and temperature on tree base cation uptake. *Wat. Air Soil Pollut.*, 61, 1992: 365–383.
- TANAKA, A. – TADANO, T. – YAMAMOTO, K. – KANAMURA, N.: Comparison of toxicity to plants among Al^{3+} , $AlSO_4^+$, and Al-F complex ions. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, 33, 1987 (1): 43–55.
- ULRICH, B.: Soil acidity and its relations to acid deposition. In: *ULRICH, B. – PANKRATH, J. (eds): Effects of accumulation of air pollutants in forest ecosystems. Boston, D. Reidel* 1983: 127–146.

Received on January 22, 1998

Contact Address:

Prof. Ing. Josef K o z á k , DrSc., Česká zemědělská univerzita, 165 21 Praha 6-Suchbát, Česká republika, tel.: 02/24 38 27 57, fax: 02/20 92 16 44

STANOVENÍ NĚKTERÝCH MIKROELEMENTŮ V PŮDĚ METODOU ICP-AES

DETERMINATION OF SOME TRACE ELEMENTS IN SOIL USING ICP-AES METHOD

L. Pospíšilová¹, J. Laštincová²

¹Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno, Czech Republic

²Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic

ABSTRACT: In 1997 the total content of Cu, Zn, Mo, Mn and V in soil using ICP-AES, Baird 2070 ICP method was tested. The samples were taken from parks in Brno (Arboretum, Koliště, Hybešova hora, Obilní trh, Malinovský Square and Komárov). The increasing content of trace elements leading to critical concentration in soils was studied. Because the content of these elements in real samples was high and variable, a correspondent matrix was modelled. Results obtained show that high levels of trace elements are attributed to industrial emission and heavy traffic influence rather than background and chemical properties of soil (for example higher content of Cu, Zn and Mo on Malinovského Square, Koliště and Obilní trh).

trace elements Cu, Zn, Mo, Mn, V; spectral lines; total content

ABSTRAKT: V roce 1997 byl sledován celkový obsah Cu, Zn, Mn, Mo a V v půdě metodou ICP-AES, Baird 2070 ICP. Vzorky byly odebrány v parcích města Brna (Arboretum, Koliště, Hybešova hora, Obilní trh, Malinovského náměstí a Komárov). Byl stanoven zvýšený celkový obsah, vedoucí až ke kritickým hodnotám jejich koncentrace. Vzhledem k tomu, že stanovené hodnoty byly vysoké a značně variabilní, u každého půdního vzorku byla modelována korespondující matrice. Zjištěné výsledky ukazují, že zvýšený celkový obsah mikroelementů je způsoben více zatížením průmyslovými emisemi a dopravou než pozadovými hodnotami a chemickými vlastnostmi půdy (např. zvýšený obsah Cu, Zn a Mo na lokalitách Malinovského náměstí, Koliště a Obilní trh).

mikroelementy Cu, Zn, Mn, Mo, V; spektrální čáry; celkový obsah

ÚVOD

Obsah mikroelementů v půdě závisí na jejím mineralogickém složení a textuře. Diferenciace těchto prvků je u různých půdních typů a druhů různá. Půdní povrch ve městě se podstatně liší od zemědělských půd. Půdy ve městě mají narušený nebo zcela chybí sled horizontů, obsahují hodně příměsí a cizorodých látek, z čehož vyplývají i jejich odlišné fyzikální a chemické vlastnosti a velká prostorová variabilita. Nacházíme zde ztuhlé povrchové nebo podpovrchové horizonty, snížené provzdušnění, perkolaci povrchové vody a narušený cyklus živin a půdních organismů (Sáňka, 1996).

Hromadění mikroelementů v půdě obecně má dlouhodobý charakter. Za normálních podmínek jsou mikroelementy pevně vázány na minerální část půdy a v půdní organické hmotě. Ke stanovení limitu, kdy se již začínají hromadit a působit toxicky, je důležité znát kromě přírodně-geologických podmínek jejich celkový obsah, mobilitu a potenciální mobilitu v půdě. Vliv rizikových koncentrací se neprojevuje ihned (tj. toxicita není funkcí stálosti), ale teprve pozvolným zvyšováním koncentrace dochází ke změnám fyzikálních a chemických vlastností půdy. Narušením chemismu půdy se

mohou mikroelementy uvolnit a dostat do biochemického koloběhu látek.

Nejrozšířenější metodou stanovení mikroelementů v současnosti je metoda atomové absorpční spektrometrie (AAS), dále metoda polarografická, elektrochemická, rentgenová fluorescenční analýza a v posledních letech i metoda atomové emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou (ICP-AES).

Cílem této práce bylo stanovit celkový obsah mikroelementů v parcích brněnského intravilánu metodou atomové emisní spektrometrie (ICP-AES) v půdním mineralizátu a zjištěné výsledky srovnat s platnými limity a literaturou, a dále určit, do jaké míry jsou parky v Brně zatíženy. Metoda i pracovní postup vycházel z literatury (Zbiral, 1993; Vanovčan, 1996; Kanický, 1989) a z vlastních zkušeností s analýzou půdních mineralizátů.

MATERIÁL A METODA

Na území brněnského intravilánu nacházíme půdy s antropicky přetvořeným A horizontem, uloženým na původním substrátu (kultizemě), nebo půdy s antropickým A horizontem na uměle vytvořeném podloží (an-

Vzorek ¹	pH _{H₂O}	pH _{KCl}	C _{ox} (%)	Celkový obsah humusu ² (%)
1. Arboretum	7,50	7,00	3,80	6,55
2. Koliště	7,62	7,24	2,00	3,43
3. Hybešova hora	7,43	7,00	3,60	6,20
4. Obilní trh	7,66	7,30	1,12	1,93
5. Malinovského náměstí	7,41	7,00	1,97	3,39
6. Komárov	7,75	7,30	1,01	1,74

¹sample, ²total humus content

trozemě). Bylo vybráno šest půdních vzorků: Arboretum (č. 1), Koliště (č. 2), Hybešova hora (č. 3), Obilní trh (č. 4), Malinovského náměstí (č. 5), Komárov (č. 6). Vzorky byly odebírány sondovací tyčí do hloubky cca 20 cm tak, aby výsledný vzorek byl složen z 25 dílků odběrů odebraných z plochy cca 10 m² (Sáňka a, 1996). Některé z půdních vlastností jsou uvedeny v tab. I. Byly použity tyto analytické metody:

- pH_{H₂O} a pH_{KCl} – potenciometricky (Jandák a kol., 1989)
- C_{ox} – metodou Nováka, Peliška (Jandák a kol., 1989)
- Obsah mikroelementů – metodou ICP-AES (Baird 2070 ICP)

Pro kalibraci byly použity standardy roztoků daných prvků o koncentraci 1 ppm (firma Merck). Byly stanoveny optimální podmínky analýzy, provedena korekce na pozadí a kompenzace možných interferencí (Kaničák, 1989; Vanovčan, 1996).

Celkový obsah byl zjištěn po úplném rozložení půdního vzorku v tzv. půdním mineralizátu. Totální rozklad vzorků byl proběhl v mikrovlnném zařízení fyCEM v roztoku koncentrovaných kyselin HNO₃, HF, HCl (firma Merck, čistota suprapure). Po mineralizaci následovala neutralizace HF nasyceným roztokem H₃BO₃.

Sledované prvky jsme stanovili na vybraných spektrálních čarách: 324,754 nm (Cu), 311,071 nm (V), 257,610 nm (Mn), 213,856 nm (Zn), 202,030 nm (Mo).

U každého vzorku byla modelována korespondující matrice. Nejprve jsme sledovali intenzitu signálu standardního roztoku mikroelementu. Jako příklad jsme vybrali Mo. Intenzita signálu jeho standardního roztoku o koncentraci 1 ppm bez modelového prostředí matrice je uvedena na obr. 1. Dále byla stanovena intenzita signálu Mo o koncentraci 1 ppm v modelovém prostředí

matrice v okolí spektrální čáry Mo 202,030 nm (obr. 2). Stejným způsobem jsme postupovali i u ostatních mikroelementů. K vyhodnocení výsledků byl použit software ICP 2070 se statistickým vyhodnocením dat. Zjištěné celkové obsahy sledovaných prvků jsou uvedeny v tab. II.

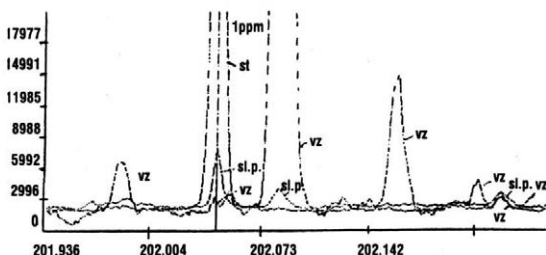
VÝSLEDKY A DISKUSE

Při hodnocení celkového obsahu sledovaných mikroelementů jsme vycházeli z publikovaných kritérií a údajů (Podlešáková, Němeček, 1996, 1997). U vzorků odebraných na lokalitách 1, 2 a 5 byly překročeny limity požadových hodnot pro Zn a Cu. Celkový obsah Mo byl na všech lokalitách 10krát vyšší než hodnoty pozadí (naměřeno bylo 8 mg.kg⁻¹, požadová hodnota je 0,8 mg.kg⁻¹). Celkový obsah Mn a V nepřekračoval požadové hodnoty na žádné z lokalit. Pouze u vzorku 3 je u obsahu Mn překročena horní mez požadových hodnot (Podlešáková, Němeček, 1997).

K podobným výsledkům dospěl i Sáňka (1996), který stanovil překročení požadových hodnot pro Cu a Zn na stejných lokalitách. Dále jsme zjistili opačné (negativní) korelace mezi obsahem Cu a Mn. Např. u vzorku 3 je zvýšený obsah Mn a snížený obsah Cu, což nám dovoluje vyslovit předpoklad, že nárůst obsahu jednoho z mikroelementů se děje na úkor poklesu obsahu druhého mikroelementu.

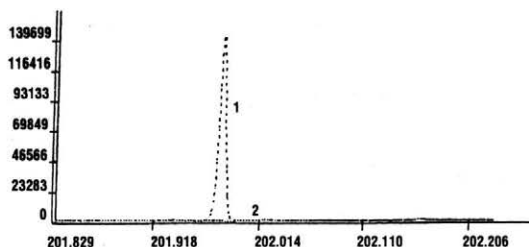
ZÁVĚR

Byl stanoven celkový obsah Cu, Zn, Mn, Mo a V ve vybraných parcích brněnského intravilánu metodou



I. Záznam intenzity signálu standardního roztoku Mo (st) o koncentraci 1 ppm, vzorek (vz), slepý pokus (sl.p.), bez modelového prostředí matrice – Record of signal intensity of standard Mo solution (st) of concentration 1 ppm, sample (vz), blank experiment (sl.p.) without model medium of matrices

osa x: vlnová délka – x axis: wavelength
osa y: intenzita – y axis: intensity



2. Záznam intenzity signálu standardu Mo o koncentraci 1 ppm v modelovém prostředí matrici (1) a intenzity signálu samotného matrici (2) v okolí spektrální čáry Mo 202,030 nm – Record of signal intensity of standard Mo of concentration 1 ppm in the model medium of matrices (1) and signal intensity of alone matrices (2) near spectral line Mo 202,030 nm

osa x: vlnová délka – x axis: wavelength
osa y: intenzita – y axis: intensity

II. Celkový obsah mikroelementů (mg.kg^{-1}); směrodatná odchylka výběru (SDEV) a variační koeficient (RSD%) – Total content of trace elements (mg.kg^{-1}); standard deviation of selection (SDEV) and variation coefficient (RSD%)

Prvek ¹		Vzorek ²					
		1.	2.	3.	4.	5.	6.
Mo	mg.kg^{-1}	8,45	7,88	8,17	7,40	8,10	7,80
	SDEV	0,21	0,11	0,23	0,17	0,13	0,08
	RSD%	2,47	1,40	2,87	2,30	1,60	1,00
Zn	mg.kg^{-1}	152,60	178,70	101,00	132,00	192,30	136,40
	SDEV	0,57	3,90	0,28	3,60	7,00	1,50
	RSD%	0,37	2,18	0,28	2,70	3,60	1,10
Mn	mg.kg^{-1}	542,50	698,00	1 447	546,60	615,70	601,90
	SDEV		35,00		4,10	20,00	13,20
	RSD%		2,44		0,75	3,20	2,20
V	mg.kg^{-1}	99,70	67,80	87,70	66,70	66,50	69,90
	SDEV	3,80	0,40	0,60	3,10	0,10	0,50
	RSD%	3,70	0,70	0,70	4,60	0,20	0,70
Cu	mg.kg^{-1}	55,50	89,70	31,50	45,30	63,50	61,30
	SDEV	0,90	1,40	0,70	0,10	0,80	1,20
	RSD%	1,60	1,60	2,20	0,1	1,30	1,90

¹element, ²sample

ICP-AES. Zjištěné výsledky byly srovnány s publikovanými limity požadových hodnot (Podlešáková, Němeček, 1996, 1997).

Naměřené výsledky korespondují s literaturou a potvrzují, že parky brněnského intravilánu jsou výrazně zatíženy Cu, Zn a Mo. Pozornost je potřeba věnovat hlavně lokalitám se zvýšenou dopravní zátěží, jako je Malinovského náměstí, Koliště a Obilní trh. Sledování dále potvrdilo předpoklad (Sánka, 1996), že nejde o plošnou kontaminaci lokalit vlivem antropogenní činnosti, ale o tzv. bodovou kontaminaci, která by ovšem mohla ovlivnit i nekontaminované plochy v bezprostřední blízkosti.

LITERATURA

JANDÁK, J. a kol.: Cvičení z půdoznalství. Brno, VŠZ 1989. 213 s.

KANICKÝ, V. – TOMAN, J. – POVOLNÝ, A. – KOPICOVÁ, Z.: Stanovení stopových prvků v extraktech půd a rostlin metodou ICP OES. Chem. Listy, 83, 1989: 194–204.

PODLEŠÁKOVÁ, E. – NĚMEČEK, J.: Kritéria kontaminace a intoxikace půd. Rostl. Výr., 42, 1996 (8): 357–364.

PODLEŠÁKOVÁ, E. – NĚMEČEK, J.: Soubor kritérií hodnocení zátěží půd a zemědělských plodin perzistentními kontaminanty. In: Sbor. věd.-odb. Semin. Cizorodé látky v zemědělských ekosystémech, Praha, 1997: 3–8.

SÁNKA, M.: Úroveň a zdroje kontaminace půd a rostlin v městských aglomeracích. [Doktorská dizertace.] Brno, MZLU 1996. 113 s.

VANOVCAN, J.: Sledování vstupů biogenných prvků do životního prostředí do potravinového řetězce. [Diplomová práce.] Bratislava, STU CHTF 1997. 56 s.

ZBÍRAL, J.: Analýza půd II. Brno, ÚKZÚZ 1996. 212 s.

Došlo 16. 1. 1998

Kontaktní adresa:

RNDr. Lubica Pospíšilová, CSc., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, tel.: 05/45 13 30 59, fax: 05/45 13 30 55

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna (ÚZLK)

Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38

Máte zájem o pravidelné sledování nejčerstvějších informací ze zahraničních odborných časopisů?

Tento požadavek Vám rádi splníme, objednáte-li si naši informační reprografickou službu „**Obsahy zahraničních časopisů**“ a články typu „**Current Contents**“.

Vyberete-li si z každoročně aktualizovaného **Seznamu časopisů objednaných do fondu ÚZLK** sledování nejzajímavějších časopisů z Vašeho oboru, zašleme Vám nejprve kopie obsahů nejčerstvějších čísel časopisů a na základě výběru kopie požadovaných článků.

Chtěli bychom Vás také upozornit na další reprografickou službu ÚZLK, a to na poskytování kopií článků z knih a časopisů, které jsou ve fondu ÚZLK. Požadavky na tyto kopie můžete uplatňovat v průběhu celého roku na formulářích „Objednávka reprografické práce“, které si můžete objednat v Technickém ústředí knihoven, Solniční 12, 601 74 Brno, pod katalog. č. TÚK 138-0.

Veškeré další informace a objednávky na reprografické služby včetně Vašich připomínek Vám poskytneme na adrese:

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna – ÚZPI

Odd. reproslužeb

Slezská 7, 120 56 Praha 2

Poštovní schránka 39

Telefonické dotazy: 02/24 25 79 39, linka 329, 421 nebo 306

KVALITA TRAV PŘI ZASTÍNĚNÍ POROSTU

GRASS QUALITY AT SHADING OF THE STAND

V. Míka¹, A. Kohoutek¹, S. Beran²

¹Institute of Agricultural and Food Information, Praha, Research Station of Grassland Ecosystems, Jevíčko, Czech Republic

²TAGRO Červený Dvůr, Ltd., Plant Breeding Station, Tábor, Czech Republic

ABSTRACT: Field trial with three grasses (*Dactylis polygama* cv. Tosca, *Dactylis glomerata* cv. Niva and *Lolium perenne* cv. Talon) was established at the Breeding Station TAGRO Červený Dvůr, Ltd., near Tábor, on loam sandy soil on gneiss substrate (typologically dystric cambisol) with a shallow topsoil, pH 5.6 with a very low natural reserve of P (32 mg.kg⁻¹), with a good reserve of K (148 mg.kg⁻¹) and Ca (1540 mg.kg⁻¹) and high reserve of Mg (137 mg.kg⁻¹), with humus content 18.7 g.kg⁻¹ and sorption complex weakly saturated, in two variants (direct light, 67% of shading by masking net) and studied two cropping years at two cuts a year. Soil temperature under the grassland at shading was in daytime lower by 1.8 ± 0.4 °C than in direct light, air temperature was lower by 2.3 ± 0.7 °C. The greatest differences were recorded about noon. In the night and shortly after dawn the soil temperature (5 cm) in the shaded variant (under the net) was on the contrary higher by 1.3 ± 0.8 °C and air temperature (at 2 m) was higher by 2.6 ± 0.8 °C than in the variant with direct light. The greatest differences in night temperatures between the variant shade and direct light were determined in early spring, late summer and in autumn. Shading (net) was partially limited by air flow and reduced losses caused by long-wave radiation overnight what created somewhat warmer climate for the stand. Leaf blades on vegetative shoots from the shade were longer by one third, but narrower than those from the direct light, blades on fertile shoots were not practically lengthened. Stems of grasses from the shade were longer by one fourth than from the direct light. Grasses in the shade grow slower and give lower yield (in the first cut by 56.8% dry matter less, in the second cut by 39.7%) when compared with the stand in direct light. Whereas share of fraction stems + sheaths + inflorescences here in the first cut amounted to 37%, in direct light it was 55% of dry matter of harvested forage. The share of blades of stem leaves was 4%, in direct light 8%, the share of other blades in the shade 59%, in direct light 37% of the dry matter of harvested forage. The fresh forage as a whole and its different fractions (i.e. parts of plant) have lower dry matter in the shade. The dry matter from the shade in the first cut contained (relatively) more crude protein (NL) by 26%, in the second cut by 22% more crude protein compared with grasses from the full light. Grasses from the shade accumulate somewhat more nitrate N, Si, K but they have less by almost one third of water-soluble carbohydrates (WSC), somewhat less fibre (NDF). Lignin content (ADL) was not changing basically. Plasticity of tested grasses against shading fell in the sequence: *Dactylis polygama* cv. Tosca > *Dactylis glomerata* cv. Niva > *Lolium perenne* cv. Talon. Species adapted to conditions of shading show a good growth of mass and also higher resistance and accumulate more nitrate N.

grasses; shade; adaptation; yield; forage quality; plant morphology

ABSTRAKT: Polní pokus se třemi travami (*Dactylis polygama* cv. Tosca, *Dactylis glomerata* cv. Niva a *Lolium perenne* cv. Talon) byl založen na Šlechtitelské stanici TAGRO Červený Dvůr, s. r. o., u Tábora, na hlinitopísčité půdě na rulovém podkladě (typologicky kambizem kyselá) s mělkou ornici, pH 5,6, s velmi nízkou přirozenou zásobou P (32 mg.kg⁻¹), s dobrou zásobou K (148 mg.kg⁻¹) a Ca (1540 mg.kg⁻¹) a vysokou zásobou Mg (137 mg.kg⁻¹), s obsahem humusu 18,7 g.kg⁻¹ a sorpčním komplexem slabě nasyceným, ve dvou variantách (přímé světlo, 67% zastínění maskovací sítí) a sledován dva užitkové roky při dvou sečích za rok. Teplota půdy pod travním porostem při zastínění byla ve dne nižší o $1,8 \pm 0,4$ °C než na přímém světle, teplota vzduchu pak o $2,3 \pm 0,7$ °C. V noci byla naopak o $1,3 \pm 0,8$ °C, resp. o $2,6 \pm 0,8$ °C vyšší. Listové čepele na vegetativních výhonech ze stínu byly o 1/3 delší, ale užší než z přímého světla, čepele na fertálních výhonech se v podstatě neprodužovaly. Stébla trav ze stínu byla delší o 1/4 než z přímého světla. Trávy ve stínu rostou pomaleji a poskytnou nižší výnos ($P_{0,01}$). V píci je zastoupeno více listových čepelí a méně stébel, čerstvá píce má menší sušinu. V sušině je obsaženo více dusíkatých látek ($P_{0,01}$), méně vodorozpuštěných sacharidů ($P_{0,01}$) a poněkud méně vlákniny ($P_{0,05}$). Plasticita zkoušených trav vůči zastínění klesala v pořadí: srha hajná > srha říznáčka >> jilek vytrvalý. Druhy adaptované na podmínky zastínění vykazují dobrý nárůst hmoty a také vyšší vytrvalost.

trávy; stín; adaptace; výnos; kvalita píce; morfologie rostliny

Trávy rostou nezřídka v podmínkách určitého zastínění, vyvolaném oblačností, sousedními vyššími rostlinami ve smíšeném porostu, případně stromy, budovami a jinými překážkami. Zvláštním případem jsou podsevy trav do krycí plodiny. K zastínění může docházet též vlivem rostliny samotné, zvláště při opožděné sklizni (tj. nižší části rostliny jsou zastínovány vyššími částmi).

Vliv zastínění rostliny na kvalitu píce je třeba posuzovat souběžně s dopadem na rostlinnou produkci a morfologii rostliny, resp. s podmínkami v rhizosféře apod. (Kephart, Buxton, 1993; Míka et al., 1997a). Trávy ve stínu vytvářejí méně kořenů a více nadzemní hmoty (vzátaženo k sušině), zvyšují velikost listové plochy (LAR), resp. fotosynteticky aktivních orgánů, snižují specifickou hmotnost listů (SLW), tloušťku listů a poměr stébel k listům, méně odnožují a vytvářejí méně fertálních výhonů. Čepele trav ze stínu bývají delší (avšak čepele z fertálních výhonů nikoli), užší a tenčí než z plného osvětlení, méně transpirují a méně rostou. Stébela bývají delší, tenčí a mnohdy na bázi etiolizovaná. V tenčích čepelích jsou menší buňky, bývá menší počet buněk mezofylu a vyšší podíl intercelulárních prostor (Allard et al., 1991). Produkce sušiny nadzemní hmoty se zastíněním klesá.

Morfologické adaptace na stres vyvolaný snížením světelného požitku rostliny a změnami ve složení dopadajícího světla (více vzdálené červené části spektra na úkor červené a modré) snižují výkonnost fotosyntézy a transport asimilátů v rostlině.

Předložená práce by měla přispět k lepšímu pochopení průběhu růstu trav a k určení optimálního využití různých produkčních (hustých) porostů, travních porostů v silvopastorálních systémech, ovocných výsadbách apod. ve vztahu ke kvalitě píce.

MATERIÁL A METODA

Na Šlechtitelské stanici TAGRO Červený Dvůr, s. r. o., u Tábora byl v červnu 1994 založen polní pokus se třemi odrůdami trav v hustém zápoji: srha hajní Tosca, srha říznáčka Niva, jilek vytrvalý Talon, a sice metodou znárodněných bloků (pět opakování, plocha parcely 1 m²) ve dvou dílčích pokusech, vzdálených od sebe 20 m. Na jeden dílčí pokus byla na počátku dalšího jara instalována konstrukce fóliovníku, pokrytá vojenskou maskovací sítí, která snižovala světelný tok slunečního světla v průměru o 67 %, druhý dílčí pokus byl vystaven normálnímu (ničím nerušenému) přirozenému přímému světlu. Hodnota okamžitého světelného toku v tomto pokuse v květnu 1995 (měření během sedmi náhodně vybraných slunečných dnů vždy ve 12 h) činila 327 ± 32 W.m⁻² (1 W.m⁻² = 1 J.m⁻².s⁻¹, což odpovídá hustotě toku fotonů 5 μmol.m⁻².s⁻¹ při vlnové délce 400 až 700 nm). Pod maskovací sítí tato hodnota činila 108 ± 26 W.m⁻². Výsev byl proveden

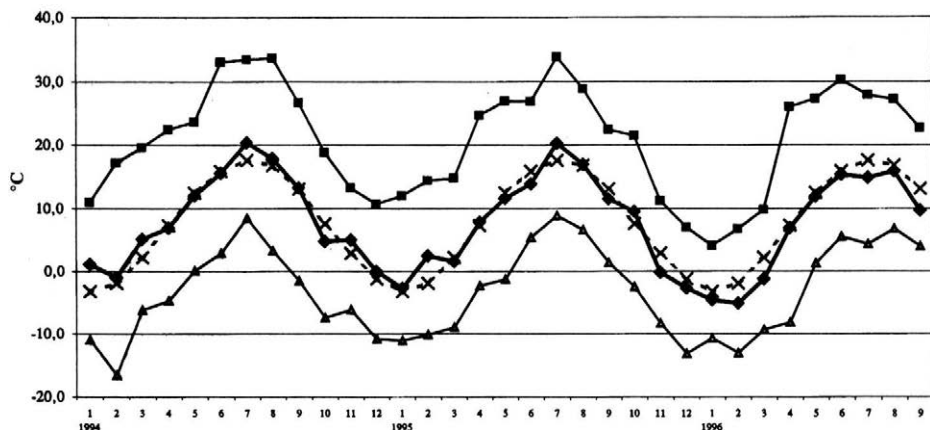
bez krycí plodiny (výsevok srhy 25 kg.ha⁻¹, jílku 30 kg.ha⁻¹) na hlinitopísčité půdě na rulovém podkladě (typologicky kambizem kyselá) s mělkou ornici, pH 5,6, s velmi nízkou přirozenou zásobou P (32 mg.kg⁻¹), s dobrou zásobou K (148 mg.kg⁻¹) a Ca (1540 mg.kg⁻¹) a vysokou zásobou Mg (137 mg.kg⁻¹), s obsahem humusu 18,7 g.kg⁻¹ a sorpním komplexem slabě nasyceným. Před setím bylo zapraveno 400 kg.ha⁻¹ kombinovaného hnojiva NPK-1 (s deklarovaným obsahem 12 % N, 19 % P₂O₅ a 19 % K₂O). V roce zásevu se uskutečnily dvě odplevelovací seče. Na jaře každého užitkového roku (1995, 1996) bylo aplikováno 300 kg NPK-1.ha⁻¹, po první seči byl porost pohojen dávkou 200 kg LAV (27,5 % N). Teplota vzduchu je uvedena na obr. 1.

První seč se uskutečnila na obou dílčích plochách ve stejném termínu v době, kdy srha říznáčka na volné dílčí ploše metala (30 % lat se plně vynořilo z pochvy), druhá seč za 45 dní po první seči. Těsně před první sečí byla u srhy hajní a srhy říznáčky změněna výška stébela, délka a šířka (uprostřed) čepele stébelného listu nacházejícího se hned pod vlnovým listem a dále délka a šířka (uprostřed) čepele plně vyvinutého listu na sterilních výhonech (specifikaci uvádějí Míka et al., 1997a). Hodnoty v tab. I představují průměry z deseti rostlin po pěti stéblech, hodnoty v tab. II a III průměry z deseti rostlin na pěti parcelách (opakováních) od každého druhu a ze dvou užitkových let.

V první a druhé seči byl stanoven výnos sušiny a vybrané charakteristiky nutriční kvality píce (tab. II). V první seči byly fertální výhony separovány na dvě skupiny, tj. čepele a zbytková část (zahrnující pochvy, stébela a květenství). Tento způsob se při podobném zkoumání osvědčil (Míka et al., 1997a) a k danému účelu je plně dostačující. Predikce charakteristik nutriční kvality píce byla provedena na přístroji NIRSystems 6500 na VSTE Jevíčko.

VÝSLEDKY

V průběhu trvání pokusu byla měřena teplota půdy v 5 cm hloubky a teplota vzduchu ve 2 m nad porostem ($n = 17$). Teplota půdy pod travním porostem na přímém světle v průběhu dne byla vyšší než při 67% zastínění o 1,8 ± 0,4 °C, teplota vzduchu pak o 2,3 ± 0,7 °C. Největší rozdíly byly zaznamenány kolem poledne a v časném odpoledni. Naproti tomu v noci a bezprostředně po rozednění byla teplota půdy na zastíněné variantě (pod sítí) vyšší o 1,3 ± 0,8 °C a teplota vzduchu pak o 2,6 ± 0,8 °C ($n = 6$) než na variantě s přímým světlem. Největší rozdíly v nočních teplotách byly stanoveny v časném ránu, v pozdním létě a na podzim. Zastínění (sítí) částečně omezovalo proudění vzduchu a snižovalo ztráty dlouhovlnného záření během noci, čímž se pro porost vytvářelo poněkud teplejší mikroklima. Listové čepele trav ze stinných podmínek jsou na vegetativních výhonech delší (o ca 1/3), ale o 1/6 užší než z přímého světla, zatímco na fertálních



I. Měsíční teploty vzduchu (průměrná, maximální, minimální a dlouhodobý průměr) na stanovišti Červený Dvůr v letech 1994 až 1996 – Monthly air temperatures (average, maximum, minimum and long-term average) on the site Červený Dvůr in the years 1994 to 1996

- průměrná – average
- maximální – maximum
- ▲— minimální – minimum
- x- 50letý průměr – 50-year average

I. Některé morfologické charakteristiky *Dactylis polygama* (Horv.) Dom. a *Dactylis glomerata* L.; průměr měření z deseti rostlin po pěti stéblech těsně před první sečí 1995 a 1996 – Some morphological characteristics of *Dactylis polygama* (Horv.) Dom. and *Dactylis glomerata* L.; average of measurements of ten plants, five stems from each, closely before the first cut of 1995 and 1996

Charakteristika ¹	<i>Dactylis polygama</i>		<i>Dactylis glomerata</i>		Významnost rozdílů mezi druhy srny ⁸		Významnost rozdílů mezi přímým světlem a zastíněním bez ohledu na druhy ⁹
	přímé světlo ¹⁰	67% zastínění ¹¹	přímé světlo	67% zastínění	přímé světlo	67% zastínění	
Délka stébel ² (mm)	575	739	671	813	**	**	**
Délka čepele stébelného listu ³ (první list pod vlajkovým listem ⁴) (mm)	210	228	192	202	N. S.	*	N. S.
Šířka čepele stébelného listu ⁵ (první list pod vlajkovým listem) (mm)	4,3	4,6	4,9	5,0	N. S.	N. S.	N. S.
Délka čepele na vegetativních výhonech ⁶ (mm)	376	528	308	401	**	**	**
Šířka čepele na vegetativních výhonech ⁷ (mm)	5,5	4,6	6,1	5,2	*	*	*

N. S. rozdíl statisticky nevýznamný – insignificant difference

* rozdíl významný při $P_{0,05}$ – significant difference at $P_{0,05}$

** rozdíl významný při $P_{0,01}$ – significant difference at $P_{0,01}$

¹characteristic, ²stem length, ³length of blade of stem leaf, ⁴first leaf under flag leaf, ⁵width of blade of stem leaf, ⁶length of blade on vegetative shoots, ⁷width of blade on vegetative shoots, ⁸significance of differences between cock's foot species, ⁹significance of differences between direct light and shading without respect to species, ¹⁰direct light, ¹¹shading

výhonech se ve stínu v podstatě neproduklují (tab. I). Stébela ze stínu byla v průměru o 1/4 delší než z přímého světla.

Trávy ve stínu rostou pomaleji. V první seči poskytl nižší výnos sušiny o 56,8 %, ve druhé seči o 39,7 % ve srovnání s porostem na přímém světle (tab. II). V první seči byl zaznamenán relativní pokles výnosu sušiny u *Dactylis polygama* v průměru o 42,0 %, u *Dactylis glomerata* o 55 % a u *Lolium perenne* o 71,4 %, ve druhé seči o 24,8 %, resp. o 36,4 %

a 57,9 %. Zatímco podíl frakce stébla + pochvy + květenství zde v první seči činil 37 %, na přímém světle to bylo 55 % sušiny sklizené píce. Podíl čepelí stébelných listů ve stínu činil 4 %, na přímém světle 8 %, podíl čepelí ostatních ve stínu 59 %, na přímém světle 37 % sušiny sklizené píce. Čerstvá píce jako celek má ve stínu nižší sušinu o 1/6 (tab. II), jednotlivé frakce (tj. části rostliny) až o 1/5 (tab. III). V sušině trav ze stínu v první seči bylo obsaženo o 26 % (relativně) více dusíkatých látek (NL) a ve druhé seči pak o 22 %

II. Kvantitativní a kvalitativní charakteristiky sklizené píce tří trav z přímého světla a 67% zastínění; průměry měření z deseti rostlin na pěti parcelách (opakování) v první a druhé seči 1995 a 1996 – Quantitative and qualitative characteristics of harvested forage of three grasses from direct light and 67% shading; averages from measurements of ten plants on five sites (replications) in the first and second cuts of 1995 and 1996

Charakteristika ¹	1. seč ¹⁰				2. seč			
	přímé světlo ⁷		67% zastínění ⁸	významnost rozdílů ⁹	přímé světlo		67% zastínění	významnost rozdílů
	abs.	rel.	rel.		abs.	rel.	rel.	
Výnos sušiny píce ² (g.m ⁻²)	387	100	43,2	**	136	100	60,3	**
Původní sušina ³ (g sušiny ⁴ .kg ⁻¹ čerstvé píce ⁵)	186	100	86,0	*	215	100	82,8	**
OMD (koef. ⁶)	0,674	100	107,7	**	0,760	100	102,8	*
NL (g.kg ⁻¹ sušiny)	137	100	126,3	**	167	100	122,2	**
N _{NO₃} (g.kg ⁻¹ sušiny)	0,66	100	118,2	**	0,84	100	110,7	*
NEL (MJ.kg ⁻¹ sušiny)	6,13	100	101,5	N. S.	5,90	100	102,5	N. S.
WSC (g.kg ⁻¹ sušiny)	83	100	71,1	**	67	100	67,2	**
NDF (g.kg ⁻¹ sušiny)	589	100	90,8	*	554	100	95,3	*
ADL (g.kg ⁻¹ sušiny)	28	100	92,9	*	23	100	100,0	N. S.
Si (g.kg ⁻¹ sušiny)	6,0	100	103,3	N. S.	8,1	100	103,7	N. S.
K (g.kg ⁻¹ sušiny)	36,0	100	119,7	*	32,7	100	113,8	*
Na (g.kg ⁻¹ sušiny)	0,4	100	100,0	N. S.	0,5	100	120,0	*
Ca (g.kg ⁻¹ sušiny)	2,8	100	96,4	N. S.	4,1	100	100,0	N. S.
P (g.kg ⁻¹ sušiny)	2,1	100	133,3	*	3,0	100	106,7	*
Mg (g.kg ⁻¹ sušiny)	1,9	100	89,5	*	2,3	100	91,3	*

N. S. rozdíl statisticky nevýznamný – insignificant difference

* rozdíl významný při $P_{0,05}$ – significant difference at $P_{0,05}$

** rozdíl významný při $P_{0,01}$ – significant difference at $P_{0,01}$

¹characteristics, ²forage dry matter yield, ³original dry matter, ⁴dry matter, ⁵fresh forage, ⁶coefficient, ⁷direct light, ⁸shading, ⁹significance of differences, ¹⁰cut

ve srovnání s travami z plného světla. U *Dactylis polygama* bylo zjištěno zvýšení v průměru o 29,3 %, u *Dactylis glomerata* o 26,8 % a u *Lolium perenne* o 22,8 %, ve druhé seči o 25,4 %, resp. o 23,1 % a 18,1 %. Trávy ze stínu akumulují více nitrátového N (v první seči o 18,2 %, ve druhé seči o 10,7 %), v rámci druhů v první seči nejvíce *Dactylis glomerata* (o 21,6 % ve srovnání s přímým světlem), méně intenzivně *Lolium perenne* (o 18,4 %) a nejméně *Dactylis polygama* (o 14,6 %). Ve druhé seči to bylo o 12,5 %, resp. o 11,1 a 8,6 %. Píce tří druhů trav ze stínu obsahovala v první seči o 3,3 % více Si než z přímého světla, ve druhé seči pak o 3,7 %, a dále o 19,7 %, resp. o 13,8 % více K. Na druhé straně však vykazují téměř o 1/3 méně vodorozpustných sacharidů (WSC) a poněkud méně vlákniny (v první seči o 92 g NDF.kg⁻¹, ve druhé seči o 47 g NDF.kg⁻¹). Obsah ligninu (ADL) se při zastínění v první seči snížil o 7,1 %, ve druhé seči se při zastínění neměnil (tab. II).

DISKUSE

Prodlužování stébel a listů na vegetativních výhoncích a menší intenzita odnožování ve stínu (tab. I) jsou podmíněny změnou spektrálního složení dopadajícího světla. Jestliže poměr červené (620 až 700 nm) ke vzdá-

lené červené (700 až 900 nm) části spektra při přímém slunečním záření je přibližně 1 : 1, při 80% zastínění činí 0,4 až 0,7 : 1 (Wilson, 1989).

Zastínění má přímý i nepřímý vliv na kvalitu píce. Nepřímý vliv se projevuje především změnou morfologie rostliny a výnosu. Např. obsah NL bývá v listech obecně vyšší než ve stéblech, proto zvýšení podílu listových čepelí ze stínu (tab. II) vede k výraznějšímu nárůstu NL ve sklizené píce. Tato odezva byla vyšší v čepelích než ve stéblech (Míka et al., 1997a).

S poklesem fotosynteticky aktivního záření se též urychluje odumírání dlouhodobě zastíněných listů, což se rovněž promítá do nižší nutriční kvality píce. Pokud jde o vliv rychlosti růstu trav a výnosu sušiny, nejvyšších hodnot se dosahuje za velice mírného zastínění a pak teprve při přímém světle (Kephart, Buxton, 1993). Morfologická plasticita zkoušených trav vůči zastínění klesá v pořadí: srha hajní > srha říznáčka >> jilek vytrvalý, hodnoceno na základě relativního poklesu produkce sušiny vlivem 67% zastínění porostu oproti přímému světlu. Tato adaptace dovoluje v podmínkách zastínění maximalizovat nárůst hmoty a vytrvalost (Míka et al., 1997b) a také v píce hromadit méně nitrátového N.

Pozitivní vliv zastínění na stravitelnost organické hmoty (OMD) je poměrně malý (tab. II), podobné úda-

III. Kvantitativní a kvalitativní charakteristiky frakcí tří trav z přímého světla a 67% zastínění; průměry měření z deseti rostlin na pěti parcelách (opakování) v první seči 1995 a 1996 od každého druhu [*Dactylis polygama* (Horv.) Dom., *Dactylis glomerata* L., *Lolium perenne* L.] – Quantitative and qualitative characteristics of fractions of three grasses from direct light and 67% shading; averages from measurements of ten plants on five sites (replications) in the first cut of 1995 and 1996 from each species [*Dactylis polygama* (Horv.) Dom., *Dactylis glomerata* L., *Lolium perenne* L.]

Charakteristika ¹	Stébla ¹⁰ + listové pochvy ¹¹ + květenství ¹²				Čepele stébelných listů ¹³				Čepele vegetativních výhonů ¹⁴ + pseudostébla ¹⁵			
	přímé světlo ⁷		67% zastínění ⁸	významnost rozdílů ⁹	přímé světlo		67% zastínění	významnost rozdílů	přímé světlo		67% zastínění	významnost rozdílů
	abs.	rel.			abs.	rel.			abs.	rel.		
Výnos sušiny píče ² (g.m ⁻²)	213	100	29,1	**	31	100	22,6	**	143	100	68,5	**
Původní sušina ³ (g sušiny ⁴ .kg ⁻¹ čerstvé píče ⁵)	206	100	89,8	*	179	100	84,9	**	164	100	90,2	*
OMD (koef. ⁶)	0,615	100	102,3	N. S.	0,735	100	105,2	*	0,748	100	105,1	*
NL (g.kg ⁻¹ sušiny)	80	100	111,3	**	202	100	106,9	*	207	100	107,7	**
N _{NO₃} (g.kg ⁻¹ sušiny)	0,83	100	124,1	**	0,42	100	147,6	**	0,45	100	135,6	**
NEL (MJ.kg ⁻¹ sušiny)	4,90	100	104,5	N. S.	7,56	100	89,4	*	7,65	100	90,1	*
WSC (g.kg ⁻¹ sušiny)	101	100	89,1	*	63	100	69,8	**	61	100	65,6	**
NDF (g.kg ⁻¹ sušiny)	668	100	95,4	*	502	100	95,6	*	488	100	96,5	N. S.
ADL (g.kg ⁻¹ sušiny)	34	100	97,1	N. S.	22	100	104,5	N. S.	20	100	100,0	N. S.
Si (g.kg ⁻¹ sušiny)	7,1	100	105,6	N. S.	4,7	100	112,8	*	4,6	100	117,4	*
K (g.kg ⁻¹ sušiny)	30,0	100	108,7	*	47,4	100	103,8	N. S.	48,1	100	104,0	N. S.
Na (g.kg ⁻¹ sušiny)	0,2	100	100,0	N. S.	0,4	100	125,0	*	0,5	100	100,0	N. S.
Ca (g.kg ⁻¹ sušiny)	1,3	100	76,9	**	4,6	100	80,4	**	4,7	100	80,9	**
P (g.kg ⁻¹ sušiny)	0,8	100	125,0	*	3,5	100	105,7	N. S.	3,7	100	105,4	N. S.
Mg (g.kg ⁻¹ sušiny)	1,6	100	93,8	*	2,1	100	85,7	**	2,3	100	78,3	*

N. S. rozdíl statisticky nevýznamný – insignificant difference

* rozdíl významný při $P_{0,05}$ – significant difference at $P_{0,05}$

** rozdíl významný při $P_{0,01}$ – significant difference at $P_{0,01}$

For 1–9 see Tab. II, ¹⁰stems, ¹¹leaf sheaths, ¹²inflorescence, ¹³blades of stem leaves, ¹⁴blades of vegetative shoots, ¹⁵pseudostems

je uvádějí Kephart, Buxton (1993). Je to zřejmě důsledek změny poměru listů ke stéblům, resp. poklesu obsahu vlákniny. Určité zvýšení obsahu Si v sušině trav ze stínu (tab. II) působí na stravitelnost negativně (Míka et al., 1997a), tento efekt je však nepatrný. Vyšší příjem K travami ve stínu (tab. II) je v souladu se zjištěním, ke kterému dospěli už dříve Eckstein et al. (1935) též u řady dvouděložných rostlin.

Poděkování

Experimentální práce byly provedeny s finanční podporou GA ČR 503/95/1457 *Vývoj expeditivních metod hodnocení kvality travní biomasy*.

LITERATURA

- ALLARD, G. – NELSON, C. J. – PALLARDY, S. G.: Shade effects on growth of tall fescue: I. Leaf anatomy and dry matter partitioning. *Crop Sci.*, 31, 1991: 163–167.
- ECKSTEIN, O. et al.: Arbeiten über Kalidüngung. Berlin, Verl.-gesell. Ackerb., Vol. II, 1935, Rh. 2.
- KEPHART, K. D. – BUXTON, D. R.: Forage quality responses of C3 and C4 perennial grasses to shade. *Crop Sci.*, 33, 1993: 831–837.
- MÍKA, V. et al.: Kvalita píce. Praha, ÚZPI 1997a. 227 s.
- MÍKA, V. – SMRŽ, J. – PELIKÁN, J.: Srha hajní (*Dactylis polygama* Horvat.) v jetelovínotravních směsích. *Rostl. Vyr.*, 43, 1997b (3): 137–142.
- WILSON, J. R.: Ecophysiological constraints to production and nutritive quality of pastures under tree crops. In: TAJUDDIN, Z. A. (ed.): Proc. Int. Livestock-Tree Cropping Workshop in Serdang, Malaysia, Rome, FAO 1989: 39–54.

Došlo 8. 1. 1998

Kontaktní adresa:

Ing. Václav Míka, DrSc., Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, Výzkumná stanice travních ekosystémů, K. H. Borovského 461, 569 43 Jevíčko, Česká republika, tel.: 0462/32 78 14, fax: 0462/32 78 14, e-mail: vste@orc.cz

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Original scientific papers, short communications, and selectively reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing recent knowledge in the given field, are published in this journal. Published papers are in Czech, Slovak or English. Each manuscript must contain a short and a longer summary (including the key words).

The author is fully responsible for the originality of his paper, for its subject and formal correctness. The author shall make a written declaration that his paper has not been published in any other information source.

The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper.

The paper extent shall not exceed 15 typescript pages, including tables, figures and graphs.

Manuscript layout shall correspond to the State Standard ČSN 88 0220 (quarto, 30 lines per page, 60 strokes per line, double-spaced typescript). A PC diskette should be provided with the paper, written in an editor program, preferably T602, and with graphical documentation. Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

The **title** of the paper shall not exceed 85 strokes. Subtitles of the papers are not allowed either.

Abstract is an information selection of the contents and conclusions of the paper, it is not a mere description of the paper. It must present all substantial information contained in the paper. It shall not exceed 170 words. It shall be written in full sentences, not in form of keynotes, and comprise base numerical data including statistical data. It must contain key words. It should be submitted in English and if possible also in Czech or Slovak.

Introduction has to present the main reasons why the study was conducted, and the circumstances of the studied problems should be described in a very brief form.

Review of literature should be a short section, containing only literary citations with close relation to the treated problem.

Only original method shall be described, in other cases it is sufficient enough to cite the author of the used method and to mention modifications of this method. This section shall also contain a description of experimental material.

In the section **Results** figures and graphs should be used rather than tables for presentation of quantitative values. A statistical analysis of recorded values should be summarized in tables. This section should not contain either theoretical conclusions or deductions, but only factual data should be presented here.

Discussion contains an evaluation of the study, potential shortcomings are discussed, and the results of the study are confronted with previously published results (only those authors whose studies are in closer relation with the published paper should be cited). The sections Results and Discussion may be presented as one section only.

The citations are arranged alphabetically according to the surname of the first author. References in the text to these citations comprise the author's name and year of publication. Only the papers cited in the text of the study shall be included in the list of references. All citations shall be referred to in the text of the paper.

If any abbreviation is used in the paper, it is necessary to mention its full form at least once to avoid misunderstanding. The abbreviations should not be used in the title of the paper nor in the summary.

The author shall give his full name (and the names of other collaborators), academic, scientific and pedagogic titles, full address of his workplace and postal code, telefon and fax number or e-mail.

POKYNY PRO AUTORY

Časopis uveřejňuje původní vědecké práce, krátká sdělení a výběrově i přehledné referáty, tzn. práce, jejichž podkladem je studium literatury a které shrnují nejnovější poznatky v dané oblasti. Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem (včetně klíčových slov).

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být přiloženo prohlášení autora o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě práce.

Rozsah vědeckých prací nemá přesáhnout 15 stran psaných na stroji včetně tabulek, obrázků a grafů. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě měrových jednotek SI (ČSN 01 1300).

Vlastní úprava rukopisu má odpovídat státní normě ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojité mezery), k rukopisu je vhodné přiložit disketu s prací pořízenou na PC v některém textovém editoru, nejlépe v T602, a s grafickou dokumentací. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

Pokud autor používá v práci zkratky jakéhokoliv druhu, je nutné, aby byly alespoň jednou vysvětleny (vypsány), aby se předešlo omylům. V názvu práce a v souhrnu je vhodné zkratky nepoužívat.

Název práce (titul) nemá přesáhnout 85 úhozů. Jsou vyloučeny podtitulky článků.

Krátký souhrn (Abstrakt) je informačním výběrem obsahu a závěru článku, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, a má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Musí obsahovat klíčová slova. Nemá překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl napsán celými větami, nikoliv heslovitě. Je uveřejňován a měl by být dodán ve stejném jazyce jako vědecká práce.

Rozšířený souhrn (Abstract) je uveřejňován v angličtině, měly by v něm být v rozsahu cca 1–2 strojopisných stran komentovány výsledky práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je vhodné jej (včetně názvu práce a klíčových slov) dodat v angličtině, popř. v češtině či slovenštině jako podklad pro překlad do angličtiny.

Úvod má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce realizována a velmi stručnou formou má být popsán stav studované otázky.

Literární přehled má být krátký, je třeba uvádět pouze citace mající úzký vztah k problému.

Metoda se popisuje pouze tehdy, je-li původní, jinak postačuje citovat autora metody a uvádět jen případné odchylky. Ve stejné kapitole se popisuje také pokusný materiál.

Výsledky – při jejich popisu se k vyjádření kvantitativních hodnot dává přednost grafům před tabulkami. V tabulkách je třeba shrnout statistické hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostatcích a práce se konfrontuje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, jejichž práce mají k publikované práci bližší vztah). Je přípustné spojení v jednu kapitolu spolu s výsledky.

Literatura musí odpovídat státní normě ČSN 01 0197. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů. Odkazy na literaturu v textu uvádějí jméno autora a rok vydání. Do seznamu se zařadí jen práce citované v textu. Na práce v seznamu literatury musí být odkaz v textu.

Na zvláštním listě uvádí autor plné jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSC, číslo telefonu a faxu, popř. e-mail.

CONTENTS

Šimek M.: Denitrification in soil – terminology and methodology (review).....	385
Šimek M.: Influence of fertilization and soil properties on denitrification in some arable lands in the Czech Republic	395
Králová M., Růžek P.: Denitrification in orthic Luvisols with minimum soil treatment	403
Němeček J., Podlešáková E., Macurová H.: Indication of soil pollution by microbiological and biochemical methods.....	409
Kozák J., Borůvka L.: Species of Al ions as related to some characteristics of both agricultural and forest soils of the Šumava region (in English).....	419
Pospíšilová L., Laštincová J.: Determination of some trace elements in soil using ICP-AES method	427
Míka V., Kohoutek A., Beran S.: Grass quality at shading of the stand	431

ROSTLINNÁ VÝROBA

OBSAH

Šimek M.: Denitrifikace v půdě – terminologie a metodologie (studie)	385
Šimek M.: Vliv hnojení a půdních vlastností na denitrifikaci ve vybraných orných půdách ČR	395
Králová M., Růžek P.: Denitrifikace v hnědozemi s minimálním zpracováním půdy.....	403
Němeček J., Podlešáková E., Macurová H.: Indikace zátěží půd rizikovými prvky pomocí mikrobiologických a biochemických metod	409
Kozák J., Borůvka L.: Formy Al iontů ve vztahu k vybraným charakteristikám zemědělských a lesních půd Šumavy	419
Pospíšilová L., Laštincová J.: Stanovení některých mikroelementů v půdě metodou ICP-AES	427
Míka V., Kohoutek A., Beran S.: Kvalita trav při zastínění porostu.....	431