

JIHOČESKÁ UNIVERZITA

Přírodovědecká fakulta

2008



bakalářská práce

**Fosfor v lesních půdách v povodí šumavských jezer
dostupný *in-situ***



vypracoval: Petr Čapek

školitel: Doc. Ing. HANA ŠANTRŮČKOVÁ, Csc.

konzultant: Mgr. Karolina Tahovská

Bakalářská práce

Čapek P., 2008: Fosfor v lesních půdách v povodí šumavských jezer dostupný *in-situ* [In-situ available phosphorus in forest soils of Bohemian forest lakes watersheds. Bc. Thesis, in Czech.] - 38 pp., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

The aim of the study was to test ion exchange resin (IER) bag method for measurement of forest soil phosphorus availability. P-PO₄ sorption and elution efficiencies of ion exchange resin AsenX^{np} (Purolite) were tested. The results showed nearly 100% efficiency of P-PO₄ sorption. Average elution efficiency after repeated elution on a glass column was 87 % (each elution step 50 ml 2 % NaOH, 300 ml in total). The amount of available phosphorus was determined *in-situ* using IER bag method in the litter and organic soil layers of Plešné and Čertovo lakes watersheds. Amount of available phosphorus was 3.6 times greater in soils of Plešné watershed compared to Čertovo watershed.

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně, pouze s použitím citované literatury.

V Českých Budějovicích, dne

.....

Na tomto místě bych rád poděkoval Haně Šantrůčkové za umožnění práce na katedře biologie ekosystémů a především Karolině Tahovské za nezměrnou pomoc, kterou mi při psaní této práce poskytla a která ji stála mnoho sil. Dále bych rád poděkoval všem pracovníkům a studentům katedry biologie ekosystémů za vytvoření velice přátelské atmosféry.

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Literární rešerše.....	2
2.1. Cyklus fosforu.....	3
2.1.1. Vstupy fosforu do půdy.....	3
2.1.2. Biologické procesy.....	4
2.1.3. Chemické procesy.....	5
2.1.4. Ztráty fosforu z půdy.....	6
2.1.5. Vliv acidifikace na cyklus fosforu.....	6
2.1.6. Fosfor v půdách v povodí Plešného a Čertova jezera.....	7
2.2. Využití iontoměníčů při stanovení dostupného fosforu v půdách.....	7
2.2.1. Úvod.....	7
2.2.2. Struktura iontoměníče.....	9
2.2.2.1. Kostra iontoměníče.....	9
2.2.2.2. Aktivní skupiny.....	9
2.2.2.3. Typy iontoměníčů.....	10
2.2.3. Difúze iontů; iontová výměna; selektivita, afinita a kapacita iontoměníče.....	10
2.2.4. Využití iontoměníče ArsenX ^{np} při stanovení dostupného fosforu v půdě.....	11
2.2.5. Faktory ovlivňující výměnu iontů.....	11
2.2.5.1. Na koloně.....	11
2.2.5.2. Při expozici v půdě.....	12
3. Materiál a metody.....	13
3.1. Popis studovaného území.....	13
3.1.1. Povodí Plešné jezero.....	13
3.1.2. Povodí Čertovo jezero.....	14
3.2. Stanovení P-PO ₄ v půdě pomocí iontoměníčů.....	16
3.2.1. Typ iontoměníče.....	16
3.2.2. Příprava iontoměníče před použitím.....	16

3.2.3. Vytěsnění iontů z iontoměniče - eluce na koloně.....	16
3.2.4. Testování účinnosti metody.....	16
3.2.5. Příprava iontoměničových půdních sond.....	17
3.2.6. Zapravení iontoměničů do půdy.....	17
3.3. Stanovení koncentrace P-PO ₄	17
3.3.1. Příprava laboratorního skla.....	17
3.3.2. Stanovení koncentrace P-PO ₄	17
3.4. Statistické zpracování dat z terénu.....	18
4. Výsledky.....	18
4.1. Testování metody.....	18
4.2. <i>In-situ</i> dostupný P.....	19
5. Diskuse.....	22
5.1. Testování metody.....	22
5.2. <i>In-situ</i> dostupný P.....	24
6. Závěr.....	27
7. Seznam použité literatury.....	28

1. Úvod

Na počátku 60. let 20. století se hlavním celosvětovým problémem stala antropogenní acidifikace terestrických a sladkovodních ekosystémů. Antropogenní acidifikace je proces při němž dochází k poklesu hodnot pH půdního roztoku vlivem atmosférických depozic sloučenin S a N (SO_4^{2-} , NO_3^- , NH_4^+), pocházejících především z průmyslových zdrojů, dopravy a v menší míře také ze zemědělství. Přírozenou obranou ekosystému proti acidifikaci je neutralizace kyselých látek vazbou na bazické ionty. Nejméně odolné jsou tak ekosystémy vyskytující se na přirozeně kyselém podloží a půdách s nízkým množstvím bazických iontů ve výměnném komplexu. Mezi takové ekosystémy patří i povodí Plešného (PL) a Čertova (CT) jezera v oblasti Šumavského národního parku, která byla antropogenní acidifikací zasažena v průběhu 60. – 90. let 20. století. Půdy obou povodí jsou přirozeně kyselé protože se vyvíjely na kyselých horninách (žula, svor) a jejich vegetaci tvoří smrková monokultura produkující kyselý, hůře rozložitelný opad. Zvýšený přísun S a N do povodí urychlil proces zvětrávání, zvýšil mobilitu hliníku (Al) a ochudil půdy o bazické ionty. Výsledkem byla změna druhového složení vegetace a vymizení citlivých druhů z ekosystému. Přímo v jezerech pak došlo ke snížení druhové diverzity zooplanktonu, makrozoobentosu a k vyhynutí ryb. Současně s acidifikací půd došlo i k saturaci ekosystému N, v důsledku depozice jeho sloučenin. Výsledkem bylo zvýšení mineralizace dusíku a vyplavování dusičnanů z půd do vod.

Po roce 1989 došlo k výraznému poklesu emisí S (80%) a N (35%) díky odsiřování tepelných elektráren, optimalizaci procesu spalování fosilních paliv a celkové restrukturalizaci průmyslu a zemědělství. Chemismus jezer se v souladu s poklesem depozice začal zotavovat. Od roku 1997 byly dokumentovány i první náznaky biologického oživení, např. v podobě návratu perloočky *Ceriodaphnia quadrangula* do pelagiálu Černého jezera (Vrba et al., 2004). Stav půd se naproti tomu zlepšuje velice pomalu (Hruška and Cienciala 2001, Majer et al., 2003). Koncentrace toxického hliníku jsou stále vysoké a množství bazických iontů ve výměnném komplexu se nezvýšilo (Majer et al., 2003). Navíc stále dochází ke zvýšenému vyplavování N- NO_3 do povrchových vod. To je na PL ještě podpořeno zvýšenou mineralizací půdní organické hmoty v důsledku odumírání lesa napadeného lýkožroutem smrkovým (*Ips typographus*). Od roku 2000 do roku 2007 zde došlo k odumření téměř 25 % lesního porostu (Svoboda a Hájek, 2007).

Všechny popsané události ovlivnily také cyklus fosforu (P) v půdách obou povodí. Obecně se v acidifikovaných terestrických i vodních ekosystémech může snižovat dostupnost P při srážení s železem (Fe) a anorganicky či organicky vázaným Al. Přestože vlivem nízkých hodnot pH je P ve větší míře uvolňován ze zvětralých hornin, může v půdách docházet také k jeho zvýšenému zadržování. Jansson et al. (1986) uvádí, že je to způsobeno jeho srážením s Al, jehož koncentrace v acidifikovaných půdách vzrůstají. **Cílem mé bakalářské práce** proto bylo stanovit množství dostupného fosforu v půdách v povodí PL a CT. Dostupný fosfor se obvykle stanovuje extrakčními metodami. Málo prací je zaměřeno na sledování dostupného P přímo v terénu. Mým dalším úkolem proto bylo otestovat metodiku stanovení dostupného fosforu v půdách *in-situ* za použití iontoměničů.

Na základě prostudované literatury jsem předpokládal, že vlivem vyššího uvolňování P z podloží PL, vyšší fosfatázové aktivity v půdách PL a většímu vyplavování P z povodí PL, bude více dostupného P v půdním roztoku v půdách povodí Plešného jezera, oproti půdám v povodí Čertova jezera. V půdách v povodí Čertova jezera je fosfor více zadržován ve stabilnějších sloučeninách s hliníkem a železem.

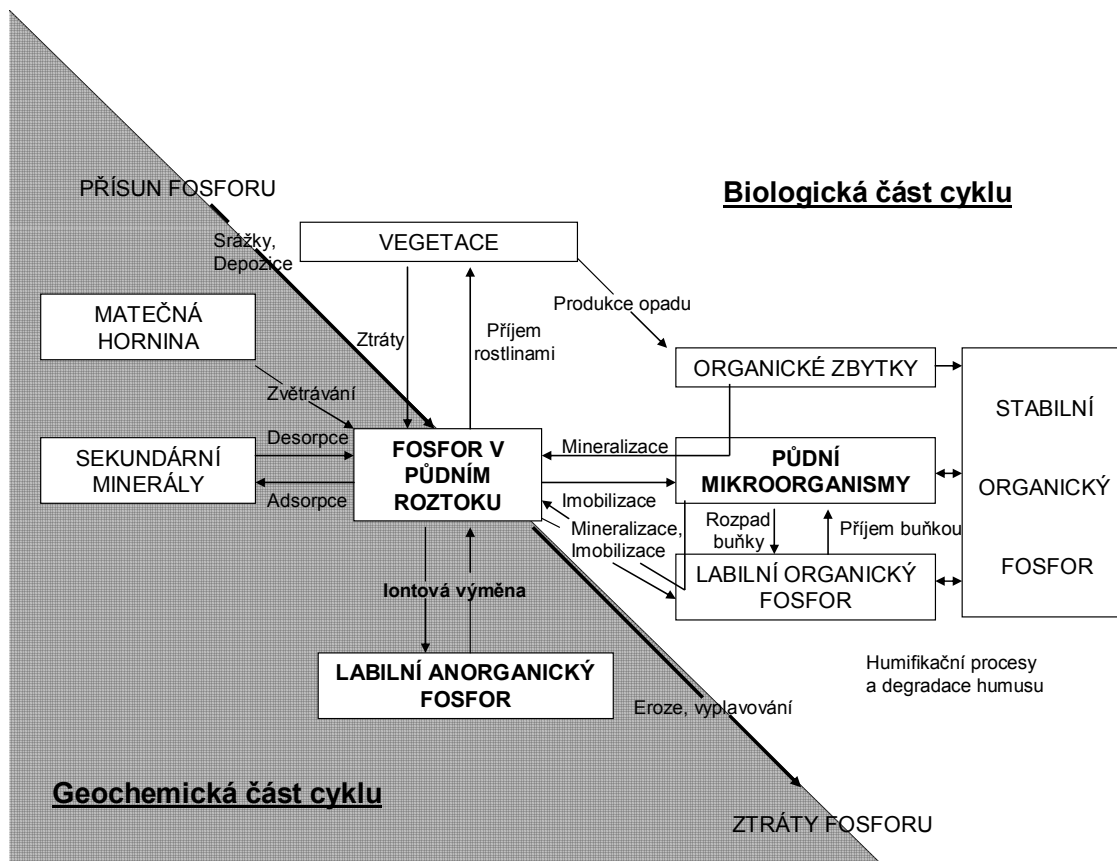
2. Literární rešerše

2.1. Cyklus fosforu

2.1.1. Vstupy fosforu do půdy

Fosfor je po dusíku druhou hlavní limitující živinou. Je to prvek na jehož dostupnosti v půdě závisí růst rostlin i mikroorganismů. Cyklus fosforu v terestrickém ekosystému lze rozdělit na část geochemickou a na část biologickou (Obr. 1). Tyto dvě části cyklu P jsou vzájemně propojeny P.

Primárním zdrojem fosforu (P) v půdách je matečná hornina obsahující primární fosfátové minerály: apatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{X}$; X = F, Cl, OH); variscit ($\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$); strengit ($\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a vivianit ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) (Pitter, 1999). Dalšími vstupy do půdy jsou: P vázaný v organických látkách v podobě rostlinného opadu a odumřelých organismů; srážková voda a suchá depozice. Množství P uvolněné zvětráváním matečné horniny se pohybuje okolo $0,05 - 1 \text{ kg P ha}^{-1} \text{ rok}^{-1}$, zatímco vstup P v podobě srážkové vody je v rozmezí $0,07 - 1,7 \text{ kg P ha}^{-1} \text{ rok}^{-1}$ (Neumann, 1995). Suchá depozice může množství P vstupujícího do půd z atmosféry ještě zvýšit. Její rozsah se však velmi špatně odhaduje. V půdě dochází k chemickým (fixace a retence P (viz 2.1.3.)) a biologickým (mineralizace a imobilizace (viz 2.1.2.)) procesům ovlivňujícím cyklus P. Hlavními faktory, které ovlivňují koloběh P jsou tedy: chemismus půd, složení rostlinného opadu a mikrobiální aktivita. Cyklus P ovlivňuje i člověk a to zejména těžbou fosforečných minerálů a jejich použitím jako hnojiv a dalších průmyslových výrobků.



Obr. 1 – Zjednodušený cyklus fosforu (upraveno podle Walbridge, 1991)

2.1.2. Biologické procesy

Cyklu fosforu se významným způsobem účastní půdní mikroorganismy. Podílejí se na rozpouštění anorganických sloučenin P (solubilizace), na rozkladu (dekompozici a mineralizaci) organických sloučenin a na imobilizaci P. Fosfor se v buňkách organismů vyskytuje vázaný v mnoha organických strukturách (esterová vazba C-O-P): fosfolipidy, DNA, RNA, ATP, koenzymy a inositolhexafosfát. S odumřelými částmi organismů vstupuje do půdy, kde je mineralizován a uvolňován do půdního roztoku ve formě fosforečnanů.

Mikroorganismy (ale i kořeny rostlin) produkují enzymy – fosfatázy, které štěpí esterové vazby (Tate, 1984). Fosfatázová aktivita je přímo ovlivněna množstvím fosforečnanů v půdním roztoku (Spiers and McGill, 1979). K inhibici a indukci této aktivity tedy dochází při dosažení určitého množství fosforečnanů v půdním roztoku. Na aktivitu fosfatáz mají také vliv vlastnosti půdy. Fosfatázy mohou být v půdě rozkládány, nebo může docházet k jejich sorpci na půdní organickou hmotu. Takto vázané enzymy mají maskovaná aktivní místa a nemůže již docházet k mineralizaci.

Procesy mineralizace P probíhají v půdě současně s procesy jeho imobilizace. To, zda dojde k rozkladu či k vazbě P do biomasy mikroorganismů, závisí především na obsahu P v rozkládajícím se organickém materiálu. Pokud je poměr jeho C/P vyšší než 300, bude docházet k imobilizaci P. Naopak převahu mineralizace můžeme očekávat při poměru nižším než 200 (Stevenson and Cole, 1999).

2.1.3. Chemické procesy

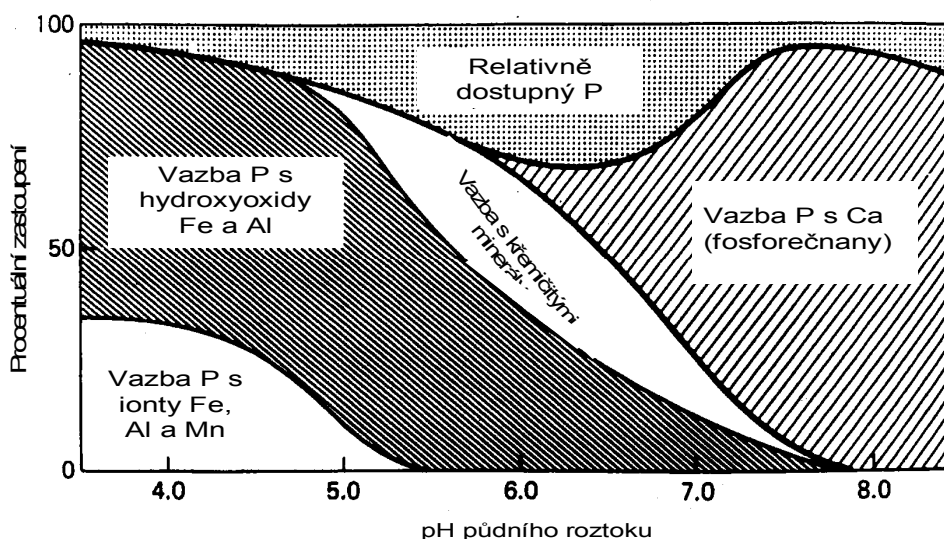
Retence je vazba P v půdě, která je vratná. Za určitých podmínek může dojít ke zpětnému uvolnění P do půdního roztoku. Fixace je naopak vazba P v půdě, při které ke zpětnému uvolnění P do roztoku nedochází.

Fosforečnany v půdním roztoku se mohou vázat na povrch koloidních částic. Vazba se uskutečňuje prostřednictvím výměnných iontů (Al^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+}). Tento jev se nazývá koadsorpcie (Tan, 1993). Může také docházet k vazbám fosforečnanů na volné ionty kovů v roztoku (Al^{3+} , Fe^{3+} , Ca^{2+}). Oba typy vazeb jsou velice pevné. Rostliny a půdní mikroorganismy si však takto vázaný P mohou zpřístupnit (solubilizace) např. (1) produkcí nízkomolekulárních organických kyselin (př. kyselina malonová, citronová, šťavelová), které tvoří s kovy pevné komplexní sloučeniny (Harrold and Tabatabai, 2006), (2) tvorbou H_2CO_3 a HCO_3^- v důsledku vzniku CO_2 respirací a (3) uvolňováním H^+ v důsledku příjmu kationů.

P se při nízkých hodnotách pH stává pro rostliny a půdní mikroorganismy nedostupným vazbou fosforečnanů na hydroxy-oxidy hliníku a železa. Vznikají tak pevné komplexní sloučeniny, které jsou ve vodě nerozpustné. Další mechanismus fixace P v půdě je vazba fosforečnanů na částice jílu tvořené sesquioxidy křemíku a oktaedry hliníku.

P může být také vázán na huminové kyseliny a to v různých podobách (fosfonát, orthofosforečnan, inositolhexafosfát, monoester, diester, jako součást nukleových kyselin) (Bedrock et al., 1994). Přímou v půdním roztoku se pak P v podobě fosforečnanů může vázat na huminové kyseliny prostřednictvím Al^{3+} . Tato vazba probíhá pouze v kyselém prostředí (pH 4 – 6) (Cheng et al., 2003). Určitá část P stabilizovaného vazbou na humus není přímo dostupná mikrobiálnímu rozkladu a může v půdě přetrvávat po dlouhou dobu (Kögel-Knabner, 2002). Část takto vázaného P se však může při nedostatku jiných zdrojů v půdě rychle mobilizovat (Novák et al., 1995).

Způsob retence a fixace P v půdě ovlivňuje především pH (Obr. 2). Při nižších hodnotách pH se P vyskytuje vázaný na ionty hliníku, železa a manganu, při vyšších hodnotách na ionty vápníku. Nejvíce P dostupného pro mikroorganismy a rostliny se v půdách vyskytuje při pH okolo 6,5.



Obr. 2 – Vazba fosforu v půdě při různém pH půdního roztoku (upraveno podle Brady, 1974)

2.1.4. Ztráty P z půdy

Ztráty P z půdy mohou být způsobeny vyplavováním a erozí. P je exportován z půd především v anorganických a z menší části také organických formách (Cortina et al., 1995). P je přímo exportován povrchovým odtokem nebo je vyplavován do nižších vrstev půdy a do vod. Roční ztráty fosforu vyplavováním jsou poměrně malé, protože schopnost půdy a mikrobiální biomasy imobilizovat P je obvykle vysoká (Tan, 1993).

Eroze je přírodní proces, který má za následek odnos půdních částic. Je ovlivněna zejména množstvím srážek, svahovitostí terénu a charakterem vegetačního krytu. Lesní půdy obvykle nejsou významně ohroženy větrnou ani vodní erozí. Množství materiálu ztraceného erozí (především vodní) z lesních ekosystémů se odhaduje na $0,1 \text{ t ha}^{-1} \text{ rok}^{-1}$ (Pierre, 1992).

2.1.5. Vliv acidifikace na cyklus P

Acidifikace, kterou rozumíme okyselování půd způsobené zvýšeným přísunem sloučenin dusíku a síry (Cosby et al, 1985), mimo jiné urychluje proces zvětrávání a přispívá ke zvýšené rozpustnosti hliníku a železa a zvýšení jejich pohyblivosti. Při velmi silné acidifikaci se Al a Fe vyskytují v půdním roztoku především ve formě volných iontů. V takto postižených půdách tedy dochází ke zvýšené tvorbě nerozpustných sloučenin fosforečnanů jak bylo zmíněno výše (viz 2.1.3.).

Acidifikace je doprovázena saturací ekosystému dusíkem (Aber et al., 1998), protože jedním z okyselujících činitelů je kyselina dusičná a její soli. Pokud tato situace nastane v lesních ekosystémech, které jsou obvykle limitovány N, dochází ke zvýšení celkové produkce ekosystému (Olander and Vitoušek, 2000). Toto zvýšení dále vede k potřebě

zvýšeného příjmu P a tím k větší produkci extracelulárních fosfatáz. V této situaci se pak stává více limitujícím prvkem P (Olander and Vitoušek, 2000).

2.1.6. P v půdách v povodí Plešného (PL) a Čertova (CT) jezera

Povodí PL a CT mají podobné klimatické poměry i reliéf, ale některé další faktory, které mohou ovlivňovat cyklus P v povodích, se zde liší.

Horninové podloží PL je tvořeno žulou, zatímco podloží CT je tvořeno svory s inkruzemi křemene. Celkové množství P v žule PL je 1150 mg kg^{-1} , zatímco ve svorech CT je to pouze 570 mg kg^{-1} (Kopáček et al., 2002a,b). V kyselých podmínkách se ze žuly uvolňuje P ve velké míře ($1 - 8 \text{ mmol kg}^{-1}$), zatímco u svoru je toto uvolňování zanedbatelné (Kopáček et al., 1998; Kaňa a Kopáček, 2005). Množství celkového P v půdách PL by tedy mělo být větší než v půdách CT. Nicméně, je tomu naopak. Z podloží PL je uvolněno do půdy více P, ale zároveň se z půd více P ztrácí vyplavováním (Kopáček et al., 2002 a,b; Šantrůčková, 2004). Zatímco CT, vzhledem k většímu obsahu oxidů železa a hliníku, více P zadržuje. Celkové množství P v půdách PL je tedy pouze $1,9 \text{ mol m}^{-2}$, zatímco půdy CT obsahují $5,4 \text{ mol P m}^{-2}$ (Kopáček et al., 2002a,b).

Největšími zásobníky P v obou povodích jsou podloží a půdy, menšími zásobníky jsou stromové (především jehličí a kořeny) a bylinné patro (Svoboda et al., 2006). Celková biomasa bylinného patra je větší na PL (730 g m^{-2}) než CT (288 g m^{-2}). Nicméně, na základě dat o vegetačním pokryvu, zastoupení jednotlivých druhů a rychlosti jejich rozkladu bylo zjištěno, že celkový vstup P do půdy z opadu může být větší u CT ($12,87 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) než u PL ($10,61 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), (Šantrůčková et al., 2006).

Bylo zjištěno, že fosfatázová aktivita je vyšší v půdách povodí PL ($8,65 - 14 \text{ nmol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$), než v půdách povodí CT ($6 - 12,8 \text{ nmol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (Šantrůčková et al., 2004). S tím patrně souvisí i množství P v biomase mikroorganismů, které je větší v půdách PL (377 a $258 \text{ } \mu\text{g P g}^{-1}$), než v půdách CT (336 a $248 \text{ } \mu\text{g P g}^{-1}$) (průměrné hodnoty pro opadové a humusové horizonty z jarních měření 2001-2006, Šantrůčková, nepublikováno).

2.2. Využití iontoměníčů při stanovení dostupného P v půdách

2.2.1. Úvod

Pro stanovení dostupného P v půdách se obvykle používají metody chemické extrakce. Obecně se jedná o tři typy reakcí: (i) rozpouštění fosfátů ve zředěných kyselinách (Bray and Kurz, 1945; Melich, 1984), (ii) vysrážení fosfor vázajících iontů nebo desorpce fosfátů přidáním aniontů (Egner et al., 1960), (iii) hydrolyza sloučenin fosforu (Olsen et al., 1954).

V současné době se používá celá řada extrakčních činidel, jejichž hlavní nevýhodou je, že pokud jsou použity pro nevhodné půdy (viz dále), mohou mobilizovat i méně labilní formy P, což vede k nadhodnocování výsledků. Pro středně až silně kyselé půdy s nízkou kationtovou výměnnou kapacitou (KVK) se převážně používají 3 základní metody extrakce dostupného P. Extrakce podle Brayeho a Kurtze (1945) s použitím kombinace HCl a NH_4F , extrakce podle Melicha (1984) s použitím kombinace šesti extrakčních látek a extrakce podle Egnera et al. (1938) s použitím laktátu vápenatého. Při extrakci může docházet k rozpouštění fosfátových minerálů a silné destrukci nedostupných Ca-P forem (Sims et al., 2000). Pro neutrální a alkalické půdy s vysokou KVK je nejpoužívanější metodou extrakce podle Olsena et al. (1954) s použitím 0,5 M NaHCO_3 o pH 8,5. Jinou možností stanovení dostupného P v půdě je postupná extrakce, při které se získávají různé frakce P. Podle Hedleyho et al. (1982) je k extrakci půdy použito postupně 0,5 M NaHCO_3 , dále pak HCl a NaOH o různých koncentracích. V každé frakci se P stanovuje jako anorganický a organický. Dostupný P je pak součtem organického a anorganického P, stanoveného v hydrogenuhličitanové frakci.

Další možností, jak měřit dostupný P v půdě, je stanovit jeho množství v půdním roztoku odebraném pomocí lysimetrů. Během expozice lysimetrů však dochází k mikrobiální imobilizaci dostupného P ze shromážděného roztoku (Newman, 1995) a degradaci P- PO_4 v roztoku (Susfalk and Johnson, 2002). Výsledky získané touto metodou tak mohou být podhodnocené.

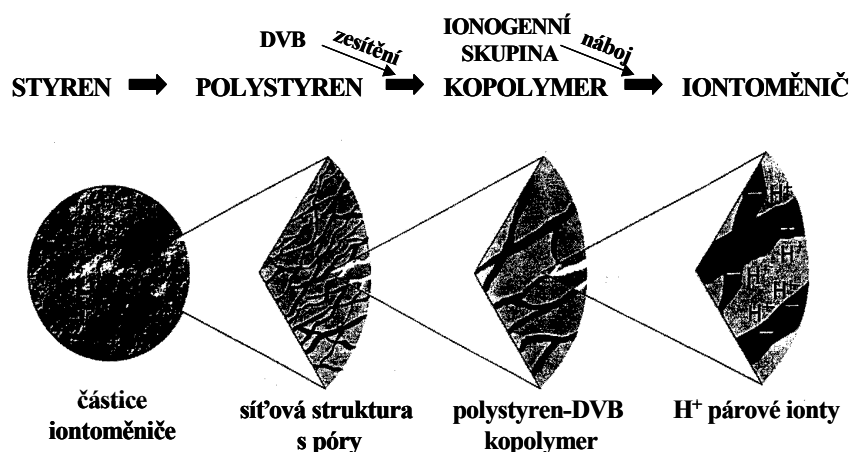
Jinou metodou je stanovení dostupného P pomocí iontoměničových půdních sond. Tato metoda je poměrně levná a oproti metodě využívající lysimetry znamená minimální narušení půdního profilu. Iontoměňičové metody umožňují přesněji stanovit množství dostupného P v půdě, protože iontová výměna mezi iontoměňičem a půdou je podobná iontové výměně mezi kořeny rostlin a půdními částicemi (Yang et al., 1991). Výsledky proto odpovídají množství skutečně dostupných forem (Salomon and Smith, 1957; Martin and Sparks, 1983; Skogley et al., 1990) a zohledňují variabilitu v podmínkách přirozeného půdního prostředí (např: vlhkost, teplota, biologická kompetice) (Giblin et al., 1994). Nevýhodou může být vyšší variabilita výsledků vlivem heterogenity půdního prostředí (až 80%, Binkley and Hart, 1989). Proto je důležité použít půdní sondy uložené v půdním profilu ve více opakováních, aby byly získané výsledky reprezentativní. Aby nedocházelo ke zkreslování výsledků je také třeba důkladně otestovat iontoměňič před použitím (účinnost sorpce, účinnost eluce, kapacita iontoměňiče, vliv přítomnosti interferujících iontů apod.). Toto testování bývá časově náročné, ale umožňuje přesnější interpretaci výsledků. Iontoměňič

pak může být ponechán v terénu bez nutnosti další kontroly po delší časový úsek a umožňuje tak měření i přes zimní období.

2.2.2. Struktura iontoměniče

2.2.2.1. Kostra iontoměniče

Základem kostry moderních iontoměničů jsou dlouhá vlákna polystyrenu zesíťovaná divinylbenzenem (DVB). Vzniká stabilní trojrozměrná polymerní struktura nerozpustná ve vodě. Podle stupně zesíťování polystyrenu je možné získat mikro- a makroporézní struktury. Vnitřní povrch makroporézních struktur přesahuje $10^2 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ (Skogley and Dobermann, 1996).



Obr. 3: Schematické znázornění vzniku a stavby makroporézního typu iontoměniče.

Upraveno podle Skogley and Dobermann, (1996).

2.2.2.2. Aktivní skupiny

Aktivní skupina je tvořena ionty vázanými na povrchu polymerní struktury iontoměniče. Na tento iont je elektrostatickými silami vázán párový iont, který neutralizuje jeho náboj. Párové ionty se mohou uvolnit do prostředí za současného navázání iontů z prostředí se stejným množstvím náboje – tzv. protiiontů.

Podle typu aktivní skupiny rozdělujeme iontoměniče na anexy vyměňující anionty a katexy vyměňující kationty. Anexy nesou na svém povrchu zásadité aktivní skupiny a katexy naopak kyselé. Podle schopnosti disociace aktivní skupiny iontoměniče dále dělíme na silně, středně nebo slabě kyselé či zásadité (Tab. 1).

IONTOMENIC	TYP	FUNKČNÍ SKUPINA
katex	silně kyselý	-SO ₃ H
	středně kyselý	-PO(OH) ₂
	slabě kyselý	-COOH
anex	silně bazický	-N(CH ₃) ₂ C ₂ H ₅ OH -N(CH ₃)OH
	středně bazický	směs terciárních aminů a kvarterních amonných skupin
	slabě bazický	aminy, polyaminy

Tab. 1: Rozdělení iontoměníčů podle typu funkční skupiny (Marhol, 1982).

2.2.2.3. Typy iontoměníčů

V současné době existuje mnoho iontoměníčů různého charakteru. Používají se iontoměníče tuhé i kapalné, organické i anorganické. Běžně se iontoměníče dělí podle typu aktivní skupiny (Tab. 1). Další možné dělení iontoměníčů bylo navrženo podle Skogleyho a Dobermanna (1996) tak, aby umožňovalo přímé porovnávání výsledků (Tab. 2) studií používající různé typy iontoměníčů.

Stupeň	Klasifikační kritérium	Třída
1	Funkce iontoměníče	I. Jako zdroj II. Jako zásobník
2	Kontakt s médiem	B. V přímém kontaktu s médiem D. Ve formě sond
3	Typ cílového iontu/sloučeniny	A. Anion C. Kation U. Universal (kation a anion) Op. Organické polární molekuly Onp. Organické nepolární molekuly
4	Počet cílových iontů/sloučenin	s. jeden m. více
5	Podoba iontoměníče	l. samostatný iontoměníč b. váček s iontoměníčem c. kapsule s iontoměníčem m. membrána o. jiné
6	Typ iontu adsorbovaný na iontoměníči před použitím	X specifický iont

Tab. 2 – Klasifikační systém iontoměníčů používaných při studiu půdy - upraveno podle Skogley & Dobermann (1996)

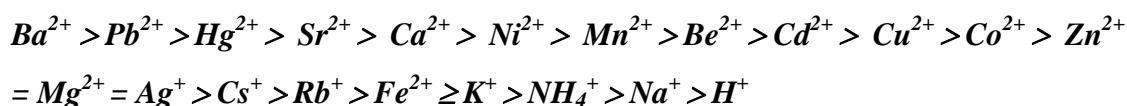
2.2.3. Difúze iontů; iontová výměna; selektivita, afinita a kapacita iontoměníče

Při iontové výměně dochází k přerozdělení iontů z roztoku na iontoměníč a naopak. Tento proces se uskutečňuje pomocí difúze. Ionty z roztoku obklopujícího iontoměníč difundují k jeho povrchu – tzv. difúze filmem, vlivem čehož se na povrchu iontoměníče mění

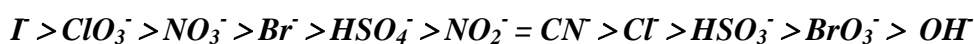
zastoupení iontů. Následně dochází k pohybu iontů uvnitř iontoměničové částice – tzv. difúze v částici (Boyd et al., 1947).

Iontová výměna je reverzibilní proces, který spěje k rovnovážnému stavu. Za určitých podmínek může dojít k uvolňování navázaných iontů zpět do roztoku. Aby k tomuto jevu nedocházelo, musí být afinita daného iontu k iontoměniči a kapacita iontoměniče dostatečně velké. Kapacita je definována jako množství iontů které může iontoměnič akumulovat. Afinita je pak schopnost daného iontu akumulovat se na iontoměniči. V prostředí půdy se vyskytuje mnoho různých iontů, které se teoreticky mohou na iontoměnič vázat a každý z nich má vlastní specifickou afinitu. Selektivita iontoměniče je vyjádřením rozdílu těchto afinit k němu a je pro každý typ iontoměniče jiná (Skogley and Dobermann, 1996). Příkladem je pořadí afinit silně kyselého katexu a silně bazického anexu (Amberlite IRN-77) podle Skogley and Dobermann, 1996 (Tab. 3)

silně kyselý katex:



silně bazický anex:



Tab. 3 - pořadí afinit silně kyselého katexu a silně bazického anexu (Amberlite IRN-77) podle Skogley and Dobermann, 1996

2.2.4. Využití iontoměniče ArsenX^{np} při stanovení dostupného P v půdě

Iontoměnič ArsenX^{np} má strukturu klasických polymerních iontoměničů s velkým vnitřním povrchem (120 m² g⁻¹; Siegel et al., 2006) a je impregnovaný nanočásticemi hydroxy-oxidů železa (Sylvester et al., 2007). V kyselých půdách dochází k vazbě fosforečnanů na hydroxy-oxidy železa a hliníku. Podobný princip vazby se uskutečňuje i na tomto typu iontoměniče.

2.2.5. Faktory ovlivňující výměnu iontů

2.2.5.1. Na koloně

Sorpce a eluce iontů na koloně jsou ovlivněny mnoha faktory: vlastnostmi iontoměniče, teplotou, průtokovou rychlostí, složením a objemem elučního činidla apod. Pro úplnou desorpci iontů z iontoměniče je potřeba zvolit vhodný objem, koncentraci elučního činidla, průtokovou rychlost a provádět eluci opakovaně (Qian, Schoneau, 2001; Kjonass, 1999;

Kolberg et al., 1997). Rychlost iontové výměny podporuje také zvýšená teplota (Haagsma and Miller, 1963; Yang et al., 1991a).

2.2.5.2. Při expozici v půdě

pH Nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím funkci iontoměniče je pH. Typ aktivní skupiny proto musí být volen na základě znalosti pH půdního roztoku. Použitelnost iontoměničů s různými typy aktivních skupin při daném rozmezí pH ukazuje Tab. 4. Ionotoměniče nesoucí slabě kyselé aktivní skupiny nejsou použitelné v silně kyselých půdách. U iontoměničů se silně kyselými aktivními skupinami dochází v silně kyselých půdách k omezení jejich účinnosti v důsledku snížené disociace. Stejně je tomu tak u silně a slabě zásaditých aktivních skupin při vysokých hodnotách pH půdního roztoku.

Ionotoměnič	Typ	Rozmezí pH
Kation	Slabý	5 - 14
	Silný	0 - 14
Anion	Slabý	0 - 9
	Silný	0 - 14

Tab. 4 - Použitelnost iontoměničů s různými typy aktivních skupin při daném rozmezí pH (Dofner, 1991)

Stanovení dostupného P v půdě pomocí iontoměniče ArsenX^{np} by mělo být efektivní při nízkých hodnotách pH půdního roztoku. V zásaditém prostředí se nebude vazba P na iontoměnič uskutečňovat, ale bude podpořena desorpce iontů.

Vlhkost a teplota Difúzní tok iontů k iontoměniči je přímo závislý na půdní vlhkosti (Qian and Schoenau, 2000). Bylo prokázáno, že množství dusičnanů a fosforečnanů vázaných na iontoměniči klesá se snížením půdní vlhkosti (Qian and Schoenau, 1996). Zvýšení teploty za vhodných vlhkostních podmínek vede naopak ke zvýšené akumulaci iontů na iontoměnič. Za zvýšené teploty je podpořena výměna iontů (Haagsma and Miller, 1963; Yang et al., 1991a) a také mikrobiální aktivita a tedy zvýšená mobilita živin (Qian and Schoenau, 1996; Schaff and Skogley, 1982; Yang et al., 1991b). Při uložení iontoměničů v půdním horizontu může docházet k jejich vysychání.

Po vyjmutí iontoměničové sondy z půdního profilu je vhodné uchovávat iontoměnič v polyethylenových sáčkách. Pro dlouhodobější skladování by měl být iontoměnič uložen při 2°C (Skogley et al., 1997).

Doba expozice Při uspořádání *in-situ* se délky expozice pohybují od několika týdnů do 1 roku. Během této doby ovšem může dojít k vyčerpání kapacity iontoměniče. Potom se iontoměnič stává dynamickým výměníkem. Na to, zda se tak stane, mají vliv především: charakter a kapacita iontoměniče; dostupnost prvku; rychlost uvolňování a transformace prvku a podmínky prostředí. Dlouhodobá expozice navíc zahrnuje difúzi iontů ze vzdálenějších míst a může tak docházet k nadhodnocení výsledků (při přepočtu výsledků na metr čtvereční) (Quian and Schoenau, 2001).

Biologická kompetice Množství prvku, které může být přijato iontoměničem je také ovlivněno kompeticí mikroorganismů a rostlin o živiny (Giblin et al., 1994; Subler et al., 1995). Bylo prokázáno že množství N-NO₃ přijaté iontoměničem je výrazně nižší v prostředí ve kterém dochází k vysoké imobilizaci N (Subler et al., 1995). Při interpretaci výsledků by bylo vhodné případnou biologickou kompeticí zohlednit.

3. Materiál a metody

3.1. Popis studovaného území

Povodí Plešného a Čertova jezera jezera jsou součástí rozsáhlého pohoří Šumava. Toto pohoří se nachází na hranicích Česka, Rakouska a německého Bavorska. Od roku 1991 se na části území Šumavy rozkládá národní park s účelem ochrany rozsáhlých rašelinišť, smrkových i bukových pralesů, horských luk, řek a ledovcových jezer.

3.1.1. povodí Plešné jezero (PL)

Plešné jezero se nachází na 48°47' s.š. a 13°52' v.d., v nadmořské výšce 1090 m.n.m., pod 220 m vysokou karovou stěnou. Plocha celého povodí činí 66,6 ha (Švampera, 1939). Horninové podloží je tvořeno žulami (Veselý, 1994). Půdy v povodí PL jsou z 38 % tvořeny nevyvinutou organicky bohatou půdou s maximální hloubkou profilu 0,2 m. Z 29 % je půda řazena do kategorie podzolů a z 27 % do kategorie dystrických kambizemí s hloubkou profilu do 0,45 m (TKSP) (Kopáček et al., 2002 a, b). Hodnoty pH půdního roztoku jsou zde poměrně nízké, klesají až k 2,5 v humusovém horizontu. Nejvyšších hodnot dosahují v minerálním horizontu - 3,9 (Kopáček et al., 2002a, b). Průměrný roční úhrn srážek je 1372 mm (Kopáček et al., 2006). Povodí PL je pokryto 160 let starým porostem smrku ztepilého (*Picea abies*) s občasným výskytem buku lesního (*Fagus sylvatica*) a jeřábu ptačího (*Sorbus aucuparia*) (Svoboda et al., 2006 a, b). Smrkový porost je od roku 2000 napaden lýkožroutem smrkovým (*Ips typographus*). Do roku 2007 zde došlo k odumření 25 % stromového patra (Svoboda a

Hájek, 2007). Dominantním druhem bylinného patra je brusnice borůvka (*Vaccinium myrtillus*). Dále se zde vyskytuje metlička křivolaká (*Avenella flexuosa*), třtina chloupkatá (*Calamagrostis villosa*) a papratka alpinská (*Athyrium alpestre*), (Svoboda et al., 2006).

3.1.2. povodí Čertovo jezero

Čertovo jezero se nachází na 49°10' s.š. a 13°11' v.d., v nadmořské výšce 1030 m.n.m. Je situováno jihovýchodně od svahu Jezerní hory, pod 330 m vysokou karovou stěnou. Povodí Čertova jezera zaujímá plochu 87,5 ha (Švambera, 1939). Horninové podloží je tvořeno svory (muskovitická rula) s intruzemi křemene (Kopáček et al., 2002a, b). Povodí CT je převážně pokryto dystrickou kambizemí (58 %) s hloubkou půdního profilu 0,5 m. Dále se zde vyskytují podzoly (21 %) a organicky bohatá nevyvinutá půda (17 %) s mocností do 0,2 m (Kopáček et al., 2002a, b). Hodnoty pH půdního roztoku jsou zde také nízké, s minimálními hodnotami v humusovém horizontu (2,5 - 3,3) a nejvyššími v minerálním horizontu (3,6 – 4,5; Kopáček et al., 2002a, b). Průměrná roční teplota a úhrn srážek jsou podobné jako u povodí Plešného jezera. Dominující vegetací je zde 90 - 150 let starý porost smrku ztepilého (*Picea abies*) s řídkou příměsí buku a jedle. Složení bylinného patra je podobné jako na PL. Převládajícím druhem je zde však třtina chloupkatá (*Calamagrostis villosa*). Vybrané fyzikálně-chemické a biologické charakteristiky půd obou povodí jsou uvedeny v Tab. 5.

Tab 5: Vybrané fyzikálně-chemické (CEC - kationtová výměnná kapacita; C_{tot}, N_{tot}, P_{tot} – celkový C, N, P; SRP - rozpuštěný reaktivní fosfor; P_{ox}, Al_{ox} – P, Al v oxalátovém extraktu; Fe_{cd} – Fe v citrát-hydrosulfidovém extraktu) a biologické charakteristiky (C_{MB}, N_{MB} – C a N v mikrobiální biomase) půd v povodí Plešného (PL) a Čertova (CT) jezera. V tabulce jsou uvedeny průměrné hodnoty z několika odběrových míst v horních a dolních částech povodí (n=8 pro PL; n=6 pro CT) a směrodatné odchytky (sd) pro opadový (O), organický (A) a minerální (M) horizont. Písmeno n v tabulce znamená, že půdní charakteristika nebyla u daného vzorku stanovena (upraveno podle Kopáček et al., 2002 a, b)

povodí PL	hloubka profilu	množství půdy	pH (H ₂ O)	CEC	C _{tot}	N _{tot}	C _{mic}	N _{mic}	Al _{ox}	Fe _{cd}	P _{tot}	P _{ox}	SRP _{ox}
	m	kg.m ⁻²		meq.kg ⁻¹	mol.kg ⁻¹		mmol.kg ⁻¹						
O	0,06	5,17	3,60	274,50	40,98	1,39	n	n	42,67	33,17	28,82	6,47	3,53
sd	0,02	3,13	0,14	26,97	1,64	0,11	n	n	7,82	2,67	3,15	1,23	0,57
A	0,08	15,83	3,45	218,25	27,81	1,08	201,67	37,67	60,63	35,25	23,28	8,38	2,13
sd	0,06	11,01	0,14	50,33	8,08	0,26	11,09	1,25	30,88	22,12	8,36	7,12	0,71
M	0,15	70,50	4,59	106,33	4,46	0,16	7,00	1,30	90,00	174,33	27,35	20,10	17,03
sd	0,07	20,30	0,26	27,72	2,93	0,09	0,00	0,00	40,00	101,61	9,30	10,44	11,11

povodí CT	hloubka profilu	množství půdy	pH (H ₂ O)	CEC	C _{tot}	N _{tot}	C _{mic}	N _{mic}	Al _{ox}	Fe _{cd}	P _{tot}	P _{ox}	SRP _{ox}
	m	kg.m ⁻²		meq.kg ⁻¹	mol.kg ⁻¹		mmol.kg ⁻¹						
O	0,14	5,00	3,67	256,00	41,28	1,60	n	n	38,00	22,20	32,98	7,72	4,70
sd	0,18	2,10	0,14	26,86	2,69	0,13	n	n	11,58	12,04	2,29	1,54	1,00
A	0,10	23,20	3,48	214,83	28,50	0,94	99,20	30,00	78,17	106,00	29,50	11,67	5,50
sd	0,07	10,85	0,19	49,13	8,78	0,31	16,12	9,21	32,76	87,12	8,70	3,09	3,79
M	0,26	93,25	4,06	93,20	3,56	0,13	10,63	1,48	140,40	361,80	26,40	16,10	9,90
sd	0,17	63,94	0,28	34,80	2,04	0,06	6,90	0,84	121,19	284,15	15,96	10,83	6,11

3.2. Stanovení P-PO₄ v půdě pomocí iontoměníčů

3.2.1. Typ iontoměníče

Pro stanovení množství rozpuštěného fosforu *in-situ* jsem použil iontoměníč ArsenX^{np} (Purolite). ArsenX^{np} je hybridní kuličkový (průměr 300-1200 μ m), silný anex (polystyrenové jádro zesíťené divinilbenzenem) impregnovaný nanočásticemi hydroxy-oxidů železa.

3.2.2. Příprava iontoměníče před použitím

Před vlastním použitím jsem iontoměníč desetkrát propláchl roztokem 2 % NaOH v destilované vodě (iontoměníč : NaOH, 1 : 2). Poté jsem iontoměníč proplachoval destilovanou vodou pro odstranění přebytečného NaOH (snížení pH na 5,6).

3.2.3. Vytěsnění iontů z iontoměníče - eluce na koloně

Vytěsnění iontů z iontoměníče jsem prováděl opakovanou elucí na skleněných kolonách (délka 19,5 cm, průměr 2 cm) s vestavěnou fritou a kohoutem. Jako eluční činidlo jsem použil roztok 2 % NaOH (Sylvester, osobní komunikace). Postup byl následující:

- 1) Kolonu jsem naplnil iontoměníčem a nechal ho přibližně 5 minut botnat v destilované vodě. Pokud jsem zpracovával iontoměníč po zapravení v půdě, nejprve jsem jej několikrát propláchl destilovanou vodou (odstranění zbytků půdy).
- 2) Z kolony s iontoměníčem jsem vypustil zbylou destilovanou vodu.
- 3) Z 50 ml odměrné baňky naplněné 2 % NaOH (činidlo) jsem do kolony odlil tolik roztoku hydroxidu, aby byl iontoměníč zcela ponořen, poté jsem z iontoměníče odstranil vzduchové bubliny mícháním skleněnou tyčinkou.
- 4) Odměrnou baňku se zbývající částí činidla jsem překlopil dnem vzhůru a nechal celý objem překapat přes iontoměníč.

Celý postup od bodu č. 3 jsem zopakoval šestkrát (celkový objem činidla 300 ml), přičemž eluát jsem jímá do jedné kádinky.

3.2.4. Testování účinnosti metody

Předem připraveným iontoměníčem (viz 3.2.2.) jsem prokapal 250 ml roztoku o známé koncentraci P-PO₄ (KH₂PO₄ v destilované vodě). Z rozdílů množství P-PO₄ před a po překapání jsem získal množství iontů, které se na iontoměníči zachytily. Následovalo vytěsnění iontů podle postupu popsáném v části 3.2.3. Sorpci a eluci iontů jsem zopakoval dvaatřicetkrát s postupně se zvyšující koncentrací P-PO₄ ve standardním roztoku.

3.2.5. Příprava iontoměničových půdních sond

Iontoměničové půdní sondy jsem vyráběl z polyamidového síta Úhelon (Silk & Progress, 130T, velikost oka 42 μm). Síto jsem lepil (100% silikon, Soudal) z obou stran na plastová kolečka (výška 1 cm, průměr 5,9 cm). Sondy jsem plnil připraveným iontoměničem.

3.2.6. Zapravení iontoměničů do půdy

Iontoměničové sondy jsem zapravil 11.11. 2006 do půd v povodí Plešného a Čertova jezera. Sondy byly zapraveny pod opadový (2-5 cm) a humusový (10 cm) horizont v pěti opakováních pro každou půdní vrstvu a plochu (horní a dolní plocha v každém povodí). Celkem jsem zapravil 40 sond, které zde byly ponechány po dobu 187 dní (letní období). Poté jsem v iontoměničích z každé sondy stanovil obsah P-PO₄ podle postupu v části 3.2.3.

Do půdy jsem dále zapravil iontoměničové sondy na zimní období (listopad – květen), jejichž analýza proběhne v květnu 2008 a výsledky tudíž ještě nebyly k dispozici před dokončením této práce.

3.3. Stanovení koncentrace P-PO₄

3.3.1. Příprava laboratorního skla

Laboratorní sklo může obsahovat zbytky P, které mají rušivý vliv při vlastním stanovení. Proto je nutné sklo před použitím správně umýt. Laboratorní sklo jsem proto nechal po dobu 30 min ponořené v 15 % roztoku Na₂CO₃. Poté jsem je vypláchl vodou a 1 M H₂SO₄. Nakonec jsem sklo důkladně vypláchl destilovanou vodou.

3.3.2. Stanovení koncentrace P-PO₄

Koncentraci P-PO₄ jsem stanovil spektrofotometricky jako rozpuštěný reaktivní fosfor (Murphy and Riley, 1962; Kopáček and Hejzlar 1991). P-PO₄ tvoří v kyselém prostředí s molybdenanem amonným a vinanem antimonylo-draselným komplex (PSb₂Mo₁₀O₄₀), který je posléze redukován kyselinou askorbovou za vzniku fosfoantimonylomolybdenanové modři. Absorbanci jsem měřil při 710 nm a minimální měřitelná koncentrace P-PO₄ byla 50 $\mu\text{g l}^{-1}$. Vzorky obsahující NaOH jsem před stanovením zneutralizoval (0,5 ml 4,3 mol H₂SO₄ na 10 ml vzorku). Vzorky s příliš vysokou koncentrací P-PO₄ jsem podle potřeby ředil 2 % roztokem NaOH (eluáty) nebo destilovanou vodou (standardní roztoky pro testování sorpce a eluce).

3.4. Statistické zpracování dat z terénu

Ke statistickému hodnocení dat (přepočteno na $\mu\text{M P m}^{-2} \text{ den}^{-1}$) jsem použil faktoriální ANOVU s pevnými efekty. Protože získaná data neměla normální rozdělení, použil jsem nejprve logaritmickou transformaci. Homogenitu variancí jsem otestoval Hartley-Cochran-Bartlettovým testem. Mnohonásobné porovnání jsem provedl pomocí Tukeyho testu. Data jsem hodnotil v programu STATISTICA 7.0 pro Windows.

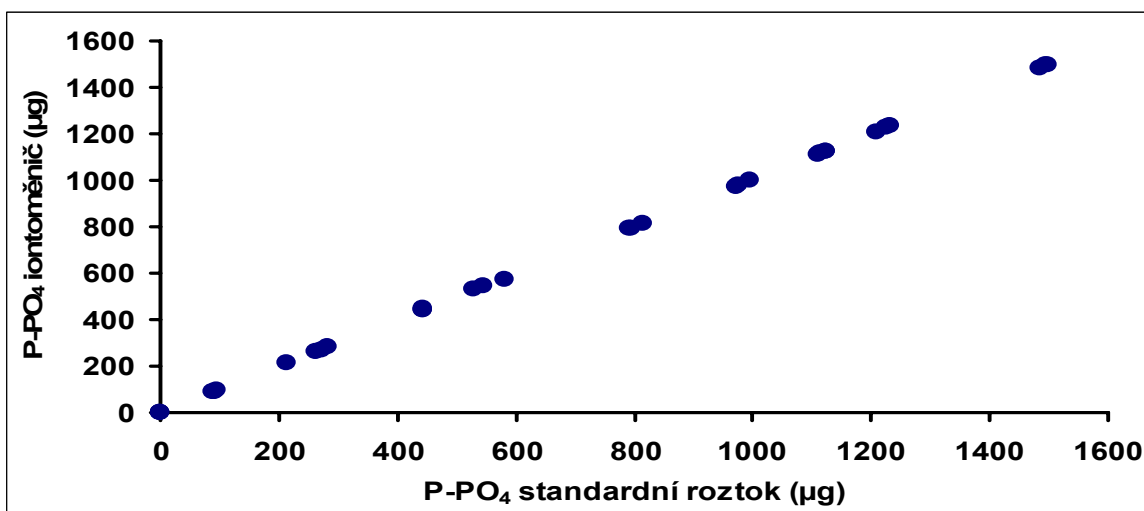
4. Výsledky

4.1 Testování metody

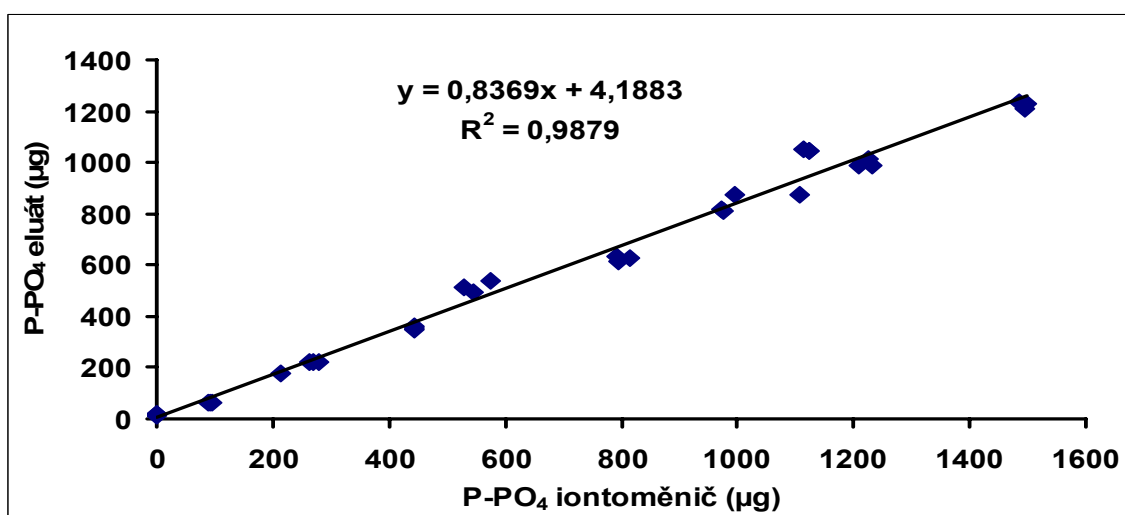
Testoval jsem účinnost sorpce fosforečnanových iontů na iontoměnič a následně účinnost jejich vytěsnění z iontoměniče (eluce). Fosforečnany byly poutány iontoměničem, v rozsahu sledovaných koncentrací, téměř se 100 % účinností ($100 \% \pm 0,3$, $n=32$; Obr. 4). Účinnost eluce se pohybovala od 66 do 97 %, přičemž průměrná účinnost eluce byla $82 \% (\pm 7,25$, $n=32)$. Množství iontů vytěsněných z iontoměniče se v rozsahu sledovaných koncentrací lineárně zvyšovalo s množstvím iontů zachycených na iontoměniči (Obr. 5). Závislost množství fosforečnanů stanovených v eluátu na množství fosforečnanů zachycených na iontoměniči jsem vyjádřil lineární regresí. Známe-li množství fosforečnanů v eluátu iontoměniče, který byl exponován v půdě, je pak možné přesně spočítat skutečné množství fosforečnanů P-PO₄ (μg), které se na iontoměniči během jeho expozice zachytilo podle následujícího vztahu:

$$\text{P-PO}_4 = (\text{E}_{\text{P-PO}_4} - 4,1883) / 0,8369,$$

kde E je množství P-PO₄ v eluátu (μg). Tuto rovnici jsem použil při přepočtu dat získaných analýzou obsahu P-PO₄ v eluátu iontoměniče půdních sond.



Obr. 4: Množství P-PO₄ zachycené iontoměničem v závislosti na množství P-PO₄ ve standardním roztoku (n=32)



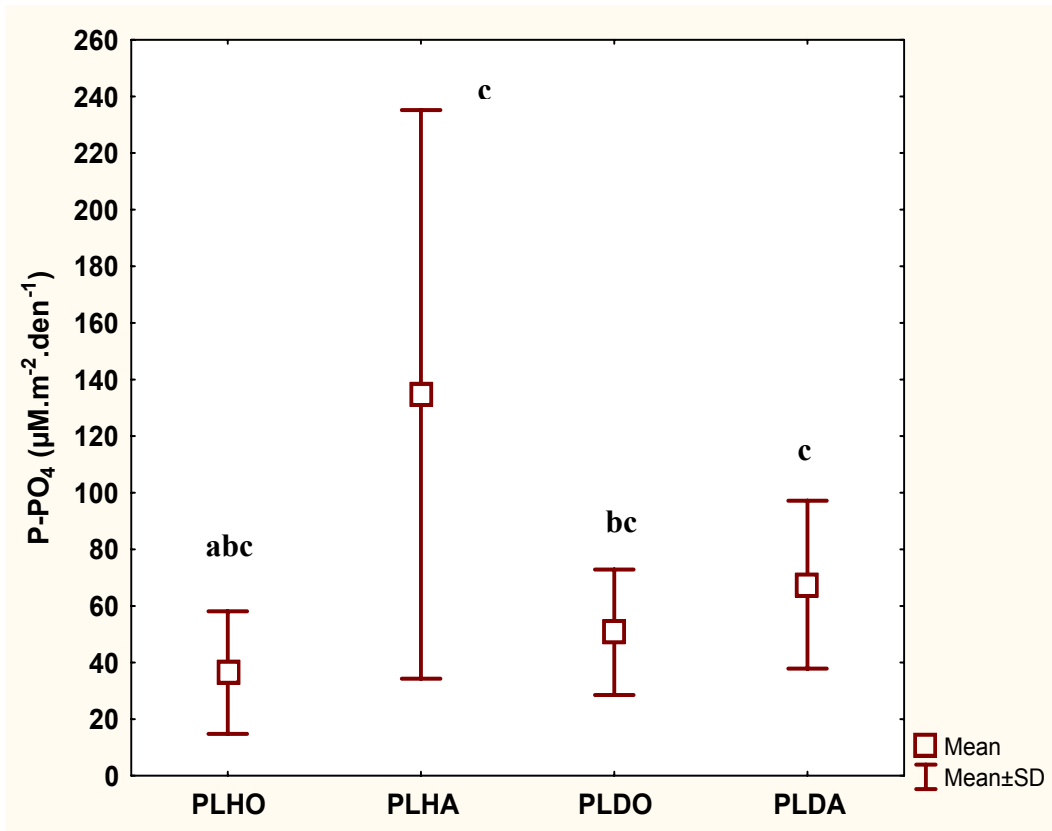
Obr. 5: Množství P-PO₄ vytěsněné z iontoměniče po opakované eluci 2 % NaOH v závislosti na množství P-PO₄ na iontoměniči (n=32)

4.2 In-situ dostupný P

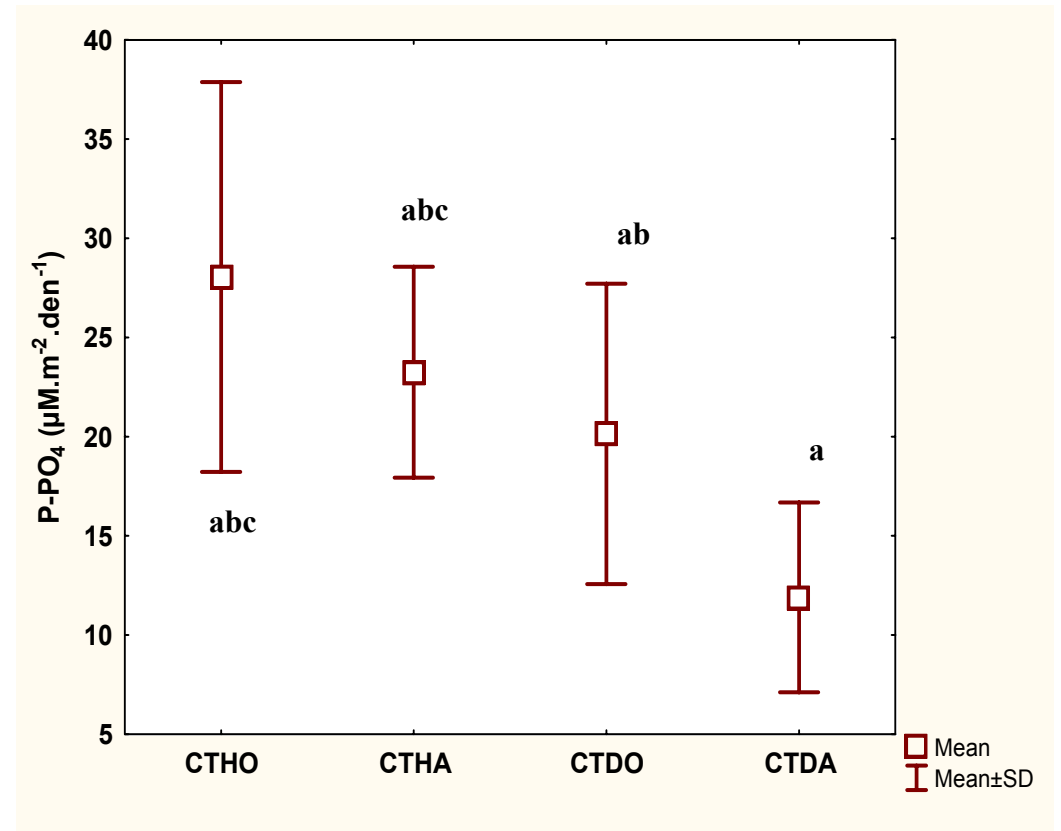
Průměrné množství dostupného P v opadových a humusových vrstvách půd PL a CT po letní expozici iontoměničových sond (květen – listopad 2007) shrnuje Obr. 6. Průměrné množství dostupného P pro oba horizonty a plochy je průkazně vyšší na PL ($74,25 \mu\text{M m}^{-2} \text{den}^{-1}$) než na CT ($20,83 \mu\text{M m}^{-2} \text{den}^{-1}$) ($F = 37,436$; $df=1$; $p < 0,05$). Statisticky významný rozdíl je dále mezi opadovými vrstvami PL oproti CT a humusovými vrstvami PL oproti CT ($F = 8,922$; $df=1$; $p \ll 0,05$). Množství fosforu v jednotlivých vrstvách je tedy ovlivněno příslušností k danému povodí. Rozdíl je zřetelnější v humusových vrstvách a je dán především vysokou

průměrnou hodnotou dostupného P v humusové vrstvě na horní ploše PL ($134,75 \mu\text{M m}^{-2} \text{den}^{-1}$; Obr 6.1), která se i přes vysokou směrodatnou odchylku průměru signifikantně liší od obou ploch a vrstev CT (Obr. 6.2). Rozdíl je patrný mezi půdními vrstvami v rámci jednotlivých povodí avšak není statisticky významný. Na PL je více P dostupného v humusové vrstvě, na CT je naopak větší množství dostupného P v opadové vrstvě. Rozdíly v množství dostupného P mezi horními a dolními plochami obou povodí nejsou statisticky významné. Avšak z výsledků je zřejmé, že hodnoty dostupného P na horních plochách CT ($25,65 \mu\text{M m}^{-2} \text{den}^{-1}$) jsou vyšší než na dolních plochách CT ($16,02 \mu\text{M m}^{-2} \text{den}^{-1}$).

1. povodí PL



2. povodí CT



Obr. 6 – Množství P-PO₄ zachycené na iontoměničových půdních sondách po letní expozici (květen – listopad 2007) v půdách povodí Plešného (PL) a Čertova (CT) jezera (H – horní plocha, D – dolní plocha, O – opadová vrstva, A – humusová vrstva). V obrázku jsou znázorněny průměrné hodnoty a jejich směrodatné odchylky (n=5). Povodí CT má jiné měřítko osy Y než PL. Písmenka v grafech označují průkazně rozdílné hodnoty (p<0,05) v rámci jednotlivých povodí a zároveň mezi oběma povodími.

5. Diskuse

5.1 Testování metody

Iontoměnič ArsenX^{np}, který jsem při testování metody použil, je vhodný pro stanovení dostupného P-PO₄ v půdě *in-situ*, což potvrzují vysoké průměrné účinnosti sorpce i eluce iontů zjištěné při testování metody.

Účinnost sorpce P-PO₄ na iontoměnič byla v rozsahu sledovaných koncentrací vysoká (100% v 31 případech z 32). Kapacita použitého iontoměniče je díky velkému povrchu jeho částic poměrně vysoká. Účinnost sorpce P-PO₄ na iontoměnič by se tedy neměla snižovat ani při vyšších množstvích P-PO₄ přítomných v půdním roztoku, než byl námi testovaný rozsah. Nicméně, půdní roztok obsahuje další ionty, které by mohly účinnost sorpce snížit. Z hlediska afinity k použitému iontoměniči by to mohly být zejména sírany a dusičnany. Účinnost sorpce by mohla být dále ovlivněna sorpcí některých jiných forem P na iontoměnič, organických i anorganických. Mezi tyto formy patří především monoestery, diestery a fosfonáty, jako organické formy P, a polyfosfáty a pyrofosfáty, jako anorganické formy P. Bylo zjištěno, že na silný anex se mohou navázat a později uvolnit všechny následující organické formy P přítomné v roztoku: glycerolfosfát, ribonukleová kyselina, adenosin monofosfát, adenosin trifosfát a inositol hexafosfát (Rubaek and Sibbesen, 1993). Langlois et al. (2003) uvádí, že při použití směsného iontoměniče (anexu a katexu) bylo z celkového stanoveného P 50 – 75% v organické formě. Vazba organických a anorganických forem P na iontoměnič může tedy snížit účinnost sorpce P-PO₄ a přispět k vyčerpání kapacity iontoměniče. Nicméně, (1) kapacita iontoměniče ArsenX^{np} by měla být dostatečně vysoká. Podle sdělení výrobce (Purolite) je kapacita iontoměniče 0,5 - 4 g P l⁻¹ (při hodnotách pH 4,4 - 8). Podle objemu iontoměniče v půdní sondě použité v této práci (27,33 cm³) můžeme vypočítat její přibližnou kapacitu poutat P. Při délce expozice 190 dní se na iontoměnič může za jeden den navázat od 71 až do 574 μg P. (2) Přestože se na iontoměnič může vázat P i v jiných formách, než P-PO₄, může být tento „nadbytečný“ organický či anorganický fosfor považován také za dostupný pro mikroorganismy, protože je aktuálně rozpuštěn v půdním roztoku a může být mikroorganismy využit.

Účinnost eluce P-PO₄ byla nižší (66 - 97%), než účinnost sorpce, nicméně uspokojivá. Aby bylo možné z množství P-PO₄, které jsem stanovil v eluátu zjistit množství P-PO₄, které se na iontoměnič skutečně navázalo, bylo nutné nalézt mezi těmito množstvími funkční vztah. V rozmezí testovaných koncentrací se množství P-PO₄ vytěsněné z iontoměniče lineárně

zvyšovalo podle množství P-PO₄ zachyceného na iontoměničích. Vyjádřením této závislosti lineární regresí jsem získal rovnici, pomocí které jsem mohl množství P-PO₄ na iontoměničích určit přesněji. Rovnice vysvětluje téměř 99 % variability. Při výpočtu předpokládám, že vztah množství P-PO₄ v eluátu na množství P-PO₄ na iontoměničích je lineární i při vyšších koncentracích P-PO₄ v roztoku, než bylo maximální testované množství ve standardním roztoku. Pokud by daná závislost nebyla lineární, vypočtené výsledky by mohly být zkreslené. Nicméně, maximální testovaná hodnota byla výrazně překročena pouze u 3 sond exponovaných v humusové vrstvě na horní ploše povodí Plešného jezera. Přesto však bude třeba pokračovat s otestováním sorpce většího množství P-PO₄ než byla použita největší hodnota (1600 μg).

Jak již bylo řečeno, P se může vázat na iontoměnič i v jiných složitějších formách, které se po vytěsnění mohou vyskytovat v eluátu. Při stanovení molybdenanovou metodou (Murphy a Riley, 1962; Kopáček a Hejzlar, 1991) tvoří fosfoantimonylomolybdenanovou modř pouze P-PO₄ (Turner et al., 2005). Nicméně, v kyselém prostředí, ve kterém dochází k tvorbě barevné komplexní sloučeniny, může dojít k částečnému uvolnění P-PO₄ také z organických sloučenin navázaných na iontoměničích (Turner et al., 2005). Navíc, k uvolnění malého množství P-PO₄ může docházet již při samotné eluci působením silně zásaditého elučního činidla (v našem případě NaOH). Výsledky tak mohou být nadhodnocené a v dalším testování metody by bylo vhodné ověřit, jak velkou část mohou tyto navíc uvolněné fosforečnany tvořit z celkového množství stanoveného dostupného P.

Variabilita dat, získaných expozicemi iontoměničových sond v půdě, byla poměrně vysoká (od 22,9 % do 74,5 %). Jak uvádí Binkley a Hart (1983), metody měření prvků v půdě *in-situ* využívající iontoměnič mají všeobecně vyšší koeficient variability výsledků, který je určen poměrem směrodatné odchylky dat k jejich průměru. Například při použití iontoměničové metody pro měření dostupných forem dusíku v půdě se uvádí koeficient variability dosahující až 80 % průměru (Binkley and Matson, 1983; Binkley, 1986; Hart and Binkley, 1985). Tato vyšší variabilita je dána heterogenitou půdního prostředí a to jak prostorovou tak časovou (Binkley and Hart, 1989).

Jak jsem již uvedl, iontoměnič ArsenX^{np} je vhodný pro stanovení půdního P-PO₄ *in-situ*, nicméně bude nutné pokračovat v jeho dalším testování. Zejména je nutné určit jakým způsobem se mění účinnost sorpce při vyšších koncentracích P-PO₄ v roztoku, než byly koncentrace použité v této práci. Dále by bylo vhodné otestovat účinnost sorpce P-PO₄ za přítomnosti dalších iontů v roztoku, jako jsou sírany a dusičnany a zjistit, jak velké množství organického fosforu se váže na iontoměnič.

5.2. In-situ dostupný P

Iontoměniče se pro stanovení dostupného P ve většině případů používají k přímé extrakci půdy (Indiati a Singh, 2001; Roboredo a Coutinho, 2006), po které může následovat extrakce extrakčním činidlem (Johnson et al., 2003). Extrakcí však dochází k narušení půdní struktury a tím k uvolňování i méně dostupných forem P (Freese et al., 1995, Sims et al., 2000). Navíc, jednorázové extrakce neposkytují informace o dostupnosti P z hlediska delšího časového měřítka (Indiati, 2000; McKean a Warren, 1996). Data o dostupném P získaná z extrakčních metod jsou uváděna v množství P vztaheného na množství půdy nebo na množství půdy obsažené v jednotce plochy např. g kg^{-1} nebo kg ha^{-1} . Oproti extrakčním metodám expozice iontoměničových půdních sond umožňuje kontinuální zachytávání dostupného P z půdního roztoku. Účinnost iontoměniče je navíc, narozdíl od extrakčních metod, nezávislá na typu půdy (Schoenau and Huang, 1991; Quian et al., 1992). Množství zachyceného P se vyjadřuje vzhledem k ploše použité iontoměničové sondy, nebo množství použitého iontoměniče. Vzhledem k tomu, že při dlouhodobé expozici iontoměniče může docházet k difúzi iontů i ze vzdálenějších míst (Quian and Schoenau, 2001) a nejde o jednorázové měření, je porovnání s hodnotami extrahovatelného P uváděnými v literatuře problematické. Pro závěry této práce je především důležité porovnání dostupného P mezi půdami v povodí PL a CT.

Množství dostupného P je vyšší v půdách povodí PL než CT (viz 4.2.), což je v souladu se stanovenou hypotézou. Příčinou tohoto rozdílu jsou odlišnosti v abiotických i biotických faktorech ovlivňujících cyklus P na obou povodích. V povodí PL je do půdy uvolňováno větší množství P z matečné horniny (Kopáček et al., 1998). Žuly tvořící horninový podklad PL obsahují třikrát více P, než svory tvořící horninový podklad CT (Veselý et al., 1994; Kopáček et al. 2002a, b) a při nízkých hodnotách pH ho mohou do půdy snáze uvolnit (Kopáček et al., 1998). Půdy v povodí PL nemají schopnost uvolněný P efektivně zadržovat a ten se ve zvýšené míře vyplavuje do jezera ($1,03 \text{ mmol m}^{-2} \text{ rok}^{-1}$, Kopáček et al., 2001a, b, c). Schopnost půd v povodí CT zadržovat P je naproti tomu třiapůlkrát vyšší (Kaňa a Kopáček, 2005). To je důsledkem vyššího obsahu Al a především Fe (Kopáček et al., 2002; Kaňa a Kopáček, 2005), které tvoří s P nerozpustné sloučeniny. Retence P v půdách CT ovšem také záleží na pH půdního roztoku (Kaňa a Kopáček, 2005). V současné době se zde hodnoty pH vlivem acidifikace pohybují okolo tří, především v humusové vrstvě, a schopnost půdy zadržovat P proto dosahuje maxima (Kaňa a Kopáček, 2005). Pravděpodobně proto je zde v průměru 3,6 krát méně dostupného P než v půdách PL.

Šantrůčková et al. (2004) uvádí, že fosfatázová aktivita v půdách PL je významně vyšší, než v půdách CT, což může také přispívat k větší dostupnosti P v půdách PL. P je v organických sloučeninách vázán především esterovými vazbami. Konečnou reakcí mineralizace organického P je uvolňování $P-PO_4$ z těchto sloučenin hydrolyzou katalyzovanou extracelulárními fosfatázami. V konečné fázi může být tedy mineralizace organického P nezávislá na mineralizaci organické hmoty (McGill and Cole, 1981; Stewart and Tieszen, 1987; Olander and Vitousek, 2000; Šantrůčková et al., 2004). To by mohlo vysvětlit, proč je v půdách PL fosfatázová aktivita vyšší, zatímco mineralizace organické hmoty je zde oproti CT pomalejší. Pomalejší rychlost mineralizace organické hmoty na PL může být způsobena její nekompletní oxidací na CO_2 (Šantrůčková et al., 2004). Při ní může docházet k tvorbě nízkomolekulárních organických kyselin (Richards, 1978), které mají schopnost uvolňovat P ze sloučenin s kovy, protože s nimi tvoří pevné komplexní sloučeniny. Produkce kyselin by tak mohla přispívat k uvolňování $P-PO_4$ do půdního roztoku a tedy k větší dostupnosti P v půdách (Šantrůčková et al., 2004).

Dalším důležitým faktorem, který může ovlivnit množství dostupného P v půdách PL a CT je složení rostlinného opadu. Podle Yanai (1992) P, který je během vegetační sezóny přijímán mikroorganismy a kořeny rostlin, pochází ze 60 % z rozkládajícího se rostlinného opadu. Na základě dat o vegetačním pokryvu, zastoupení jednotlivých druhů a rychlosti jejich rozkladu bylo zjištěno, že celkový vstup P do půdy z opadu může být větší u CT ($12,87 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$) než u PL ($10,61 \mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$) (Šantrůčková et al., 2006). Teoreticky by tedy mělo být více dostupného P v půdách CT. Avšak bylo prokázáno, že P vyskytující se v organických sloučeninách, které jsou produkty mineralizace rostlinného opadu mohou být ihned vázány do sloučenin s Al a Fe (Giesler et al., 2002). Tyto sloučeniny pak hůře podléhají dalšímu biologickému rozkladu (Stewart and Tieszen, 1987; Magid et al., 1996).

V současné době se zastoupení druhů bylinného patra a tím i složení rostlinného opadu v povodích začalo měnit. Vlivem napadení porostu lýkožroutem smrkovým došlo k odumření 25 % lesa (povodí PL, Svoboda a Hájek, 2007) a k následnému vzniku prosvětlených ploch, na kterých začaly dominovat trávy. Opad tvořený převážně listy trav obsahuje více extrahovatelného P než opad tvořený smrkovým jehličím (Šantrůčková et al., 2006). Je tedy bohatším zdrojem dostupného P a může přispívat k vyššímu množství dostupného P v půdách PL.

Trávy tvoří bohatý kořenový systém. Kořeny mají schopnost produkovat fosfatázy a další kořenové exudáty, pomocí kterých si rostlina P zpřístupňuje (e.g. Hinsinger, 2001). Zároveň se v okolí kořene rozvíjejí půdní mikroorganismy a zvyšuje se zde biologická

aktivita (rhizosférní efekt, e.g. Uren and Reisenauer, 1988). Výsledkem může být vyčerpání P v blízkosti kořene (Jungk, 1996; Hinsinger, 1998), nebo naopak akumulace labilních forem P v okolní půdě (e.g. Grinstead et al., 1982). Akumulace labilních forem P vlivem rhizosférního efektu, by v půdách povodí PL mohla dále přispívat k vyššímu množství dostupného P oproti půdám CT.

Vysokou variabilitu v naměřených datech, především horní plochy, můžeme přisoudit napadení porostu povodí PL lýkožroutem smrkovým. Guo et al. (2003) zkoumal, jakým způsobem se změní variabilita naměřených dat v množství základních živin v půdě, včetně P, po disturbanci. V lesním ekosystému s dominující borovicí eliotovou (*Pinus eliottii*) simuloval napadení stromového patra lýkohubem (*Dendroctonus frontalis*). Po odumření stromového patra se zde variabilita v naměřených datech zvýšila 5 krát a zůstala vysoká ještě 4 roky poté. Lze se domnívat, že příčinou je zvýšení heterogenity půdního prostředí po disturbanci.

Výsledky prezentované v této práci jsou zatím předběžné, protože jde o první terénní měření. Je nutné dál v měření pokračovat a současně získaná data ověřit. Zajímavé by bylo též stanovit množství dostupného P v půdách i v zimním období a tyto hodnoty porovnat s daty z letní expozice. Mým předpokladem je, že množství dostupného P v půdě obou povodí v zimním období bude vyšší než v letním období. Koncem vegetační sezóny se na povrchu půdy akumuluje rostlinný opad, který podléhá mikrobiálnímu rozkladu. V zimním období přitom nedochází k příjmu P rostlinami, zatímco mikroorganismy jsou aktivní i při nízkých teplotách (0°C) a dochází k mineralizaci organické hmoty (Skopcová a Šantrůčková, 2005). Dostupný P by se tedy mohl v půdě akumulovat.

6. Závěr

Cílem této práce bylo zavést a otestovat metodu stanovení dostupného P v půdě *in-situ* a stanovit množství dostupného P v půdách povodí Plešného a Čertova jezera. Z testování iontoměniče a ze získaných výsledků vyplývá, že iontoměnič ArsenX^{np} je vhodný pro stanovení dostupného P *in-situ*. Je však třeba otestovat účinnost sorpce P-PO₄ na iontoměnič při vyšších koncentracích P-PO₄ v roztoku, než byly koncentrace použité v této práci a za přítomnosti dalších iontů v roztoku (sírany a dusičnany). Dále by bylo vhodné stanovit, jak velké množství organického fosforu se váže na iontoměnič a jak může zkruslit stanovení P-PO₄ molybdenanovou metodou.

Výsledky stanovení dostupného P v půdách povodí PL a CT *in-situ* potvrzují hypotézu, že více dostupného P je v půdách povodí PL. Tento stav může ovlivňovat produkci obou jezer a pravděpodobně i celého ekosystému (Kaňa a Kopáček, 2005). Oba ekosystémy se v současné době zotavují z působení antropogenní acidifikace. Ta na jednu stranu urychlila uvolňování P z horninového podloží PL (Veselý et al., 1994; Kopáček et al. 2002a, b), na druhou stranu zvýšila retenci P v půdách CT (Kaňa a Kopáček, 2005), což podporují i výsledky této práce.

Množství dostupného P v půdě ovlivňuje primárně aktivitu mikrobiálního společenstva (Giesler et al., 2004) a ovlivňuje příjem C a N do buněk půdních mikroorganismů (Paul and Clark, 1996). Cykly C, N a P jsou tak velmi těsně spojeny. Množství dostupného P by tedy mohlo hrát významnou roli v ekosystémech saturovaných N, jakými jsou povodí PL a CT. Zatímco v půdách PL mikroorganismy pravděpodobně nejsou limitovány P, v půdách CT musí použít více energie pro asimilaci P. S vyšším množstvím dostupného P v půdním roztoku by se mohla zvyšovat i imobilizace N. Vyšší retence N v biomase půdních mikroorganismů by pak mohla zmírnit dopady saturace ekosystému dusíkem (např. snížit jeho vyplavování).

Tato práce vznikla za podpory dvou grantů (GA ČR GA206/07/1200, Vrba, J., 2007-2011: Limitující faktory a omezení biologického zotavování z acidifikace: Jaká je budoucnost horských ekosystémů Šumavy?; EAA NFM CZ 0051, Kopáček, J., 2007 – 2011, Odhad vlivu Gothenburského protokolu na acidifikované a eutrofizované půdy a vody) a měla by přispět k pochopení významu P, jako pravděpodobného limitujícího prvku, při zotavování horských lesních ekosystémů z acidifikace. Výsledky celého projektu pak mohou pomoci ke zvolení vhodné správy lesních ekosystémů postižených acidifikací.

7. Seznam použité literatury

Aber J. D., Nadelhoffer K. J., Steudler P., Melillo J. M., 1989. Nitrogen saturation in northern forest ecosystems. *BioScience* 39: 378 - 386

Adani F., Spagnol M., Nierop K. G. J., 2007. Biochemical origin and refractory properties of humic acid extracted from maize plants: the contribution of lignin. *Biogeochemistry*, 82:55–65

Bedrock C. N., Cheschire M. V., Chudek J. A., Goodman B. A., Shand C. A., 1994. P NMR studies of humic acid from a blanket peat. In: *Humic substances in the global environment and implications on human health*. Elsevier science B. V. pp 227 – 232

Binkley D. and Matson P., 1983. Ion Exchange Resin bag method for assessing forest soil nitrogen availability. *Soil Science Society of America Journal* 47: 1050 – 1052

Binkley D., Aber J., Pastor J., Nadelhoffer K., 1986. Nitrogen availability in some Wisconsin forests: comparisons of resin beds and on-site incubations. *Biology and fertility of soils*, 2: 77-82

Binkley D. and Hart S. C., 1989. The components of nitrogen availability assessments in forest soils. *Advances in Soil Science* 10: 57 – 112

Boyd G. E., Adamson A. W., Myers L. S., 1947. The exchange adsorption of ions from aqueous solutions by organic zeolites: II. Kinetics. *Journal of American Chemical Society* 69: 2836 - 2848

Bray R.H., Kurtz L.T.. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science*. 59:39-45.

Bucher M., 2006. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New phytologist*: 11 - 26

Cooperband L. R. and Logan T. J., 1994. Measuring in situ changes in labile soil phosphorus with anion-exchange membranes. *Soil science society of America journal*, 58: 105 - 114

Cortina J., Romanya J., Vallejo V. R., 1995. Nitrogen and phosphorus leaching from the forest floor of a mature *Pinus radiata* stand. *Geoderma*, 66: 321 – 330

Cosby B. J., Wright R. F., Hornberger G. M., Galloway J. N., 1985. Modelling the effects of acid deposition: estimation of long-term water quality responses in a small forested catchment. *Water resources research* 21, 1591 - 1601

Craft C. B., Chiang C., 2002. Forms and Amounts of Soil Nitrogen and Phosphorus Across a Longleaf Pine–Depressional Wetland Landscape. *Soil science society of America journal*, 66:1713–1721

Dofner K., 1991. *Ion exchangers*. Walter de Gruyter, New York

Egner H., Köhler G., Nyddahl F., 1938. Die laktatmethode zur bestimmung leichtlöslicher phosphorsäure in ackerböden. *K. Landbr. – Högsk. Ann.* pp 6-15

Freese D., Lookman R., Merckx R., van Riemsdijk W. H., 1995. New method for assessment of long-term phosphate desorption from soils. *Soil Sci Soc Am J*, 59:1295-1300

Giblin A. E., Laundre J. A., Nadelhoffer K. J., Shaver G. R., 1994. Measuring nutrient availability in arctic soils using ion exchange resins: A field test. *Soil Science of America Journal* 58: 1154 – 1162

Giesler R, Petersson T, Högberg P. 2002. Phosphorus limitation in boreal forests: effects of aluminum and iron accumulation in the humus layer. *Ecosystems*, 5:300–14.

Giesler R., Satoh F., Ilstedt U., Nordgren A., 2004. Microbially available phosphorus in boreal forests: effects of aluminum and iron accumulation in the humus layer. *Ecosystems*, 7: 208–217

- Grinsted M. J., Hedley M. J., White R. E., Nye P. H., 1982 Plant-induced changes in the rhizosphere of rape (*Brassica napus* var. Emerald). I. pH changes and the increase in P concentration in the soil solution. *New Phytologist*, 91: 19–29.
- Guo D., Mou P., Jones R. H., Mitchell R. J., 2003. Spatio-temporal patterns of soil available nutrients following experimental disturbance in a pine forest. *Oecologia*, 138: 613–621
- Haagsma T., Miller M. H., 1963. The release of nonexchangeable potassium to cation exchange resin as influenced by temperature, moisture and exchanging ion. *Soil science society of America journal*, 27: 153-156
- Harrold S. A., Tabatabai M. A., 2006. Release of inorganic phosphorus from soils by low molecular weight organic acids. *Communication in soil science and plant analysis*, 37: 1233 – 1245
- Hart S. C., Binkley D., 1985. Correlations among indices of forest soil nutrient availability in fertilized and unfertilized loblolly pine plantations. *Plant soil*, 85 (1): 11-21
- Hinsinger P., 1998 How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. *Adv. Agron.* 64, 225–265.
- Hinsinger P., 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil*, 237: 173–195
- Hruška J. and Cienciala E. (Eds.), 2001. Dlouhodobá acidifikace a nutriční degradace lesních půd - limitující faktor současného lesnictví. ISBN 80-7212-190-1, Ministerstvo životního prostředí, Praha
- Hu H., Tang C., Rengel Z., 2005. Influence of phenolic acids on phosphorus mobilisation in acidic and calcareous soils. *Plant and Soil*, 268: 173–180
- Cheng W. P., Chi F. H., Yu R. F., 2003. Effect of phosphate on removal of humic substances by aluminum sulfate coagulant. *Journal of Colloid and Interface Science*, 272: 153-157
- Indiati R., 2000. Soil phosphate desorption by successive extractions with iron oxide-impregnated paper strip. *Communications in soil science and plant analysis*, 31: 2651-2664
- Indiati R., Singh B. R., 2001. Phosphorus extractability of heavily fertilized soils from Norway. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 32: 1629 – 1641
- Jansson M., Persson G., Broberg O., 1986. Phosphorus in acidified lakes – the example of lake Gardsjon, Sweden. *Hydrobiologia*, 1: 81-96
- Johnson A. H., Frizano J., Vann D. R., 2003. Biogeochemical implications of labile phosphorus in forest soils determined by the Hedley fractionation procedure. *Oecologia*, 135: 487–499
- Jonasson S., Castro J., Michelsen A., 2005. Interactions between plants, litter and microbes in cycling of nitrogen and phosphorus in the arctic. *Soil biology & biochemistry*, 38: 526-532
- Jungk A 1996 Dynamics of nutrient movement at the soil-root interface. *In* Plant roots. The hidden half., 2nd edn. Eds. Y Waisel, A Eshel and U Kafkafi. pp. 529-556. Marcel Dekker, New York, USA.
- Kalčík J., Macháček V., 1995. Metody studia fosforu a dalších elementů v půdě. Sborník příspěvků ze semináře 24. - 25.1. 1995. Ústav půdní biologie AV ČR
- Kaňa J., Kopáček J., 2005. Impact of soil sorption characteristics and bedrock composition on phosphorus concentration in two Bohemian forest lakes. *Water, Air, and Soil Pollution*, 173: 243–259
- Kjonaas O. J., 1999 a. Factors affecting stability and efficiency of ion exchange resins in studies of soil nitrogen transformation. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* 30 (17&18): 2377 – 2397

- Kögel-Knabner I., 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil biology and biochemistry*, 34:139–162
- Kolberg R. L., Rouppet B., Westfall D. G., Peterson G. A., 1997. Evaluation of an in situ net soil mineralization method in dryland agroecosystems. *Soil Science of America Journal* 64: 504 – 508
- Kopáček J. and Hejzlar J., 1991. Semimikrostanovení rozpuštěného reaktivního a veškerého fosforu ve vodách. *Sborník Hydrochémia* 91, ČSVTS, Bratislava, 72 - 98
- Kopáček J. and Hejzlar J., 1998. Water chemistry of surface tributaries to the acidified mountain lakes in the Bohemian Forest. *Silva Gabreta* 2: 175 – 197
- Kopáček, J., Hejzlar, J., Kaňa, J. and Porcal, P.: 2001a, Element budgets in three Bohemian Forest lakes and their watersheds in the 2000 hydrological year: Čertovo Lake, *Silva Gabreta*. 6, 35–52
- Kopáček, J., Hejzlar, J., Kaňa, J. and Porcal, P.: 2001b, Element budgets in three Bohemian Forest lakes and their watersheds in the 2000 hydrological year: Plešné Lake, *Silva Gabreta*. 6, 73–86.
- Kopáček, J., Borovec, J., Hejzlar, J. and Porcal, P.: 2001c, Parallel spectrophotometric determinations of iron, aluminum, and phosphorus in soil and sediment extracts, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 32, 1431–1443
- Kopáček J., Turek J., Hejzlar J., Kaňa J., Porcal J., 2006. Element fluxes in watershed-lake ecosystems recovering from acidification: Plešné Lake, the Bohemian forest, 2001-2005. *Biologia*, Bratislava, 20: 427 - 440
- Kopáček J., Kaňa J., Šantrůčková H., Porcal P., Hejzlar J., Pícek T., Veselý J., 2002 a. Physical, chemical, and biochemical characteristics of soils in watersheds of the Bohemian Forest lakes: I. Plešné Lake. *Silva Gabreta* 8: 43 - 62.
- Kopáček J., Kaňa J., Šantrůčková H., Porcal P., Hejzlar J., Pícek T., Šimek M., Veselý J., 2002 b. Physical, chemical, and biochemical characteristics of soils in watersheds of the Bohemian Forest lakes: II. Čertovo and Černé Lakes. *Silva Gabreta* 8: 63 - 93
- Kopáček J., Veselý J., 2005. Sulfur and nitrogen emission in the Czech Republic and Slovakia from 1850 till 2000. *Atmospheric environment*, 39: 2179 - 2188
- Kopáček J., Vrba J., 2006. Integrated ecological research of catchment-lake ecosystems in the Bohemian Forest (Central Europe): A preface. *Biologia*, Bratislava, 61: 363—370
- Koukol O., Novák F., Hrabal R., Vosátka M., 2006. Saprotrophic fungi transform organic phosphorus from spruce needle litter. *Soil biology and biochemistry*, 38: 3372 - 3379
- Langlois J. L., Johnson D. W., Mehuys G. R., 2003. Adsorption and recovery of dissolved organic phosphorus and nitrogen by mixed-bed ion exchange resin. *Soil Science Society of America Journal*, 67:889-894
- Magid J., Tiessen H., Condon L. M. 1996. Dynamics of organic phosphorus in soils under natural and agricultural systems. In: Piccolo A, (Eds.) *Humic substances in terrestrial ecosystems*. Amsterdam: Elsevier. p 429–66.
- Majer V., Cosby B. J., Kopáček J., Veselý J., 2003. Modelling reversibility of Central European mountain lakes from acidification: Part I - The Bohemian Forest. *Hydrology and Earth System Science*, 7: 494 – 509
- Marhol M., 1982. Ion exchangers in analytical chemistry. Their properties and use in inorganic chemistry. Academia, Praha
- Martin H. W., Sparks D. L., 1983. Kinetics of nonexchangeable potassium release from two coastal plain soils. *Soil science society of America journal*, 47: 883-887
- Mason S., Hamon R., Zhang H., Anderson J., 2007. Investigating chemical constraints to the measurement of phosphorus in soils using diffusive gradients in thin films (DGT) and resin methods. *Talanta*, 74: 779 - 787

- McKean S. J., Warren G. P., 1996. Determination of phosphate desorption characteristics in soils using successive resin extractions. *Communications in soil science and plant analysis*, 27: 2397-2417
- Mehlich, A. 1984. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of the Mehlich 2 extractant. *Commun. Soil Science and plant analysis*, 15:1409-1416.
- Murphy, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 27: 31-36.
- Newman E. I., 1995. Phosphorus inputs to terrestrial ecosystems. *Journal of ecology*, 83: 713 – 726
- Novák F., Kalousková N., Kalčík J., 1995. Obsah fosforu v huminových kyselinách sukcesní řady na kambizemi. In: Kalčík J., Macháček V., (Eds). *České budějovice, Sborník příspěvků ze semináře*
- Olander L. P., Vitousek M. P., 2000. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochemistry*, 49: 175 – 190
- Olsen, S.R., Cole C.V., Watanabe F.S., Dean L.A., 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *USDA Circular 939*. U.S. Government Printing Office, Washington D.C.
- Paul E. A., Clark F. E., 1996. *Soil Microbiology and Biochemistry*, Second Edition. San Diego: Academic Press, pp. 340
- Pierzynski G. M., 2000. *Methods of Phosphorus Analysis for Soils, Sediments, Residuals, and Waters*. Southern Cooperative Series Bulletin No. # 396
- Pitter P., 1999. *Hydrochemie*, V3CHT, Praha, 568 s
- Porder S., Vitousek P. M., Chadwick O. A., Chamberlain C. P., Hilley G. E., 2007. Uplift, Erosion, and Phosphorus Limitation in Terrestrial Ecosystems. *Ecosystems*, 10: 158–170
- Qian P. and Schoenau J. J., 2001. Practical applications of ion exchange resins in agricultural and environmental soil research. *Canadian Journal of Soil Science*, 82: 9 – 21
- Qian P., Schoenau J.J., Huang, W.Z., 1992. Use of ion exchange membranes in routine soil testing. *Communications in soil science and plant analysis*, 23: 1791-1804
- Richards, B. N., 1987. *The microbiology of terrestrial ecosystems*. Langmann scientific and technical, New York. 399 pp
- Roboredo M., Coutinho J., 2006. Chemical characterization of inorganic phosphorus desorbed by ion exchange membranes in short- and long-term extraction periods. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 37: 1611 - 1626
- Rubaek, G.H., E. Sibbesen. 1993. Resin extraction of labile, soil organic phosphorus. *Journal of soil science*, 44:467–478.
- Salomon M., Smith J. B., 1957. A comparison of methods for determining extractable soil potassium in fertilizer test plots. *Soil science society of America proc.*, 21:222-225
- Šámalová K., 2006, Retence fosforu a dusíku v nádržích a jezerech. *Bakalářská diplomová práce*. Biologická fakulta JCU, České Budějovice
- Šantrůčková H., Vrba J., Píček T., Kopáček J., 2004. Soil biochemical activity and phosphorus transformations and losses from acidified forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 36: 1569 - 1576
- Šantrůčková H., Křišťůvková M., Vaněk D., 2006. Decomposition rate and nutrient release from plant litter of Norway spruce forest in the Bohemian Forest. *Biologia*, Bratislava, 61: 499—508

- Siegel M., Aragon A., Zhao H., Aragon M., Everret R., Nocon M., Dwyer B., 2006. Determinants of the performance of arsenic adsorbent media: A comparison of field and laboratory studies. Presentation at spring ACS Meeting, Atlanta, GA, March 2006
- Sims, J.T., Edwards A.C., Schoumans O.F., Simard R.R., 2000. Integrating soil phosphorus testing into environmentally based agricultural management practices. *J. Environ. Qual.* In Press.
- Schaff B. E., Skogley O. E., 1982. Diffusion of potassium, calcium and magnesium in Bozeman silt loam as influenced by temperature and moisture. *Soil science society of America journal*, 46: 521-524
- Schnabel R.R., 1983. Measuring nitrogen leaching with ion exchange resin: A laboratory assessment. *Soil science society of America journal*, 47:1041–1042
- Schoneau J. J., Huang W. Z., 1991. Anion-exchange membrane, water, and sodium bicarbonate extractions as soil tests for phosphorus. *Communications in soil science and plant analysis*, 22: 465-492
- Skopcová K., Šantrůčková H., 2006. The effect of temperature on nitrogen transformations in mountain forest soils of Plešné, Černé, and Čertovo Lake watersheds. *Silva Gabreta* 12, 3–14.
- Skopcová K., 2005, Přeměny dusíku v lesních půdách v povodí šumavských jezer. *Magisterská diplomová práce. Biologická fakulta JCU, České Budějovice*
- Skogley E. O., Georgitis S. J., Yang J. E., Schaff B. E., 1990. The phytoavailability soil test – PST. *Communication and soil science of plant analysis*, 21: 1229-1243
- Skogley E. O. and Dobermann A., 1996. Synthetic Ion-Exchange Resins: Soil and Environmental Studies. *Journal of Environmental Quality*, 25: 13 – 24
- Skogley E. O., Dobermann A., Yang J. E., Scha B. E., Adviento M. A. A., Pampolino M. F., 1997. Metodologies for resin capsule: capsule storage and ion recovery. *Science soils*, 2: article 3
- Smržová V., 1999. Bilance fosforu a dusíku v Plešném a Čertově jezeře. *Magisterská diplomová práce. Biologická fakulta JCU, České Budějovice*
- Spiers G. A., McGill W. B., 1979. Effects of fosforus addition and energy suply on acid phosphatase production and activity in soils. *Soil biology and biochemistry*, 11: 3-8
- Stewenson F. J., Cole M. A., 1999. *Cycles of Soils: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients*, John Wiley and sons. Urbana, Illinois: pp. 448
- Stewart JWB, Tiessen H. 1987. Dynamics of soil organic phosphorus. *Biogeochemistry*, 4:41–60.
- Subler S., Blair J. M., Edwards A. C., 1995. Using anion-exchange membranes to measure soil nitrate availability and net nitrification. *Soil Biology & Biochemistry* 27: 911 - 917
- Susfalk R. B., Johnson D. W., 2002. Ion exchange resin based soil solution lysimeters and snowmelt solution collectors. *Communications in soil science and plant analysis*, 33: 1261 – 1275
- Švampera V., 1939. Jezera na české straně Šumavy. *Sborník české společnosti zeměpisné* 45: 15 - 23
- Svoboda M., Matějka K., Kopáček J., 2006. Biomass and elements pools of understory vegetation in the catchments of Čertovo Lake and Plešné Lake in the Bohemian Forest. *Biologia, Bratislava*, 61: 509 - 521
- Sylvester P., Westerhoff P., Möller T., Badruzzaman M., Boyd O., 2007. A hybrid sorbent utilizing nanoparticles of hydrous iron oxide for arsenik removal from dribling water. *Environmental Engineering science*, 24: 104 – 112
- Sylvia D. M., Fuhrmann J. J., Hartel P. G., Zuberer D. A., 2004. *Principles and Applications of Soil Microbiology (2nd Edition)*. Prentice Hall, Hardcover, 672 pp

- Tan K. H., 1993. Principles of Soil Chemistry, 2nd Ed., Marcel Dekker, 560 pp.
- Tate K. R., 1984. Biological transformation of P in soil. *Plant soil*, 76: 245-256
- Trettin C. C., Johnson D. W., Todd D. E., Jr., 1999. Forest Nutrient and Carbon Pools at Walker Branch Watershed: Changes during a 21-Year Period. *Soil science society of America journal*, 63:1436–1448
- Turner B. L., Cade-Menun B. J., Condrón L. M., Newman S., 2005. Extraction of soil organic phosphorus. *Talanta*, 66: 294–306
- Turner B. L., Cade-Menun B. J., Westermann D. T., 2003. Organic phosphorus composition and potential bioavailability in semi-arid arable soils of the western United States. *Soil science society of America journal*, 67:1168–1179
- Uren N. C., Reisenauer H. M., 1988 The role of root exudates in nutrient acquisition. *Adv. Plant Nutr.* 3, 79–114.
- Uusitalo R., Ekholm P., 2003. Phosphorus in Runoff Assessed by Anion Exchange Resin Extraction and an Algal Assay. *Journal of environmental quality*, 32:633–641
- Veselý J., 1994. Investigation of the nature of the Šumava lakes: a review. *Časopis Národního Muzea, Řada přírodovědná* 163 (1 - 4): 103 - 120
- Vrba J., Fott J., Kohout L., Kopáček J., 2004. Současné zotavování acidifikovaných jezer na Šumavě. in: Dvořák P., Šustr P. (Eds.) *Aktuality šumavského výzkumu II. – sborník z konference. Správa NP a CHKO Šumava, Vimperk*, 99 – 103
- Wild, J., Něhauselová, Z., Sofron, J. 2004. Changes of plant species composition in the Sumava spruce forests, SW Bohemia, since the 1970s. *For. Ecol. Manag.* 187: 117–132.
- Yanai R.D., 1992. Phosphorus budget of a 70-year old northern hardwood forest. *Biogeochemistry*, 17:1–22.
- Yang J. E., Skogley E. O., Schaff B. E., Ferguson A. H., 1991. The phytoavailability soil test: Development and verification of theory. *Soil science society of America journal*, 55: 1358-1365
- Yang J. E., Skogley E. O., Schaff B. E., 1991b. Nutrient flux to mix-bed ion-exchange resin: Temperature effects. *Soil science society of America journal*, 55: 762-767
- Yuan G., Lavkulich L. M., 1994. Phosphate sorption in relation to extractable iron and aluminium in spodosols. *Soil science society of America journal*, 58: 343 - 346