

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

## Přírodovědecká fakulta



### Magisterská diplomová práce

VLIV ŽIVINOVÉ ZÁTĚŽE NA RHIZOSFÉRNÍ EFEKT V MOKŘADNÍCH PŮDÁCH



Vypracovala: **Jitka Burianová**

Vedoucí práce: **Mgr. Eva Kaštovská, Ph.D.**

**České Budějovice 2008**

Burianová J.(2008): Vliv živinové zátěže na rhizosférní efekt v mokřadních půdách (The influence of increased nutrient input (eutrofication) on rhizospheric effect in wet meadows' soils, Master thesis, in Czech) – 49 pp., Faculty of Science, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

**Annotation:**

This master thesis deals with increased nutrient input in two wet meadow ecosystems. The study sites were Zábłatské louky with organic soil and Hamr with mineral soil are both located in nature protected area Třeboňsko. This study focuses on effect of eutrophication on direct counts of bacteria, as well as  $N_{tot}$  and  $C_{tot}$  concentrations in the rhizosphere and bulk soil. Changes of all measured parameters were observed during the growing season 2006 - 2007 in both sites. Fluctuation of  $N-NH_4$  and  $N-NO_3$  concentrations occurred as well.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR 526/06/0276.

Prohlašuji, že jsem tuto magisterskou diplomovou práci vypracovala samostatně, pouze za vedení Mgr. Evy Kaštovské, Ph.D. a s použitím citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním této magisterské diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG, provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 6.5. 2008

.....

# OBSAH

1. ÚVOD A LITERÁRNÍ REŠERŠE.....	1
1.1 Úvod.....	1
1.2 Mokřady.....	2
1.2.1 Význam a ohrožení mokřadů.....	3
1.2.2 Základní procesy probíhající v mokřadech.....	3
1.3 Mokřadní půda.....	4
1.3.1 Organické a minerální půdy.....	4
1.4 Dusík v mokřadech.....	5
1.4.1 Eutrofizace a cyklus N v půdě.....	5
1.4.2 Koloběh N v mokřadech.....	6
1.4.3 Přeměny N v půdě.....	7
1.4.4 Příjem N rostlinou a jeho asimilace.....	8
1.4.5 Rozložení N v mokřadních systémech.....	9
1.5 Rhizosféra.....	10
1.5.1 Definice rhizosféry.....	10
1.5.2 Rhizodepozice.....	11
1.5.3 Rhizosférní efekt.....	12
1.5.4 Způsoby oddělení rhizosféry a volné půdy.....	13
1.6 Cíle práce a hypotézy.....	15
2. METODIKA.....	16
2.1 Sledované lokality.....	16
2.2 Uspořádání experimentu a aplikace hnojiva v terénu.....	18
2.3 Odběr a úprava vzorků.....	18
2.4 Stanovení přímého počtu bakterií.....	19
2.5 Stanovení chemických charakteristik ve vodném extraktu.....	20
2.5.1 Stanovení koncentrace vodorozpustného C a N.....	20
2.5.2 Stanovení koncentrace nitrátových a amonných iontů.....	20
2.6 Statistické zpracování dat.....	20
3. VÝSLEDKY.....	22
3.1 Kořeny a množství rhizosférní půdy.....	22
3.2 Počty bakterií.....	24
3.3 Obsah celkového uhlíku ( $C_{tot}$ ) ve vodném extraktu.....	27
3.4 Obsah celkového dusíku ( $N_{tot}$ ) ve vodném extraktu.....	28
3.5 Zastoupení jednotlivých forem dusíku v $N_{tot}$ .....	29
4. DISKUSE.....	31
4.1 Rhizosférní půda a kořeny, změny během roku.....	31
4.2 Počty bakterií.....	33
4.3 Vodorozpustný C a N ( $C_{tot}$ , $N_{tot}$ ).....	35
4.4 Formy dusíku zastoupené v $N_{tot}$ .....	36
5. ZÁVĚR.....	38
6. POUŽITÁ LITERATURA.....	40

# 1 ÚVOD A LITERÁRNÍ REŠERŠE

## 1.1 Úvod

Výraz mokřad je relativně mladý a označuje krajinné útvary, které byly dříve nazývány mnoha různými názvy. Mokřady se vyskytují ve všech klimatických pásmech, mají různé půdy a vyskytuje se na nich různá vegetace. Spojujícím rysem většiny mokřadů je půda saturovaná vodou, což určuje jak povahu půdy, tak i typy organismů, které mokřady osidlují (VYMAZAL 1995).

V České republice zastupují mokřady zejména nivní mokřady, lužní lesy, rybníky a jezera se svými litorály, rašeliniště a slatiniště, sladkovodní bažiny a také periodicky zaplavované mokré louky. V krajině plní tyto útvary nezastupitelné funkce, podílejí se na zlepšování kvality vody, slouží jako retenční prostory v době povodní a podílejí se také na stabilizaci globálních cyklů uhlíku, dusíku a síry (MITSCH a GOSSELINK 2000).

Tato předkládaná práce se zabývá mokřými loukami, tzn. mokřady typu „wet meadows“ a je součástí grantového projektu (GA ČR 526/06/0276), který sleduje vliv eutrofizace mokřých luk na interakci půda – rostlina s důrazem na transformace uhlíku a dusíku. Vybrané louky se nacházejí na minerální a organické půdě v CHKO Třeboňsko. O problematice mokřadů toho již bylo napsáno mnoho, stále ale známe velmi málo o tom, jakým způsobem zvýšený vstup živin ovlivňuje půdní procesy v různých půdních typech mokřadů. Tato předkládaná práce je součástí projektu, jehož cílem je stanovit vliv eutrofizace na funkční charakteristiky ekosystému mokřých luk. Projekt se soustředí především na vliv dusíku, který bývá většinou limitující živinou a jeho vstup do ekosystémů je hlavním faktorem vedoucím k eutrofizaci prostředí (VENTERINK et al. 2002).

## 1.2 Mokřady

Mokřady můžeme rozlišit na mořské a pobřežní, které mohou zahrnovat mořské mělčiny, ústí řek, přílivové bažiny, pobřežní laguny, mangrovové lesy. Dále rozlišujeme mokřady vnitrozemské, kam lze zařadit například delty řek, nivy, jezera, sladkovodní bažiny a rákosiny, slatiniště či rašeliniště i kulturní krajinu, jako jsou rybníční soustavy, mokré louky, umělé nádrže, strouhy či umělé mokřady pro čištění odpadních vod (podle HUDEC et al., 1993).

Mokřady se vyskytují téměř všude, nalezneme je na všech kontinentech kromě Antarktidy a ve všech klimatických pásmech od tropů až po tundru. Přibližně 6% zemského povrchu lze klasifikovat jako mokřad. Z historického hlediska to byly právě mokřady v období karbonu, které vytvořily většinu fosilních paliv, na nichž jsme v současné době závislí. Z krátkodobého hlediska jsou mokřady významné jako zdroj a místo ukládání (tzv. sink) a přeměny mnohých chemických, biologických a genetických materiálů (MITSCH a GOSSELINK 1986). Význam mokřadů lze rozdělit do několika úrovní, význam pro lidskou populaci, význam ekosystémový a globální. Pro lidstvo zajišťují mokřady celou řadu služeb a poskytují mnoho produktů, na nichž mnohá etnika závisí např. rybolovem, pěstováním rýže a také jako zdrojem pitné vody (MITSCH a GOSSELINK 1993). Mokřady hrají důležitou roli v globálních cyklech dusíku, uhlíku a síry. Na ekosystémové úrovni mokřady zmírňují vlivy povodní, redukují bouřky, zlepšují kvalitu vody a mají estetickou funkci (MITSCH a GOSSELINK 1993).

Mokřady jsou přechodné přírodní útvary. V prostorovém kontextu se nacházejí mezi suchou zemí a volnou vodou, např. na pobřeží nebo kolem jezer a řek. V ekologickém kontextu tvoří mokřady přechod mezi suchozemským (terestrickým) a vodním (akvatickým) prostředím. V časovém kontextu se mokřady postupně stávají buď suchou zemí v důsledku snížení vodní hladiny, sedimentace a rostlinné sukcese nebo se ponořují v důsledku zvýšení vodní hladiny spojené s relativním zvyšováním hladiny moře nebo klimatickými změnami (ORME 1990).

Většina definic mokřadu obsahuje tyto tři komponenty (MITSCH a GOSELINK 1986):

1. Mokřady jsou rozlišeny přítomností vody (která ale nemusí být trvalá).
2. Mokřady mají specifické půdy, které se liší od suchozemských systémů.
3. Mokřady podporují růst vegetace adaptované na půdní saturaci vodou, tzv. hydrofyta a naopak jsou charakterizovány nepřítomností rostlin netolerantních k zatopení.

### **1.2.1 Význam a ohrožení mokřadů**

Mokřadní ekosystémy ovlivňují tři hlavní faktory: hladina vody, stupeň zatížení živinami a přirozené disturbance. Lidské aktivity mohou pozměnit jakýkoli z těchto faktorů a tím přímo i nepřímo ovlivňovat a poškozovat mokřady. K nejčastějšímu poškozování mokřadů patří a patřilo odvodňování, zasypávání, bagrování, změna vodního režimu, zastavení, těžba a dobývání nerostů, znečištění vody tekoucí do mokřadů. Mezi další významné činitele poškozující mokřady lze uvést zvýšený přísun živin ze zemědělských ploch a atmosférických depozic (DUGAN 1994). Mokřady jsou často narušeny činností člověka, v poslední době se stala jedním z nejzávažnějších problémů eutrofizace, neboli obohacování systémů sloučeninami dusíku a fosforu. Eutrofizace mokřadních ekosystémů je závažný problém, protože dochází k poškozování mokřadní flory a nakonec celého ekosystému (CRAFT a RICHARDSON 1998). Tento proces mění strukturu i funkci ekosystému, mění druhovou skladbu rostlinných společenstev (AERTS et al. 1990, PRACH 1996, TAMM 1991), společenstev živočichů včetně půdních mikroorganismů (ARNEBRANT et al. 1990, GALATOWITSCH et al. 2000). Také ovlivňuje mikrobiální procesy v půdě (např. PICEK et al. 2000) a zároveň vede ke zvyšování rostlinné biomasy (KRUK 2003) a snížení druhové biodiverzity (PRACH 1996, KEDDY 2000).

### **1.2.2 Základní procesy probíhající v mokřadech**

V mokřadech se probíhá celá řada procesů. Lze je rozdělit do tří skupin:

Fyzikální - sedimentace, filtrace, adsorpce, těkání

Chemické - srážení, adsorpce, rozklad

Biologické - mikrobiální a rostlinný metabolismus (biosyntéza, katabolický rozklad), rostlinná absorpce, přirozený úhyn (KADLEC a KNIGHT 1996).

Díky větší či menší saturaci půdy vodou panují v mokřadních půdách střídavě aerobní a anaerobní podmínky. Anaerobní podmínky většinou převažují a způsobují tak redukční charakter prostředí (FAULKNER a RICHARDSON 1989). Aerobní metabolismus se v době zaplavení uplatňuje jen v povrchové oxické vrstvě, protože difúze kyslíku je ve vodě velmi pomalá. V hlubších vrstvách pak probíhají anoxické procesy. Mokřady fungují v krajině jako hlavní redukční ekosystém a mají tak značný potenciál v přeměně živin (MITCH a GOSSELINK 2000).

### 1.3 Mokřadní půda

Mokřadní půdy jsou médiem, ve kterém probíhá většina z chemických transformací (přeměn) a jsou také primárním zásobníkem dostupných živin pro většinu mokřadních rostlin. Tyto půdy se většinou označují jako hydrické či hydrosoly. Byly definovány U.S. Department of Agriculture's Natural Resources Conservation Service (NRCS 1998) jako půdy, které jsou nasáklé nebo zaplavené vodou po dostatečně dlouhou dobu během vegetační sezony, aby se tak ve svrchní vrstvě mohly vytvořit anaerobní podmínky. Mokřadní půdy se dělí na dva typy, organické a minerální.

#### 1.3.1 Organické a minerální půdy

Za **organické** se považují takové půdy, jejichž obsah organické hmoty v sušině je v rozsahu 20 – 35 % ( tzn. 12-20% celkového uhlíku), půdy s menším obsahem organické hmoty jsou pak označovány jako **minerální** (MITSCH a GOSSELINK 1993).

Organické půdy vznikají obvykle na stanovištích zaplavovaných nebo zaplavených, kde se odumřelé části rostlin dostávají do prostředí málo aerovaného nebo zcela anoxického a kde tedy dochází jen k pomalé oxidaci organické hmoty. Od minerálních půd se organické odlišují mimo obsahu organické hmoty také vysokým obsahem organického dusíku, tmavou barvou, nízkou objemovou hmotností, schopností zadržovat velké množství vody a celkově poněkud jinými fyzikálními, chemickými a biologickými vlastnostmi (ŠIMEK 2003).

Z globálního hlediska jsou organické půdy důležitým úložištěm uhlíku (asi 20% celosvětového množství). Poměr C/N v organické půdě je asi 20:1 (BRADY a WEIL 2002).

Minerální půdy mají oproti organickým půdám vysokou objemovou hmotnost a dostupnost živin, nízkou pórovitost a nízkou schopnost poutat vodu (MITSCH a GOSSELINK 1993). Poměr C/N v organickém podílu je asi 12:1 (BRADY a WEIL 2002).

Organické a minerální půdy se od sebe odlišují také způsobem vzniku a rozšířením, kdy většina **minerálních půd** se skládá z aluviálních materiálů a jen malá část je jich tvořena na základě materiálu, který pochází z místa výskytu tohoto druhu půdy. Tento druh půd je velmi variabilní a zahrnuje půdy od polotekutých až po masivní struktury. Velmi variabilní je také zrnitost půdy, od jílu po písky. Minerální mokřadní půdy jsou obecně rozšířeny v oblastech s vydatnými dešti a ve sníženinách, jako jsou např. nivy, delty nebo mořské pobřeží. (BRINKMAN a VAN DIEPEN 1995).

## 1.4 Dusík v mokřadech

### 1.4.1 Eutrofizace a cyklus N v půdě

Člověk zasahuje do krajiny, především díky odstranění vegetace a odvodňováním, významně zasahuje nejen do hydrologického cyklu, ale skrze něj i do řady dalších cyklů a dějů jako jsou zvýšená mineralizace, vyplavování, eroze a odnos živin. Výsledkem této činnosti je otevřený koloběh s vysokým únikem látek. Vyplavování bazických iontů vede k okyselení půdy i bez přispění kyselých dešťů. To vede na jedné straně k snižování úrodnosti a na druhé straně k eutrofizaci (RAJCHARD et al. 2002).

VENTERINK et. al. (2002) uvádějí, že limitující živinou v prostředí je dusík a jeho vstup do ekosystému je hlavní faktor vedoucí k eutrofizaci. Množství těchto živin je ovlivněno řadou přirozených procesů (přirozená eutrofizace) i činností člověka (antropogenní eutrofizace). Jako hlavní původci eutrofizace se označují kyselý déšť, vypouštění odpadních vod a zemědělská činnost (PITTER 1999).

Eutrofizace je pojem nejčastěji spojovaný s vodním prostředím, především stojatými vodami. Z tohoto důvodu jsou i definice vztaženy k hydrobiologii. Pojem eutrofizace se často rozumí změna živného stavu vody, který vede ke zvýšenému růstu řas, sinic a vodních rostlin. Tyto rostliny posléze odumírají a jsou rozkládány mikroorganismy. Tento proces je posléze ukončen vyčerpáním kyslíku a úhynem organismů (ŠIMEK 2003). Eutrofizaci lze pozorovat i v terestrických ekosystémech, a to především v mokřadech blízce spojených s vodním



prostředím. Hlavní příčinou eutrofizace mokřých luk je splavování hnojiv ze zemědělsky obdělávané půdy a samotné hnojení těchto luk za účelem navýšení rostlinné produkce. (HUDEC et al. 1993)

Obecně lze uvést, že hnojení organickým i anorganickým dusíkem zvyšuje koncentraci N v půdě (MAGILL et al. 2004). Hnojení N zvyšuje průkazně rostlinou biomasu a podíl nadzemní a podzemní biomasy a dochází ke zvýšení N v sušině (HENRY et al. 2005). Také se zvyšuje exudace (rhizodepozice) a dochází k vyšší inkorporaci C do nadzemních částí (KUZYAKOV et al. 2002, PATERSON et al. 2006) a snižování C/N rostlinného opadu (CORSTANJE et al. 2007). Tyto všechny faktory ovlivňují ve výsledku procesy a přeměny dusíku v půdě, dochází k celkovému zrychlení dekompozice, snižuje se imobilizace N z opadu s vyšší koncentrací dusíku a v důsledku toho se zvyšuje čistá mineralizace N (DIJKSTRA 2004). V ekosystémech s přebytkem N je dominantní proces nitrifikace. Protože nitrátová forma je náchylnější k vyplavení nebo přeměně na plynné formy N (SUBBARAO et al. 2006), ve výsledku tak dochází ke zvýšeným ztrátám N z ekosystému (DE VRIES et al. 2006).

Lze tedy říci, že s přidávkou N zvyšuje rychlost mineralizace N a nitrifikace (LOVETT a RUETH 1999).

#### **1.4.2 Koloběh N v mokřadech (mokřadní půdě)**

Dusík se v mokřadech vyskytuje v několika odlišných chemických formách a je většinou nejvíce limitující živinou v zaplavených půdách. Díky přítomnosti anoxických podmínek v mokřadních půdách je mikrobiální denitrifikace nitrátů na plynné formy dusíku a jejich následné uvolňování do atmosféry jednou z nejvýznamnějších cest, kudy se N ztrácí z litosféry a hydrosféry do atmosféry. Nitráty slouží jako jeden z prvních terminálních akceptorů elektronu v mokřadních půdách poté, co se vyčerpá kyslík, což z nich činí důležitou sloučeninu při oxidaci organické hmoty (MITSCH a GOSELINK 2000).

Organický dusík je v půdní organické hmotě (SOM) obsažen v mnoha sloučeninách, z nichž asi jen polovina byla identifikována. Mezi hlavní zdroje organického dusíku v půdě patří aminokyseliny, mikrobiální buněčné polymery a aminocukry, nukleové kyseliny, vitamíny, antibiotika a různé meziprodukty metabolismu. Anorganické formy dusíku v půdě jsou naproti tomu charakterizovány velmi dobře. Jsou to velmi důležité substráty, meziprodukty metabolismu, elektronové akceptory a produkty přeměny dusíku. Mezi hlavní

anorganické formy dusíku se řadí plynné formy ( $N_2$ ,  $N_2O$ ,  $NO$ ,  $NH_3$ ), rozpustné formy ( $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ) a amonný iont ( $NH_4^+$ ), který může být rozpuštěný nebo fixován v jílových strukturách (SYLVIA et al. 1998).

### 1.4.3 Přeměny N v půdě

Přeměny dusíku v půdě zahrnují několik procesů. Mineralizace je proces, při němž je organický dusík biologicky transformován na amoniak. Tento proces je několikastupňový a je uskutečňován řadou biochemických pochodů, při kterých se uvolňuje energie. V některých případech je energie využívána mikroorganismy pro jejich růst a vzniklý amoniak je přímo začleňován do mikrobiální biomasy. Amonifikace může probíhat za aerobních, anoxických i anaerobních podmínek (VYMAZAL 1995). V aerobním prostředí probíhá mineralizace velmi rychle, její rychlost se výrazně snižuje v anoxickém a anaerobním prostředí. Protože aerobní vrstva půdy v zaplavených a vodou saturovaných půdách je velmi tenká (většinou menší než 1cm), tvoří aerobní mineralizace jen malou část celkové mineralizace (VYMAZAL 1995).

Vzniklý amonný dusík mohou absorbovat kořeny rostlin, příp. při pH větším než osm je uvolňován volatilizací do atmosféry jako  $NH_3$  (DYKYJOVÁ et al. 1989). Amonný iont může také být imobilizován vazbou na negativně nabitě částice, např. adsorpcí na částice jílu, chemicky sorbován huminovými látkami nebo fixován v jílových maticích (VYMAZAL 1995). Amoniak a amonné soli jsou dále využívány mikroorganismy pro syntézu aminokyselin a k syntéze bílkovin bakteriálního těla. Ty nejdříve oxidují amoniak a amonné soli na dusitany a dále na dusičnany. Tento proces se označuje jako nitrifikace a je velmi citlivý na pH půdy (DYKYJOVÁ et al. 1989).

Nitrifikace je aerobní děj a je tedy závislý na aeraci půdy, na populaci mikroorganismů schopných nitrifikace a dostupnosti substrátu, tj. amoniaku a amonných solí (SYLVIA et al. 1998). Je definována jako biologická oxidace amoniaku na dusičnany.

Nitrifikace může probíhat v záplavové vodě, v povrchové aerobní vrstvě půdy a v blízkosti kořenů (REDDY a PATRICK 1984, REDDY a GRAETZ 1988). Rychlost nitrifikace v mokřadních půdách je závislá na přísunu  $NH_4^+$  do aerobních zón, pH, alkalitě vody, teplotě, přítomnosti nitrifikačních bakterií a velikosti aerobních zón (REDDY a PATRICK 1984). Vzniklé dusičnany jsou ve vodě velmi dobře rozpustné a jsou v půdách hodně pohyblivé. Pokud nejsou rychle využity kořeny vyšších rostlin, vyplaví se z ekosystému do povrchových i podzemních vod. Nitrifikace probíhá stupňovitě skupinami na sebe navazujících mikroorganismů. Koncentrace nitrátů se také mění během vegetačního

období, jejich množství je vyšší v zimě, kdy jsou vyluhovány z půdy a nejsou odčerpány kořeny rostlin (KADLEC a KNIGHT 1996).

Další důležitý proces je denitrifikace, při níž mikroorganismy redukují nitráty na nitrity a dále pak na plynné formy dusíku. Denitrifikace je anaerobní děj, probíhá v půdách málo provzdušněných nebo s vysokým obsahem organické hmoty, která k rozkladu potřebuje velké množství kyslíku (JOHNSTON 1991, DYKYJOVÁ et al. 1989).

#### **1.4.4 Příjem N rostlinou a jeho asimilace**

Asimilace dusíku zahrnuje různé biologické procesy, které přeměňují anorganické formy dusíku na organické sloučeniny, které slouží jako stavební materiál pro buňky a tkáně. Nejčastějšími formy N, které rostliny využívají pro asimilaci, jsou amoniak a dusičnany. Protože amoniak je energeticky více redukována forma než dusičnan, bývá přednostně využíván jako zdroj dusíku. Amoniak je lehce zabudován do aminokyselin, zatímco dusičnany musí být nejprve redukovány na využitelnou formu. Většina rostlin je schopna využívat i dusičnany, ale příjem a jejich následná asimilace jsou méně výhodné (VYMAZAL 1995). Při dekompozici organické hmoty se uvolňují zpět do prostředí organické dusíkaté látky a amoniak.

Kromě příjmu anorganické formy dusíku se v poslední době také jako významný zmiňuje příjem organického dusíku. Ukazuje se, že koncentrace organického dusíku v půdách mohou dokonce převládat nad koncentracemi anorganických forem (SCHMIDT a STEWART 1999). Mnoho studií se zaměřovalo na změření velikosti zásoby dostupného organického dusíku (DON) a srovnávalo je s obsahem anorganických forem N ( $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$ ) (MATSUMOTO et al. 2000, JONES a KIELLAND 2002). V některých půdách může být obsah DON ve srovnání s anorganickými formami N poměrně velký (JONES a KIELLAND 2002). Další studie ale naznačují, že i přes poměrně velký obsah DON mohou rostliny a mikroorganismy využít pouze malou část. Současné výsledky naznačují, že většina DON přítomná v půdním roztoku obsahuje látky s vysokou molekulární hmotností, zatímco rostliny a mikroorganismy jsou schopné přijímat pouze látky s nízkou molekulární hmotností (jako např. aminokyseliny, močovinu, polyaminy, polypeptidy atd.) (DI TOMASO et al. 1992, BUSH 1993, YU et al. 2002). Existují tedy dva zdroje (rezervoáry) DON – jeden zahrnuje volné aminokyseliny a proteiny a tyto látky mohou být velmi rychle zužitkovány mikrobiální komunitou. Druhý

zdroj obsahuje látky s vysokou molekulární hmotností a je bohatý na humusové látky, jejichž obrát je velmi pomalý (JONES et al. 2003).

V oblastech mírného pásma je dusík (a další živiny) přijímán především ve vegetačním období jaro-léto, tedy v období, kdy jak nadzemní, tak podzemní části rostlin rostou. Na konci vegetačního období jsou u trvalých rostlin živiny translokovány do podzemních orgánů. Rychlost translokace zásobních látek se liší podle druhu rostlin a je ovlivňována celou řadou faktorů (Vymazal 1995).

#### 1.4.5 Rozložení dusíku v mokřadních systémech

V přirozených mokřadech je nejvíce dusíku uloženo v sedimentech (většinu tvoří organický N) a v rostlinách (BOWDEN 1989). Množství dusíku v mokřadních sedimentech se pohybuje většinou v rozmezí 100 a 1000 g N m<sup>-2</sup>, v rostlinách bývá běžně uloženo o řád méně dusíku a množství anorganického dusíku ve vodě je ještě o řád nižší (RICHARDSON 1991, KADLEC a KNIGHT 1996). Obsah dusíku v organických sedimentech se běžně pohybuje mezi 1 a 3% sušiny ve svrchní (asi 50 cm) vrstvě (VYMAZAL 1995). JOHNSTON (1991) uvádí rozmezí hodnot mezi 0,02 a 65 mg N g<sup>-1</sup>, přičemž průměr pro organické půdy (17,1 mg N g<sup>-1</sup>) je podstatně vyšší než průměr pro minerální půdy (8,3 mg N g<sup>-1</sup>).

Koncentrace dusíku v biomase mokřadních rostlin kolísá mezi jednotlivými druhy, a také v průběhu roku. Dusík a ostatní živiny jsou rostlinami přijímány během vegetačního období a jejich koncentrace je nejvyšší na začátku vegetačního období a postupně se snižuje. Obsah minerálních látek v biomase rostlin je nejvíce ovlivňován koncentrací živin v prostředí, schopností jednotlivých rostlin přijímat živiny a délkou vegetačního období. Některé rostliny, jako např. puškovec (*Acorus calamus*), mají v mírném pásu velmi krátkou vegetativní fázi nadzemních částí a reprodukční fenofáze končí v již v červenci, po dosažení maximální biomasy začínají nadzemní části odumírat. Naproti tomu některé rostliny, jako např. zblochan (*Glyceria maxima*), začínají růst již velmi brzy na jaře a tvorba růst nových výhonů pokračuje během celého vegetačního období a někdy i v zimním období pokud je zima mírná (DYKYJOVÁ 1973).

## 1.5 Rhizosféra

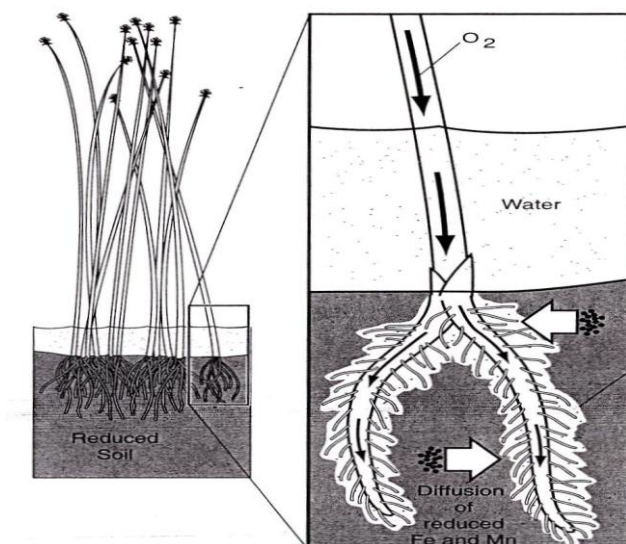
### 1.5.1 Definice rhizosféry

Rhizosféra je oblast půdy obklopující kořeny rostlin, kde dochází k vzájemným interakcím mezi půdními mikroorganismy a kořeny vyšších rostlin (BOLTON et al., 1993). Rhizosféra je přibližně 1mm široká, ale její rozhraní nelze přesně vymezit (Obr. 1.1). Je to zároveň oblast intenzivní biologické a chemické aktivity a je ovlivněna sloučeninami, které jsou uvolňovány kořeny a mikroorganismy, jež tyto sloučeniny využívají. (TATE 1995)

Rhizosféru lze rozdělit na několik částí:

**Ektorhizosféra** je ta oblast půdy, která bezprostředně přiléhá ke kořenům a zahrnuje i mikrobiální populace v ní přítomné. Jedná se o půdu, která zůstává na kořenech i po předchozím jemném otřepání kořenů vyjmutých z půdy (TATE 1995). **Rhizoplán** je tvořen povrchem kořene bez půdy a mikroorganismy, které na něm žijí (TATE 1995, VANČURA 1988). Ve vrstvě biofilmu, který tvoří sekrety chránící povrch kořene a mikroorganismy na něm žijící, se pravděpodobně odehrávají jedny z nejdůležitějších interakcí mezi rostlinou a rhizosférní mikroflórou (PIERCE et al. 1995). Dochází zde k velmi intenzivní vzájemné výměně živin, energie a informací a formují se procesy vzájemného soužití či obranných reakcí. **Endorhizosféra** je tvořena korovým a epidermálním pletivem kořene a je osídlena saprofytickými a symbiotickými půdními mikroorganismy. I přes toto rozdělení by ale dané tři oblasti měly být posuzovány jako jedno prostředí, které není ostře ohraničeno (OLD a NICOLSON 1975).

**Obr. 1.1** Tvorba oxidované rhizosféry v okolí kořenů mokřadní rostliny. Kyslík je v případě zaplavení půdy transportován z nadzemních částí rostlin ke kořenům (Podle VEPRASKASE 1995).



### 1.5.2 Rhizodepozice

Exudáty (rhizodepozice) jsou důležitým zdrojem uhlíku a energie pro rhizosférní mikroorganismy (CHENG et al. 1996, QIAN et al. 1997). Jsou to ve vodě rozpustné sloučeniny, které difundují z rostliny na základě koncentračního gradientu mezi kořenovým epidermálním pletivem a půdním roztokem (BOVEN a ROVIRA 1991). Kořeny rostlin uvolňují do okolní půdy velká množství těchto sloučenin.

Kořenové exudáty jsou složeny z aminokyselin, organických kyselin, sacharidů, vitamínů, proteinů a muciláže (rostlinné lepidlo, které je produkováno Golgiho aparátem). Exudáty jsou vylučovány nejvíce z oblasti prodlužovacího růstu kořene. Dále jsou kořeny do půdy vylučovány sekrety (vysokomolekulární sloučeniny, polysacharidy), které mají ochrannou funkci a jsou aktivně vylučovány po celé délce kořene. Dalším produktem jsou lyzáty a zbytky odumřelých rostlinných buněk, které se uvolňují z kořene při poranění nebo odumření jeho buněk (WHIPPS 1985).

V širším slova smyslu znamená rhizodepozice vstup organického materiálu do půdy. Předpokládá se, že rostliny mohou do půdy přesunout až polovinu C fixovaného fotosyntézou (LAMBERS 1987). Rhizodepozice se na první pohled se může jevit jako ztráta redukovaného C, který nepřispívá ke zvýšení obsahu sušiny. Právě ale rhizodepozice stimuluje biologickou aktivitu v rhizosféře, což má pozitivní zpětnou vazbu (např. zvýšení dostupnosti živin pro rostlinu) (JONES et al. 1996). Stále ale není známá účinnost rhizodepozice a není ani známo, v jakém množství a v jaké kvalitě je organický uhlík do půdy uvolňován (NGUYEN 2003).

Vstup C exudáty do podzemních částí rostlin (kořenů) se liší podle druhu (KUZYAKOV a DOMANSKI 2000) a stáří rostliny (HÜTSCH et al. 2002). Přibližně 20 – 50 % fotosynteticky fixovaného C může být uvolněno do půdy během vegetačního období (KUZYAKOV a DOMANSKI 2000, HÜTSCH et al. 2002, NGUYEN 2003). V množství asimilátů a jejich rozložení se jednotlivé druhy rostlin liší. Například obiloviny mohou přesunout 20 – 30 % asimilovaného C do půdy. Přibližně polovinu z tohoto množství pak lze nalézt v oblasti kořenů, jedna třetina je zužitkována půdní respirací. Zbývající část tohoto C je inkorporována v půdních mikroorganismech a půdní organické hmotě (KUZYAKOV a DOMANSKI 2000).

Organismy přítomné v rhizosféře mají několik funkcí: mineralizují živiny, kdy přeměňují organické formy látek na anorganické (které mohou být přijímány kořeny). Kořeny zásobují půdní mikroorganismy uhlíkem, zatímco mikroorganismy zpřístupňují organický dusík pro rostliny (HARTE a KINZIG 1993, KINZIG a HARTE 1998).

V mokřadních půdách hraje rhizosféra významnou roli tím, že v době zaplavení tvoří oxické prostředí díky kyslíku přiváděnému kořeny rostlin (MITSCH a GOSSELINK 2000).

### 1.5.3 Rhizosférický efekt

Jako rhizosférický efekt se označuje stimulační vliv exudátů (rhizodepozice) na organismy přítomné v rhizosféře (ROVIRA 1956). Vyjadřuje se jako poměr počtu mikroorganismů (příp. i živin) v rhizosféře a ve volné půdě (R/S poměr) a je měřítkem stimulačního rhizosférického efektu (BOLTON et al. 1993).

Počty bakterií, hub a protozoí jsou díky zvýšené dostupnosti uhlíku v okolí kořenů obecně vyšší v rhizosférické než ve volné půdě (KENNEDY 1998). Také některé typy mikrobiální aktivity byly také zjištěny vyšší v rhizosféře než ve volné půdě (HOJBERG a SORENSEN 1993; SORENSEN 1997; NASEBY a LYNCH 1997; YANG a CROWLEY 2000).

Dominantní skupinou mikroorganismů v rhizosféře s nejvyšší hodnotou R/S poměru jsou bakterie (ROUATT et al. 1960). Běžně pozorovatelné jsou populace bakterií o početnosti větší než  $10^9 \text{ g}^{-1}$  rhizosférické půdy (TATE 1995), TESAŘOVÁ (2003) uvádí počty bakterií na v rhizosférické půdě přibližně 7-21 x vyšší než ve volné půdě. Převaha bakterií nad ostatními mikrobiálními skupinami je dána vysokou růstovou rychlostí, diverzitou metabolických procesů a jejich regulací a vysokou odolností vůči antagonistickým reakcím ostatních organismů (MACURA 1973, VANČURA 1988).

V rhizosféře se vyskytují především gram-negativní bakterie, které využívají jako zdroj C preferenčně nový substrát, a to především C uvolněný z kořenů rostlin. Ve volné půdě se převažují grampozitivní bakterie, schopné rozkládat i složitější látky z půdní organické hmoty (KRAMER a GLEIXNER 2008).

#### 1.5.4 Způsoby oddělení rhizosféry a volné půdy

Běžnou metodou oddělení rhizosféry od volné půdy je setřesení půdy přiléhající ke kořenům. Tuto metodu jsem zvolila i pro účely této práce. Je to velmi jednoduchá metoda, při které se kořeny jemně oklepávají, dokud většina půdy, která k nim volně přiléhá (volná půda), neopadne. Oklepávání půdy je možné usnadnit krátkými periodami sušení půdy vzduchem. Výhodou je, že dochází k vysušení půdy bez toho, aby se kořeny stávaly lámavými a volnou půdu kontaminovaly (SMILEY 1974). V případě této práce jsem se snažila pracovat takovým způsobem, aby půda vysychala pouze málo, neboť bych tím mohla ovlivnit některé měřené charakteristiky.

Půda pevněji přiléhající ke kořenům, **rhizosféry půda**, se poté buď setrese odděleně na čistý papír, anebo je možné tuto půdu z kořenů smýt (SMILEY 1974). V tomto případě bude extrakt obsahovat větší množství bakterií a látek smytých z povrchu kořene, než by obsahovala půda pouze oklepaná. Celkově se tento fakt může projevit ve zvýšení rhizosféry efektu.

Tuto metodu jsem ve své práci zvolila proto, že ji lze použít nejen u rostlin pěstovaných v květináči, ale i pro rostliny rostoucí v přirozených podmínkách a bez nutnosti využívat složité technické vybavení (SMILEY 1974). Domnívám se, že výše popsaná metoda je jediná, kterou lze v případě studované luční půdy využít.

Rhizosféru na louce se zapojeným porostem lze popsat tak, že svrchní vrstva půdy (0-30 cm) je prorostlá kořeny, v obecnějším pohledu by tedy bylo možné tuto vrstvu jako rhizosféru označit celou. Protože jsem se ale rozhodla studovat vliv kořenů rostlin na počty bakterií a koncentraci živin v půdě, pokusila jsem se rhizosféru a volnou půdu oddělit standardní metodou.

Jak vyplývá z výše popsaného, bylo by tedy přesnější v tomto případě označit rhizosféru jako užší rhizosféru a volnou půdu spíše jako širší rhizosféru, protože není zcela bez vlivu rostlin.

Hlavní nevýhoda této metody je nízké prostorové rozlišení vzorků. Nelze odlišit, ze které oblasti kořene, ani z jaké vzdálenosti rhizosféry půda pochází. Množství získané rhizosféry a volné půdy závisí také na textuře a struktuře půdy (na tvorbě a stabilitě agregátů)(HENDRIKS ET JUNGK 1981). Tato metoda je proto doporučovaná především pro kvalitativní zhodnocení změn v rhizosféře, a to především pokud se vyskytují velké rozdíly mezi rhizosférou a volnou půdou (ENGELS et al. 2000). Další metody jsou zaměřené spíše na detailní prostorové rozlišení procesů v okolí kořene, nelze je však použít pro terénní



vzorkování. Jednou z možností je sběr půdy v určité definované vzdálenosti od kořenů. PAPAIVIZAS a DAVEY (1961) vytvořili mikrovzorkovač k získání půdy z určité vzdálenosti (3 mm šířka záběru) od povrchu kořene. Sběrač se skládal z několika tenkostěnných ocelových trubiček. K získání vzorků půdy se vzorkovač zasune vertikálně do půdy přiléhající paralelně k primárnímu kořeni. Ještě vyššího prostorového rozlišení lze dosáhnout rozdělením rhizosféry půdy na tenké vrstvy pomocí mikrotomu (ENGELS et al. 2000).

Jiným způsobem získání půdy z určité vzdálenosti od kořenů je nasměrovat kořeny do určitých půdních zón použitím síťky, která zabrání vrůstání kořenů či kořenových vlásků, ale umožňující volnou výměnu exudátů a půdních roztoků.

## 1.6 Cíle práce a hypotézy

Základní předpoklady této práce jsou:

1. Mezi lokalitami Záblatské louky a Hamr budou rozdíly v počtech bakterií a koncentraci živin.
2. Větší počty bakterií a koncentrace vodorozpustného C a N se vyskytují v rhizosférní půdě než ve volné půdě.
3. Počty bakterií, množství vodorozpustného C a N a rhizosférní efekty budou kolísat v sezóně v závislosti na rozvoji vegetace.
4. Eutrofizace zvýší rhizosférní efekt na lokalitách Hamr a Záblatské louky.

### Cíle práce:

1. Stanovit počty bakterií a jejich sezónní kolísání v rhizosféře a volné půdě mokřadních luk.
2. Stanovit obsah dostupných forem C a N a jejich sezónní kolísání v rhizosférní a volné půdě mokřadních luk.
3. Srovnat vliv dusíkaté zátěže na bakteriální společenstva a dostupnost C a N v organických a mokřadních půdách.

## 2 METODIKA

### 2.1 Sledované lokality

Sledované lokality se nacházejí v Třeboňské pánvi a jsou součástí CHKO Třeboňsko. Jedná se o louky, které jsou alespoň část roku podmáčené nebo dokonce pod vodou, proto je možné je zařadit mezi mokřady typu „wet meadows“ (mokrý louky). V této práci byly sledovány lokality **Hamr (H)** a **Záblatské louky (Z)**. Rozmístění lokalit je znázorněno na obr. 2.1. Na obou těchto lokalitách byla vlivem eutrofizace (způsobené především organickým hnojením v minulosti) snížena druhová rozmanitost a zaznamenám zvýšený výskyt ruderalních druhů (ALBRECHT et al. 2003).

První sledovaná lokalita se nachází v přírodní rezervaci Záblatské louky. Toto území je součástí rozsáhlého rašeliniště, které bylo z větší části zatopeno rybníkem Záblatský. Hlavním předmětem ochrany je rozsáhlý komplex vlhkomilné luční a mokřadní vegetace na Třeboňsku (ALBRECHT et al. 2003). V místě, kde jsou založeny trvalé plochy dominuje *Carex acuta*, která tvoří asi 95 % biomasy. Více informací o přírodní rezervaci Záblatské louky lze najít na: [www.trebonsko.ochranaprirody.cz](http://www.trebonsko.ochranaprirody.cz). Lokalita Hamr leží v nivě řeky Nežárky, v blízkosti vesnic Hamr a Val. Na Hamru dominují dva rostlinné druhy - kromě ostřice *Carex acuta* je významně zastoupen také zblochan vodní (*Glyceria maxima*). Na celkové charakteristiky území odkazuje tabulka 2.1.

**Tab. 2.1** Vybrané charakteristiky sledovaných lokalit. Zeměpisné souřadnice byly zaměřeny v systému WGS 84.

Charakteristika	Hamr	Záblatské louky
Nadmořská výška [m n.m.]	415	426
Zeměpisná šířka [severní]	49°09'	49°06'
Zeměpisná délka [východní]	14°46'	14°39'
Objemová hmotnost [g/cm <sup>3</sup> ]	0,52 ± 0,04	0,21 ± 0,02
Obsah celkového C [%]	9,93 ± 1,65	22,41 ± 2,25
Obsah celkového N [%]	0,67 ± 0,1	1,20 ± 0,09
Poměr C:N	14,6	18,66
Půdní druh	prachová hlína	prachová hlína
Obsah jílových částic [%]	12,5	22,5
Kategorizace půd podle trofie*	mezotrofní	mezotrofní
Kategorizace půd podle SOM	minerální	organická
Dominantní druh vegetačního pokryvu	<i>Glyceria maxima</i>	<i>Carex acuta</i>
	<i>Carex acuta</i>	
Management lokality	kosená	kosená

\* Trofie půd byla stanovena na základě vegetačního pokryvu na lokalitách (Ellenbergova čísla).



## 2.2 Uspořádání experimentu a aplikace hnojiva v terénu

Na obou lokalitách byly na ploše přibližně 2000m<sup>2</sup> (0,2 ha) vytyčeny čtyři znáhodněné bloky vzdálené od sebe 10 -15 m. Každý z bloků obsahoval 3 čtvercové plochy o rozměrech 3,5 x 3,5 m, vzdálené od sebe nejméně 2 m. Jeden z čtverců slouží vždy jako nehnojená kontrola, na další dva je dvakrát ročně aplikováno vícesložkové hnojivo NPK 15-15-15 (což odpovídá 15 hmotnostním procentům dusíku ve formě N, 15 hmotnostním procentům fosforu ve formě P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> a 15 hmotnostním procentům draslíku ve formě K<sub>2</sub>O). Hnojivo bylo rozpuštěné ve vodě a aplikováno v dávkách 60 a 300 kg/ha/rok. V roce 2006 bylo hnojeno pouze poloviční dávkou, v roce 2007 byla aplikována celá dávka (hnojení proběhlo červenci 2006, v květnu a červenci 2007, vždy týden před odběrem). Pro potřeby této práce jsem zpracovala vzorky z ploch kontrolních (K) a hnojených (H) dávkou 300 kg NPK kg/ha/rok .

## 2.3 Odběr a úprava vzorků

Odběry půd byly provedeny 2.8. 2006, 15.5.2007, 3.8.2007 a 10.10. 2007. Z každé plochy bylo vždy odebráno 10 půdních sond o průměru 5 cm z hloubky 0-30 cm a tyto vzorky byly na místě smíchány v jeden směsný vzorek na plochu. Dohromady jsem tedy dále zpracovávala 8 vzorků z každá lokality (H a Z), vždy ve čtyřech pravých opakováních pro zásah (kontrola a hnojeno). Vzorky byly skladovány při teplotě 4°C a další den zpracovány.

K oddělení rhizosféry a volné půdy jsem použila metodu ručního setřepávání půdy popsanou v literární rešerši této práce. Na sítu byly ze vzorků ručně vybrány kořeny, jemně oťřepány a půdu na nich ulpívající jsem pro potřebu této práce nezvali jako **rhizosférní**. Půda oklepaná z kořenů (**volná půda**) byla přeseta přes síto s velikostí ok 5 mm. Ihned poté jsem vzorky zpracovala následujícím způsobem. Vzorky obsahující 5g kořenů s ulpěnou rhizosférní půdou a vzorky s 5 g přesáté volné půdy jsem zalila 20 ml destilované vody a vložila do ultrazvukové lázně na 5 minut při laboratorní teplotě. Ze vzniklé suspenze jsem odebrala 2 ml do mikrozkuhavky a fixovala formalínem ve finální koncentraci 4 %. Tyto vzorky byly skladovány při teplotě 4°C až do stanovení celkových počtů bakterií. Zbylý objem suspenze jsem zcentrifugovala (1000 ot. za minutu, 10 min), poté zfiltrovala přes skleněný filtr (0,45 μm) a filtrát byl v plastových zkuhavkách zamražen. Posléze byl použit ke stanovení koncentrace rozpuštěného C a N a dusičnanových a amonných iontů. Sediment

ze vzorku rhizosféry jsem znovu roztřepala ve vodě a přelila na síto (0,1 mm). Kořeny zachycené na sítu jsem důkladně promyla a po ručním vysušení pomocí filtračního papíru zvážila, abych získala čerstvou hmotnost kořenů. Po vysušení do konstantní hmotnosti při 60°C jsem stanovila suchou hmotnost kořenů. Z rozdílu původní váhy vzorku (5 g) a čerstvé hmotnosti kořenů jsem spočítala čerstvou hmotnost rhizosféry půdy. Suchou hmotnost půdy jsem získala vysušením v sušárně při teplotě 105°C do konstantní hmotnosti. Výsledky všech analýz jsou přepočteny vždy na gram suché půdy (volné i rhizosféry).

## 2.4 Stanovení přímého počtu bakterií

Ze vzorku fixovaného formalínem jsem připravila ředící řadu (vždy 1 ml vzorku + 9 ml destilované vody). Ke stanovení jsem použila po předchozím otestování ředění 10<sup>-2</sup>. Vzorek jsem barvila 50 µl DAPI (4,6-diamid-2-fenylindol) po dobu 2 minut a poté zfiltrovala přes membránový filtr o velikosti pórů 0,2 µm (BLOEM 1995). Počet bakterií jsem stanovovala pomocí epifluorescenčního mikroskopu (Olympus BX61, Japan). Z každého filtru jsem kamerou DP 50 nasnímala minimálně 50 obrázků při zvětšení 1000x. Obrázky jsem poté uložila a zpracovala v programu Analysis. Do obrázku jsem vždy vložila mřížku o známé délce hrany a uvnitř spočítala všechny bakterie. Přímý počet bakterií ve vzorku jsem vypočítala podle následujícího vzorce (BLOEM 1995) a nakonec přepočítala na gram suché půdy.

$$P_{\text{DAPI}} = (B/O_p) * (F_s/O_s) * \text{ředění} / m$$

$P_{\text{DAPI}}$	počet bakterií v 1ml
B	počet všech spočítaných bakterií
$O_p$	počet všech spočítaných mřížek
$F_s$	plocha filtru (průměr 20 mm), odpovídající hodnotě 314,16 mm <sup>2</sup>
$O_s$	plocha mřížky o hraně 20 µm
ředění	100x
m	suchá hmotnost půdy

## **2.5 Stanovení chemických charakteristik ve vodném extraktu**

### **2.5.1. Stanovení koncentrace vodorozpustného C a N**

Koncentrace C a N ve vodném extraktu byly stanovovány na přístroji LiquiTOC II (Elementar, Německo). Vodný extrakt byl ředěn 10x destilovanou vodou a okyselen na pH 3 pomocí ředěné HCl. Principem měření C je spálení vzorku při teplotě 800°C (katalyzátor platina), kdy se měří koncentrace vzniklého CO<sub>2</sub> pomocí infračerveného detektoru. Princip měření N je takový, že po spálení se uvolněný dusík působením ozonu převede na NO<sub>2</sub> v excitovaném stavu. Detektor pak měří emitované fotony o vlnové délce 700 – 1500 nm. Množství vodorozpustného organického dusíku bylo pak vypočítáno jako rozdíl v koncentraci celkového N a minerálních forem N ve vodném extraktu (viz dále).

### **2.5.2 Stanovení koncentrace nitrátových a amonných iontů**

Koncentrace nitrátových a amonných iontů ve vodném roztoku byly stanoveny pomocí průtokové vstříkovací analýzy (FIA, Lachat Instruments, USA). Principy reakcí jsou následující. Při stanovení koncentrace amonných iontů se využívá Berthelotova reakce, kdy amonné ionty reagují s fenolátem sodným a chlornanem sodným a vytvoří indofenolovou modř. Její absorbance se měří při 630 nm. Pro stanovení koncentrace dusičnanů byla provedena redukce na nitrity hydrazinsulfátem, diazotace se sulfanilamidem a kopulační reakce s N-(1-naftyl)-etylendiamin dihydrochloridem. Absorbance výsledného vínového zabarvení se pak měří při 520 nm.

## **2.6 Statistické zpracování dat**

Statistické vyhodnocení jsem provedla v programu Statistika 8.0. Pro vyhodnocení počtů bakterií, vodorozpustného C a N a jednotlivých forem N (N<sub>org</sub>, NH<sub>4</sub>-N a NO<sub>3</sub>-N) jsem použila trojcestný test variance (Repeated measures ANOVA), kde jsem porovnávala vliv lokality, mikrolokality (rhizosféra a volná půdy), hnojení a času a jejich interakce. V případě měření N-NO<sub>3</sub> byla data ze srpna 2006 pod detekčním limitem FIA (detekční limit je 6 µg N-NO<sub>3</sub>/l). Po konzultaci se statistikem jsem pro potřeby statistického hodnocení doplnila

poloviční hodnotu (3 ug N/l). Rhizosférické efekty pro výše uvedené parametry jsem hodnotila dvoucestným testem variance (Repeated measures ANOVA) a porovnávala jsem vliv lokality, hnojení, času a interakce. Výsledky statistického zpracování jsou shrnuty v Tab 3.4 a 3.5. Grafy byly vytvořeny v programu Microsoft Office Excel 2003 (uváděny jsou vždy průměry ze čtyř opakování a směrodatné odchylky) a Statistika 8.0 (STATSOFT INC 2007).

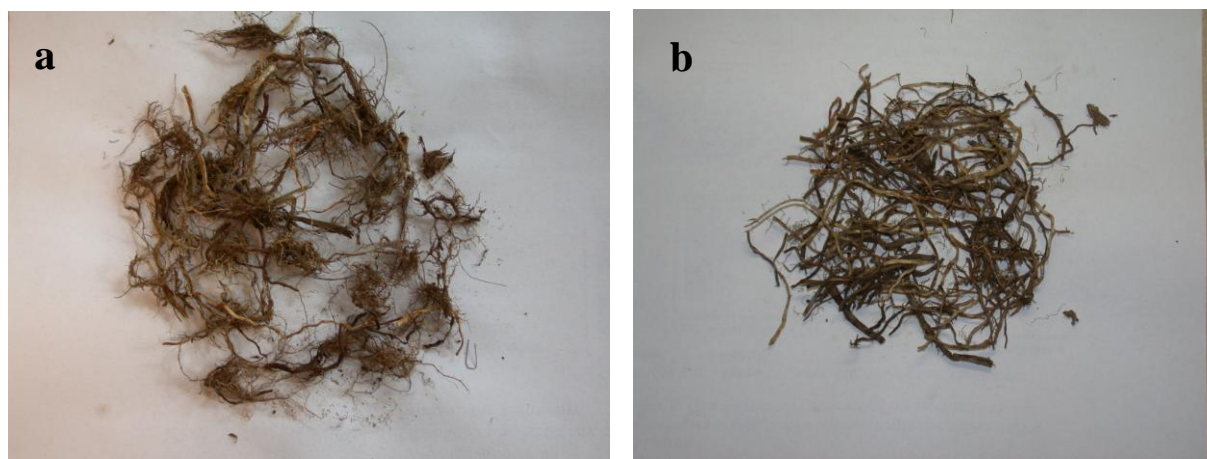


## 3 VÝSLEDKY

### 3.1 Kořeny a množství rhizosféry půdy

Mezi lokalitami se výrazně lišil charakter kořenů. Zatímco v půdě Hamru se vyskytovaly kořeny spíše silnější, v půdě Zábalských luk byly tenčí a více rozvětvené (Obr.3.1). Délku kořenů jsem nestanovovala, z rozdílu v morfologii lze ale usoudit, že kořeny ze Zábalských luk byly celkově delší, s větším specifickým povrchem než na Hamru.

**Obr. 3.1.** Vzorek kořenů z lokality Zábalské louky (a) a Hamr (b)



S jemnějším charakterem kořenů koresponduje také celkově menší suchá hmotnost kořenů v 5 g vzorcích na Zábalských půdách oproti Hamru (Tab. 3.1). Z dat je patrné, že v květnu 2007 moje vzorky obsahovaly nejmenší množství kořenů ze všech odběrů. V tuto dobu jsem také zaznamenala nejvyšší obsah sušiny v kořenech (Tab. 3.2) a tedy nejmenší obsah vody. Naopak, v období vrcholné vegetace (srpen 2006 i 2007) byl obsah sušiny v kořenech nejmenší. V průběhu vegetační sezony se měnilo také množství rhizosféry půdy ulpělé na kořenech. To dokazuje měnící se množství suché rhizosféry připadající na jednotku sušiny kořene (Tab. 3.3). Obecně lze říci, že nejvyšší množství rhizosféry půdy zůstalo na kořenech v květnu a srpnu 2007. V tuto dobu byly půdy o něco sušší než při ostatních odběrech, ale souvislost s množstvím rhizosféry nebyla průkazná (data nezařazena).

**Tab. 3.1.** Suchá hmotnost kořenů v 5 g vzorku z Hamru a Zábalských luk (kontrolní a hnojené varianty jsou uvedeny dohromady). V tabulce jsou uvedeny průměry ze 8 opakování a směrodatné odchylky.

	VIII.06	V.07	VIII.07	X.07
<b>H</b>	0.79 ± 0.23	0.54 ± 0.21	0.91 ± 0.16	0.99 ± 0.17
<b>Z</b>	0.70 ± 0.27	0.37 ± 0.09	0.48 ± 0.16	0.60 ± 0.15

**Tab. 3.2.** Obsah sušiny na g čerstvé váhy kořene v kontrolních (K) a hnojených (H) variantách na lokalitách Hamr a Záblatské louky. V tabulce jsou uvedeny průměry ze 4 opakování a směrodatné odchylky.

	VIII.06	V.07	VIII.07	X.07
<b>HK</b>	0.33 ± 0.03	0.49 ± 0.02	0.35 ± 0.02	0.38 ± 0.13
<b>HH</b>	0.35 ± 0.05	0.48 ± 0.05	0.34 ± 0.03	0.37 ± 0.02
<b>ZK</b>	0.40 ± 0.02	0.49 ± 0.02	0.39 ± 0.03	0.40 ± 0.03
<b>ZH</b>	0.41 ± 0.05	0.49 ± 0.03	0.38 ± 0.02	0.47 ± 0.03

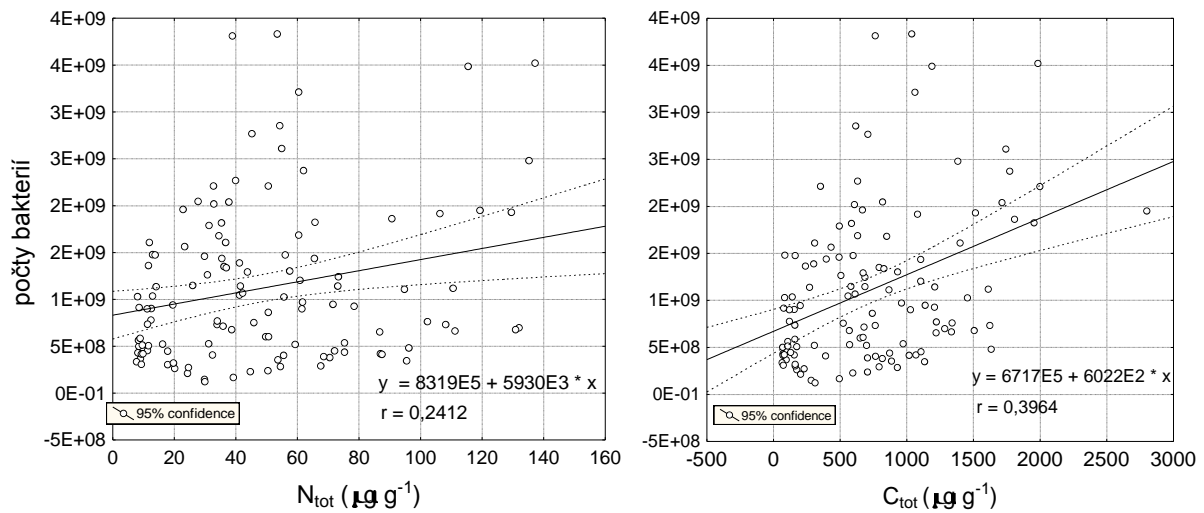
**Tab. 3.3.** Množství suché rhizosféry půdy připadající na g sušiny kořene v kontrolních (K) a hnojených (H) variantách na lokalitách Hamr a Záblatské louky. V tabulce jsou uvedeny průměry ze 4 opakování a směrodatné odchylky.

	VIII.06	V.07	VIII.07	X.07
<b>HK</b>	1.33 ± 0.48	2.99 ± 0.67	2.10 ± 0.77	1.16 ± 0.29
<b>HH</b>	2.85 ± 1.27	3.93 ± 0.86	1.25 ± 0.41	1.33 ± 0.46
<b>ZK</b>	2.11 ± 0.71	3.72 ± 0.33	3.96 ± 1.05	1.69 ± 0.29
<b>ZH</b>	1.81 ± 0.27	3.87 ± 0.66	2.87 ± 1.12	2.46 ± 1.03

### 3.2 Počty bakterií

Počty bakterií se pohybovaly v řádech  $10^8$  –  $10^9$  bakterií na 1g suché půdy. Nenašla jsem korelaci počtů ani s biomasou kořenů, ani s množstvím rhizosféry ve vzorku (grafy nezařazeny). Nalezla jsem pouze slabou korelaci s množstvím vodorozpustného N a C (Obr. 3.2)

**Obr. 3.2.** Korelace počtu bakterií s celkovým vodorozpustným dusíkem ( $N_{tot}$ ) a uhlíkem ( $C_{tot}$ )



**Tab. 3.4.** Souhrn statistického zpracování dat pomocí Repeated measurement ANOVA. Pro všechny proměnné (lokalita, hnojení, čas a mikrolokalita) a jejich interakce jsou udány hodnoty statistiky **F** a hladina pravděpodobnosti **p**, neprůkazný vliv je označen zkratkou **ns**.

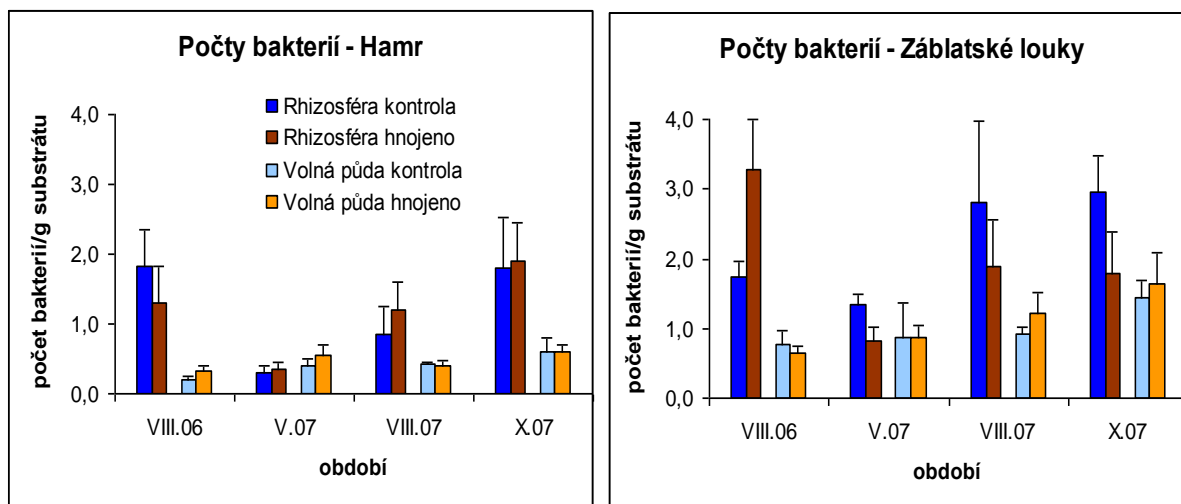
Proměnná	Lokalita	Hnojení	Čas	Mikrolokalita	T x M	T x H	M x H	T x M x H
<b>Df</b>	1	1	3	1	3	3	1	3
<b>počet bakterií</b>	61.7501 <0.001	0.2068 ns	17.2021 <0.001	104.4437 <0.001	13.0716 <0.001	1.4844 ns	1.3816 ns	1.8326 ns
<b>C<sub>tot</sub> (ug/g)</b>	6.130 <0.048	0.291 ns	9.414 <0.001	62.699 <0.001	12.933 <0.001	0.060 ns	0.063 ns	0.324 ns
<b>N<sub>tot</sub> (ug/g)</b>	0.676 ns	4.401 <0.038	18.531 <0.001	4.859 <0.029	2.550 ns	3.757 <0.013	2.108 ns	2.634 ns
<b>N-NO3 (ug/g)</b>	3.078 ns	1.102 ns	20.668 <0.001	44.383 <0.001	11.530 <0.001	1.703 ns	1.310 ns	2.473
<b>N-NH4 (ug/g)</b>	2.524 ns	1.103 ns	20.667 <0.001	44.379 <0.001	11.531 <0.001	1.703 ns	1.311 ns	2.474 ns
<b>Norg (ug/g)</b>	8.001 <0,03	0.212 ns	55.028 <0.001	75.382 <0.001	9.959 <0.001	1.581 ns	0.388 ns	1.530 ns

**Tab. 3.5.** Repeated Measurement ANOVA pro rhizosféru efekt. Pro všechny proměnné (lokalita, hnojení, čas) a jejich interakce jsou udány hodnoty statistiky **F** a hladina pravděpodobnosti **p**, neprůkazný vliv je označen zkratkou **ns**.

Proměnná	Lokalita	Hnojení	Čas	T x M
<b>Df</b>	1	3	1	3
<b>Počet bakt.</b>	13.506 <0.01	1.940 ns	12.932 <0.001	0.473 ns
<b>C<sub>tot</sub></b>	101.757 <0.001	0.259 ns	13.702 <0.001	2.617 ns
<b>N<sub>tot</sub></b>	34.643 <0.001	0.794 ns	14.376 <0.001	3.654 <0.019
<b>Norg</b>	0 ns	0 ns	3 <0.026	0 ns
<b>N-NH4</b>	16.960 <0.006	2.230 ns	10.589 <0.001	3.852 <0.015
<b>N-NO3</b>	1.645 <0.014	1.772 ns	8.048 <0.001	3.077 <0.036

V organické půdě Zábalských luk jsem spočítala vyšší počet bakterií než v minerální půdě lokality Hamr (Obr.3.3). Tento rozdíl byl statisticky průkazný (Tab.3.4). Na obou lokalitách pak rhizosféra obsahovala průkazně více bakterií než půda volná. Výjimkou byl pouze počátek vegetační sezony, květnový odběr v roce 2007, kdy byly hodnoty v rhizosféře ze všech odběrů nejnižší a srovnatelné s volnou půdou. V průběhu vegetační sezony počty bakterií v rhizosféře výrazně vzrostly, zatímco ve volné půdě nárůst nebyl tak významný (Obr.3.3). S tím souvisejí i změny v rhizosférickém efektu, tedy poměru bakterií v rhizosféře a volné půdě. Zatímco na počátku vegetační sezony byl rhizosférický efekt nízký (žádný), v průběhu léta a podzimu, kdy vzrostl vliv vegetace, se rhizosférický efekt zvýšil (Tab. 3.6). Celkově vyšší rhizosférický efekt jsem našla na lokalitě Hamr (Tab. 3.5 a 3.6). Hnojení nemělo signifikantní vliv ani na počty bakterií ani na rhizosférický efekt (Tab. 3.4 a 3.5). Z posledních dvou odběrů je ale patrné, že na lokalitě Zábalské louky rhizosférický efekt s hnojením klesal, tzn. že počty bakterií v rhizosféře klesaly, zatímco ve volné půdě stoupaly. Na Hamru se tento vliv neobjevil (Obr. 3.3).

**Obr. 3.3.** Počty bakterií v rhizosféře a volné půdě kontrolních a hnojených variant na sledovaných lokalitách Hamr a Zábalské louky. Počty jsou uvedeny v řádu  $10^9$ . V grafu jsou uvedeny průměry ze 4 měření a směrodatné odchylky.



**Tab 3.6.** Podíl počtu bakterií v rhizosféře a volné půdě (rhizosférický efekt) u kontrolních (K) a hnojených (H) variant na lokalitách Hamr a Zábalské louky. V tabulce jsou udány průměry ze 4 měření a směrodatné odchylky.

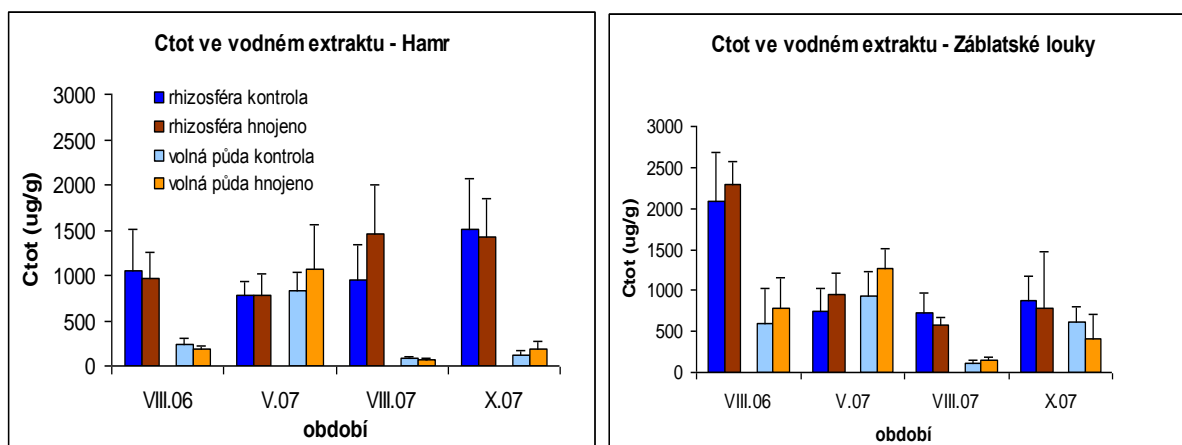
	VIII.06	V.07	VIII.07	X.07
<b>HK</b>	10,32 ± 2,86	0,77 ± 0,1	2,01 ± 0,86	3,27 ± 1,90
<b>HH</b>	4,07 ± 2,04	0,70 ± 0,35	3,16 ± 1,61	3,36 ± 1,34
<b>ZK</b>	2,32 ± 0,41	2,03 ± 1,24	3,09 ± 1,25	2,04 ± 0,11
<b>ZH</b>	5,10 ± 1,23	1,00 ± 0,41	1,63 ± 0,77	1,15 ± 0,55

### 3.3 Obsah celkového uhlíku ( $C_{tot}$ ) ve vodném extraktu

Hodnoty  $C_{tot}$  naměřené v organické půdě Zábłatských luk byly celkově průkazně nižší než v minerální půdě Hamru (Tab. 3.4). Na Zábłatských loukách se výrazně zvýšila jen hodnota ze srpna 2006 (Obr. 3.4). Hnojení opět nemělo na obsah celkového vodorozpustného C vliv (Tab 3.4).

Významně více  $C_{tot}$  se na obou lokalitách vyskytovalo v rhizosféře než ve volné půdě (Tab. 3.4). Výjimkou (podobně jako u počtu bakterií) byl ale květnový odběr 2007 (Obr. 3.4), kdy byl obsah celkového C ve volné půdě vyšší než v rhizosféře. Během sezony a na jejím konci se situace významně změnila. Zatímco obsah  $C_{tot}$  ve volné půdě poklesl, v rhizosféře tomu bylo spíše naopak (viz lokalita Hamr), případně se koncentrace  $C_{tot}$  v rhizosféře během roku 2007 příliš neměnila (viz Zábłatské louky). S tímto opět souvisí i změny v poměru  $C_{tot}$  v rhizosféře a volné půdě (Obr. 3.4 a Tab. 3.7). Na začátku vegetační sezony byl tento poměr nejnižší (dokonce menší než 1) a během letního období se zvyšoval. Na konci vegetačního období, v říjnu 2007, došlo opět ke snížení poměru  $C_{tot}$  (Obr. 3.4 a Tab. 3.7). Tento rhizosférní efekt byl vždy výraznější v minerální půdě Hamru (Tab. 3.7).

**Obr. 3.4.** Obsah celkového vodorozpustného uhlíku v rhizosféře a volné půdě kontrolních a hnojených variant na sledovaných lokalitách Hamr a Zábłatské louky. V grafu jsou uvedeny průměry ze 4 měření a směrodatné odchylky.



**Tab. 3.7.** Podíl koncentrací celkového rozpuštěného C v rhizosféře a volné půdě (rhizosférní efekt) v kontrolních (K) a hnojených (H) variantách na lokalitách Hamr a Zábłatské louky. V tabulce jsou uvedeny průměry ze 4 měření a směrodatné odchylky.

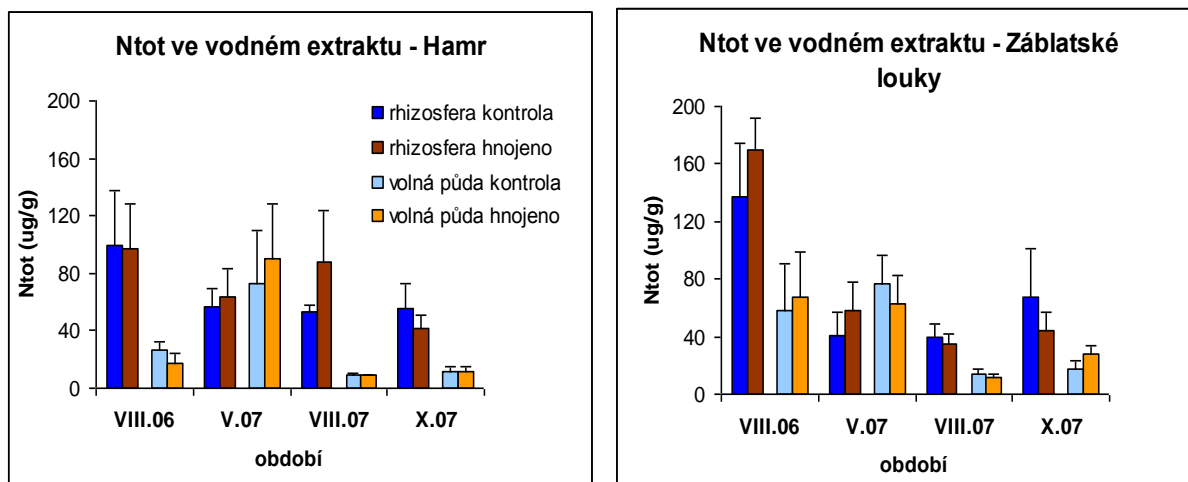
	VIII.06	V.07	VIII.07	X.07
<b>H</b>	4.49 ± 2,01	0.95 ± 0,22	10.87 ± 3,15	16.00 ± 8,10
<b>HH</b>	5.42 ± 1,74	1.10 ± 1,1	20.31 ± 7,98	9.11 ± 5,40
<b>Z</b>	3.00 ± 1,41	0.61 ± 0,25	4.57 ± 0,53	2.50 ± 1,06
<b>ZH</b>	2.50 ± 0,82	1.06 ± 0,38	5.62 ± 2,42	1.24 ± 0,84

### 3.4 Obsah celkového dusíku ( $N_{tot}$ ) ve vodném extraktu

Hodnoty  $N_{tot}$  byly v organické půdě Záblatských luk i minerální půdě Hamru podobné. Výrazněji se odlišovala pouze hodnota ze srpna 2006 na Záblatských loukách, ale rozdíl mezi oběma lokalitami ale nebyl v případě  $N_{tot}$  statisticky průkazný (Tab. 3.4).

Celkové trendy v koncentracích  $N_{tot}$  byly velmi podobné výše popsaným změnám v  $C_{tot}$ . Obě charakteristiky spolu úzce korelovaly ( $r=0.81$ ). Větší množství  $N_{tot}$  se obecně vyskytovalo v rhizosféře než ve volné půdě (Tab. 3.4 a Obr. 3.5). Výjimkou byl opět (stejně jako v případě  $C_{tot}$ ) odběr z května 2007 (Obr. 3.5), kdy byl obsah  $N_{tot}$  ve volné půdě na obou lokalitách vyšší než v rhizosféře. V průběhu vegetační sezóny pak došlo k poklesu koncentrace  $N_{tot}$  ve volné půdě a rhizosféře efekt narostl (Obr. 3.5). Rhizosférický efekt byl opět výraznější v minerální půdě lokality Hamr (Obr. 3.5).

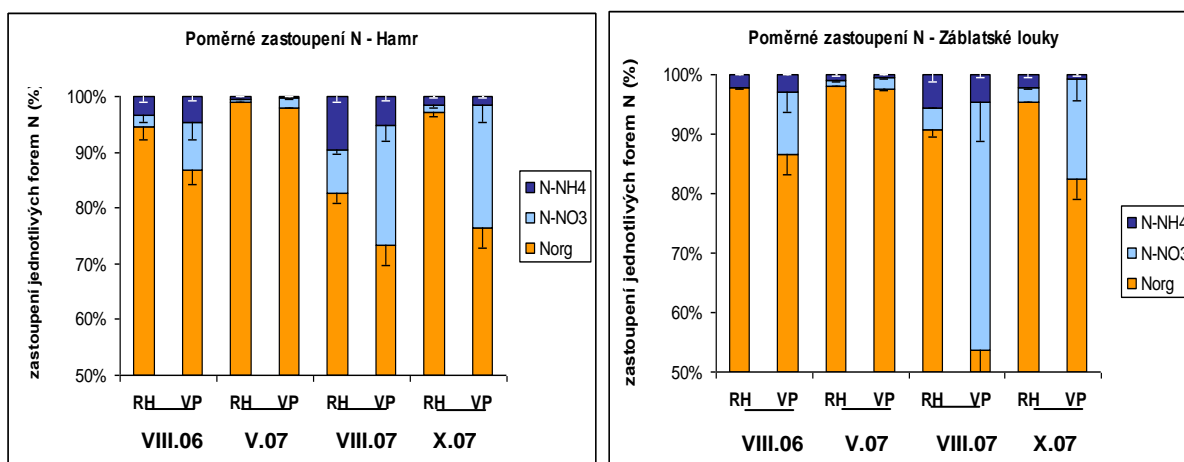
**Obr. 3.5.** Obsah celkového vodorozpustného dusíku v rhizosféře a volné půdě kontrolních a hnojených variant na sledovaných lokalitách Hamr a Záblatské louky. V grafu jsou uvedeny průměry ze 4 opakování a směrodatné odchylky.



### 3.5 Zastoupení jednotlivých forem dusíku v $N_{tot}$

Zastoupení jednotlivých forem dusíku (amoniakálního, dusičnanového a organického) se lišilo jak v rhizosféře a volné půdě, tak i v průběhu sezony (Obr. 3.6). Protože u žádné z forem dusíku nebyl zjištěn statisticky průkazný vliv hnojení (viz Tab. 3.4), sloučila jsem z důvodů přehlednějšího znázornění těchto změn vždy hodnoty z hnojené a nehnojené varianty dohromady (Obr. 3.6).

**Obr.3.6.** Poměrné zastoupení jednotlivých forem dusíku v rhizosféře (RH) a volné půdě (VP) na lokalitách Hamr a Záblatské louky [%]. V grafu jsou uvedeny průměry ze 8 opakování a směrodatné odchylky.



Na obou lokalitách tvořil organický dusík ( $N_{org}$ ) ve všech odběrech nadpoloviční většinu z  $N_{tot}$  a minerální formy tvořily výrazně menší část (Obr. 3.6). Jejich koncentrace se pohybovaly v rozmezí desetin až jednotek  $\mu\text{g}$  na gram suché půdy a byly podobné na obou sledovaných lokalitách (Tab. 3.4). Na začátku vegetační sezony (květen 2007) bylo na obou lokalitách zastoupení amoniakální a dusičnanové formy dusíku nejnižší, zatímco organického N nejvyšší (Obr. 3.6). V tuto dobu byl také zjištěn nejnižší rhizosférní efekt u všech N forem (Tab. 3.8, 3.9 a 3.10). V průběhu sezony došlo k nárůstu koncentrace minerálních forem N a tento nárůst nastal v rhizosféře i volné půdě. V případě amonné formy N nebyl tento nárůst tak významný jako pro dusičnanový N a jeho zastoupení v rhizosféře bylo vždy vyšší než ve volné půdě (Obr. 3.6). To potvrzuje i rhizosférní efekt pro  $N\text{-NH}_4$ , který je v sezoně vždy vyšší než 1 (Tab. 3.9). Nárůst koncentrace dusičnanového N je naopak významný hlavně ve volné půdě (Obr. 3.6). Tomu odpovídá také převážně negativní rhizosférní efekt pro  $N\text{-NO}_3$  (Tab. 3.10). Na Hamru byl pozitivní rhizosférní efekt patrný pouze na vrcholu vegetační sezony a to pouze díky velkému rozdílu v koncentracích vodorozpustného N v rhizosféře a



volné půdě (Obr. 3.5). Celkově nejvyšší obsah N-NO<sub>3</sub> byl naměřen ve vzorku ze srpna 2007 na Záblatských loukách (Obr. 3.6).

**Tab.3.8.** Rhizosférický efekt **Norg** kontrolních a hnojených variant na lokalitách Hamr a Záblatské louky. V tabulce jsou udány průměry ze 4 měření a směrodatné odchylky.

	VIII.06	V.07	VIII.07	X.07
<b>H</b>	1.09 ± 0,07	1.01 ± 0,01	1.22 ± 0,05	1.57 ± 0,36
<b>HH</b>	1.14 ± 0,04	1.02 ± 0,04	1.12 ± 0,21	1.26 ± 0,22
<b>Z</b>	1.05 ± 0,03	1.00 ± 0,01	1.28 ± 0,09	1.13 ± 0,08
<b>ZH</b>	1.06 ± 0,03	1.02 ± 0,03	1.48 ± 0,33	1.02 ± 0,02

**Tab.3.9.** Rhizosférický efekt **N-NH<sub>4</sub>** kontrolních a hnojených variant na lokalitách Hamr a Záblatské louky. V tabulce jsou udány průměry ze 4 měření a směrodatné odchylky.

	VIII.06	V.07	VIII.07	X.07
<b>H</b>	4.42 ± 0,48	0.98 ± 0,53	8.56 ± 2,35	3.58 ± 1,75
<b>HH</b>	2.20 ± 0,81	1.16 ± 0,29	23.65 ± 12,8	5.34 ± 1,25
<b>Z</b>	1.80 ± 0,44	1.22 ± 0,17	2.45 ± 0,61	9.04 ± 2,86
<b>ZH</b>	2.06 ± 0,43	1.33 ± 0,29	5.11 ± 2,95	5.67 ± 2,96

**Tab. 3.10.** Rhizosférický efekt **N-NO<sub>3</sub>** kontrolních (K) a hnojených (H) variant na lokalitách Hamr a Záblatské louky. V tabulce jsou udány průměry ze 4 měření a směrodatné odchylky.

	VIII.06	V.07	VIII.07	X.07
<b>HK</b>	1,30 ± 0,82	0,33 ± 0,15	1,60 ± 0,33	0,17 ± 0,18
<b>HH</b>	0,43 ± 0,31	0,24 ± 0,08	5,16 ± 4,09	0,37 ± 0,11
<b>ZK</b>	0,04 ± 0,03	0,31 ± 0,06	0,64 ± 0,22	0,65 ± 0,34
<b>ZH</b>	0,04 ± 0,02	0,41 ± 0,40	0,86 ± 0,28	0,71 ± 0,42

## 4 DISKUSE

### 4.1 Rhizosférní půda a kořeny, změny během roku

Vzorky z lokalit Hamr a Zábblatské louky se výrazně lišily v **charakteru-morfologii kořenů**. Na Hamru převažovaly kořeny silnější, na Zábblatských loukách byly spíše tenčí a rozvětvenější. Tento rozdíl připisuji jednak odlišným rostlinným dominantám, kdy na Zábblatských loukách je dominantním druhem Ostřice štíhlá, zatímco na Hamru je významně zastoupen také Zblochan vodní. HÜTSCH et al. (2002), DIJKSTRA et al (2006) a další uvádí, že jednotlivé rostlinné druhy se liší ve složení a množství produkovaných exudátů. Kořeny těchto rostlin pak mohou být osídleny odlišnými mikrobiálními společenstvy. Dalším důvodem rozdílné morfologie kořenů může být rozdíl v množství půdní organické hmoty, a tedy dostupnosti živin, a objemové hmotnosti půdy, která souvisí s pórovitostí, zadržováním vody apod. Také půdní textura může ovlivnit rhizosférní mikroflóru tím, že limituje dostupnost kořenových exudátů (CHIARINI et al. 1997). V případě Zábblatských luk a Hamru tvoří rozdíl v textuře ale asi jen 5% pískových částic (Hamr 72,5 %, Zábblatské louky 77,5 % pískových částic).

Mezi jednotlivými odběry jsem zaznamenala změny v obsahu sušiny v kořenech a také v množství rhizosférní půdy ulpělé na kořenech. Kořeny měly největší obsah sušiny v květnu 2007, tedy na začátku sezóny, zatímco ve vrcholu vegetační sezony (v srpnu roku 2006 i 2007) byl obsah sušiny nejnižší. Je obecně známé, že víceleté rostliny si hromadí zásobní látky (škroby, polysacharidy) do kořenů do další sezony a tímto lze vysvětlit vyšší obsah sušiny na začátku vegetační sezony, zatímco v jejím průběhu byl nižší, protože tyto zásobní látky byly spotřebovány. Největší podíl rhizosféry na jednotku hmotnosti kořenů připadal na květen a srpen 2007, zatímco v ostatních odběrech byl nižší. Z výsledků je patrné, že v květnu 2007 obsahovaly nejvyšší obsah sušiny v kořenech a také tedy nejnižší obsah vody. V období vrcholné vegetace (srpen 2006 i 2007) byl obsah sušiny v kořenech nejnižší. V průběhu vegetační sezony se měnilo také množství rhizosférní půdy ulpělé na kořenech. To dokazuje měnící se množství suché rhizosférní půdy připadající na jednotku sušiny kořene. Další možností je, že kořeny v tomto období (květen a srpen 2007) produkovaly jiné látky (např. na obranu růstového vrcholu), což mohlo také způsobit větší adhezi látek ke kořeni.

Z mých dat o hmotnosti kořenů ve vzorcích bohužel nelze usuzovat na reálné množství kořenů na plochách, protože kořeny byly ručně vybírány z velkých směsných vzorků o neznámém objemu (vzorky byly odebírány především pro biochemické analýzy, kde

kořeny jsou nežádoucí a důležité je dostatečné množství vzorku). Kvůli možnosti porovnání skutečné situace v terénu uvádím data o čisté roční primární produkci nadzemní a podzemní biomasy z roku 2007, která mi poskytl Keith Edwards (Tab.4.1). Z dat je patrné, že lokality se lišily především produkcí nadzemní biomasy, větší množství nadzemní biomasy bylo na Hamru než na Záblatských loukách a s hnojením N došlo k jejímu nárůstu. Produkce kořenů byla vyšší na Záblatských loukách v kontrolní variantě, v hnojené variantě byla srovnatelná s Hamrem.

Z uvedených dat lze také vypočítat některé změny v primární produkci vlivem hnojení. U obou lokalit se po hnojení NPK projevil nárůst nadzemní biomasy. V případě produkce kořenů došlo naopak k úbytku na Záblatských loukách, případně se množství kořenů nezměnilo (Hamr) (Tab. 4.1). Analýza těchto dat sice ukázala, že změny v primární produkci dosud nejsou průkazné, což je v souladu s mými výsledky o nesignifikantním vlivu hnojení NPK na počty bakterií a koncentraci živin v půdě. Pozorované změny jsou ale v souladu se závěry dalších autorů (HENRY et al. 2005, NGUYEN 2003, PHILLIPS a FAHEY 2007, LILJEROTH et al. 1994), kteří uvádějí, že hnojení způsobuje nárůst produkce nadzemní biomasy a zároveň dochází ke zvýšení podílu nadzemní ku podzemní biomase (KUZJAKOV et al. 2002, PATERSON et al., 2006, TESAŘOVÁ 1993).

Tab. 4.1. Čistá roční primární produkce (g sušiny na m<sup>2</sup> plochy na lokalitách Hamr a Záblatské louky)

	Nadzemní PP		Podzemní PP	
	Kontrolní	Hnojené	Kontrolní	Hnojené
Hamr	683,5	769,6	278,8	282,4
Záblatské louky	377,8	504,1	417,7	290

## 4.2 Počty bakterií

Organická půda Zábłatských luk obsahovala celkově vyšší počty bakterií než minerální půda Hamru. Ve volné půdě bych rozdíl v počtu bakterií připsala rozdílnému obsahu organické hmoty. Je známo, že mikrobiální biomasa a aktivita mikroorganismů roste s obsahem půdní organické hmoty (SCHNÜRER et al. 2000, ANDERSON a DOMSCH 1989). Předpokládám tedy, že i počty bakterií by mohly souviset s množstvím organické hmoty, které je významně vyšší na Zábłatí. V rhizosféře se přidávají další významné faktory jako rozdílná rostlinná dominanta na lokalitách, a tedy rozdíl v charakteru i aktivitě kořenů, a specifické rhizosférní společenstvo (WESTOVER et al. 1997, GERMIDA et al. 1998, GRAYSTON et al. 1998). Množství bakterií sice nekorelovalo s množstvím biomasy kořenů ve vzorcích, avšak kořeny ze Zábłatských luk mohly mít díky jiné morfologii výrazně větší povrch než kořeny z Hamru, mohly tedy produkovat více exudátů a být také osídleny větším množstvím bakterií.

Společenstva bakterií v rhizosféře a volné půdě budou pravděpodobně odlišná, protože využívají jiný zdroj C, a bude docházet k jejich změnám i v průběhu vegetační sezóny. V rhizosféře se vyskytují především gram-negativní bakterie, které využívají jako zdroj C preferenčně nový substrát, a to především C uvolněný z kořenů rostlin. Ve volné půdě se převažují grampozitivní bakterie, schopné rozkládat i složitější látky z půdní organické hmoty (KRAMER a GLEIXNER 2008). V období zaplavení luk dochází navíc k dalším změnám. V této době bude projevovat vliv kořenů coby transportéra kyslíku do půdy (MITSCH a GOSSELINK 2000) a v rhizosféře mohou existovat společenstva aerobní, zatímco ve volné půdě mimo dosah kořenů bude převládat anaerobní společenstvo. K těmto změnám v průběhu sezony 2007 určitě docházelo, složení společenstev ale nebylo ale úkolem této práce a nemohu tedy jejich odlišnost doložit.

V souladu s mými předpoklady obsahovala rhizosférní půda obecně více bakterií než půda volná, a to ve vegetační sezoně až desetinásobně. DYKYJOVÁ (1989) uvádí, že v rhizosféře se nachází podstatně více mikroorganismů než v půdě neovlivněné kořeny. TESAŘOVÁ (1993) uvádí rhizosférní efekt 7 – 21 násobný v závislosti na rostlinném společenstvu. Podle KRASIĚNIKOVA (1958) může být množství mikroorganismů v rhizosférní půdě dokonce 10 – 1000 krát vyšší než v okolní půdě.

Existenci rhizosférního efektu umožňuje vegetace, jejíž kořenové exudáty jsou významným zdrojem dostupné organické hmoty pro rhizosférní mikroflóru. Rozvoj vegetace

během sezóny jednoznačně souvisí s nárůstem rhizosférického efektu ve vegetační sezóně, což je jasně patrné i z mých výsledků. Na jaře měly rostliny malou nadzemní biomasu a menší fotosynteticky aktivní plochu, asimilovaly tedy méně C než ve vrcholu vegetační sezony (LITTON et al. 2007, KUZYAKOV a DOMANSKI 2000) a asimiláty byly přednostně alokovány do nadzemní biomasy rostliny (KUZYAKOV et al. 2002). Rhizosférický efekt nebyl v půdě v této době patrný. Počty bakterií v rhizosféře a volné půdě byly srovnatelné a také množství naměřeného vodorozpustného C a N bylo v této době vyšší ve volné půdě než v rhizosféře. V sezóně došlo k nárůstu asimilační plochy vegetace a zvýšení transportu organických látek do kořenů a půdy, což zapříčinilo zvýšení počtů bakterií v rhizosféře a zvýšení rhizosférického efektu. Předpokládám, že kromě množství vodorozpustných forem C a N, které korelovalo s počty bakterií pouze slabě, musela mít na výrazné zvýšení počtů bakterií v rhizosféře také měnící se kvalita substrátu. Je známo, že v průběhu růstu rostliny dochází ke změnám v kvalitě produkovaných exudátů (HÜTSCH 2002, LILJEROTH et al. 1990). Ve své práci jsem se ale kvalitu rhizodepozice nestanovovala, proto nemůžu doložit data o jejích změnách v průběhu sezony. Celkově vyšší rhizosférický efekt jsem zjistila na lokalitě Hamr, což mohlo souviset s vyšším rhizosférickým efektem pro celkový vodorozpustný C a N a celkově větší produkci  $C_{tot}$  v rhizosférické půdě Hamru. Hamr měl vyšší produkci nadzemní biomasy, která mohla více fotosyntetizovat a produkovat více exudátů, což mohlo pozitivně ovlivnit počty bakterií v rhizosféře hamerské půdy.

Jedna z hypotéz této práce byla, že hnojení N bude mít vliv na zvětšení rhizosférického efektu během sezony. Vyvodila jsem ji na základě dat pocházejících z testování trav a obilnin. Jak uvádí např. LILJEROTH et al. (1990), při pěstování ječmene bylo při vyšších dávkách N do rhizosféry vylučováno více asimilátů než při dávkách nižších, což bylo spojeno také s nárůstem množství bakterií v rhizosféře ječmene. Podobně i KUZYAKOV et al. (2002) a PATERSON et al. (2006) uvádějí, že rostliny hnojené N produkovaly více C do rhizosféry než rostliny nehnojené. U stromů byl ale pozorován spíše opačný jev. GORISSEN et al. (1993) zjistil, že aplikace N do půdy ovlivnila negativně bakteriální populaci přítomnou na kořenech Douglasky obecné. Také GIARDINA et al. (2004) zjistil snížení toku C pod zem po hnojení. LEE et al. (1997) uvádí, že v případě pěstovaného čiroku nemělo hnojení N a P na množství bakterií vliv. V případě mnou sledovaných lokalit nemělo hnojení NPK na množství bakterií průkazný vliv a neprojevovalo se ani zvýšením rhizosférického efektu. V organické půdě Zábřavských luk jsem ve vegetační sezóně 2007 dokonce pozorovala opačný trend, kdy s hnojením rhizosférický efekt v průběhu sezony klesal, protože se zvyšovalo množství bakterií

ve volné půdě. Je možné, že přidané živiny mohly zvýšit dostupnost půdní organické hmoty pro bakterie ve volné půdě.

### 4.3 Vodorozpustný C a N ( $C_{tot}$ , $N_{tot}$ )

Množství vodorozpustného C a N spolu úzce korelovala ( $r=0,801$ ). Jejich koncentrace na obou lokalitách byly srovnatelné, pouze v případě vodorozpustného C přítomného v rhizosféře byly větší koncentrace naměřeny v minerální půdě Hamru než v organické půdě Zábzlatských luk. V rhizosféře předpokládám, že C a N z velké míry pocházely z rostlinných exudátů, které rostliny během vegetačního období produkovaly. V literatuře se uvádí, že rostliny (trávy) mohou transportovat do podzemních částí 1500- 2800 kg C ha<sup>-1</sup>, 50 % z celkového C byly snadno dostupné organické látky. KUZYAKOV et al. (2002) uvádí, že rostlina transportovala 2800 kg C ha<sup>-1</sup> za rok, HÜTSCHE et al. (2002) uvádí, že je do podzemních částí transportováno až 20% C během vegetační sezony. KUZYAKOV a DOMANSKI (2000) uvádí, že trávy mohou translokovat 30-50% asimilátů a obilniny a trávy mohou přemístit 1500 až 2200 kg C ha<sup>-1</sup> během jedné vegetační sezony. Ve volné půdě se složení vodorozpustné organické hmoty od rhizosféry patrně významně lišilo. Vodorozpustný C a N tedy pocházel pravděpodobně především z půdní organické hmoty (ŠIMEK 2003).

Uvádí se, že vodorozpustný C a N odráží složení půdní organické hmoty, kde je zastoupeno výrazně více fenolických látek a fulvokyselin, což jsou látky méně rozložitelné než ty, které jsou obsažené v rhizosféře (GREGORICH et al. 2000)

Na začátku vegetační sezony byl vyšší obsah  $C_{tot}$  i  $N_{tot}$  na obou lokalitách naměřen ve volné půdě než v rhizosféře, což jsem již vysvětlila v předchozích kapitolách. Lze zde předpokládat nižší produkci exudátů v rhizosféře danou nižší fotosyntetickou aktivitou rostlin a také vliv možného zaplavení na začátku sezony. Během vegetační sezony došlo k nárůstu  $C_{tot}$  a  $N_{tot}$  v rhizosférní půdě a ke snižování jejich obsahu ve volné půdě. Nárůst koncentrací v rhizosféře opět souvisí se zvýšenou rostlinnou produkcí, případně i stimulací exudace zvýšeným množstvím a aktivitou bakterií. Úbytek  $C_{tot}$  a  $N_{tot}$  ve volné půdě pravděpodobně souvisí s jejich poměrně rychlou spotřebou půdními mikroorganismy (HAGENDORN et al. 2003).

#### 4.4 Formy dusíku zastoupené v $N_{\text{tot}}$

Na obou lokalitách převládal a v téměř všech odběrech tvořil nadpoloviční většinu z celkového vodorozpustného dusíku organický dusík ( $N_{\text{org}}$ ), zatímco minerální formy (amoniakální a dusičnanová) byly zastoupeny méně. Toto je v souladu se závěry některých autorů, kteří zkoumali složení vodorozpustného dusíku v půdě (BARDGETT et al. 2003, JONES et al. 2003, JONES a KIELLAND 2002). Je ale známé, že z vodorozpustného organického dusíku mohou rostliny a mikroorganismy využít pouze tu malou část, která je tvořena nízkomolekulárními látkami (aminokyseliny), zatímco poměrně velkou část tvořenou vysokomolekulárními látkami využít nemohou (DI TOMASO et al. 1992, BUSH 1993, YU et al. 2002). JONES a WILLET 2004 ale polemizují nad tím, že velká množství organického dusíku mohou být naměřena také díky tomu, že se snadno uvolní při neopatrné manipulaci s kořeny (především v případě lesních půd a luk), což může poměrně výrazně nadhodnotit výsledky.

Během vegetační sezony došlo na obou lokalitách k nárůstu minerálních forem N na úkor organické. Na začátku sezony byla množství anorganických forem nízká (desetiny ug/g) a v průběhu sezony narostla až na desítky ug/g, přičemž výraznější nárůst jsem našla u dusičnanové formy. Ke konci vegetační sezony jsem opět pozorovala pokles minerálních forem, především v rhizosférní půdě. Tyto změny souvisí se zvýšením teploty a zvýšením aktivity půdních mikroorganismů, která je podporována nárůstem kořenové rhizodepozice. Ve vrcholu vegetační sezony mají zároveň rostliny největší požadavky na dusík. Toto potvrzuje i VYMAZAL (1995), který uvádí, že v oblastech mírného pásma je dusík (a další živiny) přijímán především ve vegetačním období jaro-léto, tedy v období, kdy jak nadzemní, tak podzemní části rostlin rostou. Na konci vegetačního období jsou u trvalých rostlin živiny translokovány do podzemních orgánů.

Zastoupení minerálních forem N se lišilo v rhizosféře a volné půdě. V rhizosféře jsem zjistila větší zastoupení  $N\text{-NH}_4$  forem než ve volné půdě. To může souviset se zvýšenou mineralizací lehce dostupných živin (exudátů) v oblasti rhizosféry, a to především zvýšenou predací bakterií prvoky a uvolňováním přebytečného  $N\text{-NH}_4$  do půdy (tzv. půdní mikrobiální smyčka) (BONKOWSKI et al. 2000). Někteří z autorů (GRIFFITHS 1989, VERHAGEN et al. 1994, ALPHEI et al. 1996, BONKOWSKI et al. 2000) také uvádějí, že díky kompetici a přebytku  $N\text{-NH}_4$  v rhizosféře mohou být početné bakterie nitrifikační, což se může projevit jako zvýšené množství  $N\text{-NO}_3$  v rhizosféře. V případě mnou sledovaných lokalit jsem ale

naměřila vyšší množství N-NO<sub>3</sub> ve volné půdě než v rhizosféře. Lze tedy uvažovat o tom, že v rhizosféře docházelo k výraznějšímu odčerpávání minerálních forem (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) rostlinami a mikroorganismy, které si navíc mohou o tento zdroj výrazně konkurovat (BARDGETT et al. 2003), zatímco v oblasti volné půdy už toto množství nezvládají rostliny odčerpávat a především N-NO<sub>3</sub> zde tedy zůstává ve větším množství.



## 5 ZÁVĚR

Výsledky této diplomové práce lze shrnout v několika bodech:

- Mezi sledovanými lokalitami Hamr a Zábłatské louky se projevil rozdíl v počtech bakterií a obsahu  $C_{tot}$ . Počty bakterií se pohybovaly v řádech  $10^8 - 10^9$  bakterií na 1g suché půdy, vyšší počty bakterií byly zjištěny na Zábłatských loukách. Hodnoty  $C_{tot}$  byly vyšší na minerální půdě Hamru. V případě  $N_{tot}$  byly naměřené hodnoty na obou lokalitách podobné. Výsledek týkající se  $C_{tot}$  a počtů bakterií a jejich rozdílu mezi lokalitami je v souladu s předkládanou hypotézou, u koncentrací  $N_{tot}$  tomu tak není.
- Počty bakterií a koncentrace  $C_{tot}$  a  $N_{tot}$  se výrazně měnily během vegetační sezony. Nejnížší počty bakterií byly naměřeny na začátku vegetační sezony, v jejím průběhu došlo k výraznému nárůstu. V průběhu sezony docházelo k nárůstu koncentrací  $C_{tot}$  a  $N_{tot}$  v rhizosféře a k jejich poklesu ve volné půdě. Tento výsledek je v souladu s předkládanou hypotézou.
- V rhizosférní půdě obou lokalit se vyskytovaly signifikantně vyšší počty bakterií a větší koncentrace  $C_{tot}$  a  $N_{tot}$  než ve volné půdě, výjimkou byl pouze začátek vegetační sezony, květen 2007. Také tento závěr se shoduje s předkládanou hypotézou
- Eutrofizace (přídavek NPK) neměla na rhizosférní efekt  $C_{tot}$ ,  $N_{tot}$  a počtu bakterií na minerální a organické půdě výrazný vliv. Tento výsledek není v souladu s předpokládanou hypotézou, že přídavek živin zvýší rhizosférní efekt.
- Vyšší obsah organického dusíku ( $N_{org}$ ) a amoniakální formy dusíku ( $N-NH_4$ ) byl zjištěn v rhizosférní půdě obou lokalit než ve volné půdě a tyto koncentrace se výrazně měnily se během vegetační sezony. V průběhu vegetační sezony došlo k nárůstu amoniakální formy dusíku a úbytku organické formy.

- Koncentrace nitrátové formy dusíku (N-NO<sub>3</sub>) byla naměřena výrazně vyšší ve volné půdě než v rhizosféře a nárůst koncentrace dusičnanového N během vegetační sezony byl významný také především ve volné půdě, čemuž odpovídá převážně negativní rhizosférický efekt pro N-NO<sub>3</sub>.

## 6 POUŽITÁ LITERATURA

Aerts R., Berendse F., De Caluwe H., Schmitz M., (1990) Competition in heathland along an experimental gradient of nutrient availability. *Oikos* 57: 310-318.

Albrecht J. et al. (2003) Českobudějovicko. In: Mackovi P., Sedláček M. (Eds.). Chráněná území ČR, svazek VIII. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a EkoCentrum Brno, Praha.

Alphei J., Bonkowski M., Scheu S. (1996) Protozoa, Nematoda and Lumbricidae in the rhizosphere of *Hordelynus europaeus* (Poacea): Fauna interactions, response of microorganisms and effects on plant growth. *Oecologia* 106: 111-126.

Anderson, T.H., Domsch, K.H.(1989) Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry* 21, 471–479.

Arnebrant K., Baath E., Söderström B. (1990) Changes in microfaunal community structure after fertilization of Scots pine forest soil with ammonium nitrate or urea. *Soil Biol. Biochem.* 22: 309-312.

Bardget R.D, Streeter T.C., Bol R. (2003) Soil microbes compete effectively with plants for organic-nitrogen inputs to temperate grasslands. *Ecology* 84 (5), 1277-1287.

Bloem J. (1995) Fluorescent staining of microbes for total direct counts. *Molecular Microbial Ecology Manual* 4.1.8:1-12.

Bolton H. Jr., Frederickson J.K., Elliott L.F. (1993) Microbial ecology of the rhizosphere. In: Elhottová D. (Ed.): Vliv zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> na rhizosféru mladých rostlin ozimé pšenice. Biologická fakulta, Jihočeská Univerzita. České Budějovice, 148 pp.

Bonkowski M., Griffiths B.S. Scrimgeour C. (2000) Substrate heterogeneity and microfauna in soil organic „hotspots“ as determinants of nitrogen capture and growth of rye-grass. *Applied soil ecology* 14:37-53.

Bowden W.B. (1989) The biogeochemistry of nitrogen in freshwater wetlands. *Biogeochemistry* 4: 313-348.

Boven G.D., Rovira A.D. (1991) The rhizosphere. In: Y. Waisel, E. Eshel and U. Kafkafi (Eds.) *Plant Roots- The hidden half*. Marcel Dekker, New York, pp. 641-649.

Brady N. C., Weil R. R. (2002) *The nature and properties of soil*. Thirteenth edition. Prentice Hall, New Jersey.

Brinkman R., Van Diepen C.A. (1995) Mineral soils. In: Patten B.C.(ed.), 1990. *Wetlands and shallow continental water bodies*. Volume 1. Natural and human relationships. SPB Academic Publishing by, The Hague.

Bush, D.R. (1993) Proton-coupled sugar and amino-acid transporters in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 44, 513–542.

Cheng W., Zhang Q., Coleman D.C, Carroll C.R., Hoffmann C.A. (1996): Is available carbon limiting microbial respiration in the rhizosphere? *Soil Biol Biochem.* 2, 1283-1288.

Chiarini L., Bevivino A., Dalmastrri C., Nacamulli C., Tabacchioni S. (1997) Influence of plant development, cultivar and soil type on microbial colonization of maize roots. *Applied Soil Ecology* 8, 11-18.

Corstanje R., Reddy K.R., Prenger J.P., Newman S., Ogram A.V. (2007) Soil microbial eco-physiological response to nutrient enrichment in a subtropical wetland. In: *Ecological indicators* 7 (2):277-289.

Craft C. B., Richardson C. J., 1998. Recent and long-term organic soil accretion and nutrient accumulation in the Everglades. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62: 834-843.

De Vries F.T., Hoffland E., Van Eekeren N, Brussaard L., Bloem J. (2006) Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. *Soil. Biol. Biochem.* 38: 2092-2103.

Dijkstra F.A, Hobbie S.E., Reich P.B., Knops J.M.H. (2004) Divergent effects of elevated CO<sub>2</sub>, N fertilization and plant diversity on soil C and N dynamics in a grassland field experiment. *Plant and Soil* 272: 41-52.

Dijkstra F.A., Hobbie S.E., Reich P.B. (2006) Soil Processes Affected by Sixteen Grassland Species Grown under Different Environmental Conditions. *Soil Sci. Soc. Am J.* 70:770-777.

DiTomaso, J.M., Hart, J.J., Kochian, L.V. (1992) Transport kinetics and metabolism of exogenously applied putrescine in roots of intact maize seedlings. *Plant Physiology* 98, 611–620.

Dugan P. J. (1994) Wetlands in the 21st century: the challenge to conservation science. In: Mitsch W.J. (ed.). *Global wetlands old world and new*. Elsevier, Amsterdam.

Dykyjová D. (1973) Content of mineral micronutrients in emergent macrophytes during their seasonal growth and decomposition. In: Hejný, S. (ed.), *Ecosystem Study on Wetland Biome in Czechoslovakia*. Czechoslovak IBP/PT-PP Report. č. 3, Třeboň, 163-172.

Dykyjová D. et al. (1989) *Metody studia ekosystémů*. Academia, Praha.

Engels Ch., Neuman G. Gahoonia T.S., George E, Schenk M. (2000) Assessing the ability of roots for nutrient acquisition. In: Smith A.L. et al. (Eds.) *Root methods*, Springer- Verlag Berlin Heidelberg.

Faulkner S. P., Richardson C. J. (1989) Physical and chemical characteristics of freshwater wetland soils. In Hamer D. A. (ed.), *Sborník konf. Constructed wetlands for wastewater treatment*. Lewis Publisher, Chelsea, Michigan.

Galatowitsch S. M., Whited D. C., Lehtinen R., Husveth J., Schkik K. (2000) The vegetation of wet meadows in relation to their land-use. *Environmental Monitoring and Assessment* 60: 121-144.

Germida J.J., Sicillano S.D., Defreitas J.R. , Scib. A.M. (1998) Diversity of root associated bacteria associated with field grown canola (*Brassica napus L.*) and wheat (*Triticum aestivum L.*). *FEMS Mikrob. Ecol.* 26: 43-50.

Giardina C.P., Binkley D., Ryan M.G, Fownes J.H., Senock R.S (2004) Belowground carbon cycling in a humid tropical forest decreases with fertilization. *Oecologia* 139: 545-550.

Gorissen A., Jansen A.E., Olsthoorn A.F.M. (1993) Effects of a two-year application of ammonium sulphate on growth, nutrient uptake, and rhizosphere microflora of juvenile Douglas-fir. *Plant and soil*. Vol.157, 1: 41-50.

Grayston, S.J., Wang S., Campbell C.D., Edwards A.C. (1998) Selective influence on plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biol Biochem.* 30: 369-378.

Griffiths B.S. (1989) Enhanced nitrification in the presence of bacteriophagous protozoa. *Soil Biol. and Bioch.* 21: 1045-1051.

Gregorich E.G., Liang B.C., Drury C.F., Mackenzie A.F., McGILL W.B. (2000) Elucidation of the source and turnover of water soluble and microbial biomass carbon in agricultural soils. *Soil Biol. and Bioch.* 32: 581-587.

Harte J., Kinzig A.P. (1993) Mutualism and competition between plants and decomposers: Implications for nutrient allocations in ecosystems. *Am. Nat.* 141.:829-846.

Hagendorn F., Saurer M., Blaser P. (2003) A  $^{13}\text{C}$  tracer study to identify the origin of dissolved organic carbon in forested mineral soils. *European Journal of Soil Science* 55: 91-100.

Henry F., Nguyen C., Paterson E., Sim A., Robin C. (2005) How does N availability alter rhizodeposition in *Lolium multiflorum* Lam. Dutiny vegetative growth? In: *Plant and Soil* 269: 181-191.

Hendriks L., Jungk A. (1981) Erfassung der Mineralstoffverteilung in Wurzelnähe durch getrennte Analyse von Rhizo- und Restboden. *Z Pflanzenernähr Bodenkd.* In: Smith A.L. et al. (Eds.) *Root methods*, Springer- Verlag Berlin Heidelberg 2000.

Hojberg O., Sorensen J. (1993) Microgradients of microbial oxygen consumption in a barley rhizosphere model systém. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 431-437.

Hudec K., Husák Š., Janda J., Pellantová J. (1993) Přehled vodních a mokřadních biotopů České republiky, Český ramsarský výbor. Třeboň.

Hütsch B.W., Augustin J., Merbach W. (2002) Plant rhizodeposition – an important source for carbon turnover in soils. *Plant Nutr. Soil Sci.* 165: 397-407.

Johnston C.A. (1991) Sediments and nutrient retention by freshwater wetlands: effect on surface water quality. *CRC Crit. Rev. Environ. Control.* 21: 495-565.

Jones D.L., Darrah P.L. (1996) Role of root exudates in plant nutrient acquisition in low input agricultural systéme, *Agrofor. Forum* 7, 1-3.

Jones D.L., Kielland, K. (2002) Soil amino acid turnover dominates the nitrogen flux in permafrost-dominated taiga forest soils. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 209–219.

Jones D.L., Shannon D., Murphy D.V., Farrar J. (2003) Role of dissolved organic nitrogen in soil N cycling in grassland soils. *Soil. Biol. Bioch.* 36: 749-756.

Jones D.L., Willett, V.B. (2004) Evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and carbon (DOC) concentrations in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 2004, submitted for publication.

Kadlec R.H. a Knight R.L. (1996) *Treatment Wetlands*. CRC Press/Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.

Keddy P. A. (2000) *Wetland ecology: principles and conservation*. Cambridge University Press, Cambridge.

Kennedy A.C (1998) The rhizosphere and spermatosphere p. 389-407. In: J.J. Fuhrmann et al. (Eds.) *Principles and applications of soil mikrobiology*. DM Sylvia, Prentice Hall Inc, Upper Saddle River, NJ.

Kinzig A.P., Harte J. (1998) Selection of microorganisms in a spatially explicit environment and implications for plant access to nitrogen. *J. Ecol.* 86:841-853.

Kramer C., Gleixner G. (2008): Soil organic matter in soil depth profiles: Distinct carbon preferences of microbial groups during carbon transformation. *Soil. Biol. Bioch.* 40: 425 – 433.

Krasil'nikov N.A. (1958) *Microorganisms of Soil and Higher Plants*. In: Vančura V. a Kunc F. (Eds.): *Soil microbial associations*, Academia. Praha, pp.191-218.

Kruk M. (2003) Biogeochemical multifunctionality of wetland ecotones in lakeland agricultural landscape. *Polish Journal of Ecology* 51: 247-254.

Kuzyakov Y., Ehrensberger H, Stahr K. (2002) Carbon partitioning and below-ground translocation by *Lolium perenne*. *Soil Biol. and Bioch.* 33:61-74.

Kuzyakov Y., Domanski G. (2000) Carbon input by plants into the soil. Review. *J.Plant Nutr.Soil Sci.* 163: 421-431.

Kuzyakov Y., Biryukova O.V., Kuznetzova T.V., Mölter K., Kandeler E., Stahr K. (2002) Carbon partitioning in plant and soil, carbon dioxide fluxes and enzyme activities by cutting ryegrass. *Biol. Fertil. Soils.* 35.: 348-358.

Lambers H. (1987) Growth, respiration, exudation and symbiotic associations: the fate of carbon translocated to the roots, In: Gregory P.J., Lake J.V., Rose D.A. (Eds.) *Root development and function. Soc. Exp. Biol. Seminář Ser. 30*, Cambridge university press, Cambridge, 1987, pp. 124 – 145.

Lee K., Wani S.P., Sahrawat K.L., Trimurtulu N., Ito O. (1997) Nitrogen and/or Phosphorus Fertilization Effects on Organic Carbon and Mineral Contents in the Rhizosphere of Field Grown Sorghum. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 43 (1) 117-126.

Liljeroth E., Van Veen, J.A, Miller, M.J. (1990) Assimilate translocation to the rhizosphere of two wheat lines and subsequent utilization by rhizosphere microorganisms at two soil nitrogen concentrations. *Soil. Biol Biochem.* 22, 1015-1021.

Liljeroth E., Kuikman P., Van Veen J.A. (1994) Carbon translocation to the rhizosphere of maize and wheat and influence on the turnover of native soil organic matter at different soil nitrogen levels. *Plant and Soil* 161: 233-240.

Litton C.M., Raich J.W., Ryan M.G. (2007) Carbon allocations in forest ecosystems. Blackwell publishing Ltd., *Global change biology* 13, 2089-2109.

Lovett G.M., Rueth H. (1999) Soil nitrogen transformation in beech and maple stands along a nitrogen deposition gradient. *Ecological Applications* 9 (4) :1330-1344.

Macura J. (1973) Přírozená selekce a adaptace mikroorganismů v půdě. *Biologické listy* 39: 20-35.

Magill A.H, Aber J.D., Curie W.S., Nadelhoffer K.J., Martin M.E., McDowell W.H., Melillo J.M., Steudler P. (2004) Ecosystem response to 15 years of chronic nitrogen additions at the Harvard Forrest LTER, Massachusetts, USA. In: *Forrest ecology and management* 196 (1):7-2.



Matsumoto S., Ae, N., Yamagata, M., 2000. Possible direct uptake of organic nitrogen from soil by chingensai (*Brassica campestris* L.) and carrot (*Daucus carota* L.). *Soil Biology & Biochemistry* 32, 1301–1310.

Mitsch W.J., Gosselink J. (1986) *Wetlands*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.

Mitsch W.J., Gosselink J.G. (1993) *Wetlands*, 2nd edition. Van Nostrand Reinhold, New York.

Mitsch W.J., Gosselink J.G (2000) *Wetlands* 3rd edition. Joku Wiley & Sons Inc., New York.

Naseby D.C., Lynch J.M. (1997) Rhizosphere soil enzymes as indicators of perturbations caused by enzyme substrate addition and inoculation of a genetically modified strain of *Pseudomonas fluorescens* on wheat seed. *Soil. Biol Biochem.* 29:1353-1362.

Nguyen C. (2003) Rhizodeposition of organic C by plants: Mechanisms and controls. *Agronomie* 23: 375-396.

Old K.M., Nicolson T.H. (1975) Elektron microscopical studies of the microflora of roots of sand dune grasses. *New Phytol.* 74: 54-58.

Orme, A. R. (1990): *Wetland morphology, hydrodynamics and sedimentation*. In: Williams M. (Ed.): *Wetlands: A Threatened Landscape*, Basil Blackwell, Oxford, 42.

Papavizas G.C., Davey C.B. (1961) Extent and nature of rhizosphere of lupinus. In: Smith A.L. et al. (Eds.) *Root methods*, Springer- Verlag Berlin Heidelberg 2000.

Paterson E., Sim A., Standing D., Dorward M., James A., Mcdonald S. (2006) Root exudation from *Hordeum Bulhare* in response to localised nitrate supply. In: *Journal of experimental Botany*, Page 1-8.

Phillips P.R., Fahey T.J (2007) Fertilization effect on fineroot biomass, rhizosphere microbes and respiratory fluxes in hardwood forest soils. *New Phytol.* 176: 655-664

Picek et al. (2000) Microbial activities in soils of a healthy and declining reed stand. *Hydrobiologia* 418: 45-55pp.

Pierce D., Bazin M. J. and Lunch J.M. (1995) The rhizosphere as the biofilm. *Microb biofilms* 5: 207-220.

Pitter P. (1999) *Hydrochemie*. Vydavatelství VŠCHT, Praha.

Prach K. (1996) Degradation and restoration of wet and moist meadows in the Czech Republic: general trends and case studies. *Acta bot. Galiica* 143: 441-449.

Quian J.H, Doran J.W., Walters D.T. (1997): Maize plant contributions to root zone available carbon and microbial transformations of nitrogen. *Soil. Biol. Biochem.* 29, 1451-1462.

Rajchard J., Balounová Z., Květ J., Šantrůčková H., Vysloužil D. (2002) *Ekologie III*. Kopp, České Budějovice.

Reddy, K.R. a Patrick, W.H. (1984) Nitrogen transformations and loss in flooded soils and sediments. *CRC Crit. Rev. Environ. Control.* 13: 273-309.

Reddy, K.R. a Graetz, D.A. (1988) Carbon and nitrogen dynamics in wetland soils. In: Hook, D.D. et al. (eds.), *Ecology and Management of Wetlands*. 1. díl: *Ecology of Wetlands*. Timber Press, Portland, Oregon, 307-318.

Richardson, C.J. (1991) Biogeochemical cycle: regional. In: Patten, B.C. (ed.), *Wetlands and Shallow Continental Water Bodies*. SPB Academic Publishing, The Hague, Nizozemí, 259-279.

Rouatt J.W., Katzelson H. and Payne T.M.B. (1960) Statistical evaluation of the rhizosphere effect. *Soil.Sci. Soc. Am. Proc.* 24: 271 – 273.

Rovira A.D. (1956) Plant root exudates and their influence upon soil microorganisms. In: Baker K.F. and Snyder W.C. (eds.) *Ecology of soil-borne plant pathogens*. John Murray, London, pp. 170 – 186.

Schmidt S., Stewart G.R. (1999) Glycine metabolism by plant roots and its occurrence in Australian plant communities. *Australian journal of Plant Physiology* 26:253-264.

Schnürer J., Clarholm M., Rosswall M. (2003) Microbial biomass and activity in an agricultural soil with different organic matter contents. *Soil Biol. Biochem.* 17, 611-618.

Smiley R.W. (1974) Rhizosphere pH as influenced by plants, soils and nitrogen fertilizers. In: Smith A.L. et al. (Eds.) Root methods, Springer- Verlag Berlin Heidelberg 2000.

Sorensen J. (1997) The rhizosphere as habitat for soil microorganisms. p. 21-45. In: J.D. Van Elsa et al (Eds) Modern soil mikrobiology. Marcel Dekker, Inc New York.

Subbarao G.V., Ito O., Sahrawat K.L., Berry W.L., Nakahara K., Ishikawa T., Watanabe T., Suenaga K., Rondon M., Rao I.M. (2006) Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systéme – challenges and opportunities. Critical review in plant science 25 (4):303-335.

Sylvia D. M., Fuhrmann J. J., Hartel P. G., Zuberer D. A. (1998) Principles and Applications of Soil Microbiology. Prentice Hall, Inc., Upper Saddle River.

Šimek M., 2003. Základy nauky o půdě, 3. Biologické procesy a cykly prvků. Johanus, České Budějovice.

Tamm C. O. (1991) Nitrogen in terrestrial ecosystems. Questions of productivity, vegetational changes, and ecosystem stability. Springer-Verlag, Berlin.

Tate R.L. (1995) Soil Mikrobiology. John Winley and Sons, New York, pp.398

Tesařová M. (1993) Micro-organisms in grassland ecosystems. In: Rychnovská M. (Ed.): Structure and Functioning of Seminatural Meadows, Academia Praha, pp 245-264.

Vančura V., Kunc F. (1988) Microorganisms, their mutual relations and functions in the rhizosphere. In: Vančura V., Kunc F. (eds.): Soil microbial associations, Academia. Praha, pp. 191-218.

Venterink H.O., Pieterse N.M., Belgers J.D.M., Wassen M.J., De Rooter O.D. (2002) N, P and K budgets nutrient availability and productivity gradients in wetlands. Ecological Applications 12: 1010-1026.

Vepraskas M.J. (1995) Redoximorphic features for identifying aquic conditions. Technical bulletin 301, North Karolina Agricultural Research Service, North Carolina State University, Raleigh, NC. 33 pp.

Verhagen F.J.M, Hagemann P.E.J., Woldendorp J.W., Laanbroek H.J. (1994) Competition for ammonium between nitrifying bacteria and plant roots in soil in pots; effect of grazing by flagellates and fertilization. *Soil Biol. and Bioch.* 26: 89-96.

Vymazal J. (1995) Čištění odpadních vod v kořenových čistírnách. ENVI s.r.o., Třeboň, 146 pp.

Westover K.M, Kennedy A.C., Kelley S.E (1997) Patterns of rhizosphere microbial community structure associated with co-occurring plant species. *J. Ecol.* 85. 863-873.

Whipps J.M. and Lunch J.M. (1985) Energy losses by the plant in rhizodeposition. *Annu. Proc. Phytochem. Soc. Eur.* 26: 59-71.

Yang C.H., Crowley D.E. (2000) Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:345-351.

Yu, Z., Zhang, Q., Kraus, T.E.C., Dahlgren, R.A., Anastasio, C., Zasoski, R.J. (2002) Contribution of amino compounds to dissolved organic nitrogen in forest soils. *Biogeochemistry* 61, 173–198.