

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

**Přírodovědecká fakulta**

Katedra biologie ekosystémů



**Magisterská diplomová práce**

# **Rychlost dekompozice rostlinného opadu v půdách ledovcových jezer na Šumavě**



Bc. Daniel Vaněk

Vedoucí práce: prof. Ing. Hana Šantrůčková, CSc.

Konzultant: Ing. Jiří Bárta, Ph.D.

**České Budějovice 2008**

VANĚK, D., 2008: Rychlost dekompozice rostlinného opadu v půdách ledovcových jezer na Šumavě (Decomposition rate of plants matter in the soils of glacial lakes in Sumava).

Mgr. Thesis, in Czech) – 64 p., Faculty of Biological Sciences, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

**Anotace:** Natural processes that cause differences in rates of decomposition and mineralisation of organic plants matter in soils of Sumava mountains' glacial lakes were studied using plant litter dominant in understorey of spruce forest in watershed of two lakes, Plesne and Certovo. The aim of this study is to determine the effect plant liter chemistry on decomposition and mineralisation rate. We hypothetize that chemistry of liter of understorey vegetation significantly affect N mineralisation / immobilisation in siols. During four month laboratory experiment were studied the effect of litter quality characteristics on C mineralization rates and N release. Spruce needles (*Picea abies*) and leaves of four dominant species (*Avenella flexuosa*, *Calamagrostis villosa*, *Vaccinium myrthillus* and *Athyrium alpestre*) of understorey vegetation were collected in autumn 2006. Litter was incubated at 0 and 10 °C. CO<sub>2</sub> release was regularly measured each 14 days. Amounts of phenolics, available phosphorus, total and extractable C and N, release of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> were measured at the beginning, after one and four months of incubation.

Má práce se zabývá studiem vlivu rozdílného chemického složení dominantně se vyskytujících druhů rostlinného opadu v povodí šumavských ledovcových jezer Plešného a Čertova. Hlavním cílem této práce bylo určit jaký je vliv odlišného chemického složení opadů na rychlost mineralizace a uvolňování N v půdách povodí studovaných jezer. Předpokládáme, že složení těchto opadů průkazně ovlivňuje mineralizaci / imobilizaci N. Založen byl čtyř měsíční laboratorní experiment, během něhož byly zvolené druhy rostlinného opadu podrobeny inkubaci při dvou rozdílných teplotách (0 a 10°C). Každé dva týdny byla stanovována rychlost respirace. V počátku, po jednom měsíci a na konci inkubace po 4 měsících byly v jednotlivých opadech provedeny chemické analýzy (celkový obsah C a N; uvolňování NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a P<sub>ox</sub>; obsah fenolických látek).

Finanční prostředky pro tuto práci poskytl grant GA ČR 206/07/1200.

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

V Českých Budějovicích dne 5. 5. 2008

.....

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.

**Poděkování:** Mé velké díky patří především členům Katedry biologie ekosystémů za jejich všestrannou ochotu pomoci při psaní této práce, především pak děkuji své školitelce Haně Šantrůčkové za veškerý mi věnovaný čas. Dále děkuji své přítelkyni a svým přátelům, kteří mi během tvorby této práce dodávali optimismus a vždy byli ochotni poradit. V neposlední řadě chci poděkovat své rodině za její nezměrnou podporu během mého studia.

# OBSAH:

<b>1. ÚVOD</b> .....	7
<b>2. LITERÁRNÍ PŘEHLED</b> .....	8
2.1. Šumavská jezera a příchod člověka .....	8
2.2. Půda jako prostředí dekompozice .....	9
2.3. Půdní organická hmota .....	10
2.3.1. Hlavní biogenní prvky půdní organické hmoty .....	11
2.3.1.1. Uhlík .....	11
2.3.1.2. Dusík .....	12
2.3.1.3. Fosfor .....	13
2.4. Dekompozice .....	14
2.4.1. Rozklad rostlinného opadu .....	15
2.4.2. Respirace a mineralizace rostlinného opadu.....	16
2.4.3. Hlavní faktory řídicí rychlost dekompozice a mineralizace .....	17
2.4.3.1. Vliv teploty a vlhkosti .....	17
2.4.3.2. Vliv dekompozitorů .....	18
2.4.3.3. Vliv nejdůležitějších kvalitativních složek .....	20
2.4.4. Rostlinný opad v šumavském lesním ekosystému .....	22
<b>3. MATERIÁL A METODIKA</b> .....	25
3.1. Popis studijních ploch.....	25
3.1.1. Výzkumná plocha Plešné jezero (PL) .....	25
3.1.2. Výzkumná plocha Čertovo jezero (CT) .....	26
3.2. Odběr a nakládání se vzorky .....	26
3.3. Laboratorní experiment.....	27

3.4. Metody stanovení .....	28
3.4.1. Stanovení suché hmotnosti opadu .....	28
3.4.2. Stanovení hmotnostních úbytků .....	28
3.4.3. Stanovení celkového obsahu C a N - CN analýza .....	29
3.4.4. Stanovení vodorozpustných látek .....	29
3.4.4.1. Stanovení rozpustného C ( $C_{EXT}$ ) a N ( $N_{EXT}$ ).....	29
3.4.4.2. Stanovení minerálních forem N ( $NH_4^+$ , $NO_3^-$ ) – FIA .....	30
3.4.5. Stanovení reaktivního P v oxalátovém extraktu .....	31
3.4.6. Stanovení rychlosti bazální respirace .....	31
3.5. Statistické zpracování dat .....	33
<b>4. VÝSLEDKY .....</b>	<b>34</b>
4.1. Kvalita opadu .....	34
4.2. Mineralizace C během inkubace rostlinného opadu .....	36
4.3. Uvolňování živin .....	39
4.4. Odhad vstupu živin do půd povodí .....	44
<b>5. DISKUSE .....</b>	<b>46</b>
5.1. Laboratorní experiment .....	46
5.2. Kvalita rostlinného opadu .....	46
5.3. Rozklad rostlinného opadu .....	49
5.3.1. Mineralizace C a uvolňování N .....	49
5.3.2. Vliv obsahu fenolických látek .....	50
5.3.3. Vliv teploty .....	51
5.3.4. Vliv poměru C/N .....	52
5.4. Mikroorganismy v opadech .....	55
5.5. Důsledky změn ve skladbě lesního ekosystému .....	57

<b>6. ZÁVĚR</b> .....	59
<b>7. POUŽITÁ LITERATURA</b> .....	60
<b>8. PŘÍLOHY</b> .....	67

# 1. ÚVOD

Druhá polovina dvacátého století a s ní spojený rozkvět průmyslu s sebou přinesli celosvětový problém, kterým se stala acidifikace sladkovodních ekosystémů. Od padesátých let minulého století bylo území Šumavy vystaveno postupně vzrůstajícímu vlivu globální antropické zátěže formou dálkového přenosu imisí, kyselých dešťů a dalších vlivů (ZATLOUKAL, 2001). Přírozené biogeochemické cykly živin (N, P, C, Ca, Mg, K) v terestrických a vodních ekosystémech byly touto lidskou činností narušeny, což v konečném důsledku vedlo k porušení původní rovnováhy mezi zdroji těchto živin a jejich spotřebou. Navrácení nové rovnováhy je spojeno se změnami chemismu vody a půdy, jakož i se změnami aktivity organismů a složení společenstev rostlinných i živočišných druhů. Tyto vlivy podstatnou měrou ovlivnily i mineralizační vlastnosti půd v povodí ledovcových jezer Šumavy. Právě typem a pokryvem vegetace, atmosférickou depozicí, hydrologií povodí a vlastnostmi půd a procesy v nich probíhajícími je chemismus těchto horských jezer formován.

Od 80. let 20. století došlo v povodích Čertova a Plešného jezera ke snižování atmosférické depozice dusíku a síry, což také následně vedlo ke snižování jejich odtoku z těchto povodí (VRBA et al., 2000). Negativní vliv acidifikace půd v povodí ledovcových jezer však stále přetrvává a i nadále tak dochází k vyplavování dusičnanů a také fosforu z půd do povrchových vod. Vyplavování dusíku z půdy je v současné době urychlováno zvýšenou rychlostí mineralizace půdní organické hmoty vlivem poškození smrkových monokultur způsobeným kůrovcovou kalamitou, která započala v lesních smrkových porostech v povodí jezer zřejmě již v roce 1996 a která i nadále pokračuje (SVOBODA, 2005). Důsledkem toho v povodích dochází k nahrazování smrkového porostu bylinným patrem, především pak některými druhy trav, zejména metličkou křivolakou (*Avenella flexuosa*) a třtinou chloupkatou (*Calamagrostis villosa*). Jaký dopad budou mít tyto děje na místní ekosystém v důsledku změn půdních procesů v závislosti na měnícím se typu rostlinného opadu a rovněž na zvyšující se průměrné roční teplotě není prozatím zcela zřejmé.

Cíle mé práce byly tyto:

1. pokusit se objasnit jaký vliv má chemické složení jednotlivých druhů rostlinného opadu vyskytujícího se v půdách povodí Plešného (PL) a Čertova (CT) jezera na rychlost mineralizace organické hmoty v těchto půdách.
2. zjistit do jaké míry ovlivňuje teplota rychlost mineralizace organické hmoty v půdách povodí studovaných jezer.

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1. Šumavská jezera a příchod člověka

Přibližně před dvěma staletími, na konci 18. stol., byla Šumava a rovněž i povodí šumavských jezer ovlivněno vybudováním Schwanzerberského plavebního kanálu a následnou intenzifikací těžby dřeva. Tehdy zažívá velkého rozmachu výsadba smrkových monokultur a také řada dalších hospodářských činností, kterými byly např. těžba a zpracování rud. Rovněž pastva dobytka ovlivňuje zdejší charakter lesa. Stav porostů na Šumavě se následně výrazně zhoršuje po sérii vichřic postihující porosty mezi roky 1868 - 1870, kdy k poškození lesů velkou měrou přispěla předchozí nadměrná holosečná těžba (ZATLOUKAL, 2001). V této době rovněž dochází v již tak poškozeném lese k namnožení kůrovce (především *Ips typographus*). Zaměříme-li se na samotná jezera, výška vodní hladiny byla upravována a budovala se stavidla s hrázemi pro snazší splavování dřeva, v povodích se rybařilo (VESELÝ, 1994). Čertovo jezero začíná také sloužit jako retenční nádrž s využitím pro hamry v Železné rudě (TESAŘ, 2003). Koncentrace minerálních forem dusíku se tehdy pohybovala ve vodách jezer téměř pod detekčním limitem stanovení a pH bylo blízké neutrálnímu (VRBA et al., 2000a), povodí tedy byla N s největší pravděpodobností limitována.

Jak už bylo v předchozí kapitole řečeno, druhá polovina 20. století přinesla výrazný nárůst atmosférické depozice N a S (ZATLOUKAL, 2001). To je způsobeno zvýšenou produkcí  $SO_x$  a  $NO_x$  ze spalovacích procesů a  $NH_3$  ze zemědělské výroby. Např. depozice minerálních forem N ve většině horských lesních ekosystémů Evropy dosáhla více než 20 kg  $N\ ha^{-1}\ rok^{-1}$  (IVENS et al., 1990). V roce 1998 dosahovala depozice v povodí Čertova jezera 28 kg  $N\ ha^{-1}\ rok^{-1}$  (KOPÁČEK et al., 2000). Koncentrace  $NO_3^-$  ve vodách nadále kontinuálně vzrůstala a nároky ekosystémů na N tak byly převyšeny. Vlivem toho začalo docházet k exportu N z povodí.

Tyto vlivy tak následně vedly k acidifikaci povodí, jež zde dosáhla vrcholu v 80. letech dvacátého století (ZATLOUKAL, 2001). To mělo za následek pokles druhové diverzity zooplanktonu i makrozoobentosu v jezerech, došlo tím k vyhynutí rybích druhů a proto na přelomu 20. století žily v pelagiálu pouze mikroorganismy (VRBA et al., 2004).

V poslední dekádě 20. stol. došlo k výraznému snížení atmosférických depozic, depozice S poklesla takřka o 80 %, depozice N poklesla přibližně o 35 %, takže se dnes pohybuje v rozmezí 8 - 14 kg  $N\ ha^{-1}\ rok^{-1}$ . Jsou dokumentovány i první náznaky biologického



oživení jezerních vod, do pelagiálu Černého jezera se například navrácí perloočka *Ceriodaphnia quadrangula* (VRBA et al., 2004).

Je patrné, že hydrosféra zareagovala na pokles atmosférické depozice rychleji než-li pedosféra. Acidifikace půdy, tedy snižování její bazické saturace, výrazně poklesla pouze ojediněle (MAJER et al., 2003). I nadále tak dochází k vyplavování  $\text{NO}_3^-$  do jezerních vod a množství vyplavovaného N je ještě navyšováno vlivem poškození smrkových monokultur v důsledku kůrovcového žíru. Jak rychle se celý ekosystém z acidifikace zotaví je tedy závislé i na stavu půd a na stavu vegetace v povodí těchto jezer (WRIGHT and HAUS, 1991).

## 2.2. Půda jako prostředí dekompozice

Půda svými vlastnostmi ovlivňuje pohyb vody a veškerých látek v krajině. Sorpcí či uvolňováním živin vytváří prostředí pro růst rostlin a existenci rozličných skupin organismů (ALEXANDER, 1977). Má funkci významného rezervoáru a probíhá zde celá řada procesů důležitých pro koloběh látek v ekosystému. Mezi nejdůležitější procesy patří dekompozice mrtvé organické hmoty, fixace vzdušného N, vznik humusových látek a případně degradace a intoxikace některých polutantů (HERRICK and WANDER, 1998).

Mezi nejvýznamnější faktory, které ovlivňují vznik půdy a rychlost vývoje půdního profilu, patří matečná hornina, klima, reliéf, typ vegetace a s tím související množství a kvalita rostlinného opadu, aktivita půdních organismů a člověka (ODUM, 1977). Na vzniku půdy se podílejí dva hlavní typy procesů – zvětrávání (fyzikální, chemické a biologické) a humifikace (VACULÍK et al., 1983). Organismy se účastní půdotvorného procesu jak mechanickým rozrušováním substrátu, tak tvorbou chemických látek, hlavně organické hmoty. Procesy tvorby organické hmoty vedou k postupnému obohacování půdotvorného substrátu o organickou hmotu a vytváření sloučenin půdního humusu (NĚMEČEK et al., 1990). Organická složka půdy má původ především v odumřelých částech rostlin. Mrtvá organická hmota se hromadí na povrchu půdy a postupně je rozkládána a transformována (VACULÍK et al., 1983), vytváří tak v půdním profilu horní organický horizont. Na hranici mezi organickým A a minerálním B horizontem se může vytvářet světlejší vrstva, tzv. eluviální subhorizont. Tento horizont je vyplavováním ochuzován o organické a minerální látky ukládající se a promíchávající se s jemnými minerálními částicemi ve svrchní části iluviálního B horizontu (ODUM, 1977). Svrchní organický horizont je vytvářen subhorizontem nadložního humusu a humózním subhorizontem. Nadložní humus lze dělit na

2 vrstvy - na vrstvu opadovou a na vrstvu fermentační (LEEPER and UREN, 1993). Opadová vrstva je tvořena nerozloženou organickou hmotou, tedy převážně rostlinnými zbytky, ty jsou postupně osidlovány mikroorganismy, které zpočátku rozloží snadněji degradovatelné látky a až po té látky hůře rozložitelné (SMOLANDER et al., 1996). Současně je opad rozkládán rovněž mechanicky činností půdní fauny. Vytváří se tak fermentační vrstva částečně rozložených organických zbytků a exkrementů půdních živočichů (RUSEK, 2000b). Část organických látek, které vznikají v průběhu rozkladu organického materiálu, se řadí mezi stabilnější sloučeniny půdního humusu (BEGON et al., 1997). Postupně dochází k promíchávání organické a minerální složky půdy za vzniku organominerálního komplexu (NĚMEČEK et al., 1990) a k tvorbě vlastního humózního subhorizontu. Přítomnost humusu v půdě výrazně ovlivňuje její fyzikální strukturu, provzdušněnost, vlhkostní podmínky (HERRICK and WANDER, 1998) a pufrční schopnosti (BRADSHAW, 1983). Vývoj forem nadložního humusu závisí na typu vegetace, složení substrátu a na činnosti půdních organismů, tedy na půdní organické hmotě.

### **2.3. Půdní organická hmota**

Půdní organická hmota (OH) tvoří průměrně 6% celkové hmotnosti půdy, ale obsah organické hmoty se v půdě pohybuje v širokém rozmezí od 1% v chudých písčítých nebo intenzivně zemědělsky obhospodařovaných půdách až po 80% v rašelinných půdách. Mrtvá organická hmota tvoří přibližně 85% veškeré půdní OH, živé organismy a kořeny tvoří zbylých 15%, z čehož náleží 9% kořenům, 4% mikroorganismům a 2% živočichům. Rychlost rozkladu organických zbytků je tedy významnou měrou ovlivňována půdními organismy (BEGON et al., 1997). Přes svůj malý podíl jsou právě půdní organismy tou částí půdního ekosystému, která zajišťuje rozklad a přeměnu veškeré organické hmoty, která do půdy vstupuje (ŠANTRŮČKOVÁ, 2001). S tvorbou a akumulací organické hmoty v půdě významně souvisí zlepšování fyzikálních vlastností půdy (struktura, sorpční kapacita, pufrční schopnosti), vytvoření zásoby živin dostupných pro rostliny, vývoj koloběhu prvků a kolonizace půdy rozmanitými druhy organismů. Z těchto důvodů je vytvoření půdní organické hmoty pro rozvoj půdy nezbytné. Humusové látky v půdě jsou zde charakterizovány vysokým obsahem uhlíku, nízkým poměrem C/N=10 (ALEXANDER, 1977), amorfním charakterem a různou mírou odolnosti vůči mineralizaci (HERRICK and WANDER, 1998). Koloidní charakter huminových sloučenin a jejich velký vnitřní i vnější povrch zajišťují vysoké sorpční schopnosti těchto látek (LEEPER and UREN, 1993).

Většina primární produkce vegetace se soustřeďuje do opadu (PAUL and CLARK, 1996). Mrtvá organická hmota se hromadí na povrchu půdy a vlivem působení fyzikálních, chemických a biologických činitelů je postupně dezintegrována. Část je jí zcela mineralizována na CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O a anorganické živiny za současného uvolnění energie (BEGON et al., 1997) a část je jí přeměněna humifikačními procesy na huminové látky a stává se součástí zásoby půdní organické hmoty (ALEXANDER, 1977). OH můžeme dále rozlišit na hmotu nezměněnou - rostlinný opad a na hmotu změněnou. Změněná část OH je tvořena zbytky těl živočichů a mikroorganismů v různých stadiích rozkladu, dále pak produkty těchto rozkladných procesů a humusovými látkami (ŠANTRŮČKOVÁ, 2001).

OH má významnou úlohu při vzniku půdní struktury. Je majoritním zdrojem živin pro rostliny a organismy, poskytuje především C, N, S, P, ale i další, minoritní prvky (PAUL and CLARK, 1996). Živiny vázané v půdní organické hmotě se uvolňují do koloběhu procesy mineralizace. Minerální formy živin jsou pak spotřebovávány rostlinami a živočichy v procesu imobilizace a zabudovány do biomasy. Pokud v půdě převažují procesy mineralizace nad procesy imobilizace, dochází k úbytku OH v půdě, k narušení půdní struktury a vyplavování živin. Půdní organická hmota je měřítkem úrodnosti a kvality půd a pro správné pochopení koloběhu a dostupnosti živin je nutná znalost rychlosti jejího rozkladu a obratu.

### **2.3.1. Hlavní biogenní prvky půdní organické hmoty**

Pro vznik stabilního ekosystému je nezbytné vytvoření fungujícího koloběhu hlavních prvků v ekosystému a vytvoření zásoby živin. Mezi hlavní živiny potřebné pro rostliny a půdní organismy se řadí C, N a P (ALEXANDER 1977; ODUM, 1977).

Hlavními procesy přísunu prvků do půdy jsou zvětrávání půdních minerálů (P, Ca, K, Mg), dále srážky (N, Ca), biologický pohyb z nižších půdních horizontů způsobovaný aktivitou rostlin (P, K) a biologická fixace vzdušného N<sub>2</sub> (BRADSHAW, 1983). Významnou roli hraje schopnost půdy tyto látky zachytit a vytvářet jejich zásoby. Sorpční schopnost půdy a kationtová výměnná kapacita zde úzce souvisí se zastoupením jílové frakce v půdě a s obsahem půdní organické hmoty (LEEPER and UREN, 1993).

#### **2.3.1.1. Uhlík (C)**

Uhlík je základním prvkem biosféry, je nepostradatelnou součástí všech organických sloučenin (ODUM, 1977). V elementárním stavu se vyskytuje v přírodě jako grafit nebo

diamant. Tvoří stavební kostru rostlinného materiálu a velmi bohaté na C jsou též fosilní látky vzniklé fosilizací zbytků rostlinné biomasy (např. ropa, uhlí). Pro koloběh uhlíku a transformace organické hmoty v ekosystémech je nutné vycházet ze vstupů biomasy do dekompozičních řetězců. Nejdůležitějšími úlohami řešícími kvantifikaci vztahů na této úrovni je tak zjišťování zásob a produkce biomasy rostlin a její dekompozice (BRADY and WEIL, 2002). Sledování primární produkce, dekompozice biomasy a metody s tímto spojené jsou dnes velmi rozrůzněné, a také aplikovatelnost jednotlivých analýz je různá a pohybuje se od laboratorních fyziologických postupů až po terénní techniky, které se uplatňují při studiu přirozených či polopřirozených ekosystémů. Uhlík jako nekovový prvek má též zajímavou chemickou vlastnost spojovat se s širokou škálou dalších prvků a vytvářet tímto způsobem téměř 10 miliónů směsí. Např. ve spojení s kyslíkem vzniká  $\text{CO}_2$ , který je životně důležitý pro růst rostlin, v této formě je taktéž uvolňován během finálního stádia mineralizace rostlinného opadu (ALEXANDER, 1977) (viz. níže kapitola Respirace a mineralizace rostlinného opadu).

#### **2.3.1.2. Dusík (N)**

V lesních ekosystémech s nízkým antropogenním zatížením a chladným nebo mírným klimatem je N obvykle limitujícím prvkem (GUNDERSEN and BASKIN in MOLDAN and ČERNÝ, 1994). Atmosférická depozice a fixace mikroorganismy žijícími volně či asociovaně s kořeny rostlin jsou hlavním zdrojem N v takovémto ekosystému, přičemž celkové ztráty jsou, vzhledem ke schopnosti ekosystému akumulovat významné množství N do biomasy a půdní organické hmoty, jen několik málo  $\text{kg N ha}^{-1} \text{rok}^{-1}$  (PAUL and CLARK, 1996). Dusičnanový N z atmosférické depozice může být přímo přijímán rostlinami nebo je asimilován mikroorganismy a poté uvolněn do půdního roztoku. Z půdního roztoku je pak spotřebováván rostlinami a teprve po jejich odumření se stává součástí půdní organické hmoty (DYKYJOVÁ et al., 1989). Takto fixovaný N se v rostlinách akumuluje a následně se dostává na zemský povrch a do půdy s mrtvou organickou hmotou (BRADY and WEIL, 2002). Společně s rozkladem a mineralizací organické hmoty dochází k přeměně N na dostupnou formu, tu již mohou rostliny i živočichové snadno využít jako živinu. Rostliny přijímají N hlavně ve formě  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NH}_4^+$ . V cyklu N tedy hrají ústřední roli specifické procesy, jsou jimi fixace vzdušného  $\text{N}_2$ , amonifikace, nitrifikace, denitrifikace a immobilizace. Většina přeměn N v půdě je zprostředkována půdními mikroorganismy (PAUL and CLARK, 1996). Zjednodušeně řečeno, v procesech rozkladu a mineralizace půdní organické hmoty vznikají z organického N aminokyseliny a amoniak (mineralizace organického N), ten může být dále

přeměněn na  $\text{NO}_3^-$  (nitrifikace). Tyto formy N jsou následně využívány půdními organismy a rostlinami v procesu asimilace (imobilizace). Jaké procesy budou převažovat, zda to budou procesy mineralizace N nebo imobilizace, závisí především na množství a dostupnosti N v půdě a jeho obsahu v biomase rostlin. Vzhledem k tomu, že je N vázán v organické hmotě, je jeho akumulace závislá na akumulaci organické hmoty v půdě a jejímu poměru C/N. To potvrzují GUNDERSEN et al. (1998), kteří našli negativní korelaci mezi C/N poměrem a množstvím vyplaveného N v podobě  $\text{NO}_3^-$  iontů. Podstatné rovněž je, že přeměny N v půdě neprobíhají odděleně od mineralizace a přeměny uhlíku a fosforu. Při mineralizaci organického materiálu se tedy kromě minerálních forem N bude uvolňovat i  $\text{CO}_2$  a imobilizace N do mikrobiální biomasy bude doprovázena imobilizací C a P. Při sledování přeměn N v půdě je proto užitečné sledovat i další parametry půdy, kterými jsou např. mineralizace C; C, N a P v mikrobiální biomase, dostupné živiny apod.

Kapacita ekosystému vázat a využívat N z atmosférické depozice a mineralizace není neomezená. Obvyklé množství mineralizovaného N pro jehličnatý les je přibližně 30 - 50 kg N  $\text{ha}^{-1}$   $\text{rok}^{-1}$  (GOSZ, 1981). Dlouhodobější vysoká zátěž nutně vede k saturaci ekosystému dusíkem a k jeho vyplavování z půdy (GUNDERSEN et al., 1998). N ve formě  $\text{NO}_3^-$  není v půdě sorbován, z tohoto důvodu je velmi pohyblivý a velice snadno se z půdy vyplavuje (CROCKER and DICKSON, 1957). N ve formě amonného kationtu se adsorbuje na půdní částice a z půdy se tak snadno nevyplavuje. Avšak pro rostliny je v tomto případě méně přístupný (VACULÍK et al., 1983). Vyplavování  $\text{NO}_3^-$  z půdy je doprovázeno vymýváním bazických kationtů ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ) a jejich nahrazováním kyselými ionty hliníku  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ ,  $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ . Tyto ionty, které se uvolňují rozpouštěním minerálů, jsou pro rostliny toxické (STEVENSON, 1985). Tímto způsobem dochází k prohlubování acidifikace půd a posléze i vod. Dalším důležitým aspektem, ovlivňujícím vyplavování N z půdy je vodní a teplotní režim půdy, především mrznutí a tání. Jarní tání může způsobit náhlé zvýšení obsahu půdního minerálního N a voda z tajícího sněhu promývá půdu ve větší míře (PAUL and CLARK, 1996), což způsobuje jeho další ztráty z ekosystému.

### **2.3.1.3. Fosfor (P)**

Dalším z prvků, který může limitovat rostlinný růst, je fosfor. Půda je o P obohacována především zvětráváním půdních minerálů (VACULÍK et al., 1983). Zatímco u dusíku je tedy jeho hlavním reservoárem atmosféra, P se pohybuje pouze mezi půdou (a hydrosférou) a organismy. Můžeme proto zaznamenat dva základní procesy pohybu P - odběr

rostlinami a uvolňování P z organické hmoty při dekompozici. V půdě v minerálních vrstvách se P vyskytuje majoritně v anorganické formě a to především v jílové frakci půdy (MITCH and GOSSELINK, 2000). Organicky vázaný P tvoří v minerálních vrstvách půdy přibližně jen 30% z celkového množství P. Antropogenním zdrojem P v ekosystému jsou především fosforečná hnojiva (PITTER, 1999).

Množství dostupného P v půdě ovlivňuje růst vegetace. BENDING and MOFFAT (1999) zaznamenali pozitivní korelaci růstu stromů s obsahem P v půdě. Stejnou korelaci lze nalézt pravděpodobně i v případě bylinného patra. Je však důležité, v jaké formě se P v půdě vyskytuje. Většina forem P je jen slabě rozpustná, málo pohyblivá a pro rostliny tedy málo přístupná (VACULÍK et al., 1983). Rozpustnost (tedy i přístupnost) fosforu je především závislá na půdní reakci. Nejvíce je P rozpustný při  $\text{pH}=6,5$  (TAN, 1993). V kyselém prostředí, když je hodnota  $\text{pH}<4,3$ , podíl nerozpustných forem P výrazně vzrůstá v důsledku adsorpce na oxidy Al a Fe (PITTER, 1999) a cyklus tohoto prvku je pak v acidifikovaném lesním ekosystému narušen. Fosfor se tak stává nedostupným pro rostliny (BOLIN and COOK, 1983). Obdobně v zásaditém prostředí při  $\text{pH}>7,2$  je P vázán s  $\text{Ca}^{2+}$  a vzniká nerozpustný fosforečnan vápenatý (LEEPER and UREN, 1993). Deficience fosforu pak může způsobovat snižování mikrobiální biomasy a pokles aktivity (PAUL and CLARK, 1989).

Rostliny mohou ale svými kořeny získávat P i z hlubších minerálních vrstev. S opadem se posléze tento organický fosfor dostává do horních půdních vrstev a v důsledku toho mohou být tyto vrstvy postupně obohacovány, tímto se odlišují od minerálních vrstev půdního profilu (KNOCHE et al., 1999). To je také důvod, proč je často tento prvek vybírán k popisu rozličných interakcí mezi půdou a vegetací za různých podmínek.

## **2.4. Dekompozice**

Proces dekompozice je velmi důležitý z hlediska biogeochemického cyklu živin. Ty jsou jeho prostřednictvím uvolňovány do půdy z organického materiálu a jsou využívány pro další růst vegetace (BRADY and WEIL, 2002). Rozklad je velice složitý a často také časově náročný proces. Jeho rychlostní konstanty se liší s povahou rozkládaného substrátu a rovněž i s charakterem prostředí (RYCHNOVSKÁ, 1985). Obecně jde o to, že fotosyntézou zachycený uhlík vstupuje do půdy ve formě redukováných organických sloučenin. Ty jsou obsaženy v opadu, kořenech a jejich exudátech. Konečnou fází dekompozice je mineralizace, zde se energeticky bohaté organické látky využívají v respiračním procesu a přetváří se na formy anorganické (DYKYJOVÁ et al., 1989). Během dekompozice je tedy nejprve

organická hmota enzymaticky oxidována (BRADY and WEIL, 2002) a následně jsou využívány základní živiny uvolňované v procesech mineralizace.

#### **2.4.1. Rozklad rostlinného opadu**

Jednotlivé rostlinné druhy produkují opad s různým chemickým složením. Mrtvá organická hmota se hromadí na povrchu půdy a je osidlována půdními organismy a postupně chemicky a mechanicky rozkládána. Hlavními složkami rostlinných tkání jsou monosacharidy, pektin, celulóza, hemicelulóza, vosky, kutin, lignin a fenolické látky (OSONO and TAKEDA, 1999). Rychlost rozkladu je určována (1) vlivem podmínek prostředí, (2) vegetačním krytem, (3) schopností přítomných organismů rozkládat organické látky a (4) interakcemi mezi organismy. Protože rozklad organické hmoty je převážně biologický proces, je ovlivňován stejnými faktory prostředí a podobným způsobem jako aktivita půdních organismů (ŠANTRŮČKOVÁ, 2001). Nejdůležitějšími faktory prostředí, které ovlivňují rychlost dekompozice, jsou tedy teplota, vlhkost, pH (ODUM, 1977; SZEGLI, 1988), množství přístupného dusíku (VACULÍK et al., 1983) a kvalita opadu. Rozklad rostlinného opadu je procesem základního významu pro koloběh prvků v ekosystému. V lesním ekosystému je pro vegetaci i mikroorganismy hlavním zdrojem živin opad převážně ve formě listů, popř. jehlic (MOLLER et al., 1999). Stabilita ekosystému tedy závisí na dlouhodobé rovnováze mezi produkcí a dekompozicí tohoto opadu (SATCHELL, 1974).

Ne zcela vyjasněnou otázkou je, jaký vliv na intenzitu rozkladných procesů má roční období. Vyšší intenzita dekompozice byla zaznamenána na podzim a na jaře (ALEXANDER, 1977). Rovněž HARTMANN et al. (1999) zjistili vzrůst dekompozice na konci jara v souvislosti se zvýšením teploty a vlhkosti. Aktivita půdní fauny a mikroflóry v mírném pásu neustává ani v zimě při teplotách blízkých 0°C, mikroorganismy jsou tedy aktivní i pod sněhovou pokrývkou (RUSEK, 2000a; SKOPCOVÁ and ŠANTRŮČKOVÁ, 2005). Při vhodné teplotě a vlhkosti se odumřelý organický materiál na půdním povrchu rozkládá a utváří povrchovou vrstvu, která se včleňuje do organické složky půdy, tedy do humusu (ÚLEHLOVÁ, 1989). Zde platí, že substráty bohatší na dusík, tzn. s nižším poměrem C/N, jsou rozkládány rychleji (SZEGLI, 1988; LEEPER and UREN, 1993). Listnatý opad a opad pocházející z travin je díky nižšímu poměru C/N a nižšímu obsahu fenolických látek rozkládán rychleji než-li jehličnatý opad, u kterého rozklad navíc znesnadňují ochranné vosky na povrchu jehlic (DICKINSON and PUGH, 1974).

Vegetace je také důležitým dekompozičním činitelem. Ovlivňuje rozklad OH tím, že určuje množství organických látek, kvalitu a složení těchto látek, nakonec i časové a prostorové rozložení vstupu organických látek do půdy. Vegetace ale také ovlivňuje mikroklimatické podmínky prostředí, odčerpává živiny z půdy a tím nepřímo reguluje rozkladnou aktivitu půdních mikroorganismů (ŠANTRŮČKOVÁ, 2001). V dobře provzdušněných půdách se na rozkladu organické hmoty podstatným způsobem podílejí živočichové a aerobní mikroorganismy. Půdní rozkladači zde přemění přibližně 40% spotřebovaných organických látek. Zde jsou považovány za nejdůležitější primární destruenty bakterie a mikromycety a to nejen v lesních ekosystémech (PUGH, 1974).

Metody, které studují rychlost dekompozice, se dělí na přímé a nepřímé. Přímé metody sledují úbytek organické hmoty vložené do půdy. Zahrnují např. použití drátěných kontejnerů s opadem, techniku připoutaného listu, metodu opadových sáčků (tzv. litter bag metodu) nebo stopovou metodu s využitím radioizotopů (SINGH and GUPTA, 1977). K metodám nepřímým se řadí odhad rychlosti dekompozice ze sklizňových dat, metoda párových parcel, výpočet dekompoziční konstanty. Pro určení rychlosti dekompozice v přírodních podmínkách však žádná z těchto nepřímých metod není zcela ideální, proto je doporučováno kombinovat více metod (SINGH and GUPTA, 1977).

#### **2.4.2. Respiration a mineralizace rostlinného opadu**

Půdní respirace je uvolňování CO<sub>2</sub> živými, metabolizujícími komponenty půdy - půdními živočichy, půdními mikroorganismy a kořeny. Pokud je respirace měřena v laboratorních podmínkách u homogenizovaného vzorku, reprezentuje především respiraci půdních mikroorganismů. Zahrnuje v sobě jejich množství i aktivitu (ÚLEHLOVÁ, 1989). Jak už bylo řečeno výše, mezi faktory ovlivňující respiraci patří především teplota a vlhkost (LAVELLE and SPAIN, 2001), dále pak hloubka půdy, její provzdušnění, hnojení, obsah minerálů a využití půdy (SINGH and GUPTA, 1977). V laboratorních podmínkách lze odbourat faktory, které primárně ovlivňují respiraci v terénu jako je kolísání vlhkosti a teploty. Při laboratorních měřeních je tedy nutné si uvědomit, že rychlost respirace je zde do jisté míry odlišná od rychlosti respirace *in situ* (DYKYJOVÁ et al., 1989). Bylo ale prokázáno, že existuje korelace mezi laboratorním měřením respirace a rychlostí dekompozice v přirozených podmínkách (SCHINNER et al., 1996). Mezi nejčastěji využívané metody pro měření respirace patří absorpční metoda a měření pomocí plynové chromatografie (GC) a infračervené plynové spektrometrie (IRGA).



Mineralizace organické hmoty probíhá rychle v dobře provzdušněných půdách (ŠANTRŮČKOVÁ, 2001). Oproti tomu v zamokřených, nedostatečně provzdušněných půdách je organická hmota rozkládána převážně anaerobními bakteriemi. Ty přemění na buněčné komponenty pouze 10 - 20% spotřebovaných organických látek a zbytek využijí v procesech tvorby energie, při kterých většinou vzniká jen malé množství CO<sub>2</sub> a mnoho jednoduchých organických kyselin a alkoholů (fermentační procesy). Zmineralizuje se pouze malý podíl spotřebovaných organických látek a vznikne mnoho meziproduktů rozkladu. K tomu, aby proběhla úplná mineralizace, musí být v půdě přítomny ještě další funkční skupiny bakterií, které mohou využívat meziprodukty rozkladu a dále je mineralizovat na oxid uhličitý. Oxid uhličitý (CO<sub>2</sub>) je produkován v půdě a následně emitován do atmosféry. Vzniká rozkladem organické hmoty půdními mikroorganismy, kteří takto získávají energii na svoje přežití a růst (TUOMELA et al., 2000).

### **2.4.3. Hlavní faktory řídící rychlost dekompozice a mineralizace**

#### **2.4.3.1. Vliv teploty a vlhkosti**

Teplota je považována za jeden z nejvýznamnějších parametrů určujících intenzitu přeměn organické hmoty a s nimi spojenými procesy. Vzhledem k stále diskutovanějšímu fenoménu globálního oteplování je tedy důležité znát vliv teplotních změn na aktivitu půdní mikroflóry a s tím související potenciální schopnost půdy být zdrojem nebo sinkem CO<sub>2</sub> při dané teplotě. Teplota je významným faktorem, který ovlivňuje aktivitu organismů, kteří v půdě rostlinnou organickou hmotu rozkládají (POKORNÁ, 1976). Primárním zdrojem tepla v půdě je sluneční energie. Teplotní režim půdy je řízen sezónním a denním střídáním teplot, přítomností vegetace, vlhkostí a hloubkou profilu (ŠANTRŮČKOVÁ, 2001). Teplota půdy přímo působí na fyziologické funkce, nepřímo pak indukcí změn fyzikálně chemických vlastností půdy (difúze, rozpustnost plynů v půdním roztoku aj.). Teplotní odpověď jednotlivých mikroorganismů není uniformní (PAUL and CLARK, 1996). Rychlost rozkladu v chladné temperátní zóně se pohybuje kolem ca 3 tun na hektar za rok (WILLIAMS and GRAY, 1974). Vliv teploty a vlhkosti je vyšší, jestliže je mineralizován snadno dostupný C a N z rostlinného opadu (STOTT et al., 1986). Zjednodušeně lze tak říci, že vlhčí klima rozklad zvyšuje, zatímco sušší klima rozklad zpomaluje (FASSATIOVÁ, 1979).

Voda je hlavní složkou všech organismů a zároveň prostředím, ve kterém probíhají všechny životní pochody. Množství a dostupnost vody je tedy jeden z nejdůležitějších faktorů,

který určuje biologickou aktivitu půdy. Bakterie, prvoci a aktinomycety mohou přežívat pouze ve vodě. Půdní roztok je pro ně prostředím, ve kterém žijí a současně z něho čerpají rozpuštěné organické a minerální látky, které jsou jejich potravou (DOMSCH et al., 1980). Mikrofauna a houby nepotřebují sice vodu jako své životní prostředí, ale potřebují ji pro svůj metabolismus a opět mohou přijímat jen ty minerální látky, které jsou ve vodě rozpuštěné (ŠANTRŮČKOVÁ, 2001).

Za podmínek, kdy je půda vodou zcela nasycena (při 100% plné vodní kapacitě), dochází ale rychle k poklesu koncentrace kyslíku a nastolení anoxických podmínek. Ty mohou být pro řadu půdních dekompozitorů letální. Vlivem poklesu abundance půdní fauny tak následně dochází ke zpomalení rychlosti dekompozice. Rovněž příliš nízká vlhkost má za následek zpomalení dekompozičních procesů. Proto je jako optimální nejčastěji uváděna vlhkost v rozsahu 50 – 75% plné vodní kapacity.

#### **2.4.3.2. Vliv dekompozitorů**

Podle vztahu k teplotě je možné dekompozitory rozdělit na psychofilní, mezofilní, termofilní a psychrotrofní (PAUL and CLARK, 1996). Jejich biologická aktivita je přímou funkcí teploty, tedy začíná při určité minimální teplotě a rychle se zvyšuje a dosahuje vrcholu při teplotě optimální. Půdní živočichové jsou relativně citliví na přehřátí, ale jejich citlivost k nízkým teplotám není tak vysoká. Jejich teplotní optimum se pohybuje převážně pod 20° C (DYKYJOVÁ et al., 1989). Přesto, že jsou půdní živočichové vesměs tolerantní ke snížení teploty, při působení mrazu je jejich množství redukováno více, než je tomu u mikroorganismů (ŠANTRŮČKOVÁ, 2001). Půdní mikroorganismy se také liší svou termotolerancí. Jejich naprostá většina ale dosahuje největšího růstu a aktivity při teplotách okolo 25° C. Obecně lze říci, že při každém zvýšení teploty o 10° C v rozmezí teplot od 0 do 30° C dojde ke zdvoj- až ztrojnásobení mikrobiální aktivity (LELLÁK and KUBÍČEK, 1991). Půdní mikroorganismy mohou růst i při teplotách nižších než 0° C a to vlivem toho, že bod mrznutí půdního roztoku je v průměru až okolo -5° C. Dále je to také díky schopnosti adaptace lipidických složek membrán (ŠANTRŮČKOVÁ, 2001). Důležitou roli zde hrají též vlhkostní podmínky. Před vysušením se půdní živočichové chrání migrací do spodních vrstev půdního profilu a mnoho z nich je před vysycháním chráněno pevnou schránkou. Z mikroorganismů jsou k vodnímu deficitu tolerantnější více aktinomycety a houby než bakterie.

Rozklad rostlinného opadu začíná již na stárnoucí a odumírající rostlinné biomase. Na stojící stařině se přitom nachází jen pouze něco přes 2% z celkového množství dekompozičních bakterií (TESAŘOVÁ, 1993). Schopnost mikroorganismů rozkládat organický materiál z rostlinného opadu závisí na jejich schopnosti produkovat enzymy k tomu potřebné. Následně se tyto enzymy musí dostat od mikroorganismů na místo dekompozice (TUOMELA et al., 2000). Obecně tedy platí, že čím je substrát složitější (ve svém složení), tím více je nutný rozsáhlejší a úplnější enzymatický systém. Přeměny půdní organické hmoty (SOM) zprostředkované mikroorganismy vybavenými příslušným enzymatickým aparátem zahrnují rozličné procesy: část asimilovaného organického materiálu je použita k tvorbě nové mikrobiální biomasy a nových metabolitů, část je uvolněna ve formě CO<sub>2</sub> při respiraci (tedy je zmineralizována) a část je zabudována do půdní organické hmoty (TESAŘOVÁ, 1993). Mikrobiální biomasa a metabolity slouží dále jako substrát pro vyvíjející se společenstva mikroorganismů a uhlík pocházející z této organické hmoty může být takto několikrát recyklován (ODUM, 1977) mikrobiálním společenstvem předtím, než je z půdy uvolněn ve formě CO<sub>2</sub>. Obsah mikrobiální biomasy v půdě a její změny v průběhu roku jsou výsledkem komplexního působení fyzikálních, chemických, biologických i antropogenních faktorů (využití půdy, způsob hospodaření) a současně výsledkem variability těchto faktorů (LAVELLE and SPAIN, 2001). Z těchto faktorů ovlivňují mikrobiální biomasu nejvíce obsah půdní organické hmoty, její kvalita, obsah dusíku, pH půdy a obsah jílu v půdě (TESAŘOVÁ, 1988). Je prokázáno, že poměr SOM : opad : mikrobiální biomasa : půdní živočichové je přibližně 1000 : 100 : 10 : 1 (BRADY and WEIL, 2002).

Půdní mikrobiální biomasa v sobě zahrnuje bakterie, aktinomycety, mikromycety, půdní řasy, prvoky a nematoda menší než 5 µm. Nejpočetnější skupinou mikroorganismů v půdě jsou bakterie (stovky miliónů jedinců na 1 gram půdy), druhou nejpočetnější skupinou jsou aktinomycety (desetitisíce až milióny jedinců na 1 gram půdy) (SYLVIA et al., 1998). Mikrobiální biomasa je důležitým indikátorem změn v obsahu půdní organické hmoty (ŠANTRŮČKOVÁ, 1993, a). Uhlík vázaný v mikrobiální biomase ve svrchní vrstvě půdy (0 - 15 cm) tvoří 1,4 - 6,5 % celkového půdního organického uhlíku. Právě na svrchní vrstvě půdy je započata dekompozice rostlinného opadu, i když k samému prvopočátku rozkladu dochází zřejmě již během závěrečných fází života rostliny.

Kvantitativně nejdůležitější částí této svrchní vrstvy je biomasa mikromycetů (TESAŘOVÁ, 1993). Mikromycety se účastní svou rozkladnou činností na tvorbě humusu a hrají klíčovou roli při rozkladu rostlinného opadu (FASSATIOVÁ, 1979). Mikromycety také mohou využívat větší množství dostupného uhlíku, proto jsou při dekompozici efektivnější

než bakterie (OSTRÝ, 1998). V aerobních podmínkách rozkládají celulosu, lignin, bílkoviny, chitin a jednoduché cukry (DOMSCH et al., 1980). Celulosa a rozpustné látky jsou rozloženy rychle, lignin a látky nerozpustné (např. proteiny) se rozkládají mnohem pomaleji (MIKOLA, 1955).

### **2.4.3.3. Vliv nejdůležitějších kvalitativních složek**

#### **Celulóza a dostupný fosfor**

Mezi nejrozšířenější organické látky v přírodě patří celulóza, která tvoří přibližně 30% z celkové primární produkce (ALEXANDER, 1977). Intenzita, s jakou je celulóza rozkládána, je proto považována za jedno ze základních měřítek biologické půdní aktivity (RYCHNOVSKÁ, 1987), která souvisí s rychlostí rozkladných procesů (VACULÍK et al., 1983). Je to stavební polysacharid, který tvoří důležitou část buněčných stěn a podpůrných tkání rostlin. Obsahuje 44,5% C, 49,3% O<sub>2</sub> a 6,2% H. Základními stavebními jednotkami jsou molekuly D-glukózy spojené v poloze 1,4 v disacharid celobiózu, který vytváří dlouhé řetězce. Molekulová hmotnost celulosy se pohybuje v závislosti na původu mezi  $1,5 \cdot 10^6$  a  $2,3 \cdot 10^7$  (SZEGLI, 1988). V čisté formě je celulóza snadno rozložitelná. V přírodě bývá zpravidla vázána na průvodní látky (pektinové látky, ligninové látky, oleje aj.), které zpomalují její rozklad mikroorganismy (POKORNÁ, 1976). Mikroorganismy rozkládají celulózu pomocí enzymů, tzv. hydroláz (celuláz). V první fázi exoenzym celuláza štěpí celulózu na disacharid celobiózu, v druhé fázi je celobióza štěpena endoenzymem celobiázou na dvě molekuly glukózy. Glukosa je pak využita v anabolických a katabolických procesech. Je tedy zřejmé, že k dekompozici celulózy je také důležité dostatečné množství dusíku a zároveň jsou spotřebovány i další prvky, především fosfor (POKORNÁ, 1976). Většina dostupného P obsaženého v rostlinném opadu pochází zejména z odumřelých rostlinných buněk. V počátku mineralizace opadu se otevřou buněčné stěny a ven do okolí se vylíje jejich vnitřní obsah společně s dostupnou formou P. To následně způsobí zvýšení mikrobiální aktivity a spolu s ní se urychluje také mineralizace uhlíku a dusíku. Z toho vyplývá, že nižší množství dostupného fosforu v tkáních rostlinných opadů významně ovlivňuje rychlost mineralizace uhlíku a uvolňování dusíku. Při nízkém obsahu P je tedy intenzita dekompozice nižší a opad je mineralizován pomaleji (BÁRTA et al., submitted).

## **Obsah fenolických látek**

Fenolické látky jsou heterogenní skupinou přírodních sloučenin. Tato skupina je charakterizována aromatickým jádrem s jednou nebo více hydroxylovými skupinami. Množství dodnes objevených složek převyšuje 100 000. Fenolické látky se mohou vyskytovat buď jako monomery s jednou hydroxylovou skupinou a nebo ve složitějších formách s několika fenolickými hydroxylovými substituenty, v tomto případě jsou označovány jako polyfenoly (NORTHUP et al., 1995). Z těch jsou zajímavé zejména taniny (členěné na hydrolyzovatelné a kondenzovatelné) kvůli svým známým a předpokládaným ekologickým vlivům (TUOMELA, 2000). Fenolické látky hrají důležitou roli především v obraně rostlin vůči herbivorům a patogenním organismům. Navíc některé fenolické látky jako např. antokyaniny mohou chránit list před poškozením způsobeným expozicí rostliny nadměrnému osvětlení. Obsah fenolických látek přítomných během stárnutí a následného odumření listu dále působí inhibičně na mikrobiální dekompozitory, což ve svém důsledku vede ke zpomalení mikrobiální dekompozice rostlinného opadu. Tím je vysvětlen fakt, že rozpustné látky a celulóza jsou v prvních fázích dekompozice využity relativně rychle, zatímco nerozpustné zbytky, kterými jsou právě látky fenolické, se rozkládají mnohem pomaleji (OSONO and TAKEDA, 1999). Fenolické látky lze dělit na vodorozpustné (snadněji rozložitelné) a na nerozpustné, které se rozkládají výrazně pomaleji ve srovnání s jejich rozpustnou frakcí. Množství fenolických látek v rostlinných tkáních se mění v závislosti na rostlinném druhu, na stáří rostliny a na stádiu, tedy stupni rozkladu (MELLILO et al., 1982). Nejběžnější analýzou pro stanovení obsahu celkových fenolických látek je metoda Folin - Chicalteuova.

## **Poměr C/N**

V případě půdy se obecně uvádí, že pokud je podíl C/N v půdě 25 (na 25 g C připadá 1 g N), jsou procesy mineralizace a imobilizace N v rovnováze. Jestliže je však podíl C/N nižší, převládne mineralizace nad imobilizací a N tak může být z půdy vyplavován (PAUL and CLARK, 1996). Konkrétně pro lesní půdy je jako kritický udáván poměr 15-25:1 (LOUSIER and PARKINSON, 1978; LEEPER and UREN, 1993) až 20-30:1 (ALEXANDER, 1977). Tato zjištění jsou v souladu s Evropskou databází ECOFEE jež uvádí, že v lokalitách s poměrem C/N vyšším než 30 se nevyplavoval prakticky žádný N. V lokalitách s hodnotami pod 25 bylo vyloučeno více jak 5 kg N ha<sup>-1</sup> rok<sup>-1</sup>. Na místech s hodnotami mezi 25-30, bylo množství vyplaveného a imobilizovaného N zvýšené, avšak v rovnováze (GUNDERSEN et al., 1998).

V rostlinné biomase je poměr C/N důležitý z hlediska průběhu a rychlosti dekompozice rostlinného opadu. Při zjevném nadbytku N (např. 15:1) je rozklad ve většině případů rychlý a mikroorganismy nevyužitý N je uvolňován do prostředí. Zde může být využit dalšími rostlinami či mikroorganismy. Tento proces je nazýván čistou mineralizací dusíku. Avšak při relativním nedostatku N, např. při poměru 80:1, je mikroorganismy využit veškerý dostupný dusík z rozkládaného rostlinného opadu a rovněž také veškerý dostupný dusík z půdy. Tento proces je nazýván čistou imobilizací dusíku (BRADY and WEIL, 2002).

Zpočátku vegetační sezóny je poměr C/N v rostlinné tkáni relativně vysoký. S odumřením rostliny a zapravením jejího opadu do půdy může ale poměrně rychle klesat. Je to dáno tím, že během dekompozice opadu se většina C spotřebuje respiračními pochody ve formě CO<sub>2</sub>. Většina N ale v půdě zůstává a díky tomu poměr v rozkládaném materiálu klesá (BRADY and WEIL, 2002). V lesním ekosystému lze pak poměr C/N využít jako indikátor rizika vyplavování N z půdy (GUNDERSEN et al., 1998). Pomocí poměru C/N lze též vyjádřit vliv kvality (chemismu) opadu na průběh dekompozičních procesů, to z obecného hlediska znamená, že s nižším poměrem C/N bude rychlost mineralizace vyšší (ŠANTRŮČKOVÁ et al., 2006).

#### **2.4.4. Rostlinný opad v šumavském lesním ekosystému**

Dlouhodobá acidifikace vyvolaná imisními vstupy do lesních ekosystémů způsobila narušení stability a následný rozpad porostů a zásadní kvalitativní změny v půdním prostředí (FIALA et al, 2005). Narušení přirozené půdní kyselosti vlivem imisí vyvolává změny společenstev rostlinných i živočišných (ZATLOUKAL, 2001). Tyto přeměny v rostlinném krytu, prosvětlení korun a v nárůstu bylinného patra v současnosti vedou ke změnám v množství mineralizovaného opadu v půdách povodí obou jezer.

Sledovaná území pokrývá majoritní porost smrku ztepilého (*Picea abies*), dále jen smrk, který je dnes silně poškozen následkem zmiňovaného přemnožení lýkožrouta. V ojedinělém zastoupení se zde vyskytuje také buk lesní (*Fagus sylvatica*) a jeřáb ptačí (*Sorbus aucuparia*), minoritně zde nalezneme rovněž jedli bělokorou (*Abies allba*) (VESELÝ, 1994). V podrostu dominují papratka alpská (*Athyrium alpestre*), dále jen kaprad', s travami třtinou chloupkatou (*Calamagrostis villosa*), dále jen třtina, a metličkou křivolakou (*Avenella flexuosa*), dále jen metlička. Trávy v obou povodích začínají kvantitativně převládat vlivem prosvětlení smrkových porostů právě v důsledku odumření lesa po kůrovcovém žíru. Rovněž

jim svědčí velká míra acidifikace těchto půd (FIALA et al, 2005). V podrostu na místech s nesouvislým půdním krytem, jež je narušován množstvím poloobnažených balvanů, se nejhojněji vyskytuje brusnice borůvka (*Vaccinium myrtillus*), dále jen borůvka. Tomuto druhovému zastoupení pravděpodobně odpovídá zařazení do *Calamagrostio villosea-Piceetum typicum* var. *avenellosum* (SVOBODA, 2005). Typickými mechorosty v těchto lesích jsou kupříkladu *Dicranum fuscescens* či *Polytrichastrum alpinum*. Pokud porovnáme horní plochy povodí s dolními, pak podrost horní plochy povodí Čertova jezera je majoritně tvořen porostem trav společně s kapradí. V případě jezera Plešného je situace obdobná, navíc zde ale ještě v hojném počtu nalezneme borůvku. V podrostu dolních částí území plošně dominují borůvka společně s kapradí, trávy se zde zatím vyskytují spíše ojediněle.

Každý ze zástupců výše jmenovaných rostlinných druhů po svém odumření přispívá ve větší či menší míře do celkového množství mineralizovaného opadu v půdách povodí. Studium fenologie rostlinných společenstev a jednotlivých druhů ukazuje velké rozdíly mezi druhy v sezónním rozvoji biomasy (TESAŘOVÁ, 1988). Zde se nabízí možnost pro upřesnění odhadů celkové produktivity společenstev při jejím dělení na příspěvky jednotlivých rostlinných druhů. Další výhodou tohoto přístupu je rovněž možnost kvantifikace vstupů (do půdy) organické hmoty o různých kvalitativních charakteristikách, kterými jsou např. chemické složení (obsah minerálních látek, základní organické komponenty aj.), dále mechanické a strukturální vlastnosti podmiňující schopnost dekompozice. Odumřelá hmota má tedy nesporně značný význam z hlediska vstupu organické hmoty produkované rostlinami do dekompozičních řetězců (RYCHNOVSKÁ et al., 1985). Bývá též (s ohledem na nadzemní hmotu) klasicky dělena na tzv. stařinu (standing dead matter, SDM) a opad (litter) nemající již spojení s mateřskou rostlinou. Toto klasické dělení je vhodné například pro lesní a křovinná společenstva, kde proces opadávání je zřetelný (SCHLESSINGER, 1977). Avšak nedá se moc dobře a smysluplně užít pro bylinné a travní porosty, protože v nich dochází k intenzivnímu rozkladu bez zřetelného oddělování od mateřské rostliny či k rozkladu celých odumřelých rostlin jako např. u trav se silně vyvinutými mechanickými pletivy jako jsou třtina (FIALA et al, 2005) a metlička. To je ve velké míře právě případ šumavského ekosystému, kdy se lesní porosty postupně přetváří vlivem vzrůstající dominance šířících se trav. Proto zde nemůžeme předpokládat sekvenci živá rostlina - stařina - opad jakožto začátek detritového řetězce, ale musíme v tomto případě uvažovat o skupině celkové mrtvé nadzemní hmoty (RYCHNOVSKÁ et al., 1985). Často prosazovaný argument, že přes uvedený jev je dělení přesto opodstatněné (např. kvůli odlišnému chemismu obou frakcí) není správný, neboť chemické změny odumřelého

materiálu probíhají kontinuálně a můžeme proto mluvit o termínu "dekompoziční status", který lze vyjádřit reálným číslem resp. vektorem. Obdobou může být již používaný stupeň dekompozice.

Výzkum jednotlivých rostlinných opadů a jejich příspěvků do dekompozičního řetězce je velice složitý. V případě studovaných travin (třtina, metlička) je odběr k laboratorním experimentům určujícím chemické vlastnosti těchto opadů obtížný právě z hlediska nesnadného stanovení dekompozičního statusu, neboť tyto rostliny „neopadávají“. Důsledkem toho je přemísťování živin zpět do přeživších kořenů ve formě zásobních látek ještě před samotným úmrtím rostliny (ŠANTRŮČKOVÁ et al., 2006). Z tohoto důvodu je zřejmě nejvhodnější odebírat rostlinný opad na podzim, tedy v předpokládané konečné fázi vegetačního období studovaných rostlinných druhů.



### 3. MATERIÁL A METODIKA

#### 3.1. Popis studijních ploch

Studované lokality se nalézají na území Národního parku Šumava. Šumava patří mezi nejstarší a nejrozsáhlejší pohoří ve střední Evropě. Vznikla v třetihorách při alpinském vrásnění. Z geologického hlediska šumavskou oblast budují silně přeměněné horniny a hlubinné vyvřeliny moldanubika a moldanubického plutonu. Uplatňují se zde vesměs substráty kyselé, především pararuly, migmatity, granitoidy a svory (LOŽEK, 2001). Klimaticky patří Šumava do oblasti chladné - rozkládá se v přechodném středoevropském klimatu mírného pásma. Uplatňují se zde vlivy jak klimatu oceánského, tak i kontinentálního. Průměrné roční teploty se pohybují v závislosti na nadmořské výšce od 6 °C (750 m n.m.) do 3 °C (1300 m n.m.), nejchladnějším měsícem bývá leden. Nejnižší průměrné roční srážky činí 800 - 900 mm na severovýchodních závětrných svazích oblasti (ta je také o ca 0,5 - 0,8 °C teplejší proti centrální části) a maxima 1550 mm dosahují srážky při návětrí podél státní hranice. Šumava náleží do regionu horských podzolů subregionem, ve kterém mezi doprovodnými složkami převažují hydromorfnní půdy (PETRUŠ and NEUHÄUSLOVÁ, 2001). Nejvýznamnějšími půdními jednotkami zde tedy jsou: podzol (*Podzol*), hnědá půda kyselá (*Cambisol*) a rezivá půda (*Spodo-dystric Cambisol*), (klasifikace dle ČGÚ). Na Šumavě se nachází celkem osm jezer ledovcového původu, z nichž pět leží na území České republiky, jsou to jezera Plešné, Čertovo, Černé, Prášílské a Laka. Předmětem mého výzkumu byla dekompozice a mineralizace rostlinného opadu v povodí jezer Plešného a Čertova.

##### 3.1.1. Výzkumná plocha Plešné jezero (PL)

Plešné jezero se nachází na 48°47' s.š. a 13°52' v.d., v nadmořské výšce 1090 m. n. m. Jezero se rozkládá na severovýchodním svahu hory Plechý. Povodí PL pokrývá plochu 66,7 ha včetně plochy 7,5 ha jezera samotného (ŠVAMBERA, 1939 in KOPÁČEK et al., 2002, b). Skalní podloží tvoří granit (VESELÝ, 1994). Zhruba 90% povodí PL pokrývá asi 150 let starý smrko - bukový les s minoritní příměsí jasanu. Podloží PL je tvořeno granitem, který obsahuje více vápníku a méně hořčíku než podloží CT, které je tvořeno svory. Z žulového podloží se zde uvolňuje více P než ze svorů CT (KOPÁČEK et al., 1998). Biochemické charakteristiky půd PL a CT jsou rovněž velmi podobné (C, N a P v mikrobní biomase; mineralizace C) (KOPÁČEK et al., 2002, a,b). Většinou jsou půdy v povodí PL řazeny do

kategorie kyselých podzolů. Profil je tvořen opadovou vrstvou O, svrchním organickým horizontem A (nebo také humusový H horizont), ochuzeným šedavým E horizontem, pod nímž nacházíme obohacený rezavohnědý horizont B (KOPÁČEK et al., 2002, b). Půdy v povodí jsou velmi kyselé.  $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$  se pohybuje od 2,5 (organický horizont) do 4,4 (minerální horizont) (PELÍŠEK, 1978). Do Plešného jezera vtékají 3 menší přítoky (SMRŽOVÁ, 1999).

### 3.1.2. Výzkumná plocha Čertovo jezero (CT)

Čertovo jezero se nachází na 49°10' s.š. a 13°11' v.d., v nadmořské výšce 1030 m.n.m, v jihovýchodním svahu Jezerní hory. Povodí Čertova jezera pokrývá plochu 87,5 ha včetně plochy jezera 10,3 ha. (ŠVAMBERA, 1939, in KOPÁČEK et al., 2002). Skalní podloží jezera tvoří svor (muskovitická rula), s intruzí křemence (VESELÝ, 1994). V současnosti je povodí zalesněno druhotným 90 – 150 let starým smrkovým porostem s řídkou příměsí jedle a buku (VESELÝ, 1994). Povodí CT tvoří rezivá půda, podzol a organicky bohatá nevyvinutá půda (KOPÁČEK et al., 2002, a). Chemické složení půd Čertova jezera je celkově podobné půdám PL, avšak CT vykazuje vyšší koncentrace oxidů železa (KOPÁČEK et al., 2002 b). Rovněž rychlost mikrobiálních přeměn N je vyšší v půdách v povodí CT (mineralizace N, nitrifikace). To souvisí i se zvýšenými koncentracemi vyplaveného  $\text{NO}_3^-$ , které byly zjištěny ve vodách CT (KOPÁČEK and HEJZLAR, 1998).

V půdách CT též dochází spíše k akumulaci P oproti vyššímu odnosu P z půd PL (ŠANTRŮČKOVÁ et al., 2004). Koncentrace celkového půdního P jsou tedy pro obě povodí podobná (KOPÁČEK et al, 1998). Rovněž se zde jedná o velmi kyselé půdy s  $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$  od 2,5 – 4,5. Vodu do jezera přivádí 7 malých přítoků (SMRŽOVÁ, 1999).

## 3.2. Odběr a nakládání se vzorky

Rostlinný opad byl odebrán v Šumavském národním parku v povodí Plešného a Čertova jezera na konci října roku 2005 v době, kdy vegetační sezóna všech tamějších majoritně se vyskytujících druhů již pozvolna končila a odběrové lokality ještě nepokrýval sníh. Odebrány byly jehlice smrku ztepilého, listy brusnice borůvky, lístky a stvoły kapradiny paprkatky alpinské, dále pak nadzemní části travin třtiny chloupkaté a metličky křivolaké. Popisovaný rostlinný materiál byl získán na 4 výzkumných plochách nalézajících se v horních a dolních částech studovaných povodí (foto viz. příloha). Odebraný opad byl po převozu do

laboratoře uskladněn v chladícím boxu při teplotě 4°C a následně použit pro níže popisovaný laboratorní experiment.

### **3.3. Laboratorní experiment**

Laboratorní experiment proběhl v laboratořích Katedry biologie ekosystému Jihočeské univerzity mezi roky 2005-2006. Založen byl 24.10. 2005 a vstupní analýzy čerstvých vzorků byly provedeny den následující. Za čtyři týdny, tedy 21.11. 2005, byly provedeny analýzy po 1 měsíci inkubace. Na konci experimentu po 4 inkubačních měsících byly provedeny analýzy konečné (13.2. 2006).

Z každého druhu výše zmíněného opadu jsem připravil 12 reprezentativních vzorků (opakování), 6 jich bylo inkubováno při teplotě 0°C a 6 při teplotě 10°C. Polovina vzorků (tedy 3 opakování od každé teploty) byla inkubována 1 měsíc a vždy po 2 týdnech byla měřena rychlost mineralizace (respirace). Po uplynutí daného času byly tyto vzorky vyhodnoceny pomocí níže zmíněných chemických analýz. Druhá polovina vzorků byla inkubována ještě o 3 měsíce déle, celkově tedy 4 měsíce. Po ukončení inkubace byly ve zbývajícím nezmineralizovaném opadu stanoveny jeho chemické charakteristiky. Taktéž po dobu těchto 4 měsíců byla každých 14 dní stanovována rychlost respirace (mineralizace).

Celkem tedy bylo pro laboratorní pokus připraveno 120 vzorků (5 druhů rostlinného opadu ze 2 povodí po 6 opakováních při 2 teplotách). Vzorky byly inkubovány v lahvích o objemu 1 litr s neprodyšným gumovým uzávěrem. Na dno těchto láhví byla uložena přibližně dvou centimetrová vrstva středně jemného akvarijního písku. Ten byl před samotným uložením promyt destilovanou vodou z důvodu odstranění možných chemických nečistot, které by zde mohly ovlivnit průběh mineralizace opadu a jeho následné analýzy. Poté byl písek opět ponechán k vyschnutí. Těsně po založení do inkubačních lahví byl pak navlhčen 10 ml destilované vody pro udržování potřebné vlhkosti. Rovněž mohl posloužit k pojmutí přebytečné vlhkosti stékající z inkubujícího se opadu. Na povrch vrstvy písku byla nakonec vložena síťka o velikosti ok 1mm, tím se zabránilo promíchávání písku s opadem. Před samotným počátkem inkubace byl rostlinný opad dovlhčen ponořením do destilované vody na dobu jedné hodiny. Posléze byl tento rostlinný materiál navážen do lahví v takovém množství, aby se na povrchu podložní síťky vytvořila přibližně dvou centimetrová vrstva. Tedy kromě jehlic smrku bylo použito vždy 20 g rostlinného opadu na jednu inkubační lahev, v případě zmiňovaného jehličí to bylo 30 g. Ze zbylého neinkubovaného (nerozloženého) materiálu byla

ihned po založení stanovena aktuální suchá hmotnost (sušina) a rovněž byly provedeny analýzy chemických charakteristik tohoto vstupního opadu.

Po ukončení experimentu jsem jednotlivé vzorky rozdělil na tyto části: 3g byly použity k přípravě vodných roztoků; 1g posloužil ke stanovení obsahu  $P_{ox}$  ( $PO_4^{2-}$ ); 3g opadu byly využity pro zjištění suché hmotnosti opadu, k nim byly posléze dosušeny další 3-4g opadu, toto vše bylo namleto na kulovém mlýnu pro účel stanovení celkových fenolických látek (1g), zbývající část byla odeslána k analýze živin (Mg, K, Al, Na, aj.) do Českého geologického střediska (ČGS). Nevyužitý zbytkový opad byl zamražen jako rezerva pro možné opakování některé z analýz.

### 3.4. Metody stanovení

#### 3.4.1. Stanovení suché hmotnosti opadu (s)

Stanovení sušiny je důležité pro zjištění zastoupení vody a suché biomasy ve vzorku. Do předem zvážené hliníkové váženky jsem přidal malé množství rostlinného materiálu (přibližně 3 g vlhkého opadu). Váženku se vzorkem jsem zvažil a dal vysušit do konstantní hmotnosti (4 hodiny při teplotě 55°C). Po vychladnutí jsem váženku se vzorkem opět zvažil a množství sušiny v opadu vypočítal ze vzorce (vzorec č.1). Suchá hmotnost opadu (sušina) je bezrozměrné číslo, udávající podíl suchého opadu na hmotnosti 1 g čerstvého vzorku.

**Suchá hmotnost opadu (s):**

$$s = (m_s - m_v) / (m_1 - m_v)$$

**Vzorec č. 1:**

$m_v$	hmotnost váženky [g]
$m_s$	hmotnost váženky po vysušení se suchým opadem [g]
$m_1$	hmotnost váženky před vysušením s vlhkým opadem [g]

#### 3.4.2. Stanovení hmotnostních úbytků

Pro zjištění úbytku hmotnosti rostlinného opadu během doby inkubace vlivem probíhající dekompozice a mineralizace jsem použil počáteční a konečné hmotnosti přepočtené na podíl sušiny v těchto vzorcích (vz. č. 2).

$$\begin{aligned} \text{Hmotnostní úbytek} &= \\ &= M1 * S1 - M2 * S2 \end{aligned}$$

**Vzorec č. 2:**  $M1$  – původní hmotnost vzorku,  $M2$  – konečná hmotnost vzorku,  $S1$  – množství sušiny ve vorku na počátku,  $S2$  – konečná sušina

### 3.4.3. Stanovení celkového obsahu C a N - CN analýza

Aby bylo možno stanovit celkový obsah C a N, je nutno předem vysušený opad namlít na velmi jemné částičky. K tomuto účelu slouží tzv. kulový mlýn. Opad je zde mlet přibližně 5 minut při frekvenci 30 kmitů/s. Poté je takto namletý rostlinný materiál navážen (přibližně 7-8 mg) do cínových kelímků a poskytnut k analýze, během níž je zjištěn obsah elementárních prvků (analyzátor NC HermoQuest, Germany). Z navážených hmotností a naměřeného množství elementárních prvků v analyzátoru je nakonec spočteno procentuelní zastoupení prvku ve vzorku.

### 3.4.4. Stanovení vodorozpustných látek

Do NTS lahví (100 ml) byly naváženy 3 g vlhkého rostlinného opadu, ty byly následně zality 30 ml destilované vody, tak aby byl opad pokud možno celý ponořen. Takto připravené vzorky byly umístěny na třepačku, kde se třepaly po dobu 30 minut (170 kmitů/minuta). Po vytřepání byly vzorky ponechány 16 hodin v inkubátoru za konstantní teploty 79°C. Poté byl extrakt z těchto vzorků zfiltrován přes skleněný filtrační papír (velikost ok 0,45  $\mu$ m). Takto získané roztoky byly využity ke stanovení obsahu rozpustného uhlíku  $C_{EXT}$  a dusíku  $N_{EXT}$  a rovněž ke stanovení minerálních forem dusíku.

#### 3.4.4.1. Stanovení rozpustného C ( $C_{EXT}$ ) a N ( $N_{EXT}$ )

Koncentrace  $C_{EXT}$  (DOC) a  $N_{EXT}$  (DN) byly stanovovány v laboratoři Hydrobiologického ústavu Biologického centra AV ČR v Českých Budějovicích (BC HBÚ AV ČR) pomocí analyzátoru SKALAR FORMACS<sup>HT</sup> TOC/TN analýze. Zde je vzorek nastříknut pomocí integrovaného dávkovače do vysokoteplotního reaktoru, v této fázi je při vysoké teplotě (950°C) veškerý organický i anorganický C oxidován na plynný oxid uhličitý ( $CO_2$ ), zatímco chemicky vázaný N je konvertován na NO. Úplnost oxidace zde zabezpečuje kobaltový katalyzátor. Proud vzduchu (syntetisch luft od Linde) nese tyto oxidační produkty

do detektorů, kde je nejprve v infračerveném detektoru stanoven  $\text{CO}_2$  (při 4,2  $\mu\text{m}$ ). Následně je v detektoru ND 10 stanoven i oxid dusnatý. Na tomto místě je plyn smíchán s ozónem za následného vytvoření excitovaného dusíku ve formě oxidu dusičitého ( $\text{NO}_2$ ). Rychlý rozpad  $\text{NO}_2$  produkuje záření, jehož intenzita je posléze změřena fotonásobičem. Výsledné koncentrace byly udávány v jednotkách  $[\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}]$ , tyto byly dále přepočteny na vhodnější formu  $[\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \text{DS}]$  nebo případně  $[\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1} \text{DS}]$ .

#### 3.4.4.2. Stanovení minerálních forem N ( $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_3^-$ ) - FIA

Koncentrace  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NH}_4^+$  byly stanoveny spektrofotometricky na FIA (Flow Injection Analyzer) dle výrobcem doporučeného postupu (přístroj FIA: FIAstar 5012 analyzátor, 5042 detektor, 5027 autosampler, výrobce: Foss Tecator, Švédsko).

Samotné měření probíhá tím způsobem, že je nejprve vzorek smíchán s reakčními činidly, čímž vzniká zbarvení, jehož intenzita se měří spektrofotometricky. Vzorek je dále z automatického dávkovače nasáván do dávkovacího ventilu, odkud je hadičkami dávkován přesný objem do tzv. chemifoldu pomocí peristaltického čerpadla. V chemifoldu se vzorek mísí s činidly a tato směs dále prochází kyvetou, kde je změřena absorbance. Z kalibrační křivky se pak vypočte koncentrace stanovovaného iontu ve vzorku. Před samotnou analýzou se ještě nastaví základní parametry metody: doba nasávání vzorku, doba injekce, doba měření a koncentrace standardů. Kalibrace přístroje je prováděna před každým novým měřením vzorků. Přepočet výsledků byl totožný jako u metody rozpustného  $C_{\text{EXT}}$  a  $N_{\text{EXT}}$ .

**Stanovení  $\text{NO}_3^-$**  (detekční limit: 0,1  $\text{mg NO}_3\cdot\text{l}^{-1}$ ): Měřený vzorek zprvu prochází přes kadmiovou kolonu, přičemž dochází k redukci dusičnanů na dusitanů. Následně je takto redukován vzorek smíchán se sulfanylamidem ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ ), tím vzniká diazosloučenina, jež reaguje s N-(1naftyl)-ethylendiamindihydrochloridem ( $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\cdot 2\text{HCl}$ ). Absorbance vzniklého nachového roztoku se měří při 540 nm. K přípravě standardů se používá dusičnan draselný ( $\text{KNO}_3$ ). Výsledkem je určité množství dusičnanů a dusitanů, kdy samotnou koncentraci dusičnanů získáme po odečtení koncentrace dusitanů.

**Stanovení  $\text{NH}_4^+$**  (detekční limit: 0,1  $\text{mg NH}_4\cdot\text{l}^{-1}$ ): Vzorek je nejprve smíchán s 0,1M NaOH. Tím dojde k převedení amonných iontů na nedisociovanou plynnou formu amoniaku. Plynný amoniak difunduje skrz polopropustnou PTFE membránu do „AB indikátoru“ (tajného složení, Tecator, Švédsko), kde způsobí změnu jeho zbarvení. Absorbance je měřena při 590 nm a je přímo úměrná koncentraci amonných iontů. Jako kalibrační se

používají standardy v rozmezí hodnot 0,1 – 0,5 mg  $\text{NH}_4.\text{l}^{-1}$ . Pro jejich přípravu je užíván chlorid amonný. Celkové množství minerálního N (DIN) bylo spočítáno jako součet  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$ .

### 3.4.5. Stanovení reaktivního P v oxalátovém extraktu

Koncentrace  $\text{P}_{\text{ox}}$  byla stanovena na spektrofotometru Jenway 6305 (Anglie).

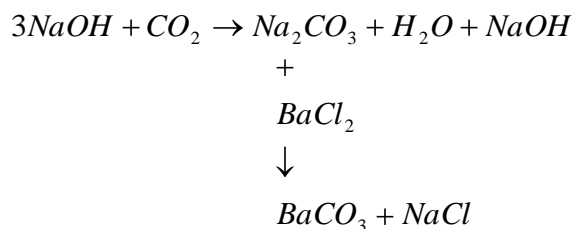
**Stanovení  $\text{P}_{\text{ox}}$**  (detekční limit: 2  $\mu\text{g P-PO}_4^{2-}.\text{l}^{-1}$ ): Orthofosforečnany tvoří v kyselém prostředí s molybdenanem amonným a vinanem antimonylo-draselným komplex  $\text{PSb}_2\text{Mo}_{10}\text{O}_{40}$ . Tento komplex je posléze redukován kyselinou askorbovou za vzniku fosfoantimonylo-molybdenanové modři. Absorbance je měřena při 660 nm (KOPÁČEK and HEJZLAR, 1991). Při stanovení  $\text{P}_{\text{ox}}$  je nutno věnovat zvýšenou pozornost čistotě laboratorního skla pro zabránění možné kontaminace vzorku zbytkovým P.

Vzorky opadu byly ponechány k vysušení volně na vzduchu při standardní pokojové teplotě (RT 20°C). Posléze jsem takto vysušený opad o hmotnosti 1 g navážil do NTS lahvi (100 ml) a zalil jej 20 ml extrakčního činidla, tedy roztokem kyseliny šťavelové a šťavelanu amonného (  $(\text{COONH}_4)_2 \text{H}_2\text{O}$  a  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Po zalití byly vzorky ponechány 2 hodiny v tmavé místnosti bez přístupu světla. Po uplynutí dané doby byl extrakt přefiltrován přes skládaný filtrační papír předem promytý destilovanou vodou. Následně byl extrakt (1 ml) použit pro stanovení koncentrace  $\text{P}_{\text{ox}}$ . Jako slepý vzorek (blank) jsem použil stejným způsobem přefiltrované extrakční činidlo. K 1 ml extraktu byly postupně přidány roztoky: 2 ml 0,125 M  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 1 ml činidla (roztok kyseliny askorbové a  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  s  $\text{KSbO} \cdot \text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) a 6 ml destilované vody, to vše bylo aplikováno do skleněných laboratorních zkumavek (20 ml). Po 30 minutách byla na spektrofotometru měřena absorbance (ABS) při vlnové délce 660 nm. Výsledná koncentrace fosforu [ $\mu\text{gP} \cdot \text{g}^{-1}$ ] byla vypočtena z kalibrační křivky.

### 3.4.6. Stanovení rychlosti bazální respirace

Respirace opadů, tedy množství vydýchaného oxidu uhličitého, byla stanovována absorpční metodou s titrační koncovkou (ISERMEYER, 1952; JÄGGI, 1976) (absorpce  $\text{CO}_2$  do NaOH pomocí alkalimetrické titrace HCl po přidavku  $\text{BaCl}_2$ ). Popisována je dále jako rychlost mineralizace C ( $\text{C}_{\text{MIN}}$ ).

Princip reakce:



Do každé sklenice na povrch rostl. opadu byla umístěna kádinka s 20 ml 1M NaOH. Současně byly založeny také tři slepé vzorky, tedy prázdné skleněné lahve s vloženou kádinkou stejného roztoku 1M NaOH. Sklenice se vzorky jsem pak neprodyšně uzavřel a nechal inkubovat ve tmě při konstantní teplotě 0 a 10 °C. Po každém měření bylo do kádinky opět přidáno 20 ml čerstvého 1M NaOH pro další analýzu. Následně byly vzorky ponechány k inkubaci v hermeticky uzavřené nádobě po dobu 2 týdnů.

**Titrace odměrným roztokem 0,5 M HCl:** Metoda je založena, jak již bylo výše řečeno, na jímání z opadu se uvolňujícího CO<sub>2</sub> během inkubace do roztoku NaOH. Při reakci vzniká Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Množství nezreagovaného hydroxidu sodného je pak titračně stanoveno 0,5M HCl na acidobazický indikátor fenolftalein.

Každé 2 týdny jsem z inkubačních lahví vyňal kádinku s 1M NaOH. Před samotnou titrací bylo nejprve do každé z těchto kádinek přidáno 5 ml 12,5% BaCl<sub>2</sub>, tím došlo ke vzniku bílé sraženiny. Po následném přidání 3-5 kapek fenolftaleinu se roztok zbarvil do tmavě růžové barvy. Poté byl vzniklý roztok titrován 0,5 M HCl až do bodu ekvivalence, tehdy růžový nádech zmizel a roztok se zcela odbarvil. Množství spotřebované HCl je ekvivalentní zbylému množství NaOH, které nezreagovalo s CO<sub>2</sub> (čím nižší hodnota spotřebované HCl, tím méně zbývajícího NaOH a tím vyšší respirace). Přesná koncentrace použité kyseliny byla stanovena titrací roztoku Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> na indikátor methyloranž.

Výsledky jsem následně vyjádřil jako **rychlost respirace (mineralizace C) r** (vzorec č. 3):

$$r = (A - B) \cdot c_{\text{HCl}} \cdot 6005 / (m \cdot s \cdot t) \quad [\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{DS den}^{-1}]$$

**A** průměrná spotřeba HCl na titraci 3 blanků [ml]

**t** doba inkubace [den]

**B** spotřeba HCl na titraci vzorku [ml]

**m** hmotnost navážky [g]

**c<sub>HCl</sub>** přesná koncentrace roztoku HCl [ml]

**s** sušina opadu [g]

**6005** přepočtový koeficient



Dále jsem výsledky vyjádřil jako **kumulativní respiraci R** (stanovení celkové C mineralizace, vzorec č. 4):

$$R = \sum r_x \cdot t_x \quad [\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{DS}]$$

**r** rychlost respirace [ $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{DS den}^{-1}$ ]

**t** doba inkubace [den]

**x** pořadí stanovení v průběhu pokusu (1 - 3)

### 3.5. Statistické zpracování dat

Základní statistické analýzy byly provedeny v programu Statistica 8.0. Použita byla nejprve faktoriální ANOVA pro zhodnocení teplotních rozdílů a rozdílů v chemismu mezi jednotlivými typy opadu. Dále byl použit Tukey HSD test pro stanovení hodnoty průkaznosti rozdílů mezi mineralizačními rychlostmi (hladina signifikace  $p \leq 0,05$ ). Veškeré výsledky zde uváděné jsou přepočteny na suchou hmotnost rostlinného materiálu. Všechna měření byla prováděna ve 3 opakováních, přičemž jedno opakování odpovídalo opadu v jedné inkubační lahvi.

## 4. VÝSLEDKY

### 4.1. Kvalita opadu

Ze srovnání kvalitativních vlastností vstupního (neinkubovaného) rostlinného materiálu je zřejmé, že obsah dusíku v jednotlivých opadech je méně odlišný než-li obsah C, což ve svém důsledku způsobilo také odlišnosti mezi opady při vyjádření poměru  $C_{TOT}/N_{TOT}$ . V poměrech  $C_{TOT}/N_{TOT}$  byly zjištěny průkazné odlišnosti mezi oběma povodími. Nejvyšším poměrem se vyznačovalo smrkové jehličí a rovněž borůvčí dosahovalo vysokých hodnot. Nejnižší poměr byl naopak zjištěn v opadu trav (Tabulka 1.).

Rovněž v případě vodorozpustných látek byly zjištěny podstatné odlišnosti. Rozdíly vykazoval také obsah  $P_{ox}$  a rovněž u obsahu celkových fenolických látek jsem zaznamenal mezi jednotlivými opady v rámci jednoho jezera průkazné odlišnosti. Nejnižším obsahem celkového dusíku, rozpustného fosforu a nejvyšším obsahem fenolických látek se vyznačovalo smrkové jehličí. Naopak obě studované trávy, třtina i metlička, vykazovaly ze všech opadů nejvyšší hodnoty  $C_{EXT}$ ,  $N_{EXT}$  a  $P_{ox}$ . Současně se vyznačovaly nejnižším obsahem fenolických látek (Tabulka 1.).

Pohlédneme-li na rozdíly mezi stejnými druhy opadů z obou studovaných povodí, pak co do obsahu celkového uhlíku ( $C_{TOT}$ ) nebyly mezi povodími nalezeny žádné průkazné rozdíly. V případě obsahu celkového N ( $N_{TOT}$ ) žádné podstatné rozdíly rovněž nalezeny nebyly. Je zde však určitý trend, který při srovnání obou povodí indikuje vyšší obsah  $N_{TOT}$  u opadu z povodí CT oproti PL. To však neplatí pro trávy, kde je situace opačná a travinné opady pocházející z CT vykazují nižší obsahy celkového N ve srovnání s opady z povodí druhého jezera. U vodorozpustných látek byly v případě  $C_{EXT}$  prokázány mezi povodími znatelné rozdíly u opadů metličky a kapradiny. Rozdíly v  $N_{EXT}$  se nejvíce projevíly u obou travních opadů, z nichž se uvolnila průměrně téměř polovina z celkového v nich obsaženého dusíku.

Stanovení celkového obsahu fenolických látek v opadech neukázalo průkazné rozdíly mezi povodími. V opadech PL i CT jezera vynikalo nejvyšším obsahem fen. látek smrkové jehličí. Naopak nejnižšími hodnotami se vyznačovaly v obou povodích metlička společně s třtinou. Obsah fenolických látek dosahoval v případě jehličí téměř 48% z jeho celkové hmotnosti, což je ve srovnání s travami (1 – 7%) velmi podstatný rozdíl. Obsah dostupného (extrahovatelného)  $P_{ox}$  byl prokazatelně nejvyšší u opadu metličky a nejnižších hodnot dosahoval u jehličí smrku. V případě borůvky a kapradiny byl obsah dostupného fosforu

oproti jehličí též relativně vysoký. Mezi povodími však průkazné rozdíly v obsahu  $P_{ox}$  u žádného z opadů zjištěny nebyly (Tabulka 1.).

**Tabulka 1.** Porovnání chemického složení jednotlivých druhů opadu v počátku inkubace. Data reprezentují průměry a směrodatné odchylky ( $n=3$ ). Odlišná písmena u hodnot znázorňují průkazný rozdíl mezi jednotlivými chemickými vlastnostmi opadů ( $P < 0.05$ ).

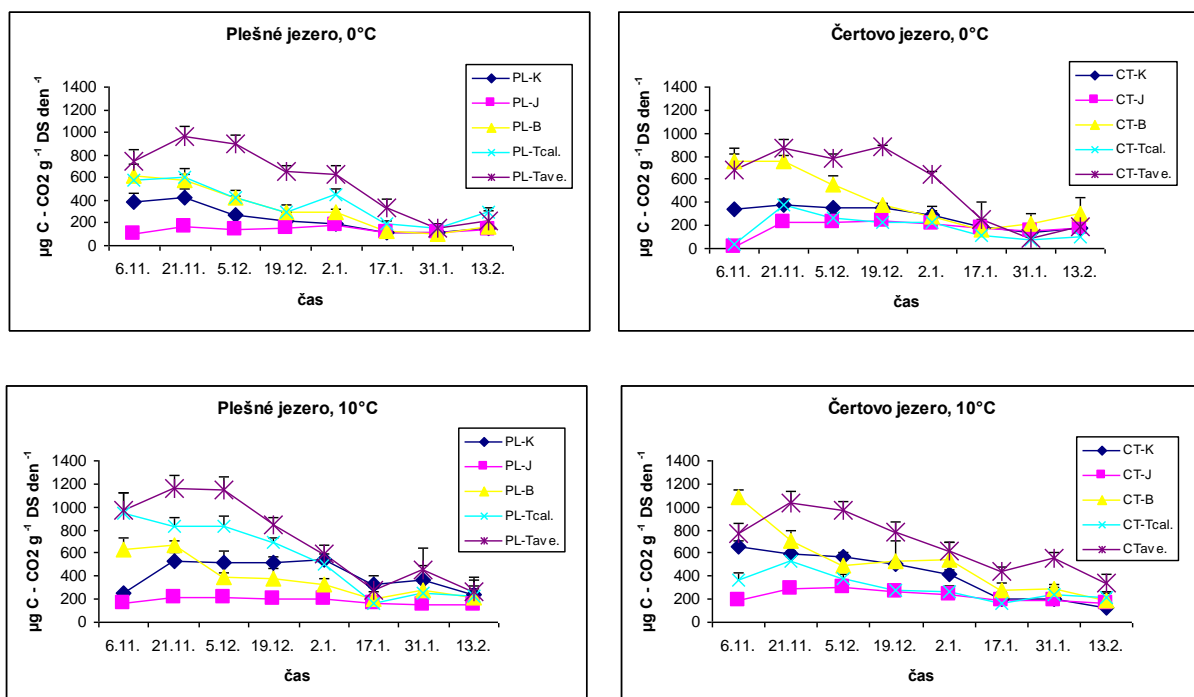
povo- dí	druh opadu	$C_{TOT}$	$N_{TOT}$	$C_{EXT}$	$N_{EXT}$	Obsah fenolických látek	$P_{OX}$	$C_{TOT}/$ $N_{TOT}$	$C_{EXT}/$ $N_{EXT}$
		%		% $C_{TOT}$	% $N_{TOT}$	$mg \cdot g^{-1}$	$\mu mol \ g^{-1}$	molární poměr	
<b>PL</b>	jehličí	49.37 ± 0.29 <sup>c</sup>	1.01 ± 0.08 <sup>a</sup>	12.71 ± 0.53 <sup>c</sup>	26.49 ± 3.21 <sup>b</sup>	467 ± 8 <sup>a</sup>	0.96 ± 0.05 <sup>a</sup>	54.49	31.71
	borůvčí	49.05 ± 0.26 <sup>c</sup>	1.02 ± 0.11 <sup>a</sup>	13.21 ± 0.14 <sup>cd</sup>	9.04 ± 0.51 <sup>a</sup>	308 ± 10 <sup>b</sup>	2.49 ± 0.19 <sup>bcd</sup>	51.98	90.31
	kapradí	45.60 ± 0.25 <sup>ab</sup>	1.41 ± 0.42 <sup>ab</sup>	12.75 ± 0.02 <sup>c</sup>	9.00 ± 0.91 <sup>a</sup>	193 ± 20 <sup>c</sup>	2.37 ± 0.12 <sup>bc</sup>	31.25	47.35
	metlička	45.61 ± 0.28 <sup>ab</sup>	1.97 ± 0.19 <sup>c</sup>	12.30 ± 1.33 <sup>bc</sup>	46.65 ± 4.65 <sup>c</sup>	52 ± 7 <sup>e</sup>	4.40 ± 0.17 <sup>g</sup>	25.43	7.08
	třtina	44.82 ± 1.43 <sup>ab</sup>	1.75 ± 0.64 <sup>abc</sup>	7.84 ± 0.87 <sup>a</sup>	26.49 ± 1.34 <sup>b</sup>	17 ± 5 <sup>f</sup>	3.07 ± 0.19 <sup>de</sup>	24.26	7.97
<b>ČT</b>	jehličí	50.04 ± 0.21 <sup>c</sup>	1.15 ± 0.16 <sup>a</sup>	12.58 ± 1.14 <sup>c</sup>	23.42 ± 1.73 <sup>b</sup>	477 ± 23 <sup>a</sup>	1.07 ± 0.05 <sup>a</sup>	46.38	27.84
	borůvčí	47.35 ± 0.17 <sup>bc</sup>	1.38 ± 0.03 <sup>b</sup>	14.76 ± 0.40 <sup>cd</sup>	8.83 ± 0.12 <sup>a</sup>	293 ± 24 <sup>b</sup>	2.74 ± 0.16 <sup>cde</sup>	39.48	65.54
	kapradí	45.11 ± 1.30 <sup>ab</sup>	2.05 ± 0.39 <sup>bc</sup>	9.38 ± 1.16 <sup>ab</sup>	12.05 ± 0.11 <sup>a</sup>	149 ± 11 <sup>d</sup>	3.20 ± 0.17 <sup>e</sup>	23.09	17.85
	metlička	44.77 ± 0.16 <sup>ab</sup>	1.53 ± 0.18 <sup>ab</sup>	16.01 ± 0.42 <sup>d</sup>	57.27 ± 1.42 <sup>c</sup>	70 ± 5 <sup>e</sup>	3.80 ± 0.21 <sup>f</sup>	31.66	9.60
	třtina	44.14 ± 0.79 <sup>a</sup>	1.09 ± 0.20 <sup>a</sup>	9.28 ± 0.27 <sup>ab</sup>	54.86 ± 6.22 <sup>c</sup>	11 ± 5 <sup>f</sup>	1.98 ± 0.21 <sup>b</sup>	42.51	8.96

## 4.2. Mineralizace C během inkubace rostlinného opadu

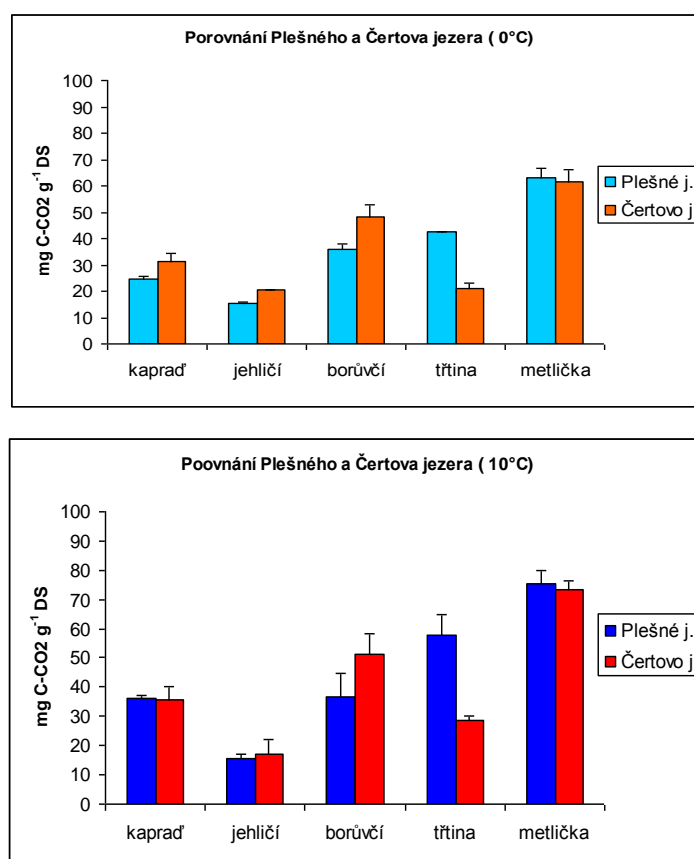
Během čtyř měsíční inkubace se v mém experimentu vliv teploty na rychlost mineralizace C ( $C_{\text{MIN}}$ ) ukázal jako zanedbatelný. Ačkoliv se některé druhy opadů vyznačovaly při inkubační teplotě 10°C mírně vyšší rychlostí rozkladu (Obrázek 1.), nebyly tyto rozdíly ve většině případů statisticky průkazné. Rovněž množství zmineralizovaného C (vyrespirovaného jako  $\text{CO}_2$ ) bylo zjištěno při srovnání obou inkubačních teplot statisticky nevýznamně vyšší při teplotě 10 °C. Nejvíce C ( $\text{CO}_2$ ) vyrespirovala metlička, nejméně pak jehličí (Obrázek 2.).

$C_{\text{MIN}}$  byla ovlivněna spíše typem (kvalitou) opadu než-li teplotou, při které inkubace probíhala. Efekt typu opadu byl nejvyšší především v časných fázích dekompozice ve srovnání s koncem experimentu a tedy pokročilejším stádiem rozkladu. Během prvního měsíce inkubace (dekompozice) vykazovaly opady vzrůstající respirační rychlost a to při obou inkubačních teplotách. Po uplynutí čtyř týdnů pak rychlost respirace počala pozvolna klesat, aby se v samém závěru experimentu po čtyřech měsících inkubace ustálila a dále již nijak významně neměnila. Tento trend byl zaznamenán při obou inkubačních teplotách (Obrázek 1.).

**Obrázek 1.** Průběh mineralizace (respirační) u jednotlivých opadů z obou jezer při 0 a 10°C.



**Obrázek 2.** Porovnání kumulativních respirací opadu při obou inkubačních teplotách (0 a 10°C).

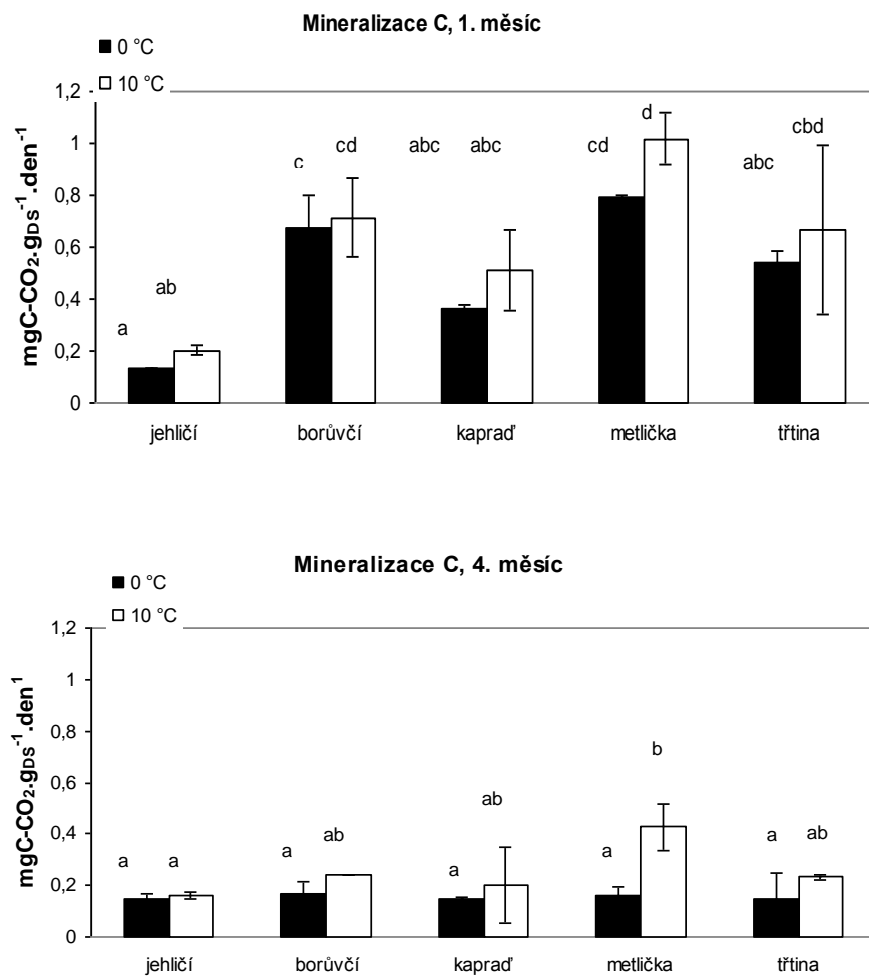


Shodně s vysokým obsahem N a P a současně nízkým podílem fenolických látek byla v opadu trav stanovena vyšší  $C_{MIN}$  po prvním měsíci inkubace, než-li tomu bylo v případě jehličí (Obrázek 3.), které se vyznačovalo opačným trendem co do obsahu těchto látek.  $C_{MIN}$  u obou druhů trav byla vyšší také oproti  $C_{MIN}$  zjištěné v opadu kapradiny a borůvky, které obsahovaly vyšší množství fenolických látek a současně méně snadno dostupného N a P (Tabulka 1.).  $C_{MIN}$  byla prokazatelně negativně ovlivněna množstvím celkových fenolických látek v opadu (Tabulka 4.). V pokročilejším stupni rozkladu byla  $C_{MIN}$  již signifikantně nižší ve srovnání s 1. měsícem inkubace kromě jehličí.  $C_{MIN}$  se v jehličí od počátku dekompozice podstatně nezměnila (Obrázek 3.).

Pokud porovnáme průběhy mineralizací C mezi opady v závislosti na lokalitě, na které byly odebírány, pak ani zde nelze říci, že by opady z jednoho jezera vykazovaly průkazně odlišné mineralizační vlastnosti než-li totožné druhy opadu z jezera druhého. Avšak výjimkou byl opad třtiny. Při porovnání průběhů mineralizace tohoto travinného opadu je patrné, že v prvním měsíci inkubace byla mineralizace rychlejší v případě opadu z Čertova jezera než-li

v případě opadu pocházejícího z jezera Plešného. Po jednom měsíci po spotřebování živin mikroorganismy  $C_{MIN}$  u opadu třtiny z Čertova j. poklesla a od  $C_{MIN}$  opadu z Plešného j. se již prakticky nelišila (Obrázek 3.). Mezi oběma sledovanými povodími tedy nebyl v mineralizaci rostlinných opadů nalezen podstatný rozdíl. Na základě těchto výsledků lze konstatovat, že se stejné druhy opadů z obou povodí mezi sebou prakticky neodlišovaly.

**Obrázek 3.** Rychlosti mineralizace ( $C_{MIN}$ ) opadu v 1. a 4. měsíci při obou inkubačních teplotách (0 a 10°C). Odlišná písmena u hodnot znázorňují průkazný rozdíl mezi  $C_{MIN}$  jednotlivých opadů ( $P < 0.05$ ).

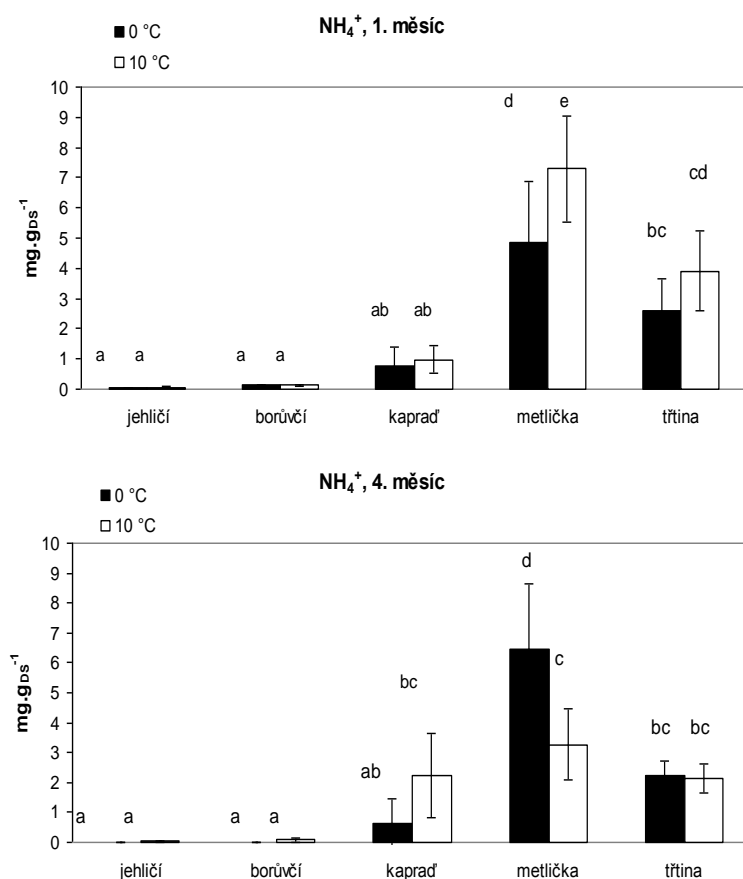


### 4.3. Uvolňování živin

Vzhledem k tomu, že nebyl zjištěn průkazný rozdíl mezi povodími v  $C_{MIN}$  (viz. předchozí kapitola) ani v uvolňování živin (detailní výsledky nejsou ukázány), hodnocení uvolňování živin je provedeno pro povodí obou jezer dohromady.

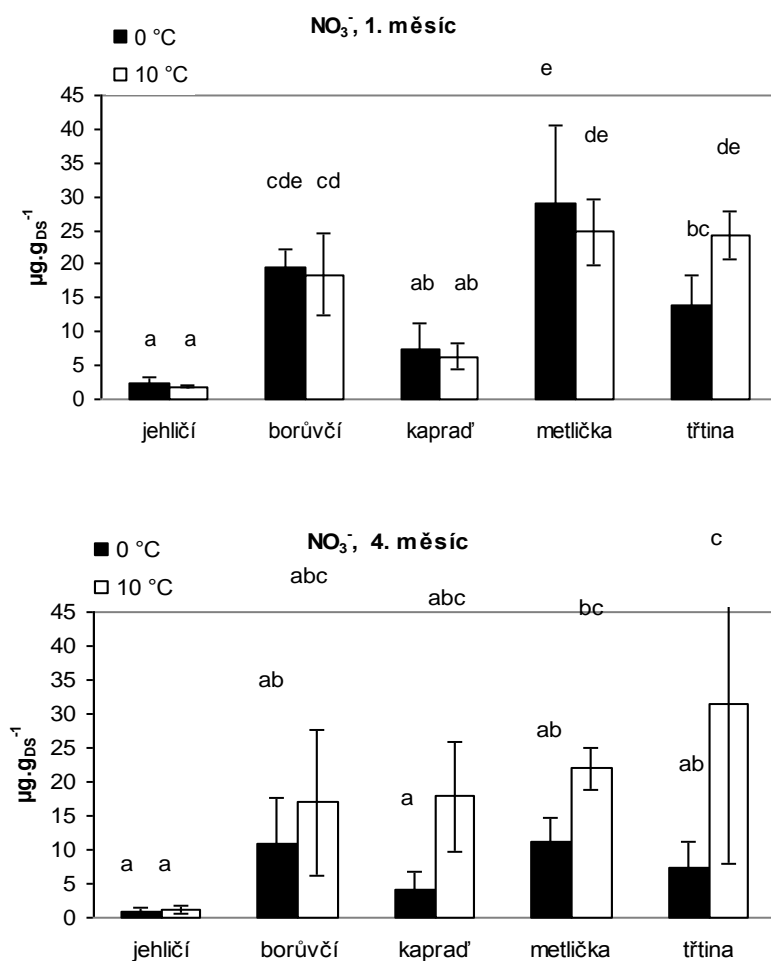
Formy N a P byly uvolňovány v souladu s rychlostí  $C_{MIN}$  a počátečním složením opadů. Amonný iont ( $NH_4^+$ ) byl uvolňován z opadu jehličí a borůvčí ve velmi nízkém množství. Naopak u travinného opadu byly stanovené koncentrace podstatně vyšší. Opad kapradiny se nacházel v mezních hodnotách. Co se týče vlivu teploty na uvolňování  $NH_4^+$ , tak v případě opadu jehličí a borůvky nebyly zjištěny za celou dobu inkubace průkazné rozdíly. U opadu kapradiny byly nalezeny průkazné odlišnosti mezi teplotami pouze v pozdějším stádiu dekompozice, zatímco u trav třtiny a metličky to bylo naopak v ranném stádiu rozkladu. S vyšší teplotou tedy bylo uvolněno větší množství  $NH_4^+$  (Obrázek 4.).

**Obrázek 4.** Srovnání množství uvolněného  $NH_4^+$  během 1. a 4. měsíce v závislosti na dekompoziční teplotě. Odlišná písmena u hodnot znázorňují průkazný rozdíl mezi množstvím uvolněného  $NH_4^+$  jednotlivých opadů ( $P < 0.05$ ).



Druhým z minerálních forem dusíku je dusičnanový iont ( $\text{NO}_3^-$ ). Koncentrace tohoto iontu byla o 2-3 řády nižší než koncentrace  $\text{NH}_4^+$ . Obsah  $\text{NO}_3^-$  byl v rozkládaném jehličí zanedbatelný, u kapradí se pohyboval kolem 10  $\mu\text{g}$  a u zbylých opadů dosahoval řádově desítek  $\mu\text{g}$ . Tyto poznatky jsou shodné pro měsíční i čtyř měsíční inkubaci, i když na konci inkubace byly naměřené hodnoty znatelně nižší. Uvolňování  $\text{NO}_3^-$  teplotně závislé nebylo, tedy kromě opadu třtiny. Uvolňování  $\text{NO}_3^-$  bylo u třtiny vyšší při teplotě 10°C ve srovnání s 0°C. V pozdějších fázích dekompozice byla ale pozitivní závislost zjištěna u všech druhů sledovaného opadu, uvolňování  $\text{NO}_3^-$  tedy vzrůstalo při teplotě 10 °C až po určité době v pozdějším stupni rozkladu (Obrázek 5.).

**Obrázek 5.** Srovnání množství uvolněného  $\text{NO}_3^-$  během 1. a 4. měsíce v závislosti na dekompoziční teplotě. Odlišná písmena u hodnot znázorňují průkazný rozdíl mezi množstvím uvolněného  $\text{NO}_3^-$  jednotlivých opadů ( $P < 0.05$ ).

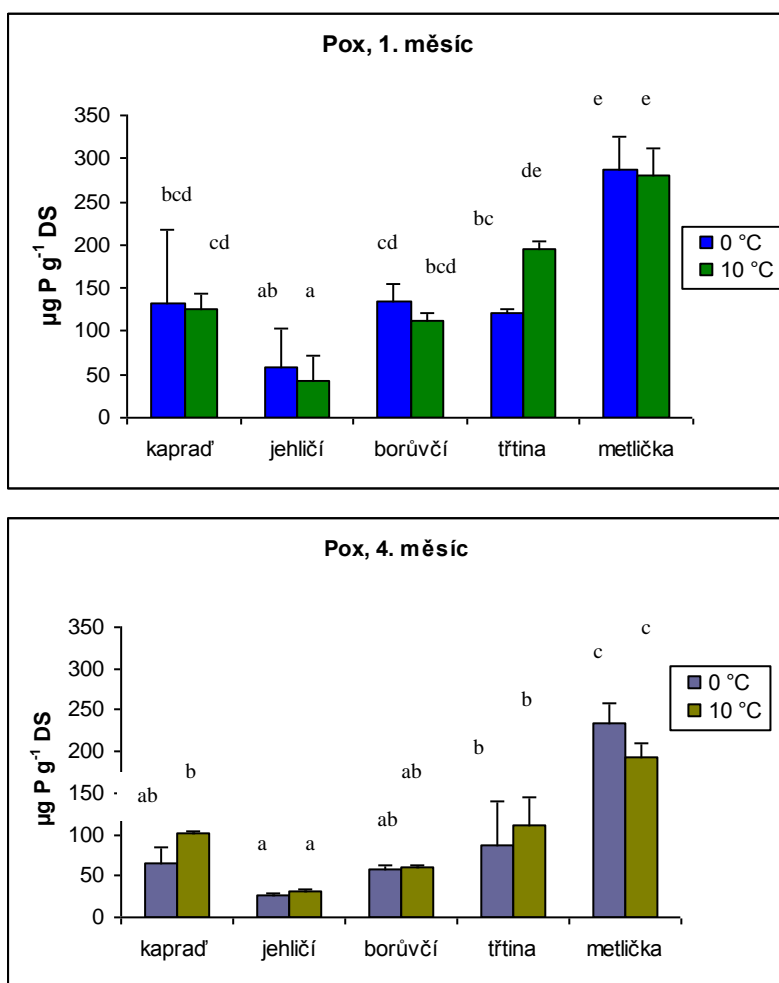




V prvním měsíci inkubace bylo množství uvolněných minerálních forem N průkazně negativně ovlivněno obsahem fenolických látek a též poměrem fenolické látky/ $N_{TOT}$ , v případě obsahu  $P_{ox}$  byl tento vliv pozitivní (Tabulka 4.). Chemické vlastnosti, konkrétně poměry  $C_{TOT}/N_{TOT}$  a  $C_{EXT}/N_{EXT}$ , ovlivnily pouze množství uvolněného  $NH_4^+$ . V pozdější fázi dekompozice byl vliv kvality opadů nižší než tomu bylo v počátku dekompozice. Avšak minerální formy N byly stále průkazně ovlivněny poměrem  $C_{EXT}/N_{EXT}$ , rovněž také obsahem  $P_{ox}$  a obsahem fenolických látek a jejich poměrem s  $N_{TOT}$  (Tabulka 4.).

Po prvním i čtvrtém měsíci inkubace se prokazatelně nejvíce dostupného P ( $P_{ox}$ ) z opadu metličky a nejméně z opadu jehličí. Po 4. měsíci se v porovnání s 1. měsícem inkubace uvolňovalo u všech opadů přibližně o třetinu méně dostupného P (Obrázek 6.).

**Obrázek 6.** Srovnání množství uvolněného  $P_{ox}$  z obou jezer během 1. a 4. měsíce v závislosti na dekompoziční teplotě.



**Tabulka 4.** Vliv kvality opadu na mineralizaci C ( $C_{\text{MIN}}$ ) a uvolňování forem N ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ). V tabulce jsou uvedeny korelační koeficienty mezi jednotlivými analýzami během inkubace – srovnání kvalitativních vlastností chemismu vstupního opadu versus opadu po 1. měsíci a versus opadu po 4. měsíci inkubace.

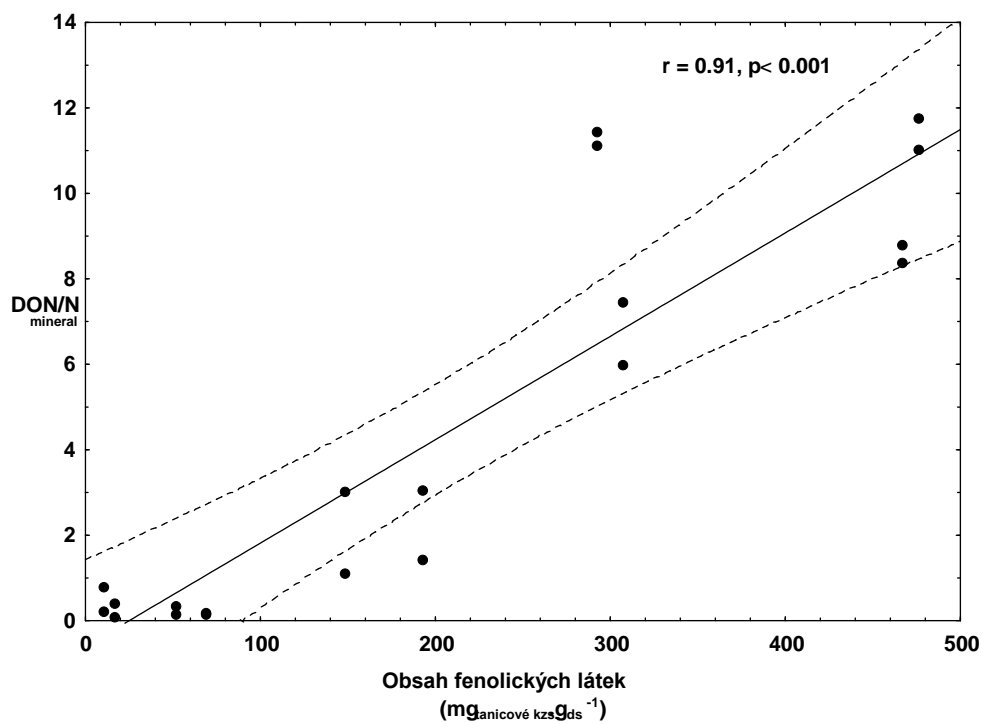
<b>Kvalita vstup. opadu</b>	<i>versus</i>	<b>1 měsíční inkubace</b>	<b>Kvalita 1 měsíc inkub. opadu</b>	<i>versus</i>	<b>4 měsíční inkubace</b>
		<b>r</b>			<b>r</b>
$C_{\text{TOT}}/N_{\text{TOT}}$	$C_{\text{MIN}}$	ns	$C_{\text{TOT}}/N_{\text{TOT}}$	$C_{\text{MIN}}$	ns
	$\text{NO}_3^-$	ns		$\text{NO}_3^-$	ns
	$\text{NH}_4^+$	-0.45*		$\text{NH}_4^+$	-0.71***
$C_{\text{EXT}}/N_{\text{EXT}}$	$C_{\text{MIN}}$	ns	$C_{\text{EXT}}/N_{\text{EXT}}$	$C_{\text{MIN}}$	ns
	$\text{NO}_3^-$	ns		$\text{NO}_3^-$	-0.46*
	$\text{NH}_4^+$	-0.64**		$\text{NH}_4^+$	-0.60**
Obsah fenol. látek	$C_{\text{MIN}}$	-0.65**	Obsah fenol. látek	$C_{\text{MIN}}$	ns
	$\text{NO}_3^-$	-0.64**		$\text{NO}_3^-$	-0.56*
	$\text{NH}_4^+$	-0.73***		$\text{NH}_4^+$	-0.68**
$P_{\text{OX}}$	$C_{\text{MIN}}$	0.76***	$P_{\text{OX}}$	$C_{\text{MIN}}$	0.50*
	$\text{NO}_3^-$	0.66**		$\text{NO}_3^-$	0.78***
	$\text{NH}_4^+$	0.64**		$\text{NH}_4^+$	0.63**
fenolické látky/ $N_{\text{TOT}}$	$C_{\text{MIN}}$	-0.81***	fenolické látky/ $N_{\text{TOT}}$	$C_{\text{MIN}}$	ns
	$\text{NO}_3^-$	-0.84***		$\text{NO}_3^-$	-0.52*
	$\text{NH}_4^+$	-0.79***		$\text{NH}_4^+$	-0.65**

*Uváděné korelační koeficienty jsou opatřeny hvězdičkami dle jejich míry signifikance (průkaznosti):*

*\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ . (n.s. - nesignifikantní hodnoty)*

Dále byla zjištěna významně silná pozitivní korelace mezi obsahem fenolických látek a poměrem  $\text{DON}/\text{N}_{\text{MIN}}$  po 1. měsíci rozkladu pro opady obou jezer při obou inkubačních teplotách ( $R = 0,91$ ;  $p < 0,001$ ) (Obrázek 7.), z čehož vyplývá, že vyšší množství fenolických látek snižuje uvolňování minerálních forem N z těchto opadů. Po 4 měsících byla již tato korelace slabší, avšak stále průkazná ( $R = 0,54$ ;  $p < 0,05$ ).

**Obrázek 7.** Závislost mezi obsahem fenolických látek a poměrem  $\text{DON}/\text{N}_{\text{mineral}}$  (průměrné hodnoty obou jezer a teplot)



#### 4.4. Odhad vstupu živin z opadů do půd povodí

Během čtyř měsíčního rozkladu bylo v opadu jehličí a borůvčí zmineralizováno méně než 1% z celkového  $N_{TOT}$ , což platí pro obě teploty i obě povodí (Tabulka 5.). Nejvíce zmineralizovaného N bylo u opadu metličky při 0°C pro obě jezera.

**Tabulka 5.** Potenciální množství živin, které mohlo být uvolněno na  $m^2$  povodí z opadu Čertova a Plešného jezera během 4 měsíční dekompozice. V tabulce jsou uvedeny hodnoty obou inkubačních teplot. Uvolňování živin bylo určeno z vegetačního pokryvu povodí Čertova a Plešného jezera. V tabulce je rovněž uvedena sumarizace příspěvku trav (metličky a třtiny).

	množství opadu/rok *	0 °C		10 °C		0 °C		10 °C		0 °C		10 °C	
		$C_{TOT}$ zmineralizovaného		$N_{TOT}$ zmineralizovaného		$C_{TOT}$ zmineralizovaného		$N_{TOT}$ zmineralizovaného		Pox			
<b>PLEŠNÉ</b>	$g.m^{-2}$	%		%		$g.m^{-2}$		$g.m^{-2}$		$g.m^{-2}$			
jehličí	227	3,6	4,6	0,05	0,29	406,33	518,922	0,1	0,7	0,0099	0,0210		
borůvčí	26	8,5	10,0	0,12	0,97	109,096	127,244	0,0	0,3	0,0013	0,0014		
kaprad'	7	6,1	10,1	4,66	16,00	19,53	32,123	0,5	1,6	0,0006	0,0008		
metlička	11	13,6	17,4	32,78	16,66	68,31	87,109	7,1	3,6	0,0016	0,0015		
třtina	92	7,1	10,8	12,72	12,48	291,64	443,532	20,5	20,1	0,0107	0,0058		
<b>SOUČET</b>						<b>895</b>	<b>1209</b>	<b>28</b>	<b>26</b>	<b>0,024</b>	<b>0,031</b>		
PODÍL TRAV						359,95	531	28	24	0,0123	0,0074		
% PODÍL TRAV						<b>40</b>	<b>44</b>	<b>98</b>	<b>90</b>	<b>51</b>	<b>24</b>		
<b>ČERTOVO</b>													
jehličí	212	3,6	4,6	0,04	0,25	379,48	484,632	0,1	0,6	0,0055	0,0068		
borůvčí	75	8,9	10,3	0,09	0,71	314,7	367,05	0,1	0,7	0,0043	0,0046		
kaprad'	22	6,2	10,2	3,21	11,01	61,38	100,958	1,4	5,0	0,0015	0,0022		
metlička	4	13,9	17,7	42,21	21,45	24,84	31,676	2,6	1,3	0,0009	0,0008		
třtina	52	7,2	10,9	20,41	20,04	164,84	250,692	11,6	11,4	0,0045	0,0058		
<b>SOUČET</b>						<b>945</b>	<b>1235</b>	<b>16</b>	<b>19</b>	<b>0,017</b>	<b>0,020</b>		
PODÍL TRAV						189,68	282	14	13	0,0054	0,0066		
% PODÍL TRAV						<b>20</b>	<b>23</b>	<b>90</b>	<b>67</b>	<b>33</b>	<b>33</b>		

- *pokryvnost porostů podle SVOBODA et al. (2006).*

Příspěvek živinami chudého ale na fenolické látky bohatého opadu (jehličí, borůvčí, kapradí) byl v průměru téměř 70% v celkovém součtu veškerého při mineralizaci vyprodukovaného  $CO_2$ , avšak na množství uvolněného N se tyto rostlinné druhy

prostřednictvím svého opadu podílejí pouze z přibližně 10-20%, jelikož většina stanoveného dusíku byla uvolněna během dekompozice trav. Celkové množství extrahovaného minerálního  $N_{EXT}$  (DIN) z bylinného patra tvořilo dokonce až 95% z minerálního N uvolňujícího se z veškerého rostlinného opadu (tabulka 5.).

## 5. DISKUSE

### 5.1. Laboratorní experiment

V dnešní době je známo mnoho způsobů, kterými lze stanovit obsahy hlavních biogenních prvků v půdě či v rostlinném opadu (BINKLEY and HART, 1989). Tyto metody mají však rovněž své limitace a pohled na aktuální stav těchto látek v půdě nebo rostlinném opadu tak může být do jisté míry zkreslen (BINKLEY et al., 1994). Zvolení vhodné metody by proto mělo odpovídat účelu, pro který byla studie uskutečněna. Je nutno předem rozvážit, jaké přeměny u jakých látek budeme sledovat. Velmi důležitým faktorem je též správné rozvržení měřítka časového a prostorového. Tato diplomová práce se zabývá laboratorním stanovením hlavních biogenních prvků a iontů obsažených v rostlinném opadu majoritně se vyskytujícím v povodí šumavských ledovcových jezer.

Výsledky získané inkubačními metodami lze interpretovat jako potenciální hodnoty, jakých rozkládající se opad dosahuje za určitých teplotních a vlhkostních podmínek. Teploty v mém experimentu byly zvoleny na základě teplot naměřených v půdách v opadovém horizontu sledovaných povodí během zimních (0°C) a letních měsíců (10°C) (KOPÁČEK et al., 2002). Pro všechny laboratorní analýzy (extrakční i inkubační) všeobecně platí, že materiál, ať již je to půda či rostlinný opad, se zpracovává ihned a tedy čerstvý (do 24h po odběru) nebo v ustáleném stavu později (po několika týdnech skladování v chladu při 4°C) (ŠIMEK et al., 1998). V případě mého experimentu byl opad založen několik hodin po odběru, čímž se zamezilo případným přeměnám biogenních prvků v těchto opadech, např. přeměnám jednodušších forem C či zvýšené produkci minerálního N (BINKLEY and HART, 1989). Data získaná během mineralizace inkubovaných vzorků pomocí titračního stanovení vykazovala podobnou variabilitu jakou lze běžně nalézt v literatuře.

### 5.2. Kvalita rostlinného opadu

Z uvedených výsledků vyplývá, že v prvotních fázích mineralizace dostupný P a poměr obsahu celkových fenolických látek/ $N_{TOT}$  vykazují silnější vliv na rychlost mineralizace a uvolňování minerálního N než je tomu v případě poměru celkového či extrahovatelného C a N (C/N). Dále bylo prokázáno, že prostřednictvím zvýšeného obsahu fenolických látek v rostlinných pletivech může dojít k posunu N forem z minerálních k organickým. Organické formy dusíku bývají silně vázány na půdní povrch (především

opadový horizont) a níže do kořenové zóny jsou uvolňovány jen ve velmi nízkých koncentracích (NORTHUP et al., 1995). Vlivem toho je organický N pro většinu mikroorganismů obtížně přístupný a nemůže být účinně přeměňován na minerální formy, které se z ekosystému povodí snadněji vyplavují. Rostlinná produkce opadu s vyššími obsahy nerozpustných fenolických látek (např. jehličí) může být vysvětlována též jako způsob adaptace pomáhající redukovat ztráty N z ekosystému, čímž si rostliny v podstatě zaopatřují trvalý přísun dusíku. Tato redukce rychlosti mineralizace N byla již dříve mnohokrát popsána (např. NORTHUP et al., 1995).

Velmi důležitý je též, jak již bylo řečeno, obsah dostupného fosforu ( $P_{ox}$ ). Bylo prokázáno, že se P z opadů bylinného patra uvolňuje výrazně rychleji ve srovnání se smrkovým jehličím (BÁRTA et al., submitted). V přírodních podmínkách je P vymýván působením dešťových srážek. Opad je tak o tuto důležitou živinu ochuzován, což má následně vliv na rychlost dekompozice. Mineralizace zbývajících organických složek opadu, které jsou v pozdní fázi rozkladu již tak velmi chudé na živiny, je tím ještě více zpomalena. Z těchto zjištění vyplývá, že pomalejší rychlost dekompozice doposud nerozložených rostlinných zbytků v posledních fázích rozkladu je ve větší míře limitována spíše nedostatkem živin než zvýšenou koncentrací hůře rozložitelných frakcí jakými jsou lignin či fenolické látky (ŠANTRŮČKOVÁ et al., 2006). Uvolňování vodorozpustných forem uhlíku a dusíku ( $C_{EXT}$ ,  $N_{EXT}$ ) mělo podobný trend jako uvolňování fosforu.  $C_{EXT}$  a  $N_{EXT}$  tak reprezentují relativně snadno dostupné složky opadu, které jsou k dispozici rostlinám či dalším mikrobiálním přeměnám. Též mohou být podobně jako fosfor velmi snadno vymývány prostřednictvím atmosférických srážek do spodních vrstev půdy. Reprezentují tak živiny, které v jehličnatém lese každoročně na konci vegetační sezóny a během zimních měsíců vstupují do půdního profilu. V zimě při nízkých teplotách vlivem toho nemohou rostlinám přímo sloužit jako živiny, mohou však být zadrženy v biomase mikroorganismů a nebo jsou s příchodem jara vymývány z půdní organické vrstvy a odtékají pryč z povodí. To, že asimilace a mineralizace organických látek a dusíku probíhají také během zimních měsíců za teplot velmi blízkých  $0^{\circ}C$ , je dnes již dobře zdokumentováno (SKOPCOVÁ and ŠANTRŮČKOVÁ, 2006; RUSEK, 2000a).

Co do množství rozpustného minerálního N a dostupného P vynikají nad ostatními opady trávy. Bylo prokázáno, že třtina chloupkatá má schopnost v sobě efektivně akumulovat velké množství N, čímž může snižovat jeho odnos z ekosystému v průběhu vegetační sezóny (FIALA et al., 2005). Na jejím konci se však vlivem dekompozice uvolňuje do půdy velké množství minerálního N, převážně ve formě  $NH_4^+$ , což naopak dočasně během podzimu a

zimy může vést ke zvýšenému odtoku dusíku ke zvýšenému odtoku dusíku z povodí. V tomto chladném období může být  $\text{NH}_4^+$  transformován do  $\text{NO}_3^-$  formy v procesu nitrifikace, jež běží i při teplotě  $0^\circ\text{C}$  (SKOPCOVÁ and ŠANTRŮČKOVÁ, 2006). Tím je riziko ztrát N z povodí ještě více navýšeno, neboť  $\text{NO}_3^-$  je v půdním profilu vysoce pohyblivý a současně je v těchto chladných měsících rostlinami a půdní mikroorganismy spotřebováván velmi málo.

Rostliny však mohou ztrátám minerálních forem N a ostatních živin do jisté míry bránit pomocí realokace živin. Realokace je významným procesem v podmínkách limitace živinami a může v ekosystému hrát velmi důležitou roli. Jedná se o děj, při němž jsou důležité živiny přesouvány z částí rostlinného těla, které se po svém odumření stávají opadem. Tyto rostlinné tkáně (listy, stvoly lodyhy aj.) obsahují velké množství živin, o které by po jejich odumření na konci vegetační sezóny rostlina přišla, pokud by nebyly přemístěny do dále přeživších orgánů. Těmi jsou především zásobní úložná pletiva v kořenovém systému. Pomocí této strategie tak rostliny ušetří velké množství živin, jenž by v počátku nové vegetační sezóny musely znovu pracně získávat z půdního substrátu (CHAPIN and KEDROWSKI, 1983). Pokud navíc na jaře panují méně příznivé podmínky (dlouho trvající zima, sucho aj.), pak je tato zásoba o to více výhodnější a rostlina je méně stresována. Realokace však není vlastní všem rostlinným druhům. Dokumentována je u široké škály bylin, travin a rovněž u množství opadavých i neopadavých stromů. Jak již bylo naznačeno, její účinnost obvykle stoupá se snižující se dostupností živin (ENOKI and KAWAGUCHI, 1999). Právě nižší obsah N a P v zestárlém opadu v porovnání s čerstvými rostlinnými tkáněmi bývá důkazem proběhnuvší realokace do zásobních orgánů (COTE et al., 2002). Realokace má však ve svém důsledku vliv na celkovou chemickou kvalitu opadu, která je vlivem tohoto procesu zhoršena, což následně ovlivňuje průběh dekompozice a dostupnost živin.

Z druhů sledovaných v mém experimentu realokaci živin využívají nejvíce oba druhy trav. Rovněž kapradina se vyznačuje dobrými realokačními vlastnostmi. Borůvka tuto schopnost také má, avšak využívají ji v menší míře než-li je tomu u travních druhů či kapradiny. Naopak u smrkového jehličí tento přesun živin zaznamenán nebyl vůbec a nebo jen ve velmi malé míře. Bylo dokonce zjištěno, že obsah N a P byl vyšší ve stárnoucím smrkovém jehličí než-li v jehličí čerstvém (ŠANTRŮČKOVÁ et al., 2006). Tyto výsledky mohou být částečně zkresleny faktem, že jehličí byly odebírány ze stromů napadených kůrovcem. Poškození zdravotního stavu těchto stromů pak mohlo mít za následek zhoršení schopnosti živiny z jehličí realokovat.



Pokud k realokaci živin nedochází, pak je opad na živiny bohatší a rozkládá se snadněji. Tato situace může nastat za podmínek, kdy rostliny nemají výraznou potřebu živiny do zásobních pletiv uschovávat. Jestliže jsou půdy na živiny bohaté, pak k procesu realokace nemusí v rostlinných tkáních téměř vůbec docházet. To může být i případ rostlinných druhů v povodí šumavských ledovcových jezer, které jsou saturovány N. Dusík je v současnosti z povodí ve zvýšené míře vyplavován. Lze to vysvětlit právě sníženou intenzitou realokace N vlivem zmiňované saturace půd.

### **5.3. Rozklad rostlinného opadu**

#### **5.3.1. Mineralizace C a uvolňování N**

Mineralizace rostlinného opadu je přírodní proces, jehož prostřednictvím se z odumřelého organického materiálu uvolňují živiny zpět do půdy a mohou tak být opět využity rostlinami. Odumřelou hmotu v opadové vrstvě postupně osidlují mikroorganismy podílející se na její mineralizaci, z rozkládajícího se opadu tak vznikají stabilnější hůře rozložitelné sloučeniny půdního humusu (LEEPER and UREN, 1993; BEGON et al., 1997). Rychlost mikrobiálního rozkladu je velkou měrou ovlivňována kvalitou mrtvého organického materiálu, jež souvisí hlavně s množstvím C a N, tj. poměrem C/N, a se zastoupením snadno a hůře rozložitelných organických sloučenin (ALEXANDER, 1977; CÔTE et al., 2000). Obecně snadněji rozložitelný je opad listnatý než jehličnatý (DICKINSON and PUGH, 1974). Rovněž nízké množství těžko rozložitelného ligninu a fenolických látek výrazně zlepšuje rozložitelnost rostlinného opadu (WEDDERBURN and CARTER, 1999). Rychlost dekompozice se mění také v závislosti na ročním období (ALEXANDER, 1977; HARTMANN et al., 1999), což jsem ve svém experimentu simuloval za pomoci dvou inkubačních teplot (0 a 10°C). Rozdíly mezi teplotami se však jevily jako neprůkazné (viz. dále). Další výzkumy dekompozice rovněž neprokázaly nijak velký nárůst rychlosti mineralizace na jaře, který by odpovídal zvyšování teploty a rovněž v zimních měsících byla rychlost mineralizace poměrně vysoká (SZEGLI, 1988). Z toho lze usoudit, že rozdíly v rychlosti dekompozice v závislosti na ročním období způsobuje spíše kolísání vlhkosti nežli změna teploty.

Respirace a z ní stanovená rychlost mineralizace je ovlivněna dostatkem vody a dostupností živin (ČERNÁ, 2005). Někteří autoři dokonce tvrdí, že hlavním faktorem limitujícím mineralizaci C může být více dostupnost vody než uhlíku a ostatních živin.

Rozhodně je však přítomnost hlavních živin pro mineralizační pochody nezbytná. Fosfor je vedle dusíku druhou nejvýznamnější živinou ovlivňující dekompozici organické hmoty. Množství dostupného P stanovené ve vstupních vzorcích studovaných opadů pochází především z mrtvých rostlinných buněk. Na samém počátku mineralizace opadu se po otevření buněčných stěn vylíje ven do okolí jejich vnitřní obsah právě společně s dostupnou formou P ( $\text{PO}_4^{2-}$ ). Důsledkem toho se zvýší mikrobiální aktivita a spolu s ní i mineralizace C a N. Nižší množství dostupného P v opadu jehličí, borůvčí a kapradě zpomalilo následný průběh mineralizace C. Podobně mohlo být nedostatkem P ovlivněno také uvolňování N. Oproti tomu rychlost mineralizace travinného opadu, v němž bylo zjištěno vyšší množství dostupného P, probíhala podstatně rychleji. Nižší obsah dostupného P byl současně provázen vyšším obsah fenolických látek. Nelze tedy jednoznačně určit, který z těchto faktorů měl na rychlost mineralizace významnější vliv, zda-li byla mineralizace zpomalená spíše díky vyššímu obsahu fenolických látek, a nebo zpomalení zapříčinil nedostatek dostupného P. S největší pravděpodobností však hrají oba faktory při dekompozici stejně důležitou úlohu.

### **5.3.2. Vliv obsahu fenolických látek**

Z předložených výsledků vyplývá, že celkové množství fenolických látek v rostlinném opadu ovlivňuje rychlost mineralizace N více než-li rychlost mineralizace C (BRADLEY et al., 2000). Tuto domněnku podporují i nalezené údaje v literatuře (KRAUS et al., 2003; BALDWIN et al., 1983). BRADLEY et al., (2000) dokonce vztah mezi obsahem fenolických látek a rychlostí mineralizace C neprokázali vůbec. Uvolňování N z opadu je redukováno pomocí ligninového proteinového komplexu, který je obtížně degradovatelný a organický N je zde velmi pevně vázán. Tím jsou sníženy jeho ztráty během mineralizace (BRADLEY et al., 2000; KRAUS et al. 2003). Autoři přidávali čisté fenolické látky do lesního humusového horizontu. Po jejich aplikaci došlo k podstatnému snížení rychlosti mineralizace N, současně však byla navýšena spotřeba jeho minerálních forem mikroorganismy.

Negativní vliv fenolických látek na mineralizaci uhlíku byl silnější v případě opadu smrkového jehličí a kapradiny více než u borůvčí, přestože se opad borůvky vyznačoval druhým nejvyšším obsahem fenolických látek právě po jehličí. V borůvčí, narozdíl od jehličí, jsou ale fenolické látky především ve formě vodorozpustných fenolů a vodorozpustné taninové frakce (WARDLE et al., 2003). Tyto vodorozpustné složky zde totiž mohou sloužit jako snadno dostupný zdroj C pro přítomné dekompozitory (FIERER et al., 2001; KANERVA et al., 2006). To by částečně mohlo vysvětlovat vyšší rychlost rozkladu lístků

borůvky ve srovnání s jehličím. KANERVA et al. (2006) zaznamenali v opadu borůvky při rozboru složek vodopropustného uhlíku téměř 17% C, který měl původ v rozpustné fenolické frakci, zatímco v případě jehličí byla tato frakce zastoupena pouhými 2%. Tato závislost efektu fenolických látek na jejich složení tak může objasnit nesrovnalost nalezenou v jejich vlivu na mineralizaci dusíku a následnou rychlost nitrifikace (FANG et al., 2005; KRAUS et al., 2006). Některé ze studií usuzují, že fenolická složka uvolňování minerálních forem N brzdí (BALDWIN et al., 1983; LODHI and KILLINGBECK, 1980), zatímco jiné naopak tvrdí, že obsah fenolických látek na množství uvolněného N nemá prakticky žádný vliv (LUCAS et al., 2007; FIERER et al., 2001). Dalším vysvětlením neočekávaně vysoké rychlosti mineralizace C by proto v případě borůvčí mohl být vyšší obsah  $N_{TOT}$  a  $P_{TOT}$  (GALLET and LEBRETON, 1995).

Různorodost složení jednotlivých frakcí fenolických látek může objasnit i nesrovnalost nalezenou v jejich vlivu na mineralizaci N (FANG et al., 2005; KRAUS et al., 2006). Některé ze studií usuzují, že fenolická složka uvolňování minerálních forem dusíku brzdí (BALDWIN et al., 1983; LODHI and KILLINGBECK, 1980), zatímco jiné naopak tvrdí, že obsah fen. látek na množství uvolněného N nemá prakticky žádný vliv (LUCAS et al., 2007; FIERER et al., 2001).

Výsledky předložené práce ukazují, že uvolňování  $NH_4^+$  bylo nižší v případě opadů s vyšším obsahem fenolických složek, avšak rychlost nitrifikace byla zpomalena pouze v opadu jehličí. Hlavními příčinami takto nízké mineralizace N v jehličí jsou pravděpodobně vysoká molekulová hmotnost přítomných fenolických komponent a jejich značná převaha ve formě nerozpustné frakce. Vyšší molekulová hmotnost a nízká schopnost rozpouštět se ve vodě jsou vlastnosti pro fenolické látky smrkového jehličí velmi typické (GALLET and LEBRETON, 1995). V případě opadu pocházejícího z travinných společenstev je situace prakticky opačná. Trávy se vyznačují oproti jehličí podstatně nižším obsahem fenolických látek a mineralizace v půdách povodí jezer není jejich vlivem prakticky vůbec zpomalována. Během jejich rozkladu tak může docházet ve srovnání s jehličím ke značným ztrátám dusíku z povodí. Pokud totiž není N spotřebováván vegetací, ale je přeměněn v procesech nitrifikace na  $NO_3^-$ , hrozí jeho vyplavení z ekosystému.

### 5.3.3. Vliv teploty

Navzdory intenzivnímu výzkumu nebyl prozatím teplotní vliv na rychlost mineralizace přesvědčivě prokázán. Nejnovější studie nicméně ukazují, že vyšší teplota

ovlivňuje spíše mineralizaci C než uvolňování N. Její vliv vzrůstá společně s rostoucí molekulovou složitostí rozkládajícího se substrátu (DAVIDSON and JANSSENS, 2006). Tyto hypotézy byly nezávisle potvrzeny studií DOMISCH et al. (2006), během níž bylo zjištěno, že dekompozice rostlinného opadu s vyšším obsahem komplexnějších složek jako jsou lignin a fenolické látky je více citlivější na změny teploty a její rychlost se zvyšující se teplotou vzrůstá. Teplotně závislé sezónní změny v rychlosti mineralizace N a C jsou zdokumentovány v mnoha studiích (RAUBUCH and JOERGENSEN, 2002). Kupříkladu jarní zvýšení teploty a následné tání sněhu může způsobit náhlé zvýšení obsahu minerálního N, což je opět spojeno se ztrátami N z ekosystému (ŠANTRŮČKOVÁ et al., 2006).

Ve svém experimentu jsem však jasnou teplotní závislost mineralizace C a uvolňování N neprokázal. V případě opadu metličky se rychlost mineralizace C se zvyšující se teplotou téměř nezměnila a uvolňování N se dokonce při vyšší teplotě snížilo. Po 4 měsících inkubace totiž bylo u tohoto opadu zjištěno signifikantně nižší množství uvolněného  $\text{NH}_4^+$  při inkubační teplotě 10°C než při teplotě 0°C. To mohlo být způsobeno buď pomalejší mineralizací N, nebo také rychlejší asimilací N do biomasy mikroorganismů a nebo rychlejším průběhem nitrifikace. Z těchto poznatků vyplývá, že vyšší teplota riziko uvolňování  $\text{NH}_4^+$  a jeho vyplavování z ekosystému navyšuje spíše v počátečních fázích mineralizace než-li v jejím pozdějším stádiu.

Teplota se rovněž mění v závislosti na nadmořské výšce. Fakt, že teplota s rostoucí nadmořskou výškou klesá, je znám již dlouho. Otázkou tedy je, zda-li existují nějaké rozdíly v rychlosti rozkladu rostlinného opadu mezi horními a dolními částmi povodí. Rychlosti mineralizace C i N by se teoreticky měly s rostoucí nadmořskou výškou snižovat. Výškový rozdíl mezi dolní a horní částí povodí je u Plešného jezera 220 m a u Čertova jezera 313 m. Rozdíl v teplotách činí v průměru 2°C (KOPÁČEK, ústní sdělení). Některé další studie však uvádějí, že se výše situovaná lesní stanoviště naopak vyznačují vyšší rychlostí mineralizace C a N (DALIAS et al., 2002; GARTEN and VANMIEGROET, 1994). Proč k tomuto jevu dochází se však doposud zjistit nepodařilo. Během své bakalářské práce jsem sledoval dekompozici modelové celulózy v půdách povodí Plešného a Čertova jezera na horních i dolních plochách a dospěl jsem k závěru, že zjištěné rozdíly mezi plochami situovanými v rozdílných nadmořských výškách jsou dány přednostně složením svrchního opadového horizontu, vegetačním pokryvem a vodním režimem půd než-li teplotou (VANĚK, 2005). To potvrzuje ŠLAJSOVÁ (2008), která v opadovém horizontu půd v povodí těchto jezer rovněž sledovala rozklad modelové celulózy a rozdíly mezi horními a dolními plochami také nezjistila. I další studie zabývající se na daných lokalitách mineralizací N prokázaly, že se

rychlost mineralizace N zvyšovala s rostoucí teplotou (0 - 20°C) jen nevýznamně (SKOPCOVÁ and ŠANTRŮČKOVÁ, 2006). Lze tedy předpokládat, že se stejný typ opadu bude rozkládat na obou výškově odlišných částech povodí stejnou rychlostí.

#### 5.3.4. Vliv poměru C/N

Poměr C/N na konci inkubace úzce souvisel s poměrem C/N ve vstupních vzorcích, byl ale posunut v závislosti na typu (druhu) opadu. Poměr C/N vždy v průběhu mineralizace poklesl, což je ve shodě s široce dokumentovaným snížením tohoto poměru během prvotních fází dekompozice (OSONO and TAKEDA, 2005). Pokles C/N poměru je nejčastěji vysvětlován imobilizací N. Dusík může též do opadu vstoupit prostřednictvím dešťových srážek (TIETEMA, 1993). V uskutečněném experimentu však vzorky opadu s půdou ani s dešťovou vodou do kontaktu nepřišly, příčinou příbytku N by tedy mohla být fixace N<sub>2</sub> z atmosféry. Avšak tato vzdušná fixace N v opadech jehličnatých lesů je poměrně nízká (ŠIMEK, nepublikováno). Předpokládám tedy, že pokles C/N poměru je dán mineralizací organických složek opadu, při které byl určitý podíl C vydýchán v podobě CO<sub>2</sub> a následně uvolněn do atmosféry, zatímco dusík se tímto způsobem uvolnit nemohl a byl ve stejném množství nadále v opadu přítomen ať už v minerální či organické formě. To následně samozřejmě zapříčinilo pokles C/N poměru (ŠANTRŮČKOVÁ et al., 2006). Uvolněný oxid uhličitý během počáteční fáze mineralizace pocházel z rozpustných snadno dostupných organických složek, jakými jsou celulóza, hemicelulóza, jednoduché uhlovodíky a aminokyseliny. Nepředpokládám však, že by přítomné aminokyseliny v opadech byly příliš významným zdrojem uhlíku pro mineralizační pochody.

V prvních fázích dekompozice je nejprve mineralizován dostupný C. Hůře rozložitelné strukturální složky rostlinných tkání, jejichž hlavními komponentami jsou lignin a nerozpustné fenolické látky, se začínají rozkládat až později (MELLILO et al., 1982). Na konci inkubace tedy byl zřejmě poměr C/N více ovlivněn obsahem těchto hůře rozložitelných složek a odrážel tak spíše poměr lignin/N, jenž je úzce spojen s C<sub>MIN</sub> a uvolňováním živin (SCOTT and BINKLEY, 1997). To podpořila i skutečnost, že C<sub>MIN</sub>, obsahy C<sub>EXT</sub> a N<sub>EXT</sub> nekorelovaly s poměrem C/N stanoveným ve vstupních vzorcích, avšak u vzorků podrobených 4 měsíční inkubaci tato korelace nalezena byla. Obecně se uvolňování živin a rychlost C<sub>MIN</sub> snižují v závislosti na zvyšujícím se poměru lignin/N (ABER et al., 1990; OSONO and TAKEDA, 2004). S tím koresponduje i fakt, že množství P<sub>ox</sub> mělo vůči poměru C/N rovněž negativní vztah stejně tak jako ostatní extrahovatelné složky.

Podle některých autorů souvisí množství vyplaveného N z ekosystému se složením opadu. Průměrné hodnoty C/N pro lesní půdy se pohybují kolem 15-25 (LEEPER and UREN, 1993) až 20-30 (ALEXANDER, 1977). Tyto poměry jsou udávány pro mineralizaci organické hmoty, konkrétně dusíku, jako kritické. Snižující se poměr C/N úměrně zvyšuje rychlost mineralizace a naopak (CÔTÉ et al., 2000). GUNDERSEN et al. (1998) zjistili, že půdy s opadem mající poměry C/N nižší než 25 vyplavovaly významně více N a nebo vykazovaly vyšší koncentraci N v půdě. LOVETT et al. (2004) studovali různé typy lesního opadu a vliv kvality opadu na cyklus N v půdě také potvrzují. ŠANTRŮČKOVÁ et al. (2006) studovali totožné druhy rostlinných opadů z povodí šumavských jezer jaké byly použity v mém experimentu a kritickou hodnotu mineralizace N stanovili při C/N poměru 32. Pokud dosahoval poměr C/N hodnoty 32 a vyšší, pak se koncentrace minerálních forem N neměnila. Jestliže však tento poměr poklesl pod hodnotu 32, pak koncentrace minerálního N exponenciálně vzrůstala. To ukazuje na kritickou hodnotu C/N poměru vlivem převyšující mineralizace N nad jeho akumulaci v mikrobiální biomase. Zjištěný mezní poměr C/N 32 je jen nepatrně vyšší, než-li ve své studii uvádí TAKEDA (1998) pro rozkládající se listy stromů mírného klimatického pásma, pro něž tento poměr dosahoval hodnot v rozmezí 25 - 30. V mém experimentu se tato kritická hodnota poměru C/N pohybovala opět kolem hodnoty 32.

Korelace s C/N byla vyšší v případě  $\text{NH}_4^+$  než-li  $\text{NO}_3^-$  a množství amonného N extrahovaného z opadů po ukončení inkubace bylo o 2 řády vyšší než u nitrátu. Je to dáno tím, že amonný kationt je primárním produktem amonifikace organické hmoty, kdežto nitrátový aniont pochází především z přeměn  $\text{NH}_4^+$  v procesech nitrifikace (ŠANTRŮČKOVÁ et al., 2006). Tomu odpovídají i zjištění získaná během mého experimentu, která odhalila velmi pomalou rychlost nitrifikace a mnohem vyšší rychlost amonifikace. Souhlasně s tím byl proces nitrifikace rychlejší ve vzorcích s vyšší koncentrací  $\text{NH}_4^+$ .

$C_{\text{MIN}}$  se snižovala se stoupající hodnotou C/N poměru. Vznikající minerální N tedy zřejmě nebyl asimilován do mikrobiální biomasy, ale místo toho byl v nadbytku uvolňován do prostředí pokud poměr C/N klesl pod hodnotu 32. Ve svém důsledku se tak zvyšuje riziko úniku dusíku do spodních půdních horizontů. Tento proces tak může zapříčinit zvýšený odtok N z povodí, ve kterých se dominantními stávají na N bohaté rostliny a asimilace N prostřednictvím ostatních rostlinných druhů či volně žijící mikroflóry je nějakým způsobem omezena (ŠANTRŮČKOVÁ et al., 2006). Ve sledovaných povodích šumavských ledovcových jezer tímto omezením může být zmiňovaný problém acidifikace půd. K němu se nyní přidává prakticky nulový příjem N kořeny smrkových porostů, které následkem

kůrovcového žíru odumřely a jejich místo v ekosystému dnes nahrazují trávy, jenž jsou co do obsahu dusíku relativně bohaté. Je tedy pravděpodobné, že ztráty N z povodí šumavských jezer se budou i nadále zvyšovat.

#### 5.4. Mikroorganismy v opadech

Základní velmi důležitý faktor ovlivňující metabolickou aktivitu mikroorganismů je množství a složení organických látek v rostlinném opadu.  $C_{MIN}$  všech druhů opadu byla na konci inkubace přibližně na stejné úrovni. V této fázi dekompozice množství snadno dostupných živin pozvolna klesalo. Mikrobiální společenstvo již začalo rozkládat komplexnější hůře mineralizovatelné složky rostlinných pletiv a vlivem toho začala sílit kompetice o zbývající snadněji dostupné živiny především mezi bakteriálním a houbovým společenstvem (BERG and LASKOWSKI, 2006).

Mikrobiální přeměny organických látek během dekompozice měly za následek změny v koncentracích vodorozpustných složek na konci inkubace ve srovnání s jejím počátkem. Množství  $CO_2$  a  $NH_4^+$  byly produkovány heterotrofními mikroorganismy (ŠANTRŮČKOVÁ, et al., 2006).  $C_{EXT}$  společně s  $N_{EXT}$  byly extrahovány užitím horké destilované vody. Takto získaný uhlík je převážně mikrobiálního původu (GHANI et al., 2003). Množství vyprodukovaného  $C_{EXT}$  bylo u všech opadů vyšší než-li C imobilizace do mikrobiální biomasy. Jedinou výjimkou byl opad metličky, který se po 4 měsících naopak vyznačoval nižšími hodnotami  $C_{EXT}$  oproti vstupnímu množství. Tento fakt naznačuje rychlou mineralizaci snadno dostupných organických složek následovanou poklesem dostupnosti C. Zabudování C ve formě  $C_{EXT}$  do biomasy mikroorganismů v prvních fázích mineralizace tedy bylo v případě metličky vyšší ve srovnání s ostatními opady. Je to dáno zřejmě vyšším obsahem  $N_{EXT}$  a  $P_{ox}$  v rozkládajících se pletivech této trávy. Za těchto příznivých podmínek nebyl růst mikroorganismů příliš limitován (ŠANTRŮČKOVÁ et al., 2006).

Složení bakteriálního a houbového společenstva ve studovaných opadech analyzovali v průběhu a po ukončení experimentu ve své studii současně také BÁRTA et al. (submitted), kteří zjistili, že společenstvo hub a bakterií bylo ovlivněno především typem rostlinného opadu a do jisté míry rovněž teplotou inkubace než-li lokalitou, ze které sledovaný rostlinný materiál pocházel. Společenstva bakterií rozkládající opad s podobným chemickým složením vykazovaly druhovou podobnost (BÁRTA et al., submitted). Opady s podobnými obsahy fenolických složek (jehličí a borůvčí; metlička a třtina) obsahovaly podobná bakteriální společenstva. To platilo jak pro druhovou diverzitu, tak i pro počet dominantních druhů.

(LUCAS et al., 2007). S tímto názorem se ve své studii ztotožňují např. i STOTT et al. (1986), kteří uvádějí, že dekompozice je řízena především kvalitou rozkládaného opadu.

V konečných fázích dekompozice se snižuje dostupnost jednodušších forem C a živin (N, P) a převažovat začínají fenolické a ligninové složky s vyšší molekulovou hmotností. To způsobuje narůstající kompetici mezi bakteriemi a houbami o zbývající dostupné živiny (DEACON et al., 2006). Houby r-stratégové jsou typickými saprotrofy. Pokud žijí v půdě či opadu na živiny chudém, pak zde přežívají ve formě spór a teprve po dodání živin jsou schopné rychlého růstu mycelia a kolonizace substrátu. Dusík je zde často limitující prvek rozvoje mikrobiálních společenstev, v počátečních fázích je ztráta uhlíku respirací z ekosystému značná a snižuje se časem (sukcesí). Podle BÁRTA et al. (submitted) jsou bakterie ve srovnání s houbami schopny efektivněji využít dostupný organický C a hrají tedy v počátečních fázích dekompozičních procesů ve srovnání s houbami dominantnější roli. Bakterie mají ale vůči houbám tu nevýhodu, že nemohou pomocí svého enzymatického aparátu rozkládat fenolické proteinové komplexy (ČERNÁ, 2005). To může vést u opadů odlišujících se v obsahu fenolických látek k posunu v druhovém zastoupení dekompozitorů, kdy houbové společenstvo v pozdějších fázích dekompozice nahradí společenstvo bakteriální.

V případě mého experimentu je rovněž velmi pravděpodobné, že rychlost rozkladu a uvolňování  $C_{EXT}$  a  $N_{EXT}$  byly řízeny spíše kvalitativními parametry rozkládajících se opadů (dostupností živin a obsahem fenolických látek) než-li teplotou, při které dekompozice probíhala. To potvrzují rovněž BÁRTA et al. (submitted), kteří ve složení houbového ani bakteriálního společenstva nenalezli při porovnání obou dekompozičních teplot průkazné rozdíly.

Je známo, že ve vyšších nadmořských výškách zůstává teplota pod vrstvou sněhu obvykle kolem  $0^{\circ}\text{C}$  i po několik měsíců. To umožňuje rozvoj na chlad adaptovaného mikrobiálního společenstva ( $-5$  až  $3^{\circ}\text{C}$ ) (LEY et al., 2004). Během jarního tání pak dochází k významnému úbytku (odumírání) v mikrobiální biomase vlivem snížení dostupnosti C a vzrůstu teploty, což ve svém důsledku vede k uvolnění většího množství minerálního N (SCHMIDT and LIPSON, 2004). Předchozí výsledky potvrdily probíhající přeměny organické hmoty v půdách povodí obou jezer i při teplotách kolem  $0^{\circ}\text{C}$  (SKOPCOVÁ and ŠANTRŮČKOVÁ, 2006). Množství N ve formě  $\text{NO}_3^+$  zaznamenaná v přítocích Plešného a Čertova jezera byla nejvyšší zjara po roztátí sněhu (KOPÁČEK et al., 2002 a,b). V zimě pravděpodobně dochází k nahromadění minerálního N v půdě, mikroorganismy jsou pod sněhovou pokrývkou stále aktivní, ale rostliny N nepřijímají, a jarní tání tak způsobí jeho vyplavení z ekosystému.



## 5.5. Důsledky změn ve skladbě lesního ekosystému

Ve střední Evropě je ztrátami makronutrientů postižena převážná část lesních ekosystémů, v nichž se vlivem přírodních a antropických disturbancí pozvolna obměňují původní rostlinná (ale i živočišná) společenstva a travinné druhy vlivem narůstajícího prosvětlování lesů stále více zvyšují v daných lokalitách svou dominanci. S využitím dat o vegetačním pokryvu (SVOBODA et al., 2006) a průměrném ročním opadu smrkového jehličí na studovaných lokalitách (CUDLÍN, nepublikováno) bylo odhadnuto potenciální množství uvolněného uhlíku a dusíku během celoroční mineralizace. Ze získaných výsledků vyplývá, že příspěvek živinami chudého ale na fenolické látky bohatého opadu (jehličí, borůvčí, kapradí) byl téměř 70% v celkovém součtu veškerého při mineralizaci vyprodukovaného CO<sub>2</sub>, avšak na množství uvolněného N se tyto rostlinné druhy prostřednictvím svého opadu podílejí pouze z přibližně 10-20%, jelikož většina stanoveného N byla uvolněna během dekompozice trav. Tyto hodnoty korespondují se vstupem N prostřednictvím atmosférických depozic (KOPÁČEK et al., 2002b).

Bylinné patro horních částí obou povodí je tvořeno převážně travami a kapradinou. V horní části povodí Čertova jezera dosahuje pokryvnost trav téměř 100 % (SVOBODA, nepublikováno). Dolní části obou povodí jsou převážně porostlé borůvkím, trávy se zde vyskytují spíše sporadicky. Na rozdíl od borůvčí mají trávy bohatě a hustě rozvinutý kořenový systém, lze tedy předpokládat, že v okolí kořenového systému trav bude díky rhizosférnímu efektu bohatě rozvinuté mikrobiální společenstvo (10 - 50 x bohatší oproti volné půdě) (TESAŘOVÁ, 1993). Trávy jsou velmi bohaté na N a také půda pod travinnou vegetací se vyznačuje vyšším obsahem N (COYNE, 1999). Převaha travnatého porostu na půdách horní části Čertova jezera by tudíž mohla vysvětlit vyšší odtok minerálního N z povodí tohoto jezera ve srovnání s jezerem Čertovým.

Lesní ekosystémy se, jak již bylo několikrát řečeno, pozvolna obměňují a vlivem stoupajícího prosvětlování lesních porostů zvyšují svou dominanci trávy. Ty jsou velmi bohaté na N a prostřednictvím svého opadu čím dál více ovlivňují transformaci živin v takto zasažených lesních ekosystémech. Tento proces pravděpodobně povede ke stoupajícímu vyplavování N z takto postižených půd a v konečném důsledku je možné, že dnes dusíkem satureované ekosystémy, kterými jsou rovněž i sledovaná povodí šumavských ledovcových jezer, budou za nějaký čas pociťovat deficit této základní živiny.

## 6. ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo zjistit, zda-li existují odlišnosti v rychlosti rozkladu a průběhu mineralizace mezi jednotlivými druhy rostlinných opadů vyskytujícími se v povodí šumavských ledovcových jezer. Pomocí laboratorního experimentu se rovněž mělo objasnit, do jaké míry působí na rychlost rozkladu rozdílné dekompoziční teploty (0 a 10°C).

- Sledované druhy byly vybírány dle jejich míry dominance, tedy zvoleny byly na daných lokalitách majoritně zastoupené druhy (*Picea abies*, *Athyrium alpestre*, *Vaccinium myrtillus*, *Calamagrostis villosa* a *Avenella flexuosa*). Analyzovány byly chemické vlastnosti a kvalita opadů. Dále byly zdokumentovány hlavní faktory hrající nejdůležitější roli během jejich dekompozice.
- Získané výsledky prokázaly ovlivnění rychlosti mineralizace organické hmoty obsahem fenolických látek přítomných v rostlinných tkáních, kdy jejich vyšší množství mineralizační rychlost zpomaluje a naopak. Jako zásadní se také ukázal obsah dostupného fosforu, který v mineralizačních procesech hraje také velmi významnou roli a spolupůsobí společně s fenolickými látkami na uvolňování N z opadů.
- Závislost mineralizační rychlosti na dekompoziční teplotě prokázána nebyla. Mineralizace se jevila na teplotě prakticky nezávislou a výsledky se mezi teplotami 0°C a 10°C nijak významně neodlišovaly. Tím byl opět potvrzen fakt, že mineralizaci nejvýznamněji ovlivňuje kvalita rozkládajícího se materiálu spíše než teplota, při které k tomuto procesu dochází.
- V současnosti se skladba rostlinných společenstev v studovaných lesních ekosystémech pozvolna mění. Dominantnějšími se stávají trávy na úkor smrkových porostů. Tyto změny zřejmě povedou ke stoupajícímu vyplavování N z takto postižených lokalit. V konečném důsledku je tak pravděpodobné, že nyní dusíkem saturované ekosystémy budou naopak za nedlouho tímto základním biogenním prvkem limitovány.

## 7. POUŽITÁ LITERATURA

ABER, J. D., MELILLO, J. M., MCCLAUGHERTY, C. A. (1990). Predicting long-term patterns of mass loss, nitrogen dynamics, and soil organic matter formation from initial fine litter chemistry in temperate forest ecosystems. *Can. J. Bot.* 68, 2201–2208.

ALEXANDER, M. (1977). *Introduction to soil microbiology*. 2nd ed. John Wiley and Sons, USA.

BALDWIN, I. T., OLSON, R. K., REINERS, W. A. (1983). Protein binding phenolics and the inhibition of nitrification in subalpine balsam fir soils. *Soil Biology and Biochemistry* 15, 419-423.

BÁRTA, J., VANĚK, D., ŠANTRŮČKOVÁ, H. (2008). Available phosphorus and phenolics control litter C and N mineralization in acidified spruce forests. *Soil Biology and Biochemistry*. Submitted.

BEGON, M., HARPER, J. L., TOWNSEND, C. R. (1997). *Ekologie: jedinci, populace a společenstva*. Vydavatelství Univerzity Palackého, Olomouc. 949 p.

BENDING, N. A. D., MOFFAT, A. J. (1999). Tree performance on minespoils in the South Wales coalfield. *Journal of Applied Ecology* 36, 784-797.

BERG, B., LASKOWSKI, R., (2006). *Litter Decomposition: A Guide to Carbon and Nutrient Turnover*. In: Caswell, H. (Ed.), *Advances in ecological research*, vol. 38. San Diego, California.

BINKLEY, D., HART, S. C. (1989). The components of nitrogen availability assessments in forest soils. *Advances in Soil Science* 10, 57 - 112.

BINKLEY, D., STOTTLEMYER, R., SUAREZ, F., CORTINA, J. (1994). Soil nitrogen availability in some arctic ecosystems in northwest Alaska: Responses to temperature and moisture. *Ecoscience* 1 (1), 64 - 70.

BOLIN B., COOK R. B. (1983). *The major biogeochemical cycles and their interactions*. Wiley, U.K.

BRADLEY, R. L., TITUS, B. D., PRESTON, C. P. (2000). Changes to mineral N cycling and microbial communities in black spruce humus after additions of  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  and condensed tannins extracted from *Kalmia angustifolia* and balsam fir. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1227–1240.

BRADSHAW, A. D. (1983). The reconstruction of ecosystems. *Journal of Applied Ecology* 20, 1-17.

BRADY, N. C., WEIL, R. R. (2002). *The Nature and Properties of Soils*. Thirteenth edition. Prentice Hall, New Jersey.

CHAPIN, F.S., KEDROWSKI, R.A. (1983). Seasonal changes in nitrogen and phosphorus fractions and autumn retranslocation in evergreen and deciduous taiga trees. *Ecology* 64 (2), 376–391.

- CÔTE, L., BROWN, S., PARE, D., FYLES, J., BAUHUS, J. (2000). Dynamics of carbon acid nitrogen mineralization in relation to stand type, stand age and soil texture in the boreal mixedwood. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1079-1090.
- CÔTE, B., FYLES, J.W., DJALILVAND, H. (2002). Increasing N and P resorption efficiency and proficiency in northern deciduous hardwoods with decreasing foliar N and P concentrations. *Ann. For. Sci.* 59, 275–281.
- COYNE, M. S. (1999). *Soil microbiology: an exploratory approach*. Delmar Publishers, USA.
- CROCKER, R. L., DICKSON B. A. (1957). Soil development on the recessional moraines of the Herbert and Mendenhall glaciers, southeastern Alaska. *Journal of Ecology* 45, 169-185.
- ČERNÁ, B. (2005). Růst a rozvoj funkčních skupin mikroorganismů v půdě - vliv zrnitosti. *Magisterská diplomová práce, Biologická fakulta JU, České Budějovice*.
- DALIAS, P., ANDERSON, J. M., BOTTLNER, P., COUTEAUX, M. M. (2002). Temperature responses of net nitrogen mineralization and nitrification in conifer forest soils incubated under standard laboratory conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 691 - 701.
- DAVIDSON, E. A., JANSSENS, I. A. (2006). Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440, 165–173.
- DEACON, L. J., PRYCE-MILLER, E. J., FRANKLAND, J. C., BAINBRIDGE, B. W., PETER, D., MOORE, P. D., ROBINSON, C. H. (2006). Diversity and function of decomposer fungi from a grassland soil. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 7-20.
- DICKINSON, C. H., PUGH, G. J. F. (1974). *Biology of plant litter decomposition*. Academic Press Inc., London and New York. 850 p.
- DOMSCH, K. H., GAMS, W., ANDERSON, T. H. (1980). *Compendium of soil fungi*. Volume 1. Academic Press, London.
- DYKYJOVÁ, D. (1989). *Metody studia ekosystémů*. Academia Praha.
- ENOKI, T., KAWAGUCHI, H. (1999). Nitrogen resorption from needles of *Pinus thunbergii* Parl. growing along a topographic gradient of soil nutrient availability. *Ecological research* 14 (1), 1–8.
- FANG, C., SMITH, P., MONCRIEFF, J. B., SMITH, J. U. (2005). Similar response of labile and resistant soil organic matter pools to temperature change. *Nature* 433, 57-59.
- FASSATIOVÁ, O. (1979). *Plísňe a vláknité houby v technické mikrobiologii*. SNTL Praha 1979.
- FIALA, K., TŮMA, I., HOLUB, P., JANDÁK, J. (2005). The role of *Calamagrostis* communities in preventing soil acidification and base cation losses in a deforested mountain area affected by acid deposition. *Plant and Soil*. 268: 35–49.
- FIERER, N., CRAINE, J. M., MCLAUCHLAN, K., SCHIMMEL, J. P. (2005). Litter quality and the temperature sensitivity of decomposition. *Ecology* 86, 320-326.

- GALLET, CH., LEBRETON, P. (1995). Evolution of phenolic patterns in plants and associated litters and humus of mountain forest ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry* 27, 157-165.
- GARTEN, C. T., VANMIEGROET, H. (1994). Relationships between soil-nitrogen dynamics and natural N-15 abundance in plant foliage from great smoky mountains national-park. *Canadian Journal of Forest Research* 24 (8), 1636 - 1645.
- GOSZ, J. R. (1981). Nitrogen cycling in coniferous ecosystems. In: Clark F. E., Rosswall T. (Eds.), *Nordic Council of Ministers, Copenhagen*.
- GUNDERSEN, P., BASHKIN, N. (1994). Nitrogen cycling. in: Moldan B., Černý J. (Eds.), *Biogeochemistry of small catchments: a tool for environmental research. SCOPE, Willey, Chichester, 255 – 277*.
- GUNDERSEN, P., CALLESEN, I., DE VRIES, W. (1998). Nitrate leaching in forest ecosystems is related to forest floor C/N ratios. *Environmental Pollution* 102: 403 – 407.
- HARTMANN, R., SCHNEIDER, B. U., GAST, C., KEPLIN, B., HÜTTL, R. F. (1999). Effects of N-enriched rock powder on soil chemistry, organic matter formation and plant nutrition in lignite-poor sandy mine spoil in the forest reclamation practise. *Plant and Soil* 213, 99-115.
- HERRICK, J., WANDER, M. M. (1998). Relationship between soil organic carbon and soil quality in cropped and rangeland soils: the importance of distribution, composition, and soil biological activity. IN: LAL J.M., FOLLETT R.F., STEWART B.A. (eds.): *Soil processes and the carbon cycle. CRC Press, London, pp. 405-425*.
- ISERMEYER, H. (1952). Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. *Z Pflanzenernäh Bodenk* 56, 26 - 38.
- IVENS, W. P. M. F., LÖVBLAD, G., WESTLING, O., KAUPPI, P. (1990). Throughfall monitoring as a means of monitoring deposition to forest ecosystems. *NORD Miljørapport 1990: 16, Nordic Council of Ministers, Kopenhagen*.
- JÄGGI, W. (1976). Die Bestimmung der CO<sub>2</sub>-Bildung als Mass der bodenbiologischen Aktivität. *Schweiz Landwirtschaft Forschung Band 15, Heft 314, 317 - 380*.
- KANERVA, S., KITUNEN, V., KIIKKILA, O., LOPONEN, J., SMOLANDER, A. (2006). Response of soil C and N transformations to tannin fractions originating from Scots pine and Norway spruce needles. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 1364-1374.
- KNOCHE, D., EMBACHER, A., KATZUR, J. (1999). Long term matter dynamics of oak ecosystems on acid sulphurous mine soils in the Lusatian lignite mining district (Eastern Germany). Abstracts. *International Symposium Ecology of post-mining landscapes EcoPol'99, Brandenburg Univerzity of Technology at Cottbus, March 15-19, 1999*.
- KOPÁČEK, J., HEJZLAR J. (1998). Water chemistry of surface tributaries to the acidified mountain lakes in the Bohemian Forest. *Silva Gabreta* 2, 175 - 197.
- KOPÁČEK, J., HEJZLAR J., PORCAL P. (2000). Ionic fluxes in the Čertovo watershed-lake ecosystem in the 1998 hydrological year. *Silva Gabreta* 4, 117 - 134.

- KOPÁČEK, J., KAŇA, J., ŠANTRŮČKOVÁ, H., PORCAL, P., HEJZLAR, J., PICEK, T., ŠIMEK, M., VESELÝ, J. (2002, a). Physical, chemical, and biochemical characteristics of soils in watersheds of the Bohemian Forest lakes II. Čertovo and Černé lakes. *Silva Gabreta* 8, 67 - 94.
- KOPÁČEK, J., KAŇA, J., ŠANTRŮČKOVÁ, H., PORCAL, P., HEJZLAR, J., PICEK, T., ŠIMEK, M., VESELÝ, J. (2002, b). Physical, chemical, and biochemical characteristics of soils in watersheds of the Bohemian Forest lakes I. Plešné lake. *Silva Gabreta* 8, 43 - 66.
- KOPÁČEK J., VESELÝ J., HEJZLAR J. (1998). Bedrock and soil composition: crucial factors governing phosphorus input and trophic status on forest lakes in Bohemian Forest. *Acta Universitatis Carolinae - Geologica* 42, 55 - 59.
- KRAUS, T. E. C., DAHLGREN, R. A., ZASOSKI, R. J. (2003). Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems - a review. *Plant and Soil* 256, 41-66.
- LAVELLE, P., SPAIN, A. (2001). *Soil ecology*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- LEEPER, G. W., UREN N. C. (1993). *Soil Science. An introduction*. Melbourne Univerzity Press, Carlton. 300 p.
- LELLÁK, J., KUBÍČEK, F. (1991). *Hydrobiologie*. Univerzita Karlova, Praha.
- LEY, R. E., WILLIAMS, M. W., SCHMIDT, S. K. (2004). Microbial population dynamics in an extreme environment: Controlling factors in unvegetated talus soils at 3750 m in the Colorado rocky Mountains. *Biogeochemistry* 68 (3), 313 - 335.
- LODHI, M. A. K., KILLINGBECK, K. T. (1980). Allelopathic inhibition of nitrification and nitrifying bacteria in a ponderosa pine (*Pinus ponderosa* Dougl.) community. *American Journal of Botany* 67, 1423–1429.
- LOUSIER, J. D., PARKINSON, D., (1978). Chemical element dynamics in decomposing leaf litter. *Canadian Journal of Botany* 56, 2795-2812.
- LOVETT, G. M., WEATHERS, K. C., ARTHUR, M. A., SCHULTZ, J. C. (2004). Nitrogen cycling in a northern hardwood forest: Do species matter? *Biogeochemistry* 67 (3), 289 - 308.
- LOŽEK, V. (2001). *Geologie Národního parku Šumava*. *Silva Gabreta, Supplementum* 1, 18 - 19.
- LUCAS, W. R., CASPER, B. B., JACKSON, J. K., BALSER, T. C. (2007). Soil microbial communities and extracellular enzyme activity in New Jersey Pinelands. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2508-2519.
- MAJER, V., COSBY, B. J., KOPÁČEK, J., VESELÝ, J. (2003). Modelling reversibility of Central European mountain lakes from acidification: Part I - The Bohemian Forest. *Hydrology and Earth System Science* 7: 494 - 509.
- MELILLO, J. M., ABER, J. D., MURATORE, J. F. (1982). Nitrogen and lignin control of hard wood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology* 63 (3): 621–626.
- MIKOLA, P. (1955). Experiments of the rate of decomposition of forest litter. *Communicationes Institut Forestalis Fenniae* 43, 1 - 50.

- MITSCHE, W. J., GOSELINK, J. G. (2000). *Wetlands* 3rd edition. John Wiley and Sons. New York.
- MOLLER, J., MILLER, M., KJOLLER, A. (1999). Fungal-bacterial interaction on beech leaves: influence on decomposition and dissolved organic carbon quality. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1207-1217.
- NĚMEČEK, J., SMOLÍKOVÁ, L., KUTÍLEK, M. (1990). *Pedologie a paleoekologie*. Academia, Praha. 546 p.
- NORTHUP, R. R., YU, Z., DAHLGREN, R. A., VOGT, K. A. (1995). Polyphenol control of nitrogen release from pine litter. *Nature* Vol. 377, pp. 227–229.
- ODUM, E.P. (1977): *Základy ekologie*. Academia, Praha. 736 p.
- OSONO, T., TAKEDA, H. (1999). Decomposing ability of interior and surface fungal colonizers of beech leaves with reference to lignin decomposition. *European Journal of Soil Biology* 35, 51-56.
- OSTRÝ, V. (1998). Vlákňité mikroskopické houby (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. Státní zdravotní ústav, Praha, p. 20.
- PAUL, E. A., CLARK, F. E. (1996). *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, San Diego, 340 p.
- PELÍŠEK J. (1978). Die Bodenverhältnisse der waldreservationen in der Tschechoslowakischen sozialistischen republik (ČSR). Přírodovědecké práce ústavů Československé akademie věd v Brně 12 (9), Institute of Vertebrate Zoology of ČSAV, Brno, pp. 1 - 14.
- PETRUŠ, J., NEUHÄUSLOVÁ, Z. (2001). *Pedologie Národního parku Šumava*. Silva Gabreta, Supplementum 1, 21 - 22.
- PITTER, P. (1999). *Hydrochemie*. Vydavatelství VŠCHT, Praha.
- POKORNÁ, J. (1976). Rozklad celulózy půdní mikroflórou (Studijní zpráva). Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha.
- PUGH, G. J. F. (1974). Terrestrial Fungi. In: DICKINSON, C.H., PUGH, G.J.F. (eds): *Biology of Plant Litter Decomposition*. Volume 2. Academic Press, London, pp. 303-336.
- RAUBUCH, M., JOERGENSEN, R. G. (2002). C and net N mineralization in a coniferous forest soil: the contribution of the temporal variability of microbial biomass C and N. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 841 - 849.
- RUSEK, J. (2000a). Ekofyziologie půdních živočichů a teplota. *Živa* 3, 121-124.
- RUSEK, J. (2000b). Sukcesní vývoj půdy a ekosystémů. *Živa* 5, 217-221.
- RYCHNOVSKÁ, M. et al. (1987). *Metody studia travinných ekosystémů*. Academia, Praha, pp. 187 - 192.
- RYCHNOVSKÁ, M. (1985). *Ekologie ručních porostů*. Academia, Praha.

- SATCHELL, J. E. (1974). Litter – Interference of animate/inanimate matter. In: DICKINSON, C. H., PUGH, G. J. F. (eds): *Biology of Plant Litter Decomposition*. Volume 1. Academia Press, London, pp. 13-44.
- SCHINNER, F., HLINGER, R., KANDELER, E., MARGESIN, R. (1996). *Methods in soil biology*. Springer - Verlag, Berlin.
- SCHLESINGER, W. H. (1977). Carbon balance in terrestrial detritus. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 8, 51-81.
- SCHMIDT, S. K., LIPSON, D. A. (2004). Microbial growth under the snow: Implications for nutrient and allelochemical availability in temperate soils. *Plant and Soil* 259, 1 - 7.
- SCOTT, N. A., BINKLEY, D. (1997). Foliage litter quality and annual net N mineralization: comparison across North American forest sites. *Oecologia* 111: 151–159.
- SINGH, J., GUPTA, S. R. (1977). Plant decomposition and soil respiration in terrestrial ecosystems. *The botanical review* 43, 449 - 528.
- SKOPCOVÁ, K. (2005). Přeměny dusíku v lesních půdách v povodí šumavských jezer. *Magisterská diplomová práce*. Biologická fakulta, Jihočeská univerzita. České Budějovice.
- SKOPCOVÁ, K., ŠANTRŮČKOVÁ, H. (2006). The effect of temperature on nitrogen transformations in mountain forest soils of Plešné, Černé, and Čertovo Lake watersheds. *Silva Gabreta*. Vol. 12 (1), pp. 3-14.
- SMOLANDER, A., KITUNEN, V., PAAVOLAINEN, L., MÄLKÖNEN, E. (1996). Decomposition of Norway spruce and Scots pine needles: Effects of liming. *Plant and Soil* 179, 1-7.
- SMRŽOVÁ, V. (1999). Bilance fosforu a dusíku v Plešném a Čertově jezeře. *Magisterská diplomová práce*. Biologická fakulta JCU, České Budějovice.
- STEVENSON, F. J. (1985). *Cycles of soil*. John Wiley and Sons, USA.
- STOTT, D. E., ELLIOTT, L. F., PAPENDICK, R. I., CAMPBELL, G. S. (1986). Low temperature or low water potential effects on the microbial decomposition of wheat residue. *Soil Biol. Biochemistry* Vol. 18, No. 6, pp. 577-582.
- SVOBODA, M. (2005). Struktura horského smrkového lesa v oblasti Trojmezí ve vztahu k historickému vývoji a stanovištním podmínkám. *Silva Gabreta* 9, 201-216.
- SVOBODA, M., MATĚJKA, K., KOPÁČEK, J. (2006). Biomass and nutrient pools of herb layer in the catchments of the two lakes in Bohemian Forest. *Biologia*.
- SYLVIA, D. M., FUHRMANN, J. J., HARTEL, P. G., ZUBARER, D. A. (eds.) (1998). *Principles and Applications of Soil Microbiology*. Prentice Hall, Inc., Upper Saddle River.
- SZEGI, J. (1988). *Cellulose decomposition and soil fertility*. Académiai Kiado, Budapest.



- ŠANTRŮČKOVÁ, H. (1993, a). Mikrobiální biomasa jako ukazatel biologické aktivity půdy. *Rostlinná výroba* 39, 779 - 788.
- ŠANTRŮČKOVÁ, H. (1993, b). Respirace půdy jako ukazatel její biologické aktivity. *Rostlinná výroba* 39, 769 - 778.
- ŠANTRŮČKOVÁ, H. (2001). Ekologie půdy. BF JU a ÚPB AV ČR v Českých Budějovicích, pp. 6 - 27.
- ŠANTRŮČKOVÁ, H., KRIŠTŮFKOVÁ, M., VANĚK, D. (2006). Decomposition rate and nutrient release from plant litter of Norway spruce forest in the Bohemian Forest. *Biologia*.
- ŠANTRŮČKOVÁ, H., VRBA, J., PICEK, T., KOPÁČEK, J. (2004). Soil biochemical activity and phosphorus transformations and losses from acidified forest soils. *Soil Biology & Biochemistry* 36, 1569 - 1576.
- ŠIMEK, M., ŠANTRŮČKOVÁ, H., KRIŠTŮFEK, V. (eds.) (1998). Odběr, skladování a zpracování půdních vzorků pro biologické a chemické analýzy. ÚPB AV ČR, České Budějovice.
- ŠLAJSOVÁ, P. (2008). Rychlost dekompozice organické hmoty v půdách smrkových lesů na Šumavě. Bakalářská diplomová práce. Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita. České Budějovice.
- ŠVAMBERA, V. (1939). Jezera na české straně Šumavy. *Sborník české společnosti zeměpisné* 45, 15 - 23.
- TAKEDA, H. (1998). Decomposition processes of litter along a latitudinal gradient, pp. 197–206. In: SASSA, K. *Environmental Forest Science*. Kluwer Academic Press, Dordrecht.
- TIETEMA, A. (1993). Mass-loss and nitrogen dynamics in decomposing acid forest litter in the Netherlands at increased nitrogen deposition. *Biogeochemistry* 20 (1), 45-62.
- TESAŘ, M. (2003). Hydrologie Šumavy. In: kolektiv autorů, *Šumava příroda, historie, život*, Baset, Praha.
- TESAŘOVÁ, M. (1988). Microorganisms and the carbon cycle in ecosystem. In: Vančura, V., Kunc, F. (eds.): *Soil microbial associations control of structures and functions*. Academia, Praha. pp. 339 - 405.
- TESAŘOVÁ, M. (1993). Microorganisms in grassland ecosystem. In: Rychnovská, M. (ed.): *Structure and functioning of seminatural meadows*. Academia, Praha. pp. 245 - 275.
- TUOMELA, M., VIKMAN, M., HATAKKA, A., ITAVAARA, M. (2000). Biodegradation of lignin in compost environment: a review. *Bioresource Technology* 72, 169-183.
- ÚLEHLOVÁ, B. (1989). Rozklad biomasy. In: Dykyjová, D. (ed.): *Metody studia ekosystémů*. Academia, Praha. pp. 523 - 554.
- VACULÍK, R. DOSTÁL, P., DVORNÍK, J., PŘÁDKOVÁ, E., ŠÍBL, V., GROH, J. (1983). *Půdoznalství II*. SPN, Praha. 186 p.

VANĚK, D. (2004). Rychlost dekompozice organické hmoty v půdách ledovcových jezer na Šumavě. Bakalářská diplomová práce. Biologická fakulta, Jihočeská univerzita. České Budějovice.

VESELÝ, J. (1994). Investigation of the nature of the Šumava lakes: a review. *Časopis Národního Muzea* 163, 103 - 120.

VRBA, J., FOTT, J., KOHOUT, L., KOPÁČEK, J. (2004). Současné zotavování acidifiko-vaných jezer na Šumavě. in: Dvořák P., Šustr P. (Eds.) *Aktuality šumavského výzkumu II. – sborník z konference. Správa NP a CHKO Šumava, Vimperk*, 99 - 103.

VRBA, J., KOPÁČEK, J., FOTT, J. (2000a). Long-term limnological research of the Bohemian Forest lakes and their recent status. *Silva Gabreta* 4: 7 – 28.

VRBA, J., KOPÁČEK, J., FOTT, J., ŠANTRŮČKOVÁ, H., VESELÝ, J., VICENA, I. (2000). Dlouhodobý výzkum šumavských jezer - výstup pro lesnickou praxi. *Monitoring, výzkum a management ekosystémů Národního parku Šumava*, 44 - 48.

WARDLE, D. A., NILSSON, M.- C., ZACKRISSON, O., GALLET, C. (2003). Determinants of litter mixing effects in a Swedish boreal forest. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 827–835.

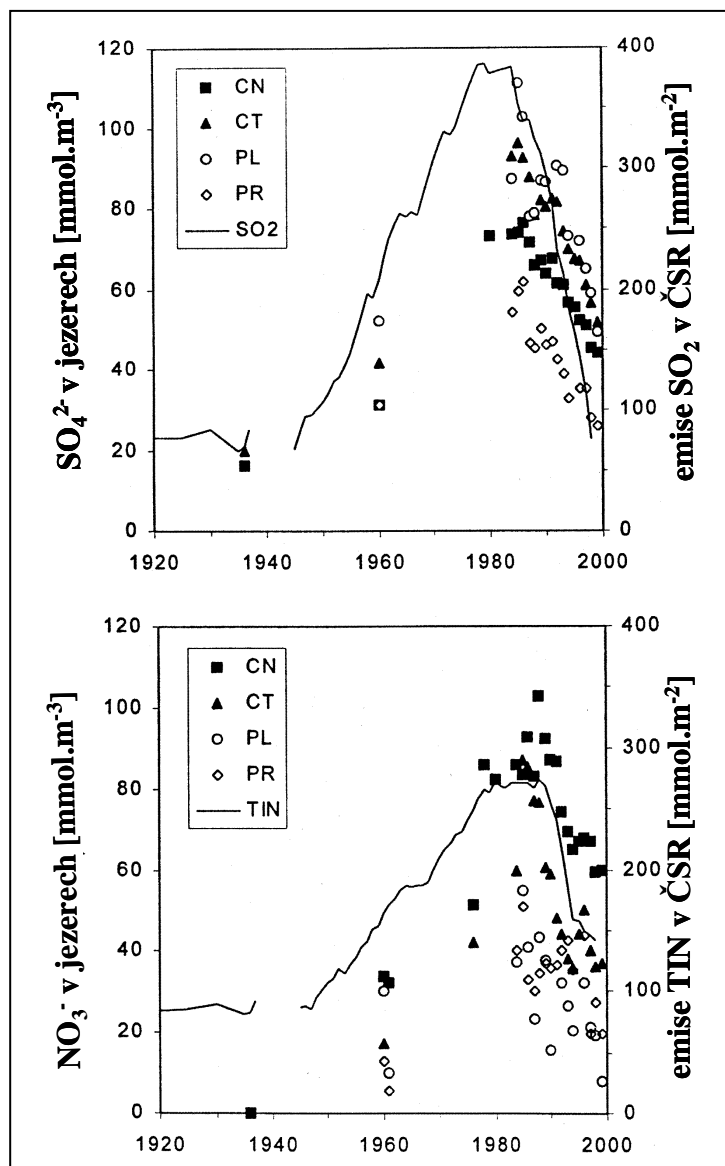
WEDDERBURN, M. E., CARTER, J. (1999). Litter decomposition by four functional tree types for use in silvopastoral systems. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 455-461.

WILLIAMS, S. T., GRAY T. G. R. (1974). Decomposition of litter on the soil surface. In: Dickinson, C.H., Pugh, G.J.F. (eds): *Biology of Plant Litter Decomposition. Volume 2*. Academic Press, London / New York. pp. 611 - 631.

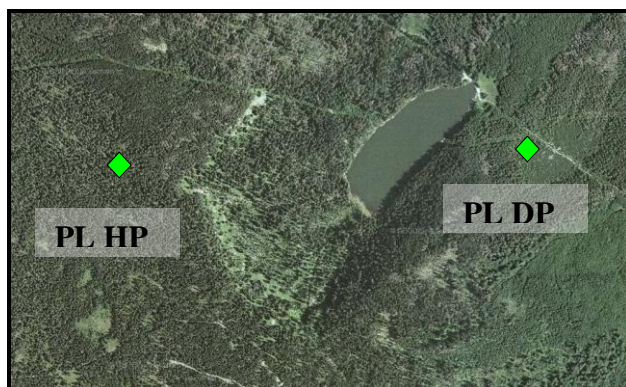
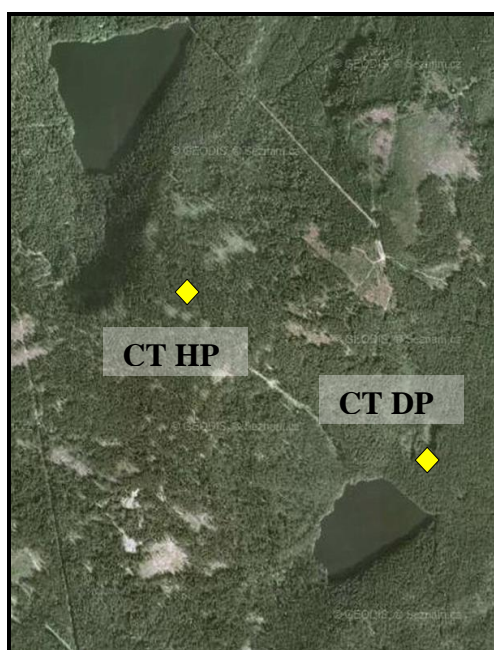
WRIGHT, R. F., HAUS, M. (1991). Reversibility of acidification: soils and surface waters. *Proceedings of Royal Society of Edinburgh*, 97B: 169 – 191.

ZATLOUKAL, V. (2001). Národní park Šumava - historie vzniku, poslání, základní údaje. *Silva Gabreta, Supplementum* 1, 15 - 18.

## 8. PŘÍLOHY



Obrázek č. 1: Československé emise (plná čára) S- $\text{SO}_2$  (nahore) a celkového anorganického dusíku (TIN; dole) a podzimní hladinové koncentrace S- $\text{SO}_4$  a N- $\text{NO}_3$  v šumavských jezerech. (CN – Černé, CT – Čertovo, PL – Plešné, PR – Prášílské; podle VRBA et al., 2000 b)



Obrázek č. 2: Výzkumné plochy na Čertově (CT) a Plešném jezeře (PL); HP – horní plocha, DP- dolní plocha (zdroj [www.mapy.cz](http://www.mapy.cz)).



Obrázek č. 3: Automatický spektrofotometr FIAstar 5012



Obrázek č. 4: Spektrofotometr Jenway 6305



Obrázek č. 5: Inkubační lahve s rozkládajícími se opady a kádinkou s 1M NaOH.