

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**  
**Přírodovědecká fakulta**

**FYZIKÁLNÍ FRAKCIONACE PŮDNÍ ORGANICKÉ HMOTY**

**Bakalářská práce**

Jitka Krejčíková

Školitelka: prof. Ing. Hana Šantrůčková, CSc.

České Budějovice 2017

Krejčíková J. (2017) Fyzikální frakcionace půdní organické hmoty [Physical fractionation of soil organic matter, Bc. Thesis, in Czech] 55 pp, Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

#### Annotation

The aim of this study was to review the literature about aggregate formation and role of soil organic matter in aggregate stability. Further aim was to introduce method of physical fractionation and use it for the practical part. The chosen method was used and tested on mineral soils from watersheds of Čertovo and Plešné Lakes.

Prohlašuji, že svojí bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích webových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/ 1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 19. 4. 2017

.....

Jitka Krejčíková

## **Poděkování**

Z celého srdce bych chtěla poděkovat všem, kteří mi jakýmkoliv způsobem pomohli. Nejprve děkuji své paní školitelce Haně Šantrůčkové za nesmírnou ochotu, trpělivost a pomoc nejen s vypracováním této práce. Děkuji i všem, kteří mi všemožně pomáhali v laboratoři zpracovat vzorky, nebo je analyzovali. Mé poděkování patří i vyučujícím, s kterými jsem měla tu čest se během svého studia setkat, a Přírodovědecké fakultě JU jako celku. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za vše, co pro mne dělají.

### **Seznam zkratk:**

C - uhlík

C/N - poměr uhlíku a dusíku

C/P - poměr uhlíku a fosforu

DOM - rozpuštěná organická hmota (z anglického Dissolved Organic Matter)

DOC - rozpuštěný organický uhlík (z anglického Dissolved Organic Carbon)

HF - těžká frakce (z anglického Heavy Fraction)

iPOM - „částicová“ organická hmota“ uzavřená v agregátech (z anglického intra - aggregate Particulate Organic Matter)

LF - lehká frakce (z anglického Light Fraction)

N - dusík

OM - organická hmota (z anglického Organic Matter)

P - fosfor

POM - „částicová“ organická hmota (z anglického Particulate Organic Matter)

PTS - polytungstát sodný

SOC - půdní organický uhlík (z anglického Soil Organic Carbon)

SOM - půdní organická hmota (z anglického Soil Organic Matter)

### **Seznam zkratk praktické části:**

CT 1,2,3 - první, druhé a třetí opakování vzorků z povodí Čertova jezera

PL 1,2,3 - první, druhé a třetí opakování vzorků z povodí Plešného jezera

> 2000 - třída/frakce větší než 2000  $\mu\text{m}$

2000 - 250 - třída/frakce velikosti 2000 - 250  $\mu\text{m}$

250 - 53 - třída/frakce velikosti 250 - 53  $\mu\text{m}$

53 - 10 - třída/frakce velikosti 53 - 10  $\mu\text{m}$

## OBSAH

|   |    |
|---|----|
| 1. Úvod .....   | 1  |
| 2. Literární rešerše .....  | 3  |
| 2.1. Půdní organická hmota .....  | 3  |
| 2.1.1. Obecné informace .....   | 3  |
| 2.1.2. Definice půdní organické hmoty .....   | 3  |
| 2.2. Struktura půdy a půdní agregáty .....  | 7  |
| 2.2.1. Definice a podmínky vzniku agregátů .....  | 7  |
| 2.2.2. Agregáty a organická hmota .....   | 10 |
| OM jako tmelící látka.....  | 10 |
| Teorie vzniku agregátů.....   | 11 |
| Stabilizace organické hmoty a saturace půdy uhlíkem .....                                 | 12 |
| Živé organismy a jejich produkty a deriváty.....  | 13 |
| Stabilita agregátů a její stanovení.....  | 16 |
| 2.3. Metody frakcionace organické hmoty .....   | 17 |
| 2.4. Cíle a hypotézy k praktické části .....  | 19 |
| 3. Materiál a metody.....   | 20 |
| 3.1. Šumava a lokality Čertova a Plešného jezera .....                                    | 20 |
| 3.2. Pracovní postup .....  | 21 |
| 3.2.1. Velikostní separace .....  | 22 |
| 3.2.2. Hustotní frakcionace a rozplavení agregátů.....                                    | 23 |
| 3.2.3. Zpracování dat.....  | 25 |
| 4. Výsledky.....  | 27 |
| 4.1. Velikostní třídy půdních agregátů a obsah<br>volné OM (velikostní separace) .....    | 27 |
| 4.1.1. Hmotnostní zastoupení půdních agregátů a volné OM .....                            | 27 |
| 4.1.2. Obsah C a N ve velikostních třídách agregátů a volné OM.....                       | 28 |
| 4.2. Lehká a těžká frakce ve velikostních třídách<br>agregátů (hustotní frakcionace)..... | 29 |
| 4.2.1. Rozložení lehké a těžké frakce v jednotlivých velikostních<br>třídách .....        | 30 |
| 4.2.2. Obsah C a N v lehké frakci (LF).....   | 31 |

|   |    |
|---|----|
| 4.3. Vlastnosti těžké frakce (HF) po rozplavení hexametafosforečnanem sodným .....  | 33 |
| 4.3.1. Velikostní frakce získané rozplavením HF a jejich hmotnostní zastoupení..... | 33 |
| 4.3.2. Obsah C, N ve stabilních agregátech získaných rozplavením HF ..              | 35 |
| 5. Diskuze .....  | 39 |
| 5.1. Velikostní separace.....   | 39 |
| 5.1.1. Hmotnostní zastoupení velikostních tříd.....                                 | 39 |
| 5.1.2. Porovnání CT a PL v obsahu C a N .....                                       | 39 |
| 5.2. Hmotnostní rozložení a složení LF získané hustotní frakcionací.....            | 41 |
| 5.3. Vlastnosti HF a její rozplavení na stabilní agregáty.....                      | 42 |
| 5.3.1. Rozplavení HF na velikostní frakce .....                                     | 42 |
| 5.3.2. Obsah C a N v jednotlivých velikostních frakcích HF .....                    | 42 |
| 5.4. Použitá metodika .....   | 44 |
| 5.5. Závěr.....   | 45 |
| 6. Literatura .....   | 46 |
| 7. Přílohy .....  | 52 |

## 1. ÚVOD

Agregáty hrají významnou roli ve formování struktury půdního profilu. Svou velikostí a strukturou ovlivňují možnosti difuze vzduchu, regulují tok a retenci vody, adsorbují a desorbují živiny, redukují odnos půdních částic erozí (např. vodou, větrem), či na různé úrovni ovlivňují aktivitu mikrobiálního společenstva (Six a kol., 2004, Rabbi a kol., 2016). Jinak řečeno, právě velikost, struktura a stabilita agregátů určitým způsobem reflektují přírodní podmínky, které umožnily jejich vznik, nebo zánik (vodní režim, teplota, fyzikálně - chemické složení minerální složky, přísun organické hmoty, složení mikrobiálního společenstva, přirozená i nepřirozená narušení) (Beare a Bruce, 1993).

Důležitou složkou, která se podílí na vzniku a proměnlivosti agregátů, je půdní organická hmota (SOM). Množství organické hmoty (OM) v půdě je výsledkem nerovnováhy mezi jejími vstupy a výstupy z půdy. Tyto toky jsou závislé především na primární produkci, dekompozici a stabilizaci OM, která může být zajištěna právě agregáty (Egli a kol., 2016). Tím, že OM různou měrou interaguje s minerální složkou půdy, je ovlivněna její dostupnost pro mikroorganismy, tedy rychlost její transformace, struktura půdních mikrobiálních společenstev a celkový koloběh živin (Six a kol., 2004). Uvádí se, že organická hmota v půdě představuje jeden z nejdynamičtějších rezervoárů uhlíku na Zemi (Cerli a kol., 2012).

Vzhledem k významu agregátů pro tvorbu a kvalitu půdy, je zákonitostem jejich vzniku, stabilitě a úloze OM v těchto procesech věnována velká pozornost (Tisdall a Oades, 1979; Tisdall a Oades, 1982; Oades, 1984; Oades a Waters, 1991; Tisdall, 1991; Márquez a kol., 2004; Six a kol., 2004; Lützow a kol., 2007; Rabbi a kol., 2016). Bylo vytvořeno mnoho modelů, které popisují faktory a procesy ovlivňující vznik a dynamiku agregátů. Jedním z nich je model hierarchie agregátů a jeho další modifikace, které popisují procesy uspořádání minerálních částic ( $< 20 \mu\text{m}$ ) do mikroagregátů ( $20 - 250 \mu\text{m}$ ) pomocí trvalých (humusové sloučeniny, organo - minerální komplexy) a dočasných (bakteriální, houbové a rostlinné pozůstatky) tmelících látek, a přechodné uspořádání těchto menších částic do makroagregátů ( $> 250 \mu\text{m}$ ) přechodnými (např. polysacharidy, jakožto sekundární metabolity rostlin či mikroorganismů) a dočasnými (např. kořeny a houbové hyfy) tmelícími látkami. Z tohoto modelu vyplývá, že různé typy OM hrají v půdě různou roli a jsou v agregátech prostorově odděleny a chráněny různě silnými vazbami (Elliot, 1986; Whitbread, 1995; Six a kol., 2004).

Pro studium SOM a jejich vlivů na vznik agregátů se mimo jiné využívají metody fyzikální frakcionace, mezi které se řadí i velikostní separace agregátů a hustotní frakcionace SOM. Velikostní separace odděluje agregáty podle jejich velikosti suchým, nebo mokřým prosíváním. V případě mokrého prosívání může pohybem ve vodě docházet k rozrušení agregátů, v nichž jsou síly spojující jednotlivé částice menší než síly, které na agregáty působí. Pro mokré prosívání je kromě vlastního postupu separace také důležitý způsob, jak se s agregáty zachází před vlastní separací. Pokud jsou vysušené agregáty prudce ponořeny do vody, vzduch, kterým jsou zaplněny póry agregátů, je rychle vytlačován vodou, a tak následkem vyššího tlaku dochází k rozrušení agregátů (v anglické literatuře označováno jako *slaking*). Tomuto jevu lze zabránit tak, že se agregáty nechávají pozvolna kapilárně nasáknout. Jsou i další možnosti, jak s agregáty pro velikostní, ale i hustotní frakcionaci nakládat (sonikace, třepání či chemický pre-treatment) a žádný z přístupů nelze považovat za obecně lepší, vždy záleží na otázce, kterou by měl daný přístup zodpovědět (Whitbread, 1995, Márquez a kol., 2004).

Hustotní frakcionace je metoda, která odděluje organickou a minerální složku půdy na základě rozdílných hustot a vzájemných interakcí těchto částic, aniž by je chemicky pozměnila, použitím inertní vysokohustotní kapaliny. Organická hmota, která je volná, či pouze slabě vázaná na minerální složku, má menší hustotu, a tak je oddělena jakožto lehká frakce (LF) plovoucí na hladině vysokohustotní kapaliny. Organická hmota různým způsobem vázaná k minerálním částicím s vyšší hustotou zůstane součástí tzv. těžké frakce (HF) u dna nádoby (Cerli a kol., 2012). Výhodami této metody jsou již zmíněné chemické zachování organické hmoty a možnost jejího oddělení tak, aby bylo alespoň částečně možné určit prostorové uspořádání mezi OM a minerálními částicemi v půdě. Nevýhodou je nejednotná metodika, která znemožňuje přímé porovnání výsledků různých studií.

Cílem bakalářské práce je seznámit se s některými teoriemi o SOM, jejím vlivu na vznik půdních agregátů a s metodami velikostní frakcionace agregátů a hustotní frakcionace SOM, které umožňují studium interakcí minerální a organické složky půdy s ohledem na jejich skutečné prostorové uspořádání. V praktické části je použita metodika fyzikální a hustotní frakcionace dle Sixe a kol. (1998) pro porovnání minerálních půd z povodí Čertova a Plešného jezera.



## **2. LITERÁRNÍ REŠERŠE**

### **2.1. Půdní organická hmota**

#### **2.1.1. Obecné informace**

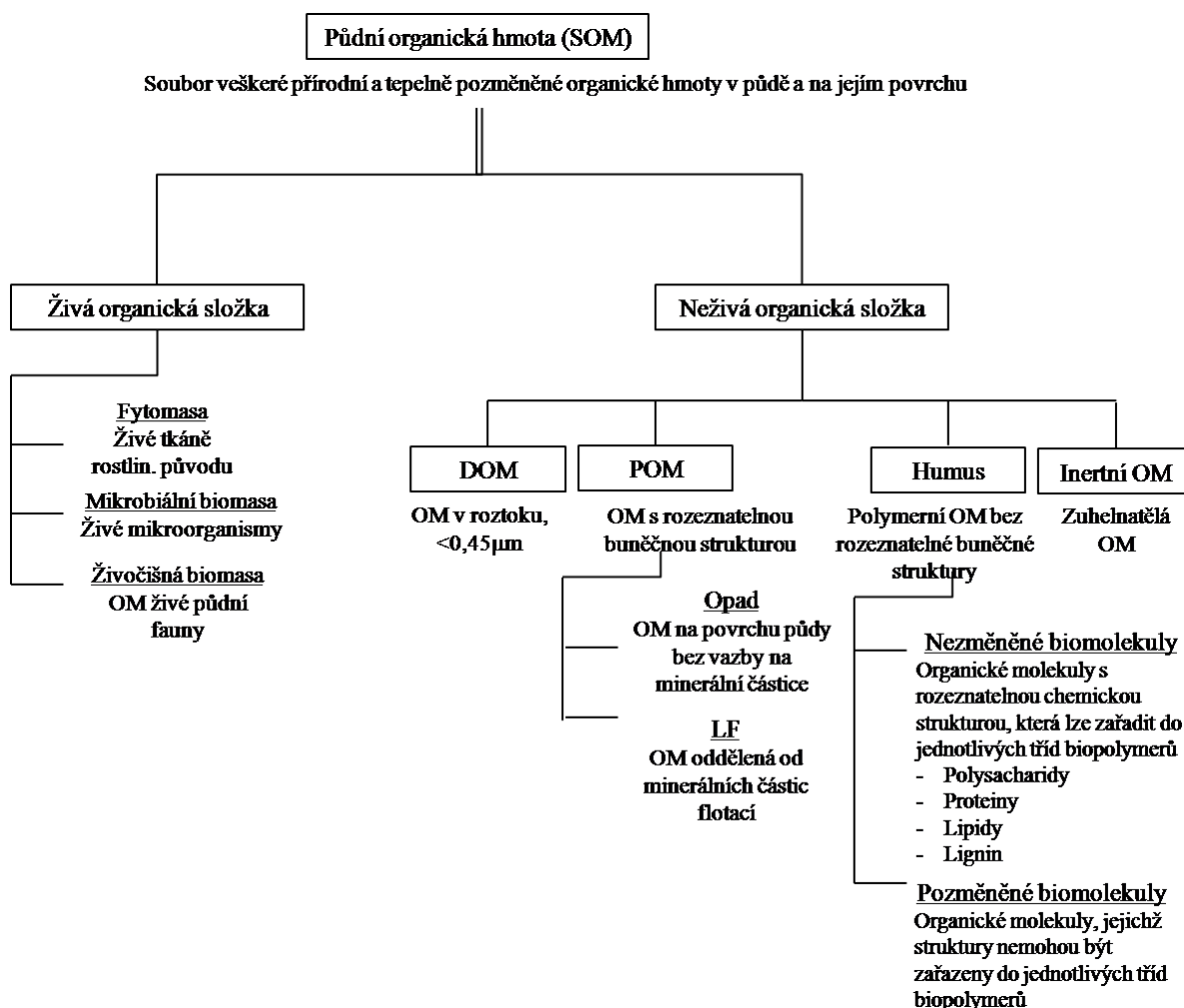
Půdní organická hmota (SOM) je podstatnou složkou, která je zdrojem živin a energie, a mnoha svými dalšími funkcemi odlišuje půdu od zvětralé zemské kůry (Lefroy a kol., 1995). Organismy, které jsou schopné kolonizovat půdotvorný substrát, fyzikálně i chemicky zvětralou matečnou horninu, vnášejí do minerální složky organickou hmotu, tedy látky obsahující převážně uhlík, dusík a fosfor, což jsou hlavní biogenní prvky všech organismů, které se účastní přeměn látek v půdě (Šantrůčková, 2001). Další prvek, který je vnášen organickou hmotou, je síra. Uvádí se, že i více než 95% dusíku a síry a 20 - 90% fosforu je v povrchových vrstvách půd součástí SOM (Guggenberger a Haider, 2002). SOM je jednou z nejdynamičtějších zásobáren uhlíku na Zemi (Cerli a kol., 2012), a navíc hraje v půdě zásadní roli, neboť ovlivňuje její fyzikální, chemické i biologické vlastnosti. Zvyšuje schopnost retence vody v půdě, zlepšuje její strukturu a snižuje erozi. Zajištění těchto vlastností půdy má proto také zásadní vliv na kvalitu podzemní i povrchové vody, a tak zajišťuje dobrý stav ekosystémů (Ontl a Schulte, 2012).

Podíl SOM tvoří průměrně 5% pevné složky půdy, ale obsah SOM kolísá v širokém rozmezí hodnot v závislosti na typu půdy a na managementu. V chudých písčitéch půdách a v intenzivně využívaných půdách tvoří organická hmota i méně než 1%. Naopak organické půdy (rašelinné) mohou obsahovat až 80% SOM (Šantrůčková, 2001). Na toku a celkovém množství SOM se podílejí především primární produkce, dekompozice a fyzikální, chemická, či biochemická stabilizace. Tyto procesy ale zároveň závisí na vnějších podmínkách, jako je například teplota, srážky, či obecně vodní režim a chemismus půd (Egli a kol., 2016).

#### **2.1.2. Definice půdní organické hmoty**

Pojem půdní organická hmota (SOM) je částečně pojmem problematickým. Má představovat buď veškerou, nebo pouze část OM, která je součástí půdy, a různí autoři používají různé definice, dle konkrétní potřeby výzkumu. V té nejširší definici, která bude detailněji popsána v následujících odstavcích, je SOM komplexní a heterogenní směs organické hmoty zahrnující jak živé, tak odumřelé a v různé míře přeměněné komponenty v půdě, či na jejím povrchu (obr. 1). Další definice z této nejširší ubírají komponenty jako živá složka OM,

nerozložené živočišné a rostlinné zbytky, ohořelé a zuhelnatělé zbytky (Brady a Weil, 2002; Baldock, 2002).



**Obr. 1:** Schéma SOM upraveno dle Baldock (2002).

Živou část SOM tvoří několik složek. Vzhledem ke komplexnosti půdních společenstev organismů se mnohdy místo taxonomického zařazování užívá jiných členění, která odpovídají například velikosti, potravním nikám, či reprodukčnímu chování organismů, a která mají spíše vystihnout ekologické funkce. Tato členění mají ale značná teoretická i praktická omezení. Velikostní členění rozděluje organismy na 3 skupiny. i) organismy < 100 µm, které se dále dělí na 2 skupiny - mikroflóru (bakterie, houby, archaea), do značné míry se podílející na rozkladu a přeměně odumřelé organické hmoty, tedy koloběhu prvků, a mikrofaunu (jednobuněčné eukaryotické organismy, hlístice), která je zase potravně závislá na mikroflóře. Obě tyto skupiny jsou svým pohybem omezeny na prostory vyplněné vodou, případně alespoň na částice mající na svém povrchu vodní film, takže se aktivně nepodílejí na přeskupování půdních částic. Voda je zároveň zásadní pro mikroflóru kvůli aktivitě jejich

enzymů. V obrázku 1 tato skupina odpovídá tzv. mikrobiální biomase. Lze se také setkat s pojmem mikroorganismy, kterým většinou bývá myšlena mikroflóra.

ii) organismy  $> 100 \mu\text{m}$  a  $< 2 \text{ mm}$  jsou označovány jako mezofauna (roztoci, chvostoskoci, vidličnatky, roupice, želvušky, vířníci). Vyskytují se hlavně ve svrchních vrstvách půdy, v opadu a horních 5 - 20cm, a jejich pohyb je omezen na již existující póry a chodbičky. V pohybu už však nejsou vázáni na vodu. iii) organismy  $> 2 \text{ mm}$ , makrofauna (např. žížaly, mravenci, mnohonožky, stonožky, brouci, atd.), aktivně migrující půdním profilem a vytvářející si chodbičky a prostory pro život (Briones, 2014; Šantrůčková, 2014). V biotické složce nelze zanedbat vliv rostlin. Půdu rozrušující kořeny rostlin umožňují vstup vzduchu a vody, kterou spolu s rozpuštěnými živinami čerpají, a uvolňují exudáty a své odumřelé části, které mnohdy bývají atraktivní pro mikroorganismy jakožto zdroje OM, čímž ve svém okolí vytvářejí společenstvo rhizosféry. Mezi živou rostlinnou organickou hmotu můžeme řadit i pyl či semena. Mezi půdní organismy lze zařadit i některé řasy (Tisdall a Oades, 1982; Brady a Weil, 2002; Six a kol., 2004).

Odumřelou organickou hmotu lze rozdělit podle několika kritérií. Dle zdroje ji dělíme na primární a sekundární, přičemž primární je tvořena rostlinnými zbytky, kdežto sekundární tvoří zbytky mikrobiální a živočišné, které vznikly přeměnou rostlinných jakožto potravy (Brady a Weil, 2002).

Odumřelou organickou hmotu lze rozdělit také na základě rychlosti obratu, a to na aktivní, pomalu rozložitelnou a pasivní (někdy označovaná i jako inertní) frakci (Lützow a kol., 2007). Aktivní frakce s rychlým obratem je považována za dominantní v půdním koloběhu živin (Hassink, 1995). Kromě své funkce v potravním řetězci také hraje významnou roli v udržování dobré struktury půdy. Její poločas rozpadu je řádově v měsících až letech. Patří sem detrit, polysacharidy, nehumínové částice a některé snáze rozložitelné fulvokyseliny (Brady a Weil, 2002).

Pomalou rozložitelná frakce má poločas rozpadu řádově v desetiletích a skládá se z drobných částíček rostlinného původu, chemicky bohatých na lignin a další špatně se rozkládající látky. Tvoří zřejmě jakýsi přechod mezi aktivní a pasivní frakcí, což znamená, že je rovněž součástí potravního řetězce (Brady a Weil, 2002).

Pasivní frakce je dle Brady a Weil (2002) tvořena stabilními humusovými sloučeninami, které přetrvávají řádově stovky, snad i tisíce let, a to často v komplexu s jílovými částicemi. Do pasivní frakce lze také zařadit i takzvanou inertní organickou hmotu složenou ze zuhelnatělých organických zbytků (Baldock, 2002).

Rychlost obratu může být ukázkou toho, jak dynamické přeměny v půdě probíhají. Vstup organických látek do půdy a jejich přeměna mají v některých půdách zásadní vliv na tvorbu a stabilitu půdních agregátů (Six a kol., 2000). Rozdělení podle rychlosti rozkladu má ale i svá omezení, protože ve skutečném systému půdy mohou mít organické látky různý čas zdržení a obratu, a to díky různým formám stabilizace (Guggenberger a Haider, 2002).

Odumřelou SOM lze také dělit podle velikosti a stupně přeměny. Detrit je odumřelá SOM ve formě částic, ze které je možno identifikovat její původ (Brady a Weil, 2002). Dle Baldock (2002) je tato frakce synonymně označována jako POM. Většinou převládají deriváty rostlinného materiálu, ale jedná se i o hyfy hub, spory, pyl, či živočišné zbytky. Bývá často zdrojem energie a živin pro edafon. Velikostně bývá spodní hranice ustanovena na hranici 53  $\mu\text{m}$ , z čehož plyne, že nejsou zahrnuty buňky některých mikroorganismů. Lze se ale také setkat s názorem, že rozeznatelné částice  $> 2 \text{ mm}$  nejsou považovány za SOM (Brady a Weil, 2002). Například Six a kol. (1998), kteří ve své práci, jejíž metodika byla přejata i pro tuto bakalářskou práci, nepovažují v agregátech nenávanou organickou hmotu  $> 2 \text{ mm}$  za součást půdní organické hmoty.

DOM (z anglického Dissolved Organic Matter) je rozpuštěná část SOM, která dle definice projde 0,45  $\mu\text{m}$  filtrem. Vzhledem ke své rozpustnosti je snadno dostupná pro mikroorganismy, a tedy značně dynamická, ale je zároveň mobilní. Povahou látek je DOM směsí makromolekulárních látek nízké i vysoké molekulové hmotnosti, které jsou mobilní ve vodných roztocích. Funkční skupiny DOM jsou značně rozmanité a závisí na vegetaci, respektive na rostlinném opadu, na mikrobiální složce a na přírodních podmínkách, jako je teplota a vlhkost, případně i na kyselých depozicích (Baldock, 2002; Gangloff a kol., 2014). Humus je odumřelá SOM v tak vysokém stupni rozkladu, že z ní její původjižnění patrný (Brady a Weil, 2002). Je to zbylá organická hmota po odstranění POM a DOM. Tradičně je humus rozlišován na nehumínové a humínové látky, které se dále dělí dle své rozpustnosti v zásaditém NaOH a následného (ne)vysrážení při pH 2 na humin, humínové kyseliny a fulvokyseliny (Paul a Clark, 1996). Takto získané látky jsou ovšem chemicky pozměněné a nelze říci, že by se v tomto stavu vyskytovaly v půdě. Další možnost dělení humusu je na pozměněné a nepozměněné molekuly, jak je mimo jiné znázorněno na obrázku 1 (Baldock, 2002).

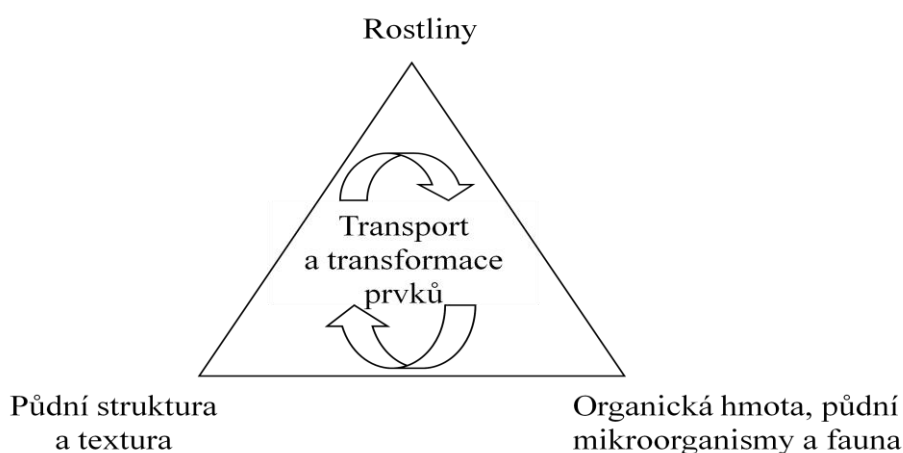
Mezi všemi složkami půdy dochází k velmi těsným a dynamickým interakcím a neexistuje metoda, která by byla schopná spolehlivě od sebe oddělit živou, neživou organickou a minerální složku půdy. Dle různých kritérií rozdělená OM v půdě plní různou funkci a

konkrétní lidé dle zaměření svého výzkumu definují, zda je pro studovaný problém určitý typ OM v půdě důležitý nebo ne.

**Pro účely praktické části této bakalářské práce je za SOM považována veškerá organická hmota, která prošla 5 mm sítím při samotných půdních odběrech a je samostatně ohodnocena a rozdělena na základě své velikosti a hustoty.**

## **2.2. Struktura půdy a půdní agregáty**

Nejjednodušeji je půdní struktura definována jako třídímní uspořádání částic a pórů mezi nimi. Tento aspekt, nazývaný jako strukturní forma, ale není jediný. Do celkové definice bývají řazeny i takové aspekty, jako stabilita a odolnost agregátů, z čehož vyplývá, že uspořádání částic je do určité míry dynamické. Fyzikální uspořádání struktury půdy ovlivňuje různé biologické procesy, které ale současně určitou měrou mohou přispívat k jejímu utváření (Baldock, 2002; Rabbi a kol., 2016). Tyto vzájemné interakce znázorňuje obrázek 2.



**Obr. 2 :** Upraveno dle Brussaard a Kooistra (1991).

### **2.2.1. Definice a podmínky vzniku agregátů**

Pevné složky půdy - minerály, OM (ve smyslu odumřelých organických zbytků) a živé organismy se vzájemně ovlivňují a vytvářejí specifické fyzikálně - chemické i biologické vlastnosti půdy. Jedním z výsledků těchto interakcí je i vznik půdních agregátů různé velikosti a stability, které určují půdní strukturu (Baldock, 2002). Vznik agregátů je ovlivněn několika faktory:

1. Vodní režim (ovlhčování, vysychání, aktivita mikroorganismů)
2. Teplota (zmrznutí půdního roztoku, vysoké teploty a vysychání, aktivita mikroorganismů)
3. Přítomnost organismů a organické hmoty (kořeny rostlin, mezo a makrofauna, mikrobiální společenstva, odumřelá organická hmota v různém stupni rozkladu či přeměny)
4. Flokulace částic
- 5) Anorganické spojovací látky (oxidy, hydroxid-oxidy atd.) (Six a kol., 2004;

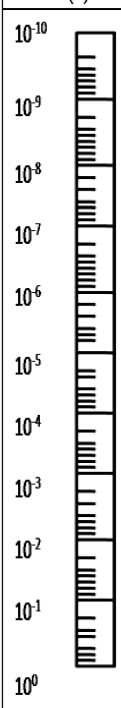
Šantrůčková, 2014).

Převážnou část agregátů tvoří minerální částice, které se dělí na primární a sekundární.

Minerální částice a jejich prvkové složení jsou dané matečnou horninou, typem a rychlostí jejího zvětvávání. V půdě se mohou vyskytovat primární minerální částice různé velikosti - štěrk (> 2000  $\mu\text{m}$ ), písek (2000 - 50  $\mu\text{m}$ ) a prach (50 - 2 $\mu\text{m}$ ). Nejmenší jsou sekundárně vytvořené minerální částice, jílové a amorfnní minerály a koloidní částice (< 2  $\mu\text{m}$ ), (Baldock, 2002; Šantrůčková, 2014).

Vazby mezi částicemi mohou vznikat za pomoci i) elektrostatických interakcí, či pomoci ii) anorganických a organických tmelících látek.

i) Prvotní shluky velmi malých částíček jílových a amorfnních minerálů, také označované jako domény, se spojují procesem tzv. flokulace. Principem tohoto procesu je, že tyto částice nesou náboj a částice s opačným nábojem se začnou přitahovat a shlukovat. V temperátních oblastech převažuje záporný náboj jílových minerálů. Zároveň i většina SOM, která se váže na částice velikosti jílových minerálů, nese při neutrálním pH záporný náboj. Aby mohlo dojít k propojení těchto komponent, které by se kvůli svému zápornému náboji měly odpuzovat, je potřeba kladně nabitých zejména polyvalentních kationtů. Rozdílná je situace v některých tropických půdách, kde některé jílové minerály mají proměnlivý náboj (Paul a Clark, 1996).

| VELIKOSTNÍ<br>MĚŘITKO<br>(m)  | MINERÁLNÍ<br>ČÁSTICE | SOM                                    |  | AGREGÁTY   | PÓRY  |
|---|----------------------|--|--|--|---|
|   |                      | NEŽIVÁ                                 | ŽIVÁ                                       |  |   |
|  | ATOMY                | HUMUS A DOM                            | ATOMY                                      | MIKROORGANISMY<br>KOŘENOVÉ VLÁSKY,<br>MIKROFAUNA | MIKROPÓRY<br>ADSORB. A<br>MEZIKRYSTAL. VODA |
|   | MALÉ MOLEKULY        |  | MALÉ MOLEKULY                              |  | MEZOPÓRY<br>$\Psi < -1500 \text{ kPa}$      |
|   | AMORFNÍ MINERÁLY     |  | POLYSACHARIDY,<br>PROTEINY, LIGNIN, LIPIDY |  | MAKROPÓRY<br>ROSTLINÁM<br>DOSTUPNÁ VODA     |
|   | JÍLOVÉ MINERÁLY      | POM                                    | ROSTLIN. A MIKROB. ZBYTKY                  | ORGANO-<br>MINERÁLNÍ<br>KOLOIDY<br>DOMÉNY        | $\Psi > 10 \text{ kPa}$                     |
|   | PRACH                |  | KOŘENOVÉ ZBYTKY                            | MIKRO  | AERACE                                      |
|   | PÍSEK                |  | BYLINNÉ STONKOVÉ ZBYTKY                    | KOŘENY   | MAKRO                                       |
| ŠTĚRK   |                      | STROMOVÉ KOŘENOVÉ A<br>STONKOVÉ ZBYTKY | STROMOVÉ KOŘENY                            | HROUDY   |   |
| KAMENY  |                      |  |  |  |   |

**Obr. 3:** Schéma velikosti různých minerálních a organických částic, jejich vzájemného uspořádání do agregátů a mezi nimi vzniklých prostorů, utvářející tak půdní strukturu. Upraveno dle Baldock (2002).

ii) Pomocí anorganických a organických tmelících látek jsou pevné půdní částice uspořádány do větších celků, agregátů. Dle velikosti dělíme agregáty na mikroagregáty a makroagregáty. Mikroagregáty jsou obecně definovány jako 20 - 250  $\mu\text{m}$  velké struktury. Jedná se o shluky domén, prachových a jílových částic do agregátů pomocí tmelících látek. Makroagregáty jsou definovány jako agregáty  $> 250 \mu\text{m}$  a vznikají spojením prachových a jílových částic, mikroagregátů, všech ostatních minerálních částic a pomocí tmelících látek (obr. 3) (Baldock, 2002).

Anorganické a organické tmelící látky se na vzniku agregátů podílejí různou měrou. Například anorganické hlinitokřemičitany, z nichž vytvořené agregáty ale nebývají voděodolné. Hydroxid - oxidy železa a hliníku, nebo uhličitán vápenatý, mohou být obecně považovány za trvalé tmelící látky, a pokud takové látky v půdě převažují, jako například v některých tropických půdách, mají organické látky pro utváření agregátů pouze malý přínos. Obecně anorganické tmelící látky přispívají spíše k tvorbě mikroagregátů, ale mohou

se podílet i na vzniku větších agregátů (Tisdall a Oades, 1982; Whitbread, 1995; Six a kol., 2004, Lützow a kol., 2007).

Organické tmelící látky různé velikosti a chemické povahy se rovněž mohou významným způsobem podílet na vzniku agregátů a vzhledem k tomu, že právě obsah OM v agregátech je částečně tématem této práce, je interakci OM a minerálních částic věnovaná samostatná kapitola.

### **2.2.2. Agregáty a organická hmota**

Půdní agregáty hrají významnou roli ve stabilizaci a transformaci půdní organické hmoty a při koloběhu živin. Různé typy agregátů totiž ovlivňují fyzikální ochranu SOM a její dostupnost, a tím strukturu mikrobiálního společenstva, dostupnost vody a kyslíku, či míru eroze půdy. Zároveň má přítomnost organických zbytků a mikrobiální aktivita pozitivní vliv na samotný vznik a zánik různých velikostí agregátů, protože SOM může vystupovat jako organická tmelící látka. Nejen kvůli tomu jsou agregáty vnímány jako dynamické, nikoliv jako statické struktury (Six a kol., 2004).

#### OM jako tmelící látka

Jak bylo uvedeno již výše, dle velikosti dělíme agregáty na mikroagregáty (obecně 20 -250  $\mu\text{m}$ ) a makroagregáty (> 250  $\mu\text{m}$ ). Pokud je tmelící látkou OM, pak se tyto typy agregátů neliší pouze svou velikostí, ale i obsahem a typem organické hmoty. Pro účely rozdělení SOM jakožto tmelící látky agregátů můžeme podle stáří a rozložitelnosti rozlišit 3 typy:

- Přechodné - látky, které spojují minerální částice, ale jsou snadno dostupné jako substrát pro mikroorganismy, a tak jsou rychle rozkládány (řádově dny - týdny). Může se jednat např. o polysacharidy produkované jako rostlinné exudáty či jako produkty mikrobiální aktivity. Tyto látky se podílí na vzniku makroagregátů.
- Dočasné - OM, která přetrvává řádově týdny až měsíce. Může se jednat o kořeny, hyfy hub, saprofytických i mykorhizních, či bakterie, které za svého života dávají vznik převážně makroagregátům, ale při jejich odumření a rozkladu se stávají jádrem mikroagregátů (90 - 250  $\mu\text{m}$ ).



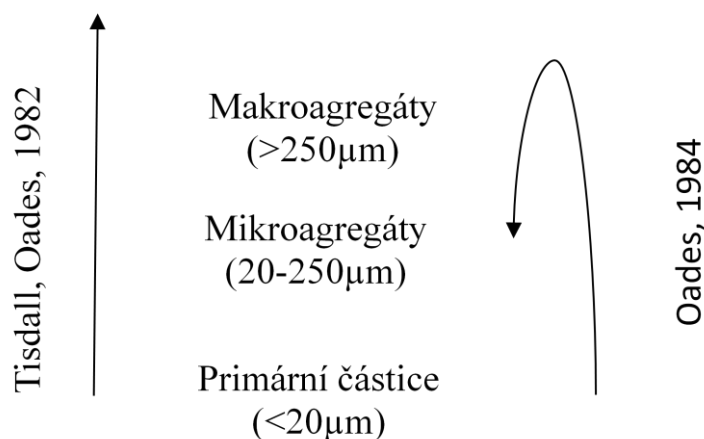
- Trvalé - jedná se zřejmě o látky vzniklé rozkladem z odumřelých dočasných tmelících látek, které z různých důvodů nejsou dostupné jako substrát. Může se jednat o různé polymery (včetně polysacharidů), či aromatické humusové sloučeniny spojené s polyvalentními kationty kovů, které fungují jako spojovací můstek jak mezi OM a jílovými minerály, tak mezi OM navzájem. Díky nim vznikají menší mikroagregáty (20 - 90  $\mu\text{m}$ ), (Tisdall a Oades, 1982; Oades, 1984; Elliot, 1986; Whitbread, 1995).

OM jako tmelící látka způsobuje, že v podmínkách mírného pásu se většinou makroagregáty nerozpadají až na primární částice, ale spíše na menší stabilní jednotky. Makroagregáty zároveň obsahují více SOM než mikroagregáty, protože právě organická hmota působí jako tmelící částice, dávající vznik makroagregátům. Jak již bylo řečeno, tento předpoklad neplatí pro některé tropické půdy, kde se na vzniku makroagregátů podílejí jiné stabilizační částice (Lützow a kol., 2007).

#### Teorie vzniku agregátů

Na vznik agregátů existuje několik teorií, které se vzájemně doplňují a pomáhají dokreslovat komplexnost dějů, které v půdě probíhají. To, že se primární částice a malé agregáty (< 20  $\mu\text{m}$ ) spojují v mikroagregáty (20 - 90  $\mu\text{m}$  a 90 - 250  $\mu\text{m}$ ) pomocí trvalých tmelících částic (např. humifikovaná organická hmota, polyvalentní kationty, oxidy a křemičitany hliníku), a dále do makroagregátů spojených dočasnými částicemi (hyfy, kořeny, polysacharidy), je základem teorie hierarchie, kterou v roce 1982 uvedli Tisdall a Oades. V roce 1984 však Oades tuto teorii modifikoval (obr. 4) - kořeny a hyfy nejprve spojují primární částice do většího makroagregátu, a po jejich odumření dojde k rozpadu spojovacího materiálu a vzniku menších částic, mikroagregátů. Další modifikace této teorie uvádí, že se makroagregáty vytváří nejen propojováním kořeny a hyfami, ale také okolo čerstvého organického zbytku (POM) obecně, který je tím uzavřen do minerálních částic. Při jeho rozkladu dochází ke vzniku nových typů OM, které vytvářejí mikroagregáty a může dojít až k úplnému rozpadu makroagregátu. Mikroagregáty mohou tedy existovat jak volně, tak uvnitř makroagregátů. Tuto teorii podporují pozorování zmenšování POM v makroagregátech a navýšení množství jemnějšího POM při dekompozici (Six a kol., 2000b).

Procesy utváření půdní struktury jsou velice komplexní a časově i prostorově heterogenní. Díky tomu je půda jako celek velmi heterogenním prostředím, s čímž souvisí nerovnoměrná distribuce vody, vzduchu i oživení.



**Obr. 4:** Schéma vzniku agregátů dle teorie hierarchie (Tisdall a Oades, 1982), kdy z primárních částic postupně vznikají mikroagregáty a z nich pak makroagregáty, a její úprava dle Oades (1984), kdy se primární částice nejprve uspořádají do makroagregátů za pomoci kořenů a hyf, a poté se rozpadají na menší mikroagregáty. Obrázek upraven dle Six a kol. (2004).

#### Stabilizace organické hmoty a saturace půdy uhlíkem

To, OM že může působit jako tmelící látka, souvisí do určité míry s možnostmi její stabilizace. Six a kol. (2002) uvádí tři hlavní mechanismy, které SOM stabilizují.

- Chemická stabilizace se týká převážně navázání SOM na prachové částice a jílové minerály, tedy částice < 20 µm. Protože se jedná o chemickou vazbu OM - minerální částice, je množství OM, která se může navázat, omezené počtem vazebných míst na minerální částici. To ve své práci ukazuje Hassink (1997), který mimo jiné porovnával, zda je množství OM v půdě nějakým způsobem omezené, a zjistil, že C a N vázané k prachovým a jílovým částicím může dosáhnout svého maxima, půda je pak satureovaná C a další přidavek OM nevede ke zvyšování SOM.
- Fyzikální stabilizace se týká vybudování bariér z minerálních částic, které neumožňují přístup mikroorganismů a mikrobiálních enzymů k SOM. Zároveň zde může docházet k limitaci difuze vzduchu, vody a živin, a tak ke snížení mikrobiální aktivity uvnitř agregátů. Fyzikální stabilizace může být i způsobem oddělení

predátorů a kořisti (bakterie v pórech agregátů menších, než velikost jejich predátorů). Při fyzikální stabilizaci také záleží, zda se jedná o makro- či mikroagregáty. Makroagregáty obecně poskytují mnohem méně fyzikální ochrany oproti mikroagregátům, a to jak volným, tak uzavřeným v makroagregátech (Six a kol., 2004).

- Biochemická stabilizace vychází buď přímo z chemické povahy dané OM (těžko rozložitelný lignin, či polyfenoly), nebo z kondenzování jednodušších organických molekul do složitějšího komplexu (Six a kol., 2004).

Z těchto stabilizačních mechanismů vychází i model saturace půdy uhlíkem, který upozorňuje, že velikost a rovnováha zásobníků C nemusí být vždy přímo úměrné vstupu C do půdy, a že může existovat určitá limitní velikost zásobníku (Six a kol., 2002). Jak již bylo uvedeno výše, tento model saturace byl prokázán pro chemickou stabilizaci OM u prachových a jílových částic (Hassink, 1997). Stewart a kol. (2008) provedli pokus, ve kterém byly limitní a bezlimitní modely saturace uhlíkem testovány na zásobnících OM definovaných dle její stabilizace - nechráněná volná organická hmota - POM, fyzikálně chráněná OM vázaná na mikroagregáty, chemicky chráněná OM vázaná na jílové částice a biochemicky chráněná nehydrolyzovatelná OM. Výsledky práce ukazují, že dosažení ustálené velikosti zásobníků, tedy k saturaci uhlíkem dochází u biochemicky chráněné, chemicky chráněné a u části fyzikálně chráněné OM, kdežto lineární závislost bez limity vykazovala nechráněná OM a část fyzikálně chráněné OM.

Je ale potřeba uvést, že není vyřešena ani samotná definice půdních zásobníků OM, neboť neexistuje metoda, která by oddělila takovou frakci, která by v půdě skutečně tvořila funkční celek. Pro modelování zásobníků OM se vyskytují dva přístupy - tzv. „měřit modelovatelné“ a „modelovat měřitelné“ (Six a kol., 2002).

#### Živé organismy a jejich produkty a deriváty

Půda jako celek je prostředím, které poskytuje prostor pro život mnoha organismům. Zároveň, jak již bylo řečeno, je to právě kolonizace půdotvorného substrátu (fyzikálně a chemicky zvětralé matečné horniny) organismy, která vnáší OM a dalším způsobem tento substrát proměňuje v půdu a ovlivňuje tvorbou půdní struktury - agregátů. To, že jsou agregáty proměnlivé, a dynamicky vznikají a zanikají, je spojeno s činností živé složky SOM.

Významnou roli mezi organismy, které ovlivňují půdní prostředí, hrají rostliny. Nadzemní části rostliny jako takové se do půdy dostávají až jako odumřelé, ačkoliv za svého života zodpovídají za přísun asimilátů. Přímou roli v půdě hrají kořeny. Vizuálně, optickým i elektronovým skenovacím mikroskopem bylo prokázáno, že rostlinné kořeny, živé i odumřelé, se podílejí na vzniku a stabilizaci agregátů (Baldock, 2002; Blankinship a kol., 2016). Teoreticky se dá jejich vliv rozdělit na přímý a nepřímý, ačkoliv kvantitativně je rozlišení těchto vlivů velice obtížné. Jako přímý vliv se dá označit jejich prorůstání půdou, které může způsobit změnu rozmístění půdních částic, agregátů a pórů, a tak se podílí na změnách struktury. Přímý vliv roste s rostoucím průměrem kořene a s rozvětvenějším kořenovým systémem, ale záleží i na typu půdy, dostupnosti živin a vody a na dalších podmínkách prostředí. Jako další přímý vliv kořenů na tvorbu agregátů se označuje jejich schopnost exudace organických látek. Experimentálně bylo prokázáno, že exudované polysacharidy samy osobě působí jako tmelící látky stabilizující agregáty (Baldock, 2002; Six a kol., 2004).

Nepřímo ovlivňují kořeny vznik a stabilizaci agregátů svými vztahy k dalším organismům. Velká část rostlin tvoří různé typy mykorhiz, tedy symbiózu s různými typy hub, které se rovněž mohou podílet na vzniku agregátů, a které zároveň mohou ovlivnit stav rostlin (tvar kořenů, dostupnost vody a živin).

Kořeny také poskytují zdroj OM pro další organismy exudací a odumřením celku nebo části (kořenové vlásky, buňky pokožky a kořenové čepičky), (Tisdall a Oades, 1982). Vzniklé společenstvo rhizosféry má také značný vliv na procesy zvětrávání minerálních částic a mobilizaci některých prvků (Guggenberger a Haider, 2002).

Vzhledem k tomu, že voda (cykly vysoušení a ovlhčování) je jeden z faktorů, který ovlivňuje tvorbu agregátů, kořeny rovněž působí i v tomto směru stabilizačně, protože lokálně dochází k vysušování, a předpokládá se, že tím dochází k zesílení vazby mezi organickými a organickými částicemi (Baldock, 2002).

Kořeny jako takové se svými vlastnostmi řadí mezi dočasné tmelící látky, které se podílí na vzniku makroagregátů (> 250  $\mu\text{m}$ ). Jejich produkty a deriváty ale mohou být řazeny jak mezi přechodné (polysacharidy jako substrát pro mikroorganismy), tak mezi trvalé (chemicky stabilizované polysacharidy, biochemicky stabilizované deriváty) organické tmelící látky (Tisdall a Oades, 1982; Oades, 1984, Six a kol., 2004).

Další skupinou organismů, které ovlivňují podmínky půdy, jsou mikroorganismy (archea, bakterie, houby, řasy). Ačkoliv vliv na vznik agregátů byl u některých organických látek prokázán přímo, obecně přidání OM do půdy bez mikrobiální aktivity má pouze malý vliv na množství voděodolných agregátů. Vliv mikrobiální aktivity na agregaci záleží ale na biochemické povaze a dostupnosti OM, která je dodána jako substrát, a která je mikroorganismy přeměňována (Baldock, 2002). U mikroorganismů byl také prokázán vliv na zvětrávání minerálních částic. Mikroorganismy přímo (enzymaticky) i nepřímo (produkováním organických a anorganických kyselin, či oxidačních činidel, které ovlivňují např. pH a redoxní potenciál) mobilizují z minerálů některé kovy (Guggenberger a Haider, 2002; Kurek, 2002).

Bakterie se v půdě vyskytují buď jednotlivě, nebo v koloniích. Při průzkumu elektronovou mikroskopií se zjistilo, že bakterie se nevyskytují na povrchu makroagregátů, a to zřejmě způsobuje několik faktorů - nedostatek vody, predace a obalení extracelulárních polysacharidů bakteriální buňky jemnými jílovými částicemi (kapsulce). Právě kapsulce umožňuje vznik mikroagregátů velikosti zhruba 2 - 20  $\mu\text{m}$ . Ke kapsulaci dochází u živých buněk, ale je třeba brát v úvahu i buňky a kolonie, které odumřely a začaly se rozkládat. V tomto procesu se mohou zachovat charakteristické vláknité struktury, které mohou rovněž udržovat částičky jílu pohromadě (Baldock, 2002).

Bakterie osidlují i póry různé velikosti, což je rovněž ovlivněno predací (velikostí predátora) a dostupností vody. Obecně jsou bakterie v porovnání s houbami více citlivé na vysoušení. Aktivita bakterií při hodnotě vodního potenciálu -300 kPa je redukována a při potenciálech okolo -1000 kPa není zaznamenána. Citlivost bakterií na nedostatek vody a ochranné mechanismy, které se u bakterií vyvinuly, jsou velmi důležité i pro stabilizaci jejich vazby na půdní částice. Bakterie vylučují na svůj povrch polysacharidový obal, který může obalovat buď jednotlivé buňky, nebo i celou kolonii, a při vysychání se produkce tohoto obalu zvyšuje. Pokusem bylo zjištěno, že přidání těchto polysacharidů k jílovým částicím pomáhá zadržovat vodu a mění bobtnavost a tvorbu (stabilitu) agregátů (Oades, 1984; Baldock, 2002; Šantrůčková, 2014).

Houbové hyfy produkují polysacharidy, které se stejně jako ty bakteriální podílí na vzniku mikroagregátů. Na rozdíl od bakterií (v půdě velikost cca do 1  $\mu\text{m}$ ) jsou ale houbové hyfy o něco větší (2 - 10  $\mu\text{m}$  šířka, a navíc jsou různě propletené), dlouhé, prorůstají větší póry, které mohou vyplnit, a tak mohou samy působit jako tmelící látky v makroagregátech a mají

celkový potenciál stabilizovat půdní strukturu. Proto se na vzniku agregátů v jílovitých půdách podílí jak houbové hyfy, tak bakterie, ale v půdách s hrubší texturou hrají významnější roli právě houby (Tisdall a Oades, 1979; Six a kol., 2004; Šantrůčková, 2014).

Houby, které se podílí na vzniku agregátů, můžeme rozdělit na dva typy - saprofytické a mykorhizní, které dále dělíme na ekto- a endomykorhizní se speciálními podtypy (arbuskulární mykorhiza, erikoidní mykorhiza a orchideoidní mykorhiza). Tyto dva typy se v půdě chovají odlišně a tak se předpokládá i různý způsob působení na minerální částice. Mnoho částí hyf saprofytických hub po spotřebování substrátu odumírá, a tak mohou někdy přežívat pouze v rámci několika týdnů, ačkoliv mrtvá mycelia v půdě mohou přetrvávat delší dobu. U mykorhizních hub, které jsou v mutualistickém vztahu s rostlinami, se předpokládá chování jiné, protože, zjednodušeně řečeno, přísun OM houbě je zajištěn rostlinou výměnou za vodu a živiny. Houbové hyfy mohou totiž živiny získat i z malých prostorů, které nejsou kořenům a kořenovým vláskům přístupné. Oproti bakteriím mohou houby růst za mnohem nižší hodnotě vodního potenciálu (-7200 kPa), což jim dává značnou výhodu v sušších podmínkách prostředí, a jak už bylo uvedeno výše, rostou ve větších pórech, kde se bakterie nevyskytují (Tisdall a Oades, 1982; Tisdall, 1991; Baldock, 2002; Šantrůčková, 2014).

#### Stabilita agregátů a její stanovení

Stabilita agregátů závisí jak na působení výše zmíněných faktorů a mechanismů, které spojují půdní částice dohromady, tak na velikosti a povaze sil, které agregát narušují (Márquez a kol., 2004). Jedním z měřítek stability agregátů je jejich odolnost k vysušení a „znovunamocení“ ve vodě při tzv. mokré prosívání. Mokrý prosívání je jedna z metod fyzikálního rozdělení agregátů, kdy právě na základě jejich stability ve vodě jsou odděleny agregáty různé velikosti v závislosti na použitých sítích. Některé vazby mezi částicemi v agregátech jsou velmi slabé, a tak při namočení dochází k jejich rozrušení. Agregáty, které zůstávají celé, se dají označit jako voděodolné. Přísnost stanovení ale závisí i na způsobu, jakým jsou agregáty namáčeny, protože každý způsob přináší rozdílné výsledky. Pokud jsou vysušené agregáty prudce ponořeny do vody (v angličtině označováno jako *slaking*), dochází obvykle k jejich většímu rozrušení, neboť jejich póry jsou naplněny vzduchem, který se při ponoření snaží co nejrychleji uniknout, a tak vytvoří vyšší tlak. Vytvoření vyššího tlaku v pórech se dá zabránit tím, že k zaplňování pórů agregátů vodou dochází postupně, například tak, že se agregáty nechají kapilárně nasáknout. Vzduch tak může z pórů unikat pomalu a postupně, a po ponoření na agregáty působí jen tlak vody. Vliv rychlosti ovlhčování půdy na rozpad agregátů lze pozorovat i v přírodních či člověkem ovlivněných stanovištích.

V místech, kde není obnažená půda a v hlubších půdních vrstvách většinou nedochází k úplnému vyschnutí, ale voda se rozšiřuje pomalu kapilárně a dochází k malé destrukci agregátů. Na obnažené půdě (např. pole) naopak může dojít k úplnému vysychání svrchních vrstev, k snížení schopnosti infiltrace a při prudkém ovlhčení ke zničení agregátů na povrchu (Tisdall a Oades, 1982).

### **2.3. Metody frakcionace organické hmoty**

Pro výzkum SOM existuje mnoho různých metod a přístupů. Zkoumá se chemická povaha SOM, její mikrobiální přeměny a její role obecně. To, že je SOM různým způsobem vázána na minerální částice a v půdních agregátech, nemůže být opomenuto zvláště při studiu její dynamiky, protože vazba OM - minerální částice může omezit jak přístup mikroorganismů, tak aktivitu jejich extracelulárních enzymů (Turner a kol., 2017), a proto existují metody, které se na tuto vazbu zaměřují. Jedním z přístupů jsou i metody tzv. fyzikální frakcionace, které jsou založena interakcích, prostorovém uspořádání a rozdílných fyzikálních vlastnostech půdních částic. Součástí fyzikálních metod je i metoda hustotní frakcionace (Lützow a kol., 2007).

Hustotní frakcionace je metoda, která je dnes používána k oddělení SOM od minerální složky na základě typu a stupně její interakce s minerálními částicemi za pomoci vysokohustotní kapaliny. Využívá toho, že volná nebo pouze slabě na minerální částice navázaná OM má menší hustotu než organo - minerální komplex, a tak při použití vhodné hustoty vysokohustotní kapaliny plave na hladině jakožto lehká frakce (LF), kdežto OM v organo-minerálním komplexu nebo uzavřená v minerálních částicích klesne ke dnu jakožto těžká frakce (HF) (Hassink a kol., 1995; Cerli a kol., 2012).

Původně byla hustotní frakcionace používána jako metoda pro výzkum primárních a sekundárních minerálních částic. Až později se tato metoda začala používat právě při výzkumu samotné SOM, která tak byla rozdělena dle dvou výše zmíněných frakcí - LF a HF (Crow a kol., 2007).

Výhody této metody jsou, že chemicky nepozmění organickou hmotu a že teoreticky může alespoň částečně naznačit skutečné prostorové uspořádání SOM v rámci půdních strukturních celků, pokud je zkombinována s vhodnou fyzikální frakcionací částic, která jejich prostorové uspořádání naruší co nejméně (příkladem může být zmíněné mokré prosívání). Samotné použití však zatím není detailně zpracováno, metodiky různých autorů

se liší, a tak jejich použití může poskytnout do určité míry odlišné a těžko srovnatelné výsledky (Hassink a kol., 1995; Cerli a kol., 2012).

Prostorové uspořádání a interakce OM s minerální složkou také může vypovídat o dostupnosti OM. Volná LF je považována za částečně rozloženou převážně rostlinnou hmotu, která je méně stabilní než OM pocházející z HF a její přítomnost je řídicím faktorem při respiraci půdy. Její přítomnost je důležitá i pro tvorbu struktury půdy při vzniku zejména makroagregátů. Naopak těžká frakce je považována za více humifikovanou OM, která se na respiraci půdy podílí mnohem méně, ačkoliv zde má vliv i půdní textura a případně hospodaření (Whalen a kol., 2000; Tan a kol., 2007). Na druhou stranu ale dynamika HF není úplně jasná. Turner a kol. (2017) ve své práci uvedli, že HF může být významným zdrojem N, protože oddělená HF oproti půdě, která neprošla hustotní frakcionací, vykazovala vyšší mineralizaci. LF má obvykle vyšší a širší rozsah poměru C/N (Whalen a kol., 2000) a je dostupnější pro mikroorganismy a při jejím rozkladu může docházet k lepší immobilizaci N než u HF (Turner a kol., 2017). Je ale třeba upozornit, že termíny LF a HF nejsou příliš přesné, protože složení a definice těchto frakcí jsou závislé na použité metodice.

Jak již bylo uvedeno výše, pro oddělení lehké a těžké frakce se používají vysokohustotní kapaliny, které mají hustotu o hodnotách v rozmezí zhruba 1,6 - 2,0 g/cm<sup>3</sup>. První práce používající metodu hustotní frakcionace uvádějí použití hustoty 2,0 g/cm<sup>3</sup>, neboť většina minerálních částic má hustotu větší. Později se ale objevují práce používající hustoty 1,6 - 1,8 g/cm<sup>3</sup> (Crow a kol., 2007). Hustota kapaliny je velmi důležitým faktorem, který ovlivňuje výsledky testování. Ideálně by LF měla obsahovat pouze OM a HF minerální částice s navázanou OM. Prakticky ovšem dochází k tomu, že se do LF může dostat určitý podíl minerálních částic, což je ovlivněno právě hustotou kapaliny. Dle práce Cerli a kol. (2012) je pro oddělování SOM nejvhodnější hodnota 1,6 g/cm<sup>3</sup>, protože při porovnání s ostatními testovanými hustotami (1,4 - 2,0 g/cm<sup>3</sup>) dokáže oddělit maximální množství téměř čisté organické hmoty v LF, a to v různých typech půd s různým managementem.

Dříve byly jako vysoko hustotní kapaliny používány halogenované uhlovodíky, jako například bromoform, TBE (1,1,2,2 - tetrabromoetan) nebo metylen jodid, které jsou ale vysoce toxické a karcinogenní. Nejen z těchto důvodů byly vyvinuty látky, které jsou v roztoku schopné dosáhnout vysoké hustoty a zároveň jsou environmentálně a zdravotně nezávadné. Mezi takové látky patří i v Německu vyvinutý a vyráběný polytungstát sodný



( $\text{Na}_6[\text{H}_2\text{W}_{12}\text{O}_{40}]$ ), který je netoxický, nehořlavý, málo viskózní a nepoškozuje životní prostředí. Hustota, kterou lze u roztoku polytungstátu sodného dosáhnout se pohybuje v rozmezí 1,1 - 3,1  $\text{g/cm}^3$  (<http://www.heavyliquids.com/techdata.html#Organic>, 11. 4. 2017, Crow a kol., 2007).

#### **2.4. Cíle a hypotézy k praktické části**

Na základě výše uvedených znalostí o SOM, o jejím vlivu na vznik agregátů a o metodách fyzikální frakcionace bylo cílem praktické části této bakalářské práce blíže se seznámit a zavést metody velikostní a hustotní frakcionace podle Sixe a kol. (1998) pro porovnávání minerálních půd z povodí Čertova a Plešného jezera. Obecnou otázkou bylo, zda těmito metodami získané výsledky budou vykazovat nějaké rozdíly mezi oběma půdami.

Konkrétně pak při zpracování výsledků bylo testováno několik hypotéz o obsahu C a N, jejichž uspořádání vychází z pracovního postupu uvedeného na obrázku 5 v kapitole Materiál a metody:

- 1) Velikostní separace - celkový obsah C, N a C/N ve velikostních třídách agregátů:
  - a) Velikostní třídy agregátů **bez závislosti** na lokalitě, z které pocházejí, se neliší v celkovém obsahu C, N a poměru C/N.
  - b) Velikostní třídy agregátů **v závislosti** na lokalitě, z které pocházejí, se neliší v celkovém obsahu C, N a poměru C/N.
  - c) Množství C, N a poměr C/N se neliší mezi agregáty a zároveň mezi lokalitami.
- 2) Hustotní frakcionace - rozdělení lehké (LF) a těžké frakce (HF) v agregátech:
  - a) Agregáty z různých velikostních tříd se neliší v množství C, N a v poměru C/N lehké frakce.
  - b) Lokalita nemá vliv na obsah C, N a C/N v lehké frakci z agregátů různé velikosti.
- 3) Rozplavení agregátů – velikostní frakce HF
  - a) Velikostní frakce vzniklé rozplavením různých velikostních tříd HF v závislosti na lokalitě, z které pocházejí, se neliší v celkovém obsahu C, N a poměru C/N.
  - b) Lokalita, velikostní třída a velikostní frakce HF nemají vliv na množství C, N a poměr C/N.

### **3. MATERIÁL A METODY**

#### **3. 1. Šumava a lokality Čertova a Plešného jezera**

Šumava je staré horské území ve střední Evropě na hranici německého Bavorska, jihozápadu České republiky a částečně i na území Rakouska. Geologicky Šumava vznikla během variského vrásnění a je součástí moldanubika a moldanubického plutonu Českého masivu, kdy moldanubikum je tvořeno horninami metamorfovanými a moldanubický pluton horninami vyvřelými. Geologický vývoj pohoří probíhal v několika etapách, od prekambria, v paleozoiku až po kvartér, kdy se během a po skončení doby ledové na utváření místní krajiny výrazně podílely ledovce a jejichž pozůstatkem jsou dnes ledovcová jezera. Na české straně se nachází celkem 5 ledovcových jezer (Černé, Čertovo, Plešné, Prášilské a Laka), na německé 3 (Roklanské, Velké Javorské a Malé Javorské), (Kindlmann a kol., 2012; Babůrek, 2001; Babůrek a Pošmourný, 2001, <http://www.npsumava.cz>, 23. 3. 2017).

Ledovcová jezera na Šumavě jsou součástí dlouhodobého zájmu vědců již více než sto let. Pravidelný výzkum, který začal v roce 1984, ukázal, že tato jezera patří mezi nejacidifikovanější ekosystémy v Evropě. Výzkum se zaměřoval nejprve na acidifikaci vody v jezerech, a jakou roli v tomto procesu hrají nitráty ( $\text{NO}_3^-$ ). Součástí bylo také studium vlivu kyselých depozic a acidifikace půdy způsobující vyplavování stopových kovů. Od 90. let se výzkum věnuje také biogeochemickým cyklům, vlivům půdy a vegetace na chemismus vod, chemii atmosférických depozic či hydrologii (Vrba a kol., 2015).

Vzorky pro praktickou část této práce byly odebrány v roce 2014 na výzkumných plochách povodí Čertova a Plešného jezera.

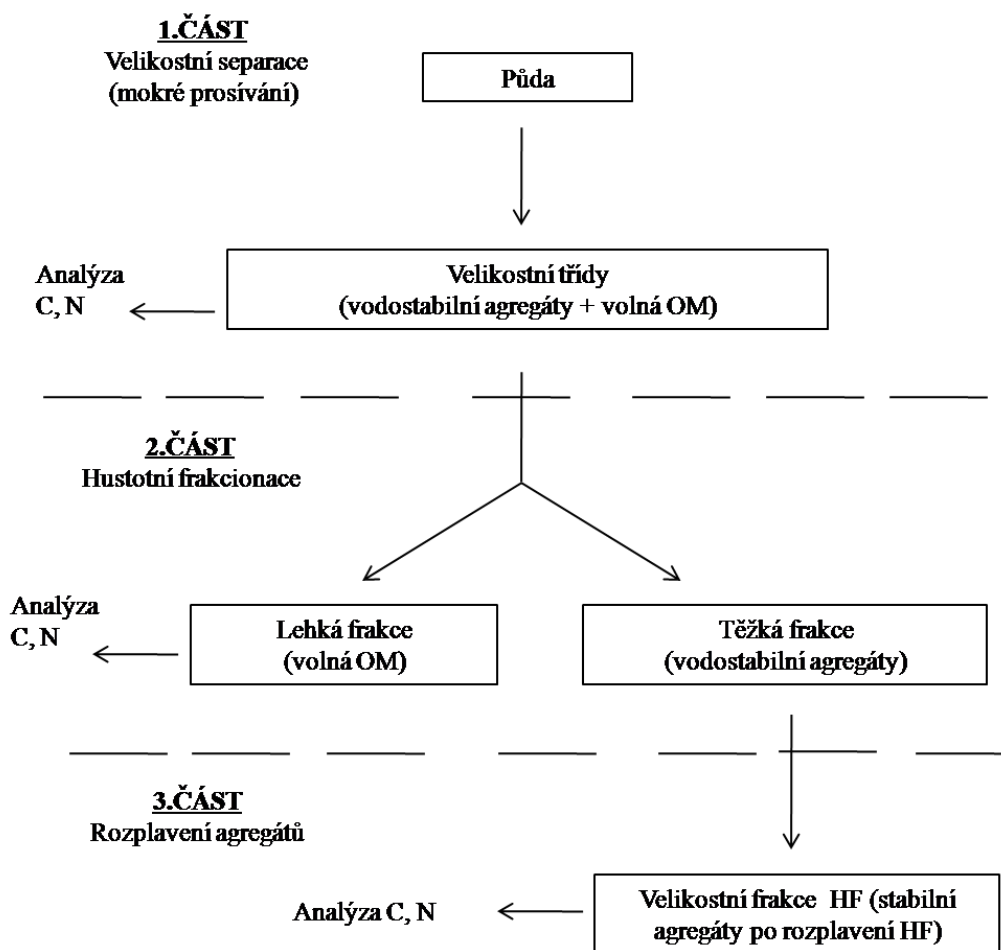
Čertovo jezero se nachází spolu Černým jezerem pod Jezerní horou (1343 m. n. m.) ve výšce asi 1030 m. n. m. v CHKO Šumava. Podloží tvoří metamorfovaná hornina svor (muskovitická rula) s intruzí křemence. V povodí Čertova jezera se nacházejí půdy převážně typu kambisol (58%), podzol (21%), ale také nevyvinuté, organickou hmotou bohaté půdy (17%). Hloubka půdního profilu v případě podzolu je zhruba 0,5 m. V minulosti bylo místo hospodářsky využíváno. V 17. století byl zde rostoucí les těžen nejprve na výrobu dřevěného uhlí a potaše do šumavských skláren a železáren, později v 18. a 19. století bylo dřevo používáno i jako topivo a surovina. Toto využití, podobně jako v dalších částech Šumavy, vedlo ke změně druhového složení lesa na smrkové monokultury. V letech 1754 - 1859 se v povodí i páslo (Kopáček a kol., 2002b). Gradace lýkožrouta smrkového, která zasáhla šumavské lesy zhruba v letech 2004 - 2009, zde byla potlačena průběžnou asanací

napadených smrků, čímž ale na některých místech vznikly holiny. Vegetace v povodí Čertova jezera byla v letech 2011 - 2016 sledována fytoocenologickým snímkováním. V roce 2014, kdy byly odebrány půdní vzorky použité pro praktickou část této práce, bylo v povodí Čertova jezera provedeno snímkování několika stálých snímkovacích ploch o velikosti 400 m<sup>2</sup>. S výjimkou asanovaných ploch zůstalo zachováno stromové patro (E<sub>3</sub>) s pokryvnostmi, které se v roce 2014 na snímkaných plochách pohybovaly na zhruba 20 - 50%. Druhovému složení E<sub>3</sub> bylo tvořeno převážně smrkem (*Picea abies* (L.) Karsten), jehož věk byl v roce 2002 uváděn na 90 - 150 let (Kopáček a kol., 2002b), ale také jeřábem (*Sorbus aucuparia* L.), jedlí (*Abies alba* Mill.) a bukem (*Fagus sylvatica* L.). Detailní popisy vegetačních snímků jsou v práci Matějka (2016), ze které byl vytvořen i výše uvedený krátký popis.

Plešné jezero se nachází pod vrcholem Plechý ve výšce 1090 m. n. m. v NP Šumava. Podloží je tvořeno vyvřelou horninou granitem. V povodí se nachází nevyvinuté organickou hmotou bohaté půdy (38%), podzoly (29%) a kambisol (27%). V případě podzolu je hloubka půdy asi 0,45 m. Historických pramenů o využití místa je pouze málo. Stromové patro bylo tvořeno asi 160 let starými smrkem (*Picea abies* (L.) Karsten), (Kopáček a kol., 2002a), které se zhruba od roku 2003 téměř úplně rozpadlo. Díky zachování bezzásadového managementu nedošlo k narušení přirozených podmínek a dochází zde k přirozené obnově porostu. I zde byla vegetace v letech 2011 - 2016 sledována stejným způsobem, jako v povodí CT. Na fytoocenologických snímcích provedených v roce 2014 se pokryvnost stromového patra (E<sub>3</sub>) pohybovala na 0, výjimečněji 1%, a naopak bylo rozvinuté buď keřové, nebo bylinné patro s obnovujícími se dřevinami - smrkem (*Picea abies* (L.) Karsten), jeřábem (*Sorbus aucuparia* L.), jedlí (*Abies alba* Mill.), břízami (*Betula pendula* Roth, *Betula pubescens* Ehrh.) či bukem (*Fagus sylvatica* L.). Tato data jsou rovněž detailně zpracovaná v práci Matějka (2016), ze které byla přejata.

### **3.2 Pracovní postup**

Byla použita slabě modifikovaná metoda podle Sixe a kol. (1998). Obecně lze pracovní postup rozdělit na 3 části - velikostní separace, hustotní frakcionace a rozplavení agregátů, jak je zobrazeno na obrázku 5.



**Obr. 5:** Orientační schéma pracovního postupu.

### 3. 2. 1. Velikostní separace

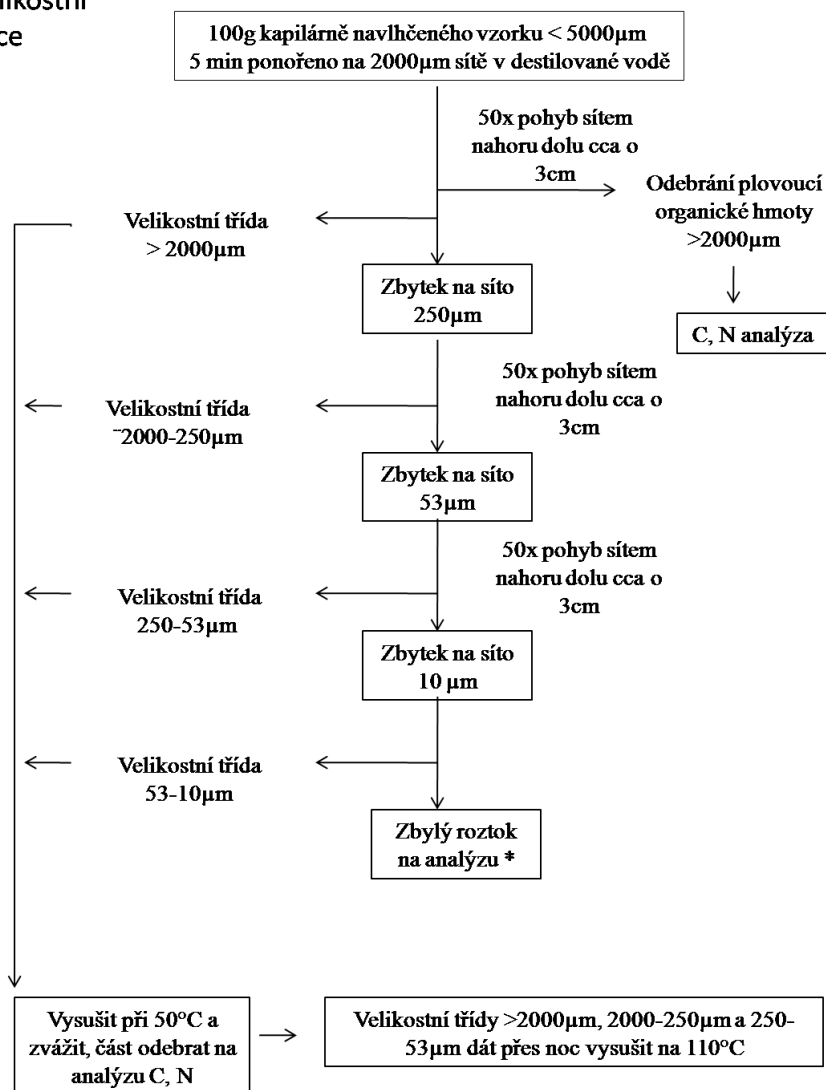
Velikostní separací získané frakce půdy jsou pro terminologické odlišení v této práci označeny jako tzv. velikostní třídy. V prvním kroku bylo 100 g 5 mm sítem proseté a při 80°C vysušené půdy ponecháno při 5°C na síti s velikostí ok 2 mm přes noc v nádobě s destilovanou vodou tak, aby se půda mohla kapilárně nasáknout vodou. Tento krok se provádí z důvodu zabránění nechtěného rozbití agregátů tlakem vzduchu, který je uvnitř v suchém stavu přítomen, a který při unikání po rychlém ponoření může agregáty rozbít (Márquez a kol., 2004). Při pokojové teplotě byla opatrně mimo síto doplněna destilovaná voda tak, aby byl vzorek potopen. Takto byl ponechán po dobu 5 minut. Poté se 50x ručně pohybovalo sítem nahoru a dolů asi 3 cm. Plovoucí organická hmota větší než 2000 μm byla odebrána, vysušena při 50°C a připravena na C/N analýzy. Velikostní třída půdy > 2000 μm, která zůstala na síti, byla dána vysušit při stejné teplotě. Zbytek, který prošel sítem, se kvantitativně převedl na síto o velikosti ok 250 μm a stejným způsobem (50x, o cca 3 cm)

byla oddělena velikostní třída 2000 - 250  $\mu\text{m}$ . Postup se opakoval i na síť 250 - 53  $\mu\text{m}$  a oproti původní metodice byla přidána i velikostní třída 53 - 10  $\mu\text{m}$ . Vzorky ze sítok byly usušeny při 50°C, zváženy a část ze všech velikostních tříd byla odebrána na analýzu C/N. Zbylá část byla použita na hustotní frakcionaci. Tento postup, znázorněný na obrázku 6, byl proveden ve třech laboratorních opakováních pro vzorky z obou povodí. Ve vzorcích PL1 a CT3 byla metodika upravena tak, že na síť s velikostí ok 2000  $\mu\text{m}$  byly ponořeny 150x místo 50x.

### **3. 2. 2. Hustotní frakcionace a rozplavení agregátů**

Hustotní frakcionací jsou rozděleny tři velikostní třídy agregátů (> 2000  $\mu\text{m}$ , 2000 - 250  $\mu\text{m}$  a 250 - 53  $\mu\text{m}$ ) na lehkou frakci (volnou organickou hmotu) a těžkou frakci (vodostabilní agregáty s různým způsobem vázanou OM). Velikostní třídy agregátů získané velikostní separací byly přes noc sušeny při 110°C, poté vychlazeny na pokojovou teplotu a z každé třídy bylo odebráno 5 g vzorku do 50 ml centrifugační lahvičky. Poté bylo přidáno 35 ml polytungstátu sodného (PTS) o hustotě 1,85 g/cm<sup>3</sup>, 10x se ručně s lahvičkou do boku zatřepalo, aby došlo ke vzniku suspenze. Lahvička byla doplněna 10 ml PTS o stejné hustotě, aby se smyla půda, která ulpěla na stěnách. Po dobu 10 min byly lahvičky se vzorky v exsikátoru, aby se podtlakem odstranil vzduch. Následovala centrifugace 60 min při 20°C a 3000 otáčkách. Plovoucí lehká frakce byla oddělena na 43  $\mu\text{m}$  nylonové síto a propláchnuta destilovanou vodou (2x 50 ml). Těžká frakce byla propláchnuta 2x 50 ml destilovanou vodou rovněž na 43  $\mu\text{m}$  nylonovém sítu a obě frakce byly dány vysušit při 50°C. Lehká frakce byla zvážena a připravena na C/N analýzu. Pracovní postup je znázorněn na obrázku 7.

## 1. ČÁST – velikostní separace



**Obr. 6:** Schéma pracovního postupu pro velikostní separaci. Krok označený \* nebyl uskutečněn.

Pro rozplavení na stabilní agregáty bylo k těžké frakci, jejíž množství se stanovilo jako zbytek po odečtení LF od navážky pro hustotní frakcionaci (5 g), přidáno 45 ml 0,5% hexametrafosforečnanu sodného a ponecháno 18 hod na třepačce s krouživým pohybem při 137 otáčkách/min. Poté bylo provedeno stanovení různých velikostí stabilních agregátů těžké frakce tak, že suspenze byla převedena na příslušnou skupinu sít, tedy HF > 2000  $\mu\text{m}$  byla postupně převedena na síta 2000/250/53/10  $\mu\text{m}$ , HF 2000 - 250  $\mu\text{m}$  na síta 250/53/10  $\mu\text{m}$  a HF 250 - 53  $\mu\text{m}$  pouze na síto 53  $\mu\text{m}$ , protože množství částic ve frakci 53 - 10  $\mu\text{m}$  bylo příliš malé. Pro terminologické odlišení je pro toto velikostní rozdělení HF použit termín velikostní frakce HF. Všechny vzorky byly propláchnuty destilovanou vodou,

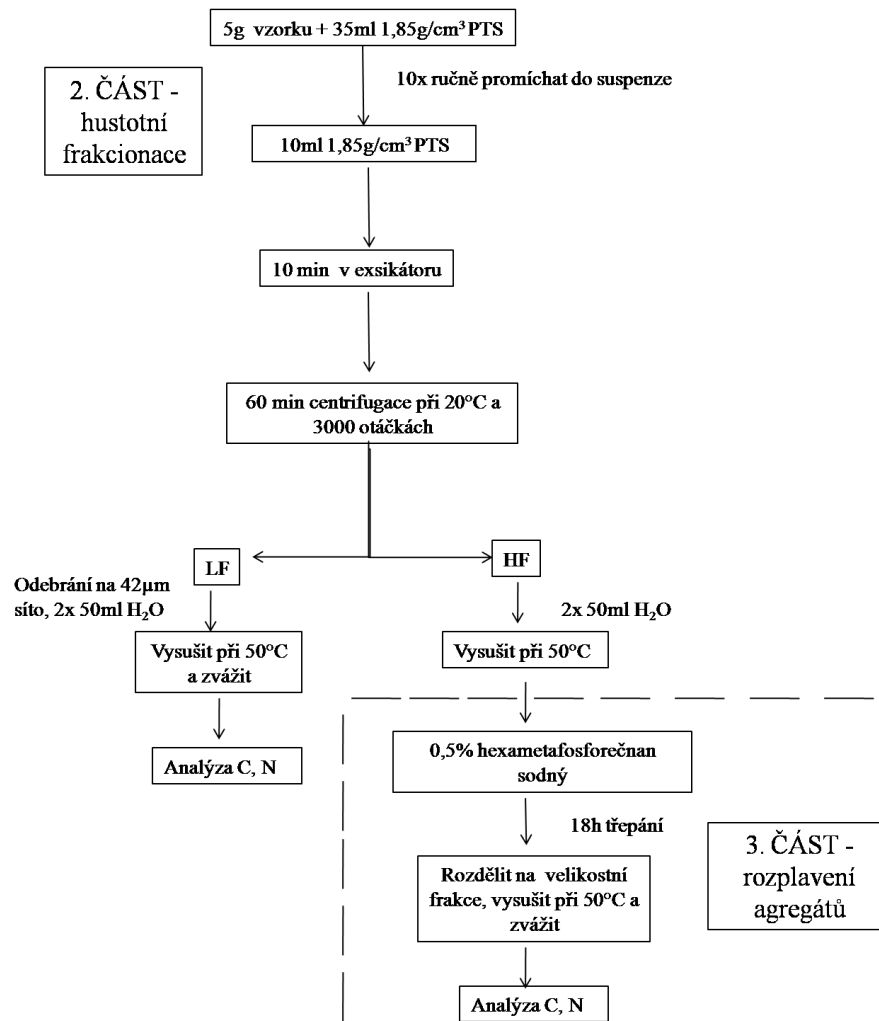
vysušeny při 50°C a před C/N analýzou zváženy. Schéma rozplavení agregátů na velikostní frakce je shrnuto na obrázku 7.

U velikostní třídy 250 - 53  $\mu\text{m}$  bylo na hustotní frakcionaci naváženo menší množství vzorku kvůli nedostatku vzorku.

### **3.2.3. Zpracování dat**

Vzorky byly připraveny na analýzu namletím na kulovém mlýně a analyzovány na NC elementárním analyzátoru (Therma Quest, Německo).

Výsledky byly zpracovány pomocí programů Microsoft Excel a STATISTICA. Vzhledem k tomu, že získaná data neměla normální rozdělení, byla logaritmována dekadickým logaritmem. Jako signifikantní výsledek testu bylo považováno  $p < 0,05$ . Pro testování hypotéz s jedním kategorickým faktorem byla použita jednocestná ANOVA, pro hypotézy s více kategorickými faktory byla použita hierarchická ANOVA. Pro mnohonásobné porovnání byl použit Newman-Keuls post hoc test.



**Obr. 7:** Schéma pracovního postupu hustotní frakcionace a rozplavení agregátů těžké frakce.



## 4. VÝSLEDKY

### 4.1. Velikostní třídy půdních agregátů a obsah volné OM (velikostní separace)

#### 4.1.1. Hmotnostní zastoupení půdních agregátů a volné OM

Pro obě povodí bylo ve 3 laboratorních opakováních naváženo 100 g půdy a velikostní separací získány 4 velikostní třídy vodostabilních agregátů a 1 frakce volné OM, jejichž průměrné hmotnostní zastoupení a průměrná procentuální návratnost jsou uvedeny v tabulce 1.

**Tab. 1:** Hmotnostní zastoupení velikostních tříd po velikostní separaci mokřím prosíváním z navážených 100 g půdy a průměrná procentuální návratnost. V tabulce jsou uvedeny průměrné hodnoty hmotnosti a směrodatná odchylka (n=3).

|                                | <b>CT</b>           | <b>PL</b>           |
|--------------------------------|---------------------|---------------------|
| <b>Velikostní třída</b>        | <b>Hmotnost (g)</b> | <b>Hmotnost (g)</b> |
| <b>&gt;2000</b>                | 87,610 ± 5,758      | 90,321 ± 6,042      |
| <b>2000-250</b>                | 10,924 ± 5,338      | 8,341 ± 3,153       |
| <b>250-53</b>                  | 0,470 ± 0,149       | 0,614 ± 0,502       |
| <b>53-10</b>                   | 0,607 ± 0,043       | 0,544 ± 0,003       |
| <b>Plovoucí</b>                | 0,091 ± 0,018       | 0,030 ± 0,024       |
| <b>Průměrná návratnost (%)</b> | 99,7                | 99,6                |

Se zmenšující se velikostní třídou agregátů se snižuje její hmotnostní zastoupení, a to u vzorků z obou povodí, přičemž největší podíl, zhruba okolo 90 %, vždy zůstal v největší frakci > 2000  $\mu\text{m}$ . Nebyl zjištěn rozdíl mezi CT a PL půdami.

Výsledky jsou částečně zatíženy chybou kvůli úpravě metodiky, kdy byl navýšen počet ponoření při mokřím prosívání z 50 na 150 u vzorků CT3 a PL1. U těchto vzorků došlo k částečným změnám v hmotnostním poměru, ale stále výrazně dominovala velikostní třída > 2000  $\mu\text{m}$  (Přílohy - tab. 1).

Volná OM (OM > 2000  $\mu\text{m}$  plovoucí na vodě při mokřím prosívání) tvořila v půdních vzorcích zanedbatelný hmotnostní podíl.

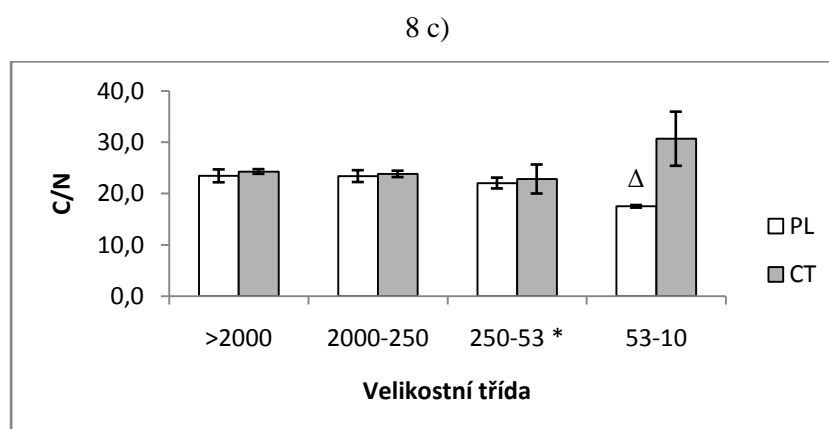
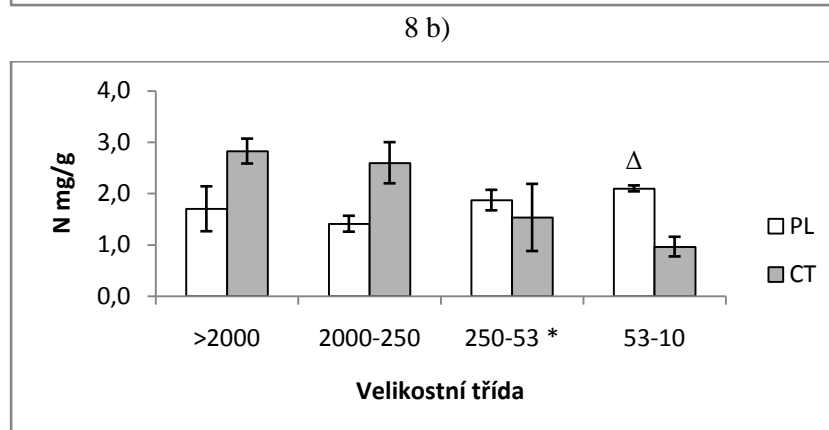
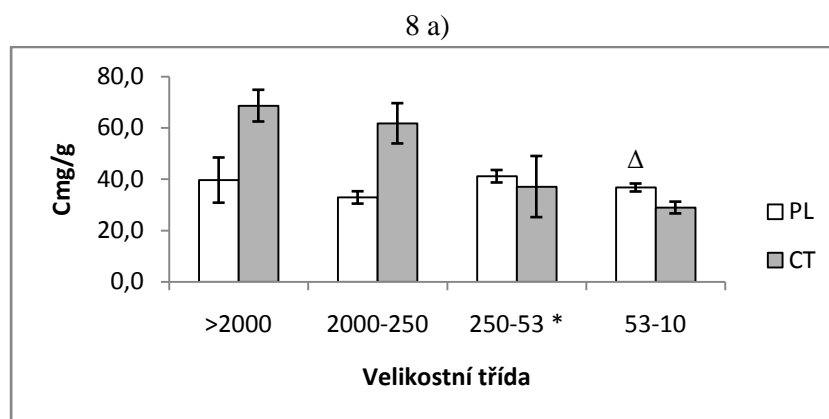
#### 4.1.2. Obsah C a N ve velikostních třídách agregátů a volné OM

Výsledky analýz C a N ve velikostních třídách na obsah C a N ukazují rozdílné trendy mezi lokalitami PL a CT (obr. 8 a, b, c). Ve velikostních třídách agregátů  $> 2000 \mu\text{m}$  a  $2000 - 250 \mu\text{m}$ , má CT vyšší obsah C i N než PL, a se zmenšující se velikostní třídou se obsah obou prvků snižuje. U PL není na první pohled patrný žádný výrazný trend související se zmenšováním velikosti agregátů.

Vztahy mezi velikostními třídami agregátů a obsahem C a N byly statisticky testovány. Pokud byly hodnoceny velikostní třídy agregátů z obou půd společně, tedy nezávisle na lokalitě, nebyly zjištěny průkazné rozdíly v obsahu C ( $p = 0,071$ ), N ( $p = 0,168$ ) ani C/N ( $p = 0,980$ ).

Pokud byl hodnocen obsah C, N a poměr C/N zvlášť v CT a PL půdě, velikostní třídy agregátů z PL půdy se průkazně lišily v poměru C/N ( $p = 0,001$ ), ale ne v obsahu C a N. Při použití post hoc testu (Newman-Keuls) se ukázalo, že průkazná odlišnost od všech ostatních tříd agregátů je u třídy  $53 - 10 \mu\text{m}$ . Naopak velikostní třídy CT půdy se průkazně lišily v obsahu C ( $p = 0,001$ ) a N ( $p = 0,001$ ), ale ne v poměru C/N. Post hoc test se ukázal, že se liší třídy  $250 - 53 \mu\text{m}$  a  $53 - 10 \mu\text{m}$  od dvou největších velikostních tříd.

Další testovanou hypotézou bylo, zda se množství C, N a poměr C/N liší mezi agregáty a zároveň mezi lokalitami. U všech testovaných parametrů (C, N i C/N) byl prokázán vliv lokality i v ní vnořené velikostní třídy ( $< 0,05$ ).



**Obr. 8 a, b, c:** Obsah C, N a poměru C/N v různých velikostních třídách získaných velikostní separací. V grafu jsou uvedeny průměrné hodnoty a směrodatná odchylka ( $n = 3$ ; průměrná hodnota u velikostní třídy označené \* byla získána pouze ze dvou hodnot, protože dvě ze tří opakování této velikostní třídy musela být sloučena kvůli malému množství vzorku; sloupeček označený  $\Delta$  znamená, že průměrná hodnota byla získána pouze ze dvou opakování).

#### **4.2. Lehká a těžká frakce ve velikostních třídách agregátů (hustotní frakcionace)**

Dle postupu byl ve třech velikostních třídách agregátů stanoven podíl lehké (LF) a těžké frakce (HF). LF odpovídá nerozložené či jen málo rozložené OM převážně rostlinného původu. HF je tvořena agregáty, které jsou složeny ze směsi menších, velmi stabilních

agregátů, které se nerozplaví v hexametafosforečnanu sodném a OM vázaná v těchto stabilních agregátech je fyzikálně chráněná.

#### 4.2.1. Rozložení lehké a těžké frakce v jednotlivých velikostních třídách

Lehká a těžká frakce získané hustotní frakcionací se mezi sebou výrazně liší svým hmotnostním zastoupením (tab. 2 a, b). LF tvořila do 6 % z navážky velikostní třídy (obr. 9). Naprostá většina hmotnosti navážky byla součástí HF (obr. 10).

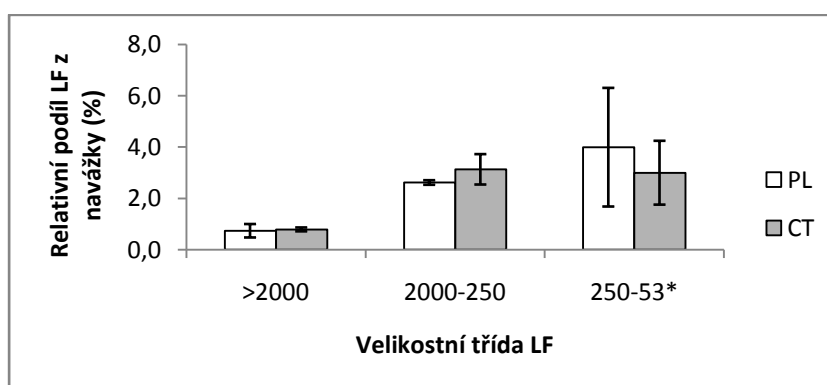
**Tab. 2 a), b):** Průměrné hmotnostní rozložení navážky velikostních tříd do LF a HF. Jsou uvedeny průměrné hodnoty a směrodatné odchylky (n = 3; \* označuje průměr ze 2 opakování).

2a) PL

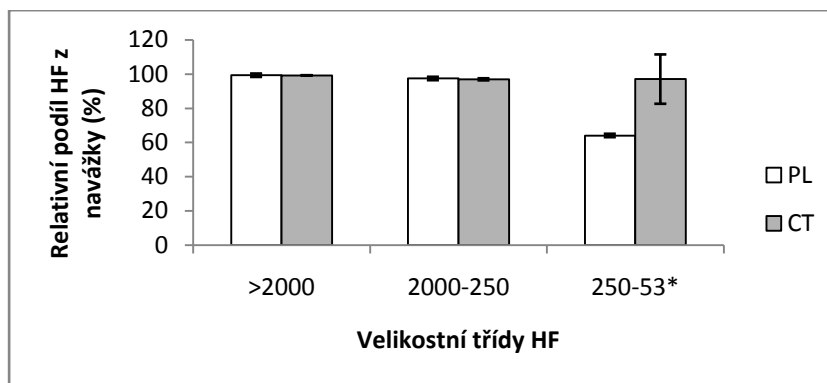
| PL               |               |                 |                 |
|------------------|---------------|-----------------|-----------------|
| Velikostní třída | Navážka (g)   | Hmotnost LF (g) | Hmotnost HF (g) |
| >2000            | 5,002 ± 0,001 | 0,037 ± 0,013   | 4,965 ± 0,012   |
| 2000-250         | 5,003 ± 0,001 | 0,131 ± 0,004   | 4,871 ± 0,005   |
| 250-53*          | 0,801 ± 0,281 | 0,032 ± 0,019   | 0,513 ± 0,263   |

2b) CT

| CT               |               |                 |                 |
|------------------|---------------|-----------------|-----------------|
| Velikostní třída | Navážka (g)   | Hmotnost LF (g) | Hmotnost HF (g) |
| >2000            | 5,007 ± 0,000 | 0,040 ± 0,004   | 4,967 ± 0,004   |
| 2000-250         | 5,004 ± 0,002 | 0,157 ± 0,030   | 4,847 ± 0,031   |
| 250-53*          | 0,551 ± 0,073 | 0,017 ± 0,007   | 0,535 ± 0,080   |

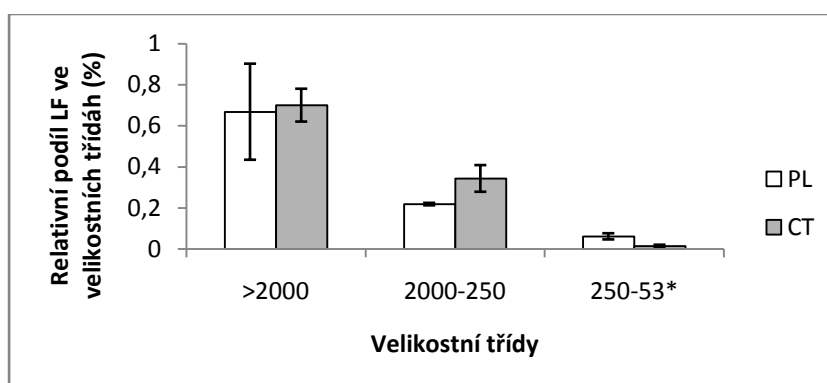


**Obr. 9:** Relativní podíl LF (%) z navážky na hustotní frakcionaci v jednotlivých velikostních třídách LF. V grafu jsou uvedeny průměrné hodnoty a směrodatná odchylka (n = 3; průměrná hodnota u velikostní třídy označené \* byla získána pouze ze dvou hodnot, protože dvě ze tří opakování této velikostní třídy musela být sloučena kvůli malému množství).



**Obr. 10 :** Relativní podíl HF (%) z navážky na hustotní frakcionaci v jednotlivých velikostních třídách. V grafu jsou uvedeny průměrné hodnoty a směrodatná odchylka ( $n = 3$ ; průměrná hodnota u velikostní třídy označené \* byla získána pouze ze dvou hodnot, protože dvě ze tří opakování této velikostní třídy musela být sloučena kvůli malému množství).

Pokud byla průměrná hmotnost lehké frakce v jednotlivých velikostních třídách agregátů přepočítána na průměrnou hmotnost velikostních tříd agregátů získaných velikostní separací ze 100 g půdy (viz tab. 1), největší množství LF bylo obsaženo ve velikostní třídě  $> 2000 \mu\text{m}$  (obr. 11).



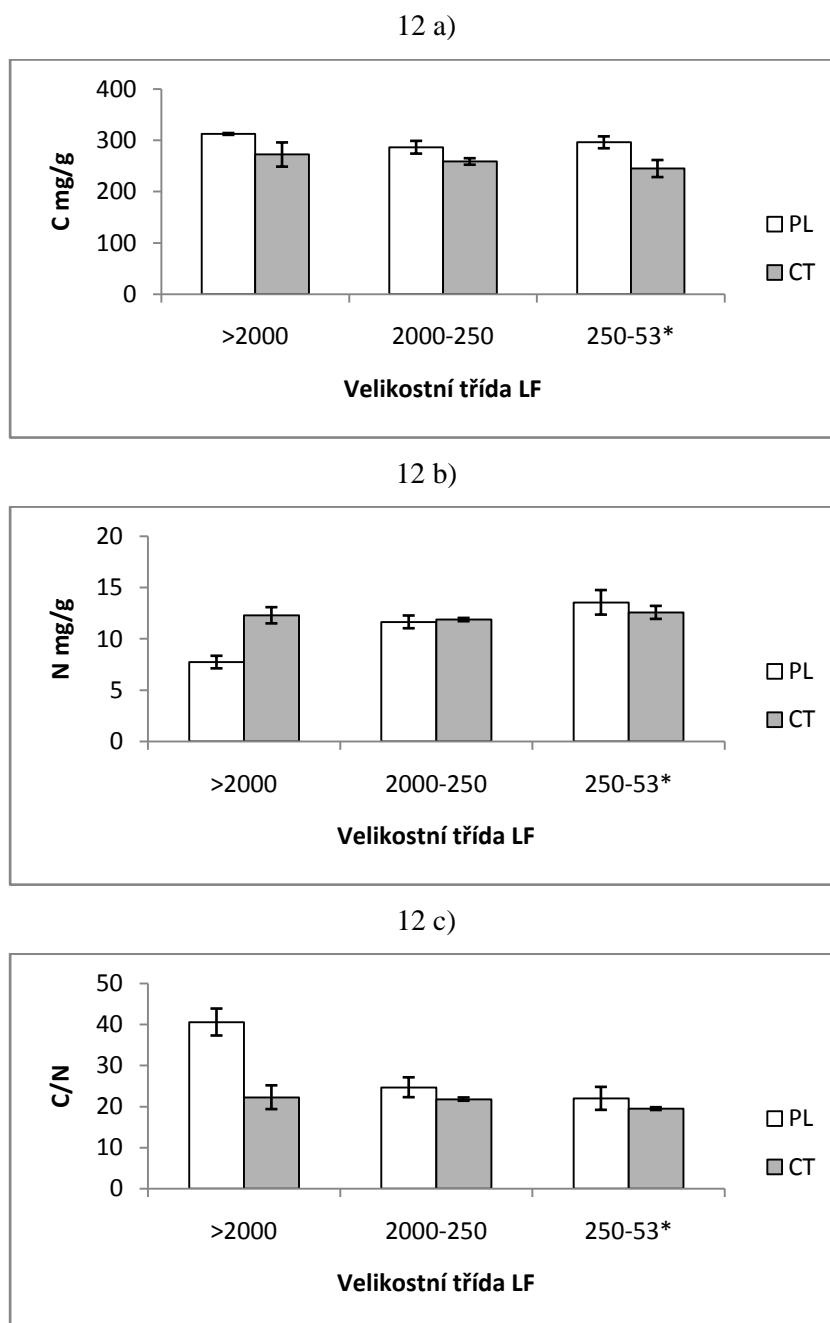
**Obr. 11:** Relativní podíl LF v jednotlivých velikostních třídách (%) přepočtený na průměrné hmotnosti těchto tříd uvedených v tabulce 1. V grafu jsou znázorněny průměrné hodnoty a směrodatná odchylka ( $n = 3$ ; průměrná hodnota u velikostní třídy označené \* byla získána pouze ze dvou hodnot, protože dvě ze tří opakování této velikostní třídy musela být sloučena kvůli malému množství).

#### 4.2.2. Obsah C a N v lehké frakci (LF)

Na obrázcích 12 a, b, c je porovnání složení OM v LF mezi PL a CT a mezi velikostními třídami LF.

Množství C v LF je přibližně stejné ve všech velikostních třídách ( $p = 0,055$  pro PL a  $p = 0,286$  pro CT), přičemž toto množství je vyšší u PL než u CT. V případě N je u CT situace stejná, tedy přibližně stejné množství N ve všech velikostních třídách ( $p = 0,454$ ), ale

u PL lze pozorovat zvyšující se množství N se zmenšující se velikostí třídy ( $p = 0,000$ ), ze kterých byla LF získána. To se projevuje na poměru C/N, který je u CT zhruba stejný přes všechny velikostní frakce ( $p = 0,281$ ), kdežto u PL se projevuje menší obsah N na jednotku C ( $p = 0,001$ ). Z výše uvedeného vyplývá, že velikostní třídy agregátů se u PL liší složením LF, zatímco u CT nelze prokázat souvislost mezi velikostí frakce a složením LF.



**Obr. 12 a, b, c:** Obsah C, N a poměr C/N v různých velikostních třídách agregátů získaných velikostní separací. V grafu jsou uvedeny průměrné hodnoty a směrodatná odchylka ( $n = 3$ ); průměrná hodnota u velikostní třídy označené \* byla získána pouze ze dvou hodnot, protože dvě ze tří opakování této velikostní třídy musela být sloučena kvůli malému množství vzorku.

### **4.3. Vlastnosti těžké frakce (HF) po rozplavení hexametafosforečnanem sodným**

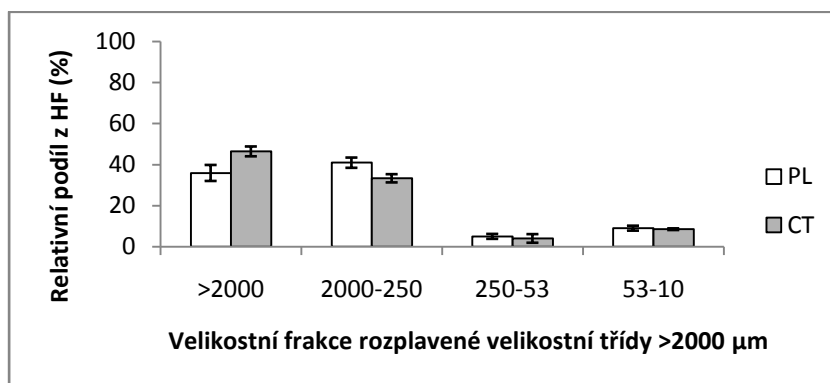
#### **4.3.1. Velikostní frakce získané rozplavením HF a jejich hmotnostní zastoupení**

Hustotní frakcionací získaná HF byla rozplavena a rozdělena na stabilní agregáty různé velikosti označené jako velikostní frakce. Ačkoliv hmotnostní rozložení velikostních frakcí HF nebylo statisticky testováno, z výsledku (tab. 3) je vidět, že po rozplavení velikostní třídy > 2000  $\mu\text{m}$  se CT a PL liší ve velikostních frakcích rozplavených agregátů > 2000  $\mu\text{m}$  a 2000 - 250  $\mu\text{m}$ , kdy CT má procentuálně vyšší podíl ve frakci > 2000  $\mu\text{m}$  a PL ve frakci 2000 - 250  $\mu\text{m}$  (obr. 13a). Při rozplavení velikostní třídy HF 2000 - 250  $\mu\text{m}$  a 250 - 53  $\mu\text{m}$  nebyly zjištěny rozdíly mezi půdami CT a PL (obr. 13b, c).

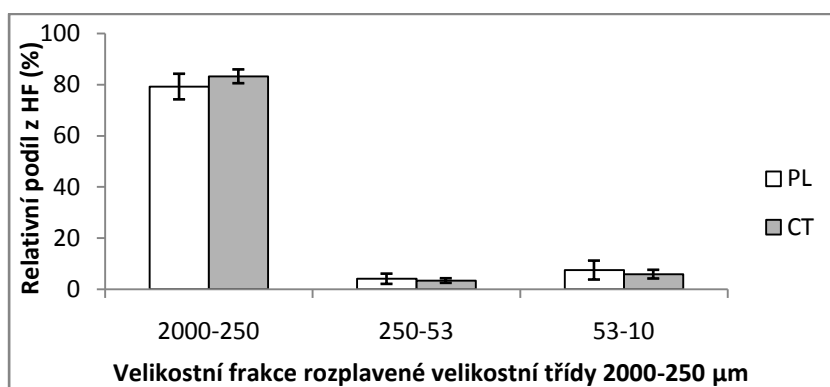
**Tab. 3:** Velikostní třídy HF rozplavené v hexametafosforečnanu sodném na velikostní frakce. V tabulce jsou uvedeny jejich průměrné hmotnosti a směrodatná odchylka ( $n = 3$ ) a relativní podíl velikostních frakcí z předpokládané hmotnosti HF, která je uvedena v tabulce 2a, b. Hodnoty u velikostní třídy označené \* byla získané pouze ze dvou vzorků.

| Velikostní třída | Velikostní frakce HF | CT                |                          | PL                |                          |
|------------------|----------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|--------------------------|
|                  |                      | Hmotnost (g)      | Relativní podíl z HF (%) | Hmotnost (g)      | Relativní podíl z HF (%) |
| >2000            | >2000                | 2,321 $\pm$ 0,121 | 46,4 $\pm$ 2,4           | 1,794 $\pm$ 0,194 | 35,9 $\pm$ 3,9           |
|                  | 2000-250             | 1,665 $\pm$ 0,102 | 33,3 $\pm$ 2,0           | 2,046 $\pm$ 0,126 | 40,9 $\pm$ 2,5           |
|                  | 250-53               | 0,199 $\pm$ 0,104 | 4,0 $\pm$ 2,1            | 0,249 $\pm$ 0,060 | 5,0 $\pm$ 1,2            |
|                  | 53-10                | 0,427 $\pm$ 0,020 | 8,5 $\pm$ 0,4            | 0,451 $\pm$ 0,059 | 9,0 $\pm$ 1,2            |
|                  | Výtěžnost            |                   | 92,2 $\pm$ 6,9           |                   | 90,8 $\pm$ 8,8           |
| 2000-250         | 2000-250             | 4,162 $\pm$ 0,137 | 83,2 $\pm$ 2,7           | 3,960 $\pm$ 0,250 | 79,2 $\pm$ 5,0           |
|                  | 250-53               | 0,171 $\pm$ 0,043 | 3,4 $\pm$ 0,9            | 0,203 $\pm$ 0,099 | 4,1 $\pm$ 2,0            |
|                  | 53-10                | 0,296 $\pm$ 0,086 | 5,9 $\pm$ 1,7            | 0,377 $\pm$ 0,186 | 7,5 $\pm$ 3,7            |
|                  | Výtěžnost            |                   | 92,5 $\pm$ 5,3           |                   | 90,8 $\pm$ 10,7          |
| 250-53*          | 250-53               | 0,406 $\pm$ 0,044 | 73,7 $\pm$ 8,0           | 0,550 $\pm$ 0,122 | 68,7 $\pm$ 15,2          |
|                  | Výtěžnost            |                   | 73,7 $\pm$ 8,0           |                   | 68,7 $\pm$ 15,2          |

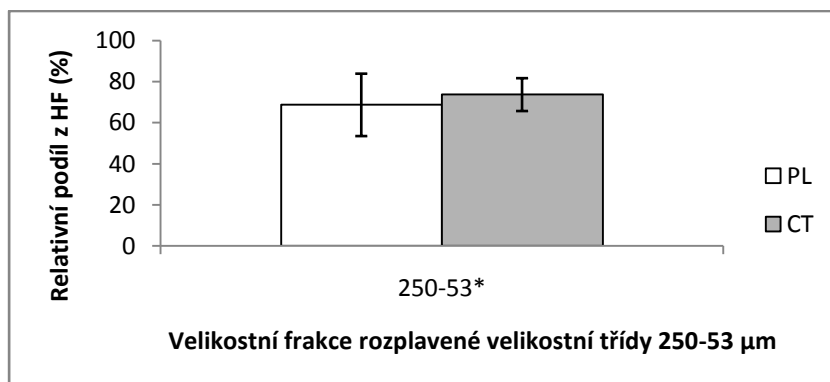
13 a)



13 b)



13 c)

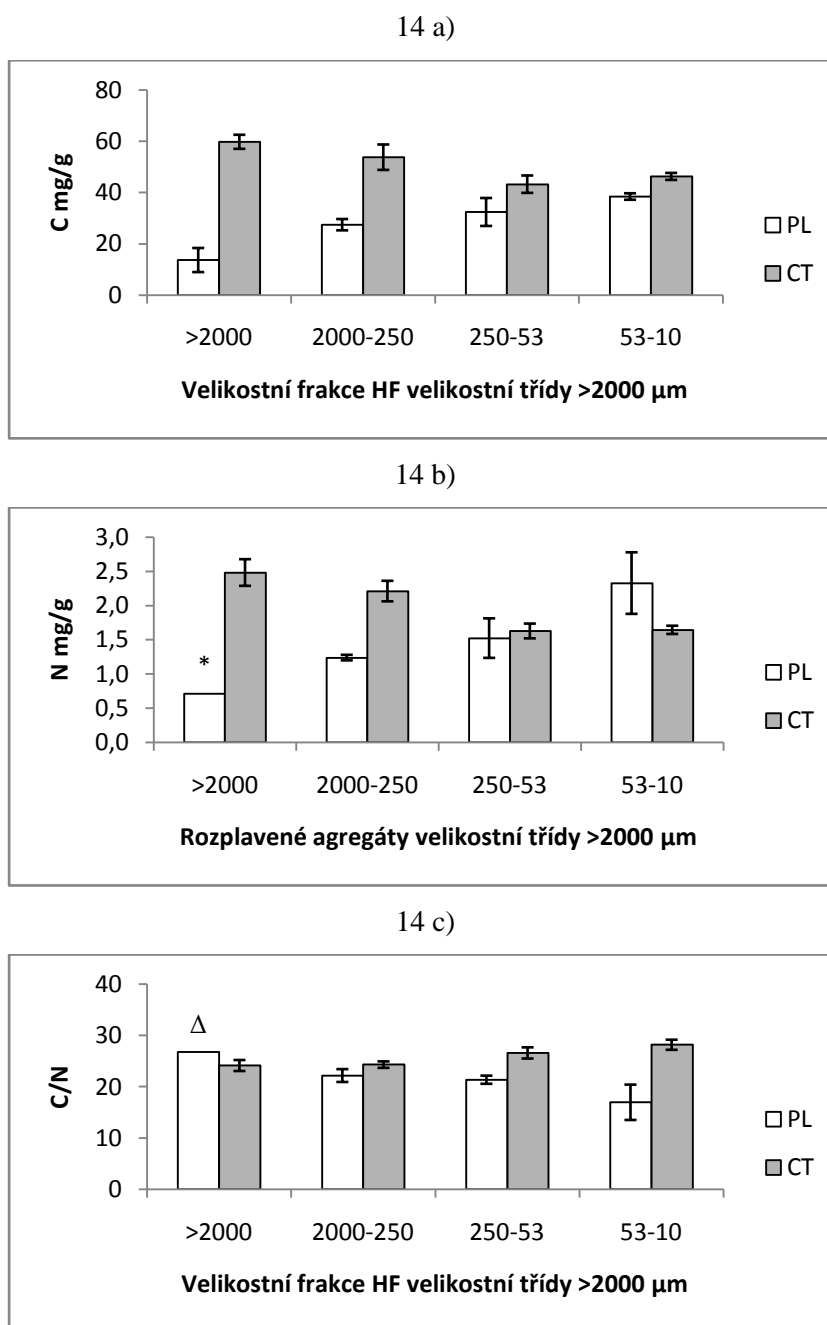


**Obr. 13a, b, c:** Procentuální zastoupení velikostních frakcí HF po rozplavení velikostních tříd. V grafu jsou uvedeny průměrné hodnoty a směrodatná odchylka ( $n = 3$ ). \* Označuje hodnoty získané pouze ze dvou hodnot.



### 4.3.2. Obsah C, N ve stabilních agregátech získaných rozplavením HF

První testovaná hypotéza u HF byla, zda se velikostní třídy agregátů vzniklé rozplavením HF v rámci lokality liší v celkovém obsahu C, N a poměru C/N. Na obrázcích 14 a, b, c je znázorněn obsah C, N a jejich poměr po rozplavení velikostní třídy HF > 2000  $\mu\text{m}$ .

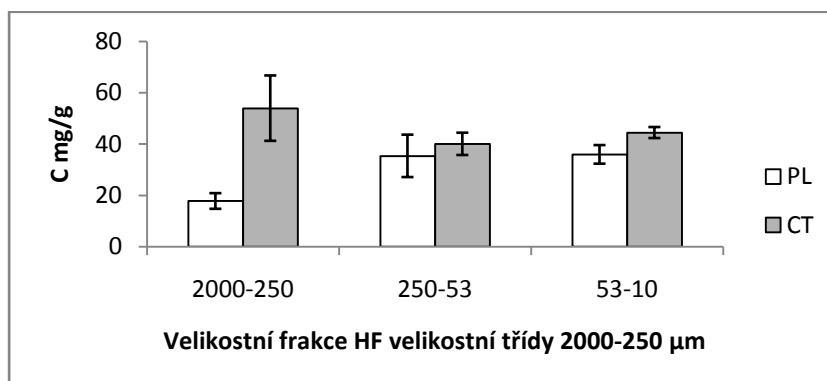


**Obr. 14 a, b, c:** Obsah C, N a poměr C/N ve velikostních frakcích HF velikostní třídy > 2000  $\mu\text{m}$ . V grafech je uvedena průměrná hodnota a směrodatná odchylka ( $n = 3$ ). \*V grafu b) je hodnota dusíku výsledkem jediného měření. V grafu c) symbol  $\Delta$  značí jedinou hodnotu C/N, která byla získána z jediného vzorku.

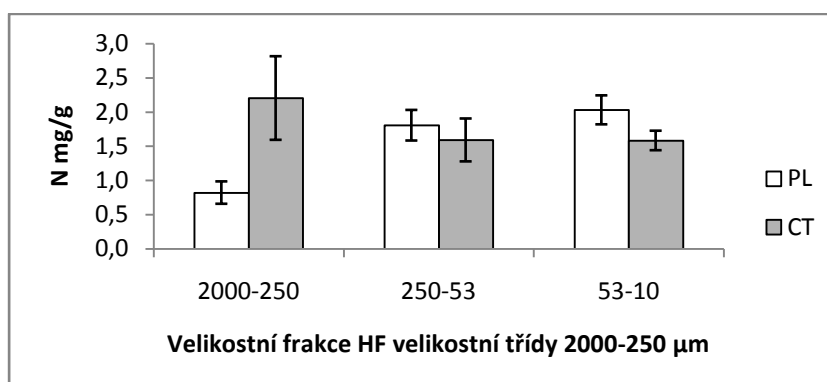
Obsah C (obr. 14a) v největší velikostní frakci u PL je několikanásobně menší než u CT, ale se zmenšující se velikostí rozplavených frakcí jeho množství roste ( $p = 0,000$ ). Při použití post hoc testu se ukázalo, že se všechny rozplavené velikostní frakce liší od největší frakce  $> 2000 \mu\text{m}$ . Zatímco obsah C v rozplavených velikostních frakcích u PL roste, u CT průkazně klesá ( $p = 0,001$ ). Post hoc test ukázal, že se liší frakce  $250 - 53 \mu\text{m}$  a  $53 - 10 \mu\text{m}$  od frakcí  $> 2000 \mu\text{m}$  a  $2000 - 250 \mu\text{m}$ . Obsah N v rozplavených frakcích PL sledoval stejný trend jako obsah C: Množství N je v největších velikostních frakcích výrazně nižší než u CT a roste se zmenšující se velikostí frakcí ( $p = 0,002$ ). Z neznámého důvodu ale nebyl u dvou ze tří vzorků největší rozplavené frakce vůbec naměřen obsah N. Post hoc test ukázal odlišnost mezi všemi frakcemi kromě mezi  $2000 - 250 \mu\text{m}$  a  $250 - 53 \mu\text{m}$ . Je ale třeba vzít v úvahu to, že pro frakci  $> 2000 \mu\text{m}$  byla započítána pouze jedna hodnota. U CT se obsah N se zmenšující se frakcí zmenšoval ( $p = 0,000$ ), se stejným trendem jako u obsahu C. Byla zjištěna odlišnost frakce  $250 - 53 \mu\text{m}$  a  $53 - 10 \mu\text{m}$  od frakcí  $> 2000 \mu\text{m}$  a  $2000 - 250 \mu\text{m}$ . Poměr C/N (obr. 14 c) se zmenšující se velikostní frakcí snižoval u PL, ovšem statisticky neprůkazně ( $p = 0,064$ ), a zvyšoval u CT ( $p = 0,002$ ), přičemž u CT se lišily velikostní frakce  $250 - 53 \mu\text{m}$  a  $53 - 10 \mu\text{m}$  od dvou největších velikostních frakcí.

Na obrázcích 15 a, b, c je vidět podobný trend chování velikostních frakcí HF menších než  $2000 - 250 \mu\text{m}$ . Rozplavené frakce z PL se průkazně lišily v obsahu C ( $p = 0,004$ ) a N ( $p = 0,000$ ), zatímco poměr C/N se průkazně nelišil ( $p = 0,247$ ). Rozplavené frakce u CT se nelišily ani v jednom z parametrů: C ( $p = 0,132$ ), N ( $p = 0,163$ ), C/N ( $p = 0,145$ ).

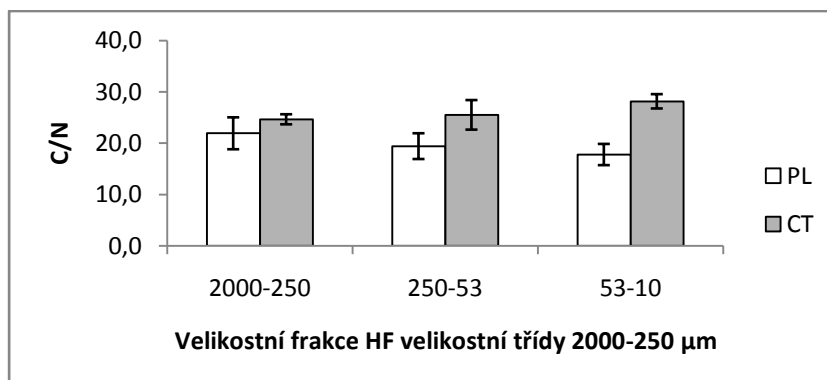
15 a)



15 b)



15 c)

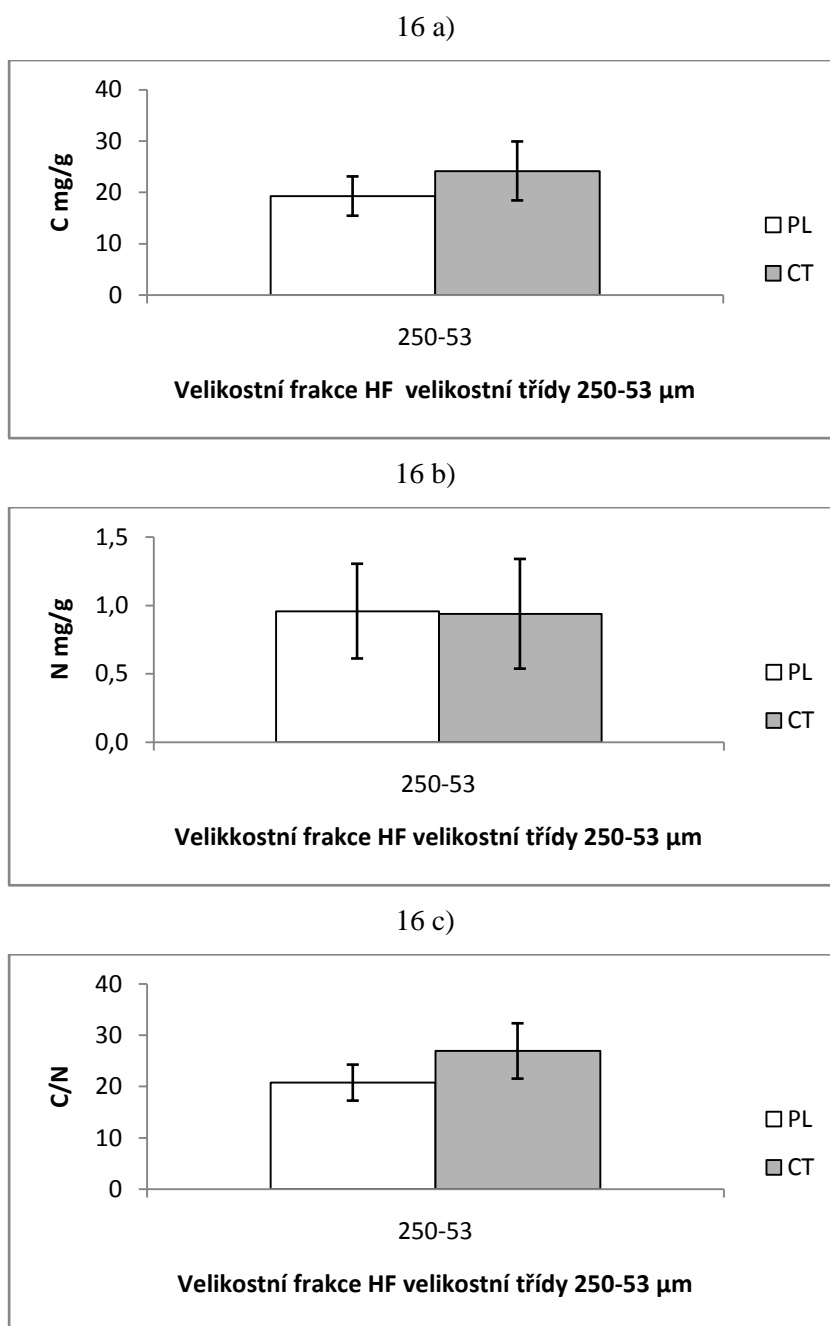


**Obr. 15 a, b, c:** Obsah C, N a poměr C/N ve velikostních frakcích HF z velikostní třídy 2000-250 μm. V grafech je uvedena průměrná hodnota a směrodatná odchylka (n = 3).

U nejmenší velikostní frakce HF byl u obou půd získán pouze malý počet opakování a malé množství vzorku. Výsledky jsou proto značně variabilní a nebyly statisticky testovány. Jsou uvedeny pouze obr. 16 a, b, c.

U všech velikostních tříd a velikostních frakcí rozplavených agregátů HF bylo testováno, zda lokalita, velikostní třída a velikostní frakce HF mají vliv na množství C, N a poměr C/N. Pro obsah C vyšel průkazně pouze vliv lokality ( $p = 0,000$ ), vliv velikostní třídy HF a velikosti

rozplavených agregátů byl neprůkazný ( $p = 0,336$ ,  $p = 0,165$ ). Pro obsah N byly průkazné vlivy lokality a velikostní třídy HF ( $p = 0,000$ ,  $p = 0,000$ ). Vliv velikosti rozplavených agregátů byl neprůkazný ( $p = 0,631$ ). Poměr C/N byl průkazně ovlivněn opět pouze lokalitou ( $p = 0,000$ ), ale vliv velikostní třídy HF a velikosti rozplavených agregátů byl neprůkazný ( $p = 0,779$ ,  $p = 0,867$ ). Povodí CT a PL se tedy průkazně liší množstvím C, N i jejich poměrem.



**Obr. 16 a, b, c:** Obsah C, N a poměr C/N ve velikostních frakcích HF z velikostní třídy 2000 – 250  $\mu\text{m}$ . V grafech je uvedena průměrná hodnota a směrodatná odchylka ( $n = 2$ ).

## **5. DISKUZE**

### **5.1. Velikostní separace**

#### **5.1.1. Hmotnostní zastoupení velikostních tříd**

V hmotnostním podílu jednotlivých velikostních tříd nebyl mezi povodími CT a PL rozdíl. Při mokřém prosívání zůstalo téměř 90% agregátů ve velikostní třídě  $> 2000 \mu\text{m}$ , okolo 10% se pak pohybovalo množství agregátů ve velikostní třídě  $2000 - 250 \mu\text{m}$  a zastoupení zbylých velikostních tříd bylo v desetinách procent. Tyto výsledky ukazují, že u obou povodí je vysoká stabilita makroagregátů. Jak bylo uvedeno již v literární rešerši, vodostabilní agregáty brání erozi půdy a zadržují uhlík a živiny. Vznik, stabilizace a rozpad (makro)agregátů není úplně objasněn, ale v mnoha půdách bylo prokázáno, že vodostabilní agregáty jsou závislé na OM a její kvalitě (Tisdall a Oades, 1982). V případě makroagregátů jde o kombinaci biotických a abiotických faktorů, přičemž z biotických faktorů byla prokázána významná role kořenů a mikroorganismů. Blankinship a kol. (2016) ve své práci uvádí, že odstranění rostlin vedlo ke snížení množství větších makroagregátů ( $9 - 2 \text{ mm}$ ) a navýšení množství menších ( $2 - 0,25 \text{ mm}$ ). V případě vzorků z povodí CT a PL by se na základě těchto údajů dalo usuzovat, že jejich makroagregáty by mohly být stabilizované právě kořeny, což ale z výsledků této práce nelze prokázat.

#### **5.1.2. Porovnání CT a PL v obsahu C a N**

Z porovnání je patrné, že mezi vzorky z povodí CT a PL jsou rozdíly v obsahu OM, a to jak v jejím množství, tak v jejím složení.

Pro agregáty získané velikostní frakcionací je na základě analýzy C a N vidět, že CT má vyšší obsah C i N než PL, a to zvláště ve větších velikostních frakcích, se snižující se velikostí C i N ubývá. Naopak u PL nelze pozorovat žádný konkrétní trend, hodnoty jsou mnohem více variabilní, ale v rámci všech frakcí vzájemně podobné, a to jak u C, tak u N. Ačkoliv jsou ale rozdíly v množství C a N mezi CT a PL velmi výrazné, poměr C/N se mezi CT a PL liší ve větších frakcích pouze málo, nejvýraznější rozdíl je ve frakci  $53 - 10 \mu\text{m}$ , kde u CT je oproti PL menší množství N na jednotku C. Z těchto údajů nelze usuzovat na konkrétní příčinu rozdílnosti. Teoreticky by se mohlo jednat o rozdílné množství OM, které do půdy vstupuje, či o různou strukturu vegetace. Množství a kvalita SOC, tedy i jeho změny, jsou považovány za jedny z hlavních faktorů ovlivňující dynamiku půdního organického dusíku (Compton a Boone, 2002). V roce 2014, kdy byly vzorky odebírány,

byla na obou lokalitách částečně odlišná vegetace, a to ne ani tak druhovým složením, jako hlavně pokryvností a zastoupením jednotlivých vegetačních pater, jak je zmíněno v popisu lokalit v kapitole materiály a metody. Poškození vegetace po napadení kůrovcem zasáhlo do celého fungování ekosystému. Byly zaznamenány změny v množství různých forem N, P a množství bazických kationtů (Kaňa a kol., 2013), ve složení mikrobiálních společenstev v povrchových vrstvách půdy (Bárta a kol., 2010) či změny ve složení skupin hlístic. Skupina hlístic, jejíž hlavní složku potravy tvoří ektomykorhizní houby, po odumření stromového patra poklesla, a naopak se navýšila početnost například Nematod, která obvykle tvoří složku lučních porostů, neboť ve vegetaci došlo k sukcesi trav (Háněl, 2004). V povodí PL došlo v letech 2003 - 2008 k rozpadu stromového patra. To znamenalo mnohem vyšší přísun OM do O horizontu, Změny po napadení kůrovcem ale zřejmě nejsou vysvětlením pro výrazné rozdíly v množství C a N v OM mezi povodími, protože výrazně vyšší množství C i N v povodí CT bylo v porovnání s půdami z povodí PL naměřeno již před rokem 2002, kdy na obou lokalitách převládala horská smrčina, do té doby zasažená pouze kyselými srážkami (Kopáček a kol., 2002). Dle této studie může mít určitý vliv důležitá živina, fosfor, který je ovlivňován i odlišným podložím jednotlivých lokalit. Granitové podloží v povodí PL obsahuje více P ( $37 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ) než svor v povodí CT ( $11 - 13 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ). Ačkoliv je podloží CT na fosfor chudší, a navíc se ze svoru fosfor hůře vylučuje za kyselého pH, které je na obou lokalitách, půdy v povodí CT mají koncentrace P vyšší ( $24 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ) než je ve svorovém podloží a než v půdách z povodí PL ( $20 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ). Fosfor ale není pouze anorganického, ale i organického původu. Organický fosfor se v půdě vyskytuje nejčastěji v podobě mono- a diesterů orthofosforečné kyseliny, v menší míře pak látky s přímou vazbou uhlíku a fosforu. Významnou roli v zadržování P, ale obecně i v zadržování OM hrají oxidy železa a hliníku, a to z důvodu, že na rozdíl od silikátů jsou v rozmezí pH 4 - 7 pozitivně nabitě (Guggenberger a Haider, 2002). Granit z povodí PL obsahuje zhruba 6 krát méně železa než svor z povodí CT. Obecně mají tedy půdy povodí PL menší schopnost zadržovat P než půdy povodí CT, zřejmě právě z důvodu, že CT obsahuje vyšší množství oxidů železa a hliníku (Kaňa a Kopáček, 2006; Šantrůčková a kol., 2009). Další rozdíl v půdách těchto povodí je, že CT obsahuje větší množství výměnného hliníku a celkového množství hořčíku a manganu než PL, ale naopak má nižší saturaci a koncentraci bazických kationtů (Šantrůčková a kol., 2009).

Výše uvedené rozdíly by teoreticky mohly mít vliv i na strukturu a stabilitu agregátů. Menší schopnost půd PL zadržovat fosfor vede k jeho vyplavování. Vyplavování fosforu by také

mohlo souviset s tím, že ve složení mikrobiální složky PL mají větší zastoupení houby (Tahovská a kol., 2013), u nichž se předpokládá vyšší poměr C/P, tedy menší náročnost na obsah P v substrátu, stejně jako u poměru C/N (Mouginot a kol., 2014). Zároveň byla u PL v porovnání s CT zaznamenána vyšší dostupnost fosforu pro organismy, což souvisí s vyšší aktivitou fosfatáz, zvláště v opadovém a humusovém horizontu (Šantrůčková a kol., 2004). Jak bylo řečeno již v literární rešerši, houbová mycelia mají podíl na stabilizaci agregátů. Vyšší zastoupení hub v povodí PL může souviset s rozpadem stromového patra po kůrovcové kalamitě a rozkladem dřeva, ale mohla by zde být souvislost i s kvalitou dostupné OM a celkovou dostupností esenciálních prvků, tedy s poměry dostupných C/N a C/P v půdě. Fosfor dle své dostupnosti je zřejmě v povodí PL méně limitujícím prvkem než v povodí CT. V povodí CT je naopak dostupnost fosforu nižší, ale i přesto v mikrobiální složce dominují bakterie (Tahovská a kol., 2013), u kterých se předpokládá nižší C/P i C/N (Mouginot a kol., 2014).

## **5.2. Hmotnostní rozložení a složení LF získané hustotní frakcionací**

Hustotní frakcionací získaná lehká frakce, tedy organická hmota nevázaná na minerální částice, a tak lépe dostupná pro mikroorganismy, se lišila množstvím v závislosti na velikostní třídě agregátů, ze které byla získána, a tento trend byl stejný u obou povodí. Největší množství LF bylo z dané navážky získáno z agregátů velikosti 2000 - 250  $\mu\text{m}$ . LF se ale mezi povodími lišila prvkovým složením. Nejvýraznější rozdíl ve složení byl v lehké frakci získané z agregátů  $> 2000 \mu\text{m}$ . Množství C v této frakci bylo mezi povodími zhruba podobné, ačkoliv u PL o něco vyšší než u CT, ale obsah N byl naopak u PL výrazně nižší. Ve vzorcích z povodí CT se poměr C/N pohyboval v hodnotách okolo 22, kdežto u PL byl tento poměr okolo 40. U LF získané ze zbylých menších tříd byl poměr C/N mezi PL a CT bližší, (24 a 21) respektive (21 a 19). Poměr C/N může být ukazatelem, zda probíhá mineralizace nebo imobilizace N. Při vysokém poměru C/N v substrátu, tedy při menším množství dusíku na jednotku uhlíku, dochází spíše k imobilizaci dusíku, který se tak stává limitujícím. Naopak při nízkém poměru C/N, tedy na jednotku uhlíku připadá větší množství dusíku, není dusík limitující a objevují se minerální formy dusíku ( $\text{NH}_4^+$  a následně  $\text{NO}_3^-$ ), (Staňková a kol., 2015). Jak bylo řečeno v předchozí kapitole, při porovnávání mikrobiální složky mezi PL a CT se zjistilo, že na PL převládají houby (Tahovská a kol., 2013). Houby jsou díky svým enzymům považovány obecně za lepší rozkladače komplexní organické hmoty a v cyklu dusíku se podílejí zejména na imobilizaci a amonifikaci. Jejich odumřelá mycelia jsou zároveň odolnější k dalšímu rozkladu, takže v sobě látky do značné míry

zadržují. V prostředí, kde je SOM chudá na dusík, má tedy vysokou hodnotu poměru C/N, jsou houby kompetičně zdatnější než bakterie, neboť i jejich biomasa obecně mívá vyšší C/N poměr, vláknité mycelium jim umožňuje propojovat větší vzdálenosti, přesun látek myceliem, a jak již bylo řečeno, jejich enzymy mohou lépe než bakteriální štěpit komplexnější organické látky (Staňková a kol., 2015, Hu a kol., 2017). Získaná, pro mikroorganismy dostupná lehká frakce z povodí PL, zvláště v největší velikostní frakci  $> 2000 \mu\text{m}$ , by mohla svým C/N poměrem odpovídat spíše kolonizaci houbami, ačkoliv tato úvaha opomíjí to, že neznáme komplexnost této OM. Odumřelé dřevo nad zemí i kořeny v půdě s velkým množstvím komplexních látek v povodí PL po kůrovcové kalamitě je tedy zřejmě vhodným substrátem pro mnoho saprofytických hub, které jej mohou rozkládat. Houby ze skupiny Ascomycota a Basidiomycota jsou hlavní první kolonizátoři a dekompozitoři odumřelého dřeva, protože mají extracelulární enzymy schopné rozkládat lignin, a tak uvolňovat živiny a OM pro další organismy (Arnstadt a kol., 2016).

### **5.3. Vlastnosti HF a její rozplavení na stabilní agregáty**

#### **5.3.1. Rozplavení HF na velikostní frakce**

Po rozplavení velikostních tříd na velikostní frakce HF se CT a PL lišilo ve velikostní třídě  $> 2000 \mu\text{m}$ . U CT zůstalo větší procento stabilních agregátů z této třídy ve velikostní frakci  $> 2000 \mu\text{m}$ . U PL bylo větší procento stabilních agregátů této třídy ( $> 2000 \mu\text{m}$ ) ve velikostní frakci 2000 - 250  $\mu\text{m}$ . To by mohlo naznačovat odlišné složení tmelících částic a jejich zastoupení.

#### **5.3.2. Obsah C a N v jednotlivých velikostních frakcích HF**

U těžké frakce jsou dle výsledků patrné dva různé trendy v závislosti na povodí, ze kterého rozplavené agregáty pochází. U vzorků CT se hodnoty pro C i N víceméně snižují se zmenšující se velikostní frakcí HF. Ve velikostní třídě HF  $> 2000 \mu\text{m}$ , která byla rozplavená na velikostní frakce  $> 2000$ , 2000 - 250, 250 - 53 a 53 - 10  $\mu\text{m}$  se obsah C a N snižuje od frakce  $> 2000 \mu\text{m}$  po frakci 250 - 53  $\mu\text{m}$  a ve frakci 53 - 10  $\mu\text{m}$  je opět mírný nárůst, ale pouze v obsahu C. Velikostní třída HF 2000 - 250  $\mu\text{m}$  má hodnoty C a N v příslušných velikostních frakcích po rozplavení lehce nižší než hodnoty odpovídajících velikostních frakcí pocházejících z velikostní třídy  $> 2000 \mu\text{m}$ , nicméně trend je opět stejný. U velikostní třídy HF 250 - 53  $\mu\text{m}$  je problém s velkou variabilitou a s nedostatečným počtem opakování z důvodu výše uvedeného malého množství získané frakce, nicméně lze říci, že hodnoty se



pohybovaly v desítkách jednotek níže než odpovídající frakce rozplavených agregátů dvou předchozích frakcí. Ačkoliv to nebylo statisticky prokázáno, při rozplavování se u CT poměr C/N zvyšoval se zmenšující se frakcí. U PL tomu bylo téměř úplně naopak. Se zmenšující se velikostní frakcí agregátů rostlo množství C i N, a navíc při porovnání odpovídajících velikostních frakcí získaných rozplavením velikostních tříd HF > 2000  $\mu\text{m}$  a 2000 - 250  $\mu\text{m}$  bylo množství C i N odlišné. Poměr C/N byl obecně o něco nižší než u CT a se zmenšující se velikostí rozplavených agregátů klesal. Teoreticky by to opět mohlo souviset se složením mikrobiální složky a s kvalitou organické hmoty. Jak bylo uvedeno v předchozí kapitole, vyšší poměr C/N dostupné organické hmoty (LF) ve velikostní třídě > 2000  $\mu\text{m}$  v půdách PL by mohl kompetičně zvýhodňovat houby, jejichž nároky na N jsou oproti bakteriím nižší. Dostupná OM by mohla být houbami využívána hlavně jako zdroj C (Tahovská a kol., 2013), a tak by s postupujícím rozkladem a navázáním na minerální složku mohl poměr C/N klesat. Zároveň to, že houby mají v mikrobiální složce PL vyšší zastoupení, neznamená, že nejsou zastoupeny bakterie. Ty by mohly využívat rozloženější OM s nižším poměrem C/N, která se vyskytovala jako LF v menších velikostních třídách agregátů a v rozplavených velikostních frakcích HF. Naopak v povodí CT jsou více zastoupeny bakterie, které mají nižší C/N, což může mít souvislost s tím, že dostupná OM (LF) z velikostní třídy > 2000  $\mu\text{m}$  měla v porovnání s PL výrazně nižší C/N. Snižování množství N se zmenšující se velikostní frakcí HF by mohlo souviset právě se zabudováváním části N do biomasy mikroorganismů a vylučováním přebytečného N v minerálních formách.

Při hodnocení těchto výsledků je potřeba brát v úvahu použitou metodiku. HF v tomto případě není pouze OM vázaná na minerální částice v organo - minerálním komplexu, ale je zde zahrnuta i OM v angličtině označovaná jako *intra - aggregate particulate organic matter* (iPOM), tedy částice OM, které jsou uzavřené uvnitř agregátů, a tak při hustotní frakcionaci nemohou vyplavat jako LF. Uzavření OM v agregátech ale nemusí nutně znamenat ztíženou dostupnost pro mikroorganismy, neboť zde hraje roli velikost agregátů a jejich pórů.

Diochon a kol. (2009) používají metodiku hustotní frakcionace, která odlišuje 3 frakce - volnou LF, iPOM LF a HF představující organo-minerální komplex. iPOM má dle této studie fyzikální a chemické vlastnosti podobné volné LF, tedy po rozbití agregátů plave na povrchu vysokohustotní kapaliny a její poměr C/N je poměrně vysoký, ačkoliv o něco nižší než u volné LF.

#### **5.4. Použitá metodika**

Jak bylo uvedeno již v literární rešerši, způsob separace agregátů do velikostních tříd do značené míry ovlivňuje i výsledky dalších postupů, protože například při větší destrukci agregátů se OM může částečně přesunout do jiné velikostní třídy. Při praktickém provedení metodiky pro tuto bakalářskou práci došlo k několika zásadním nedostatkům právě při tomto kroku, takže vždy jedno z opakování z každé lokality prošlo při velikostní separaci lehce pozměněnou metodikou, jak je uvedeno v části Materiály a metody. Pozměnění metodiky musí být bráno v úvahu při vyhodnocování celkových výsledků a částečně znemožňuje rovnocenné porovnání vzorků. Díky těmto nedostatkům ale mohou být zmíněny určité praktické poznámky, které pomohou při používání této metodiky na daných půdách i obecně. První z nedostatků bylo použití síta s patričnou velikostí ok, ale s nedostatečným celkovým průměrem. Navážka (100 g) byla na síto s průměrem zhruba 10 cm příliš velká a agregáty byly nerovnoměrně rozprostřeny ve více vrstvách. Po 50 ponořeních dle metodiky došlo u vzorku PL1 pouze k minimálnímu vyplavení menších agregátů, a tak muselo dojít k navýšení počtu ponoření na celkových 150. Z této chyby tedy vyplývá, že pro mokré prosívání je lépe, aby agregáty byly na síte rozprostřeny v 1 vrstvě. V konkrétním případě minerálních půd z povodí CT a PL se díky této stejné chybě ukázalo, že by byla vhodná úprava metodiky v navýšení počtu ponoření. Při 50 ponořeních bylo u vzorků CT1 a 2 a PL2 a 3 získáno ve frakci 250 - 53  $\mu\text{m}$  malé množství agregátů, takže bylo nutné je pro hustotní frakcionaci sloučit. U vzorků PL1 a CT3, kde došlo k navýšení počtu ponoření na 150, přičemž PL1 na síte o průměru zhruba 10cm a CT3 na síte o průměru zhruba 30 cm, se zvýšilo i množství agregátů získané ve velikostní frakci 250 - 53  $\mu\text{m}$ , a které bylo dostatečné na hustotní frakcionaci i celkovou analýzu C, N. Ačkoliv změna poměru ve velikostních frakcích agregátů nebyla prokázána více opakováními, zdá se, že při vyšším počtu ponoření dochází k většímu rozrušení agregátů, a tím získání dostatečného množství agregátů v jednotlivých frakcích pro následující hustotní frakcionaci. Na druhou stranu, tento fakt je třeba brát v úvahu, protože ačkoliv získané frakce částečně vypovídají o skutečném stavu agregace v půdě, rozhodně si mezi sebou nejsou rovny. Právě menší získané frakce nepředstavují pouze volné agregáty, které se v této podobě vyskytují v půdě, ale i o vodou rozplavené částice, které by zřejmě při menším působení vody zůstaly součástí větších agregátů. V kapitole Přílohy jsou uvedeny výsledky všech kroků postupu pro jednotlivá opakování u CT i PL, kde je možné porovnat vliv úpravy metodiky na výsledky rozložení hmotnosti a obsah C a N.

## **5.5. Závěr**

Hmotnostní rozložení velikostních tříd neukázalo žádné rozdíly mezi CT a PL, ale analýzou obsahu C a N se ukázalo, že obsah C i N je ve vzorcích CT výrazně vyšší než u PL a se zmenšující se velikostní třídou agregátů tento obsah klesá. U PL jsou hodnoty C a N se zmenšujícími se velikostními třídami spíše variabilní. Poměr C/N je u obou povodí víceméně podobný, s výjimkou nejmenší třídy 53 - 10  $\mu\text{m}$ , kde je hodnota C/N u PL výrazně nižší než u PL.

Lehká frakce získaná hustotní frakcionací se nelišila hmotnostním podílem mezi CT a PL nelišila, ale lišila se kvalitou, tedy poměrem C a N. U PL se zmenšující se velikostní třídou klesal poměr C/N, u CT se poměr C/N neměnil.

Rozplavené velikostní frakce HF z velikostní třídy > 2000  $\mu\text{m}$  se mezi CT a PL lišily v hmotnostním zastoupení a obsahu C i N. U CT byl nejvyšší podíl hmotnosti stabilních agregátů ve velikostní frakci > 2000  $\mu\text{m}$  a obsah C i N se zmenšující se rozplavenou velikostní frakcí HF klesal, kdežto u PL byl nejvyšší podíl hmotnosti stabilních agregátů ve velikostní frakci 2000 - 250  $\mu\text{m}$  a obsah C i N se zmenšující se velikostní frakcí rostl.

## 6. LITERATURA:

- Arnstadt T., Hoppe B., Kahl T., Kellner H., Krüger D., Bauhus J., Hofrichter M. (2016) Dynamics of fungal community composition, decomposition and resulting deadwood properties in logs of *Fagus sylvatica*, *Picea abies* and *Pinus sylvestris*, *Forest Ecology and Management* 382, 129 - 142.
- Babůrek J. (2001) Geologická stavba okolí Kašperských hor, *Aktuality šumavského výzkumu: sborník z konference, Srní 2. – 4. dubna 2001, Vimperk, ČR*, p. 11 - 14.
- Babůrek J., Pošmourný K. (2001) Významné geologické lokality n území národního parku a chráněné krajinné oblasti Šumava, *Silva Gabreta* 6, 27 - 34.
- Baldock J. A. (2002) Interaction of organic materials and microorganisms with minerals in the stabilization of soil structure. In: Huang, P. M., J.-M. Bollag, Senesi A. N. (eds), *Interactions between soil particles and microorganisms: impact on the terrestrial ecosystem*, New York, NY, USA: John Wiley & Sons, LTD, p. 85 - 131.
- Bárta J., Melichová T., Vaněk D., Pícek T., Šantrůčková H., (2010) Effect of pH and dissolved organic matter (DOM) on abundance of nirK and nirS denitrifiers in spruce forest soil. *Biogeochemistry* 101, 123–132.
- Beare M. H., Bruce R. R. (1993) A comparison of methods for measuring water-stable aggregates: implications for determining environmental effects on soil structure. In: Brussaard L., Kooistra J. M. (eds), *Soil structure/soil biota interrelationships: International Workshop on Methods of Research on Soil Structure/Soil Biota Interrelationships*, held at the International Agricultural Centre, Wageningen, The Netherlands, 24 - 28 November 1991. New York: Elsevier.
- Blankinship J. C. Fonte S. J., Six J., Schimel J. P. (2016) Plant versus microbial controls on soil aggregate stability in a seasonally dry ecosystem, *Geoderma* 272, 39 - 50.
- Brady N. C., Weil R. R. (2002) Soil organic matter, In: *The Nature and Properties of Soils*, Prentice Hall, New Jersey, USA, p. 498 -541.
- Briones M. J. I. (2014) Soil fauna and soil functions: a jigsaw puzzle, *Frontiers in Environmental Science*, 2, 7.

Brussaard L., Kooistra J. M. (1993) Editor's Introduction, In: Brussaard L., Kooistra J. M. (eds) Soil structure/soil biota interrelationships: International Workshop on Methods of Research on Soil Structure/Soil Biota Interrelationships, held at the International Agricultural Centre, Wageningen, The Netherlands, 24 - 28 November 1991. New York: Elsevier.

Cerli C., Celi L., Kalbitz K., Guggenberger G., Kaiser K. (2012) Separation of light and heavy organic matter fractions in soil – Testing for proper density cut-off and dispersion level, *Geoderma* 170, 403 - 416.

Compton J. E., Boone R. D. (2002) Soil nitrogen transformations and the role of light fraction organic matter in forest soils, *Soil Biology & Biochemistry* 34, 933 - 943.

Crow S. E., Swanston Ch. W., Lajtha K., Brooks J. R., Keirstead H. (2007) Density fractionation of forest soils: methodological questions and interpretation of incubation results and turnover time in an ecosystem context. *Biogeochemistry* 85(1), 69 - 90.

Diochon A. C., Kellman L. (2009) Physical fractionation of soil organic matter: Destabilization of deep soil carbon following harvesting of a temperate coniferous forest, *Journal of Geophysical Research*, 114, (G1).

Egli M., Hafner S., Derungs C., Ascher-Jenuß J., Camin F., Sartori G., Raab G., Bontempo L., Paolini M., Ziller L., Bardelli T., Petrillo M., Abiven S., (2016) Decomposition and stabilisation of Norway spruce needle-derived material in Alpine soils using a <sup>13</sup>C-labelling approach in the field, *Biogeochemistry* 131(3), 321 - 338.

Elliot E. T. (1986) Aggregate structure and carbon, nitrogen, and phosphorus in native and cultivated soils, *Soil Science Society of America Journal* 50, 627 - 633.

Gangloff S., Stille P., Pierret M. C., Weber T., Chabaux F., (2014) Characterization and evolution of dissolved organic matter in acidic forest soil and its impact on the mobility of major and trace elements (case of the Strengbach watershed), *Geochimica et Cosmochimica Acta* 130, 21 - 41.

Guggenberger G., Haider K. M. (2002) Effect of mineral colloids on biogeochemical cycling of C, N, P and S in soil. In: Huang, P. M., J.-M. Bollag, Senesi A. N. (eds) *Interactions between soil particles and microorganisms: impact on the terrestrial ecosystem*, New York, NY, USA: John Wiley & Sons, LTD, p. 267 - 322.

Háněl L. (2004) Response of soil nematodes inhabiting spruce forests in the Šumava Mountains to disturbance by bark beetles and clear-cutting, *Forest Ecology and Management* 202, 209 - 225.

Hassink J. (1995) Density fractions of soil macroorganic matter and microbial biomass as predictors of C and N mineralization, *Soil Biology & Biochemistry* 27, 1099 - 1108.

Hassink J., Meijboom F.W., van Noordwijk M. (1995) Density fractionation of soil macroorganic matter using silica suspensions, *Soil Biology & Biochemistry* 27, 1109 - 1111.

Hassink J. (1997) The capacity of soils to preserve organic C and N by the association with clay and silt particles, *Plant and Soil* 191, 77 - 87.

Hu Z., Xu Ch., McDowell N. G., Johnson D. J., Wang M., Luo Y., Zhou X., Huang Z. (2017) Linking microbial community composition to C loss rates during wood decomposition, *Soil Biology & Biochemistry* 104, 108 - 116.

Kaňa J., Kopáček J. (2006) Impact of soil sorption characteristics and bedrock composition on phosphorus concentrations in two Bohemian forest lakes, *Water, Air, and Soil Pollution* 173, 243 - 259.

Kaňa J., Tahovská K., Kopáček J. (2013) Response of soil chemistry to forest dieback after bark beetle infestation, *Biogeochemistry* 113, 369 - 383.

Kindlmann P., Matějka K., Doležal P. (2012) Přírodní podmínky a biodiverzita Šumavy, In: *Lesy Šumavy, lýkožrout a ochrana přírody*, Karolinum, Praha, p. 51 - 87.

Kopáček, J., Kaňa, J., Šantrůčková, H., Porcal, P., Hejzlar, J., Píček, T., Šimek, M., Veselý, J., (2002a) Physical, chemical, and biochemical characteristics of soils in watersheds of the Bohemian Forest lakes I. Plešné Lake, *Silva Gabreta* 8, 43 - 66.

Kopáček, J., Kaňa, J., Šantrůčková, H., Porcal, P., Hejzlar, J., Píček, T., Šimek, M., Veselý, J., (2002b) Physical, chemical, and biochemical characteristics of soils in watersheds of the Bohemian Forest lakes II. Čertovo and Černé Lakes, *Silva Gabreta* 8, 67 - 94.

Kurek E. (2002) Microbial mobilization of metals from soil minerals under aerobic conditions, In: Huang, P. M., J.-M. Bollag, Senesi A. N. (eds) Interactions between soil particles and microorganisms: impact on the terrestrial ecosystem, New York, NY, USA: John Wiley & Sons, LTD, p.189 - 227.

Lefroy R.D.B., Blair G.J., Craswell E.T. (1994) Foreword. In: Soil organic matter management for sustainable agriculture: a workshop held in Ubon, Thailand, 24 - 26 August 1994. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research.

Lützw M., Kögel-Knabner I., Ekschmitt K., Flessa H., Guggenberger G., Matzner E., Marschner B. (2007) SOM fractionation methods: Relevance to functional pools and to stabilization mechanisms, *Soil Biology & Biochemistry* 39, 2183 - 2207.

Matějka K. (2016) Sledování vegetace v povodí Plešného a Čertova jezera do roku 2016. Publikováno na: <http://www.infodatasys.cz/> (citace 12. 4. 2017).

Márquez C. O., Garcia V. J., Cambardella C. A., Schultz R. C., and Isenhardt T. M. (2004) Aggregate-stability distribution and soil stability, *Soil Science Society of America Journal* 68, 725 - 735.

Mouginot M., Kawamura R., Matulich K. L., Berlemont R., Allison S. D., Amend A. S., Martiny A. C. (2014) Elemental stoichiometry of Fungi and Bacteria strains from grassland leaf litter, *Soil Biology & Biochemistry* 76, 278 - 285.

Oades J. M. (1984) Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management, *Plant and Soil* 76, 319 - 337.

Oades J. M., Waters A. G. (1991) Aggregate hierarchy in soils, *Australian Journal of Soil Research* 29, 815 - 828.

Ontl, T. A., Schulte, L. A. (2012) Soil Carbon Storage. *Nature Education Knowledge* 3(10):35.

Paul E. A., Clark F. E. (1996) Soil as a habitat for organisms and their reactions. In: *Soil microbiology and biochemistry*, druhé vydání, Academic Press, p.12-32.

Rabbi S. M. F., Daniel H., Lockwood P. V., Macdonald C., Pereg L., Tighe M., Wilson B. R., Young A. I. M. (2016), Physical soil architectural traits are functionally linked to carbon decomposition and bacterial diversity, *Scientific Reports* 6, 33012.

- Six J., Elliot E. T., Paustian K., Doran J. W. (1998) Aggregation and soil organic matter accumulation in cultivated and native grassland soils, *Soil Science Society of America Journal* 62, 1367 - 1377.
- Six J., Elliot E.T., Paustian K. (2000b) Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism of C sequestration under no - tillage agriculture, *Soil Biology & Biochemistry* 32, 20099 - 2103.
- Six J., Conant R. T., Paul E. A., Paustian K. (2002) Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation, *Plant and Soil* 241, 155 -176.
- Six J., Bossuyt H., Degryze S., Deneff K. (2004) A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics, *Soil & Tillage Research* 79, 7 - 31.
- Šantrůčková P., Tahovská K., Šantrůčková H. (2015) Anthropogenic impact on nitrogen transformation in spruce forests of central European mountains – a review, *Silva Gabreta* 21(2), 117 - 147.
- Stewart C. E., Plante A. F., Paustian K., Conant R. T., Six J. (2008) Soil carbon saturation: Linking concept and measurable carbon pools, *Soil Science Society of America Journal* 72, 379 - 392.
- Šantrůčková H. (2001), *Ekologie půdy*, Biologická fakulta JU v Českých Budějovicích, Ústav půdní biologie AV ČR, České Budějovice.
- Šantrůčková H. (2014) *Základy ekologie půdy – Skriptum*, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích.
- Šantrůčková H., Tahovská K., Kopáček J. (2009) Nitrogen transformations and pools in N-saturated mountain spruce forest soils, *Biology and Fertility of Soils* 45, 395 - 404.
- Šantrůčková H., Vrba J., Píček T., Kopáček J. (2004) Soil biochemical activity and phosphorus transformations and losses from acidified forest soils, *Soil Biology & Biochemistry* 36, 1569 - 1576.
- Tahovská K., Kaňa J., Bárta J., Oulehle F., Richter A., Šantrůčková H. (2013) Microbial N mobilization is of great importance in acidified mountain spruce forest soils, *Soil Biology & Biochemistry* 59, 58 - 71.



- Tan Z., Lal R., Owens L., Izaurralde R. C. (2007) Distribution of light and heavy fractions of soil organic carbon as related to land use and tillage practice, *Soil & Tillage Research* 92, 53 - 59.
- Tisdall J. M. (1991) Fungal hyphae and structural stability of soil, *Australian Journal of Soil Research* 29, 729 - 143.
- Tisdall J. M., Oades J. M. (1979) Stabilization of soil aggregates by the root system of ryegrass, *Australian Journal of Soil Research* 17, 429 - 441.
- Tisdall J. M., Oades J. M. (1982) Organic matter and water - stable aggregates in soils, *Journal of Soil Science* 33, 141 - 163.
- Tisdall J. M. (1991) Fungal Hyphae and Structural Stability of Soil, *Australian Journal of Soil Research* 29, 729 - 743.
- Tisdall J. M. (1994) Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils, *Plant and Soil* 159, 115 - 121.
- Turner S., Meyer-Stüve S., Schippers A., Guggenberger G., Schaarschmidt F., Wild B., Richter A., Dohrmann R., Mikutta R. (2017) Microbial utilization of mineral-associated nitrogen in soils, *Soil Biology & Biochemistry* 104, 185 - 196.
- Vrba J., Kopáček J., Tahovská K., Šantrůčková H. (2015) Long - term ecological research of glacial lakes in the Bohemian Forest and their catchments, *Silva Gabreta* 21, 53 - 71.
- Whalen J. K., Bottomley P. J., Myrold D. D. (2000) Carbon and nitrogen mineralization from light- and heavy-fraction additions to soil, *Soil Biology & Biochemistry* 32, 1345 - 1352.
- Whitbread A. M. (1994) Soil organic matter: its fractionation and role in soil structure. In: Lefroy R. D. B., Blair G.J., Craswell E. T. (eds) *Soil organic matter management for sustainable agriculture: a workshop held in Ubon, Thailand, 24-26 August 1994*, Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, p. 124-130.

## 7. PŘÍLOHY

**Tab. 1:** Výsledky rozložení hmotnosti po velikostní separaci na velikostní třídy agregátů ze 100,00g navážky a součet těchto hmotností značící návratnost. Pro CT i PL jsou uvedena všechny tři opakování. \*v tabulce označuje, že tato hodnota je zatížena chybou, protože součet vychází vyšší než samotná navážka. Δ značí úpravu metodiky, která vznikla při velikostní separaci (viz Materiál a metody).

|          | CT 1 (g) | CT 2 (g) | CT 3 (g)Δ | PL 1 (g)Δ | PL 2 (g) | PL 3 (g) |
|----------|----------|----------|-----------|-----------|----------|----------|
| >2000    | 89,767   | 91,978   | 81,085    | 83,481    | 92,549   | 94,931   |
| 2000-250 | 9,076    | 6,757    | 16,941    | 11,981    | 6,476    | 6,567    |
| 250-53   | 0,383    | 0,386    | 0,643     | 1,193     | 0,338    | 0,309    |
| 53-10    | 0,560    | 0,616    | 0,645     | -         | 0,541    | 0,546    |
| plovoucí | 0,071    | 0,095    | 0,106     | 0,058     | 0,012    | 0,021    |
| Součet   | 99,856   | 99,831   | 99,419    | 96,713    | 99,916   | 102,375* |

**Tab. 2a, b:** C, N analýza velikostních tříd agregátů získaných velikostní separací. Δ značí úpravu metodiky, která vznikla při velikostní separaci (viz. Materiál a metody).

2a) CT

| Vzorek | Velikostní třída | mg C na 1g vzorku | mg N na 1g vzorku | poměr C/N |
|--------|------------------|-------------------|-------------------|-----------|
| CT 1   | >2000            | 71,869            | 3,002             | 23,944    |
| CT 2   | >2000            | 72,604            | 2,926             | 24,813    |
| CT 3 Δ | >2000            | 61,544            | 2,549             | 24,143    |
| CT 1   | 2000 – 250       | 56,796            | 2,332             | 24,357    |
| CT 2   | 2000 – 250       | 57,718            | 2,405             | 24,000    |
| CT 3 Δ | 2000 – 250       | 70,828            | 3,060             | 23,150    |
| CT 1+2 | 250-53           | 28,704            | 1,070             | 26,833    |
| CT 3 Δ | 250-53           | 45,553            | 1,995             | 22,833    |
| CT 1   | 53-10            | 27,637            | 0,752             | 36,750    |
| CT 2   | 53-10            | 27,632            | 1,017             | 27,167    |
| CT 3 Δ | 53-10            | 31,611            | 1,123             | 28,143    |

## 2b) PL

| Vzorek | Velikostní třída | mg C na 1 g vzorku | mg N na 1 g vzorku | poměr C/N |
|--------|------------------|--------------------|--------------------|-----------|
| PL 1 Δ | >2000            | 35,440             | 1,424              | 24,891    |
| PL 2   | >2000            | 33,743             | 1,474              | 22,888    |
| PL 3   | >2000            | 49,780             | 2,205              | 22,571    |
| PL 1 Δ | 2000 – 250       | 33,069             | 1,350              | 24,500    |
| PL 2   | 2000 – 250       | 35,205             | 1,586              | 22,200    |
| PT 3   | 2000 – 250       | 30,401             | 1,294              | 23,500    |
| PL 1 Δ | 250-53           | 42,873             | 2,012              | 21,308    |
| PL 2+3 | 250-53           | 39,433             | 1,730              | 22,800    |
| PL 2   | 53-10            | 37,860             | 2,140              | 17,692    |
| PL 3   | 53-10            | 35,659             | 2,057              | 17,333    |

**Tab. 3a, b:** C, N analýza lehké frakce. Δ značí úpravu metodiky, která vznikla při velikostní separaci (viz. Materiál a metody).

## 3a) CT

| Vzorek | Velikostní třída | mg C na 1 g vzorku | mg N na 1 g vzorku | poměr C/N |
|--------|------------------|--------------------|--------------------|-----------|
| CT 1   | >2000            | 263,893            | 13,195             | 20,000    |
| CT 2   | >2000            | 299,134            | 11,721             | 25,522    |
| CT 3 Δ | >2000            | 254,328            | 11,971             | 21,246    |
| CT 1   | 2000-250         | 261,638            | 12,050             | 21,712    |
| CT 2   | 2000-250         | 263,431            | 11,849             | 22,233    |
| CT 3 Δ | 2000-250         | 251,742            | 11,735             | 21,453    |
| CT 1+2 | 250-53           | 233,358            | 12,126             | 19,245    |
| CT 3 Δ | LF 250-53        | 256,889            | 13,024             | 19,725    |

## 3b) PL

| Vzorek | Velikostní třída | mg C na 1 g vzorku | mg N na 1 g vzorku | poměr C/N |
|--------|------------------|--------------------|--------------------|-----------|
| PL 1 Δ | >2000            | 314,414            | 7,655              | 41,073    |
| PL 2   | >2000            | 312,422            | 7,170              | 43,575    |
| PL 3   | >2000            | 310,848            | 8,387              | 37,065    |
| PL 1 Δ | 2000-250         | 283,823            | 11,788             | 24,077    |
| PL 2   | 2000-250         | 300,186            | 10,974             | 27,354    |
| PL 3   | 2000-250         | 275,915            | 12,195             | 22,625    |
| PL 1 Δ | 250-53           | 304,458            | 12,710             | 23,954    |
| PL 2+3 | 250-53           | 288,066            | 14,403             | 20,000    |

**Tab. 8 a, b:** C, N analýza těžké frakce. Δ značí úpravu metodiky, která vznikla při velikostní separaci (viz. Materiál a metody).

8a) CT

| Vzorek | Velikostní třída | Velikostní Frakce | mg C na 1g vzorku | mg N na 1 g vzorku | poměr C/N |
|--------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-----------|
| CT 1   | >2000            | >2000             | 57,808            | 2,440              | 23,692    |
| CT 2   | >2000            | >2000             | 58,571            | 2,310              | 25,357    |
| CT 3 Δ | >2000            | >2000             | 62,886            | 2,693              | 23,353    |
| CT1    | >2000            | 2000-250          | 49,956            | 2,111              | 23,667    |
| CT 2   | >2000            | 2000-250          | 59,362            | 2,382              | 24,923    |
| CT 3 Δ | >2000            | 2000-250          | 51,957            | 2,135              | 24,333    |
| CT 1   | >2000            | 250-53            | 41,560            | 1,641              | 25,333    |
| CT 2   | >2000            | 250-53            | 41,021            | 1,512              | 27,125    |
| CT 3 Δ | >2000            | 250-53            | 47,142            | 1,727              | 27,300    |
| CT 1   | >2000            | 53-10             | 47,697            | 1,645              | 29,000    |
| CT 2   | >2000            | 53-10             | 44,991            | 1,582              | 28,444    |
| CT 3 Δ | >2000            | 53-10             | 46,094            | 1,702              | 27,091    |
| CT 1   | 2000-250         | 2000-250          | 48,349            | 1,896              | 25,500    |
| CT 2   | 2000-250         | 2000-250          | 45,017            | 1,807              | 24,9170   |
| CT 3 Δ | 2000-250         | 2000-250          | 68,559            | 2,907              | 23,588    |
| CT 1   | 2000-250         | 250-53            | 38,765            | 1,615              | 24,000    |
| CT 2   | 2000-250         | 250-53            | 36,515            | 1,265              | 28,857    |
| CT 3 Δ | 2000-250         | 250-53            | 44,910            | 1,891              | 23,750    |
| CT 1   | 2000-250         | 53-10             | 42,229            | 1,419              | 29,750    |
| CT 2   | 2000-250         | 53-10             | 46,516            | 1,681              | 27,667    |
| CT 3 Δ | 2000-250         | 53-10             | 44,661            | 1,648              | 27,100    |
| CT 1+2 | 250-53           | 250-53            | 20,105            | 0,654              | 30,750    |
| CT 3 Δ | 250-53           | 250-53            | 28,231            | 1,220              | 23,125    |

## 8b) PL

| Vzorek | Velikostní třída | Velikostní frakce | mg C na 1g vzorku | mg N na 1 g vzorku | poměr C/N |
|--------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-----------|
| PL1 Δ  | >2000            | >2000             | 19,049            | 0,712              | 26,750    |
| PL 2   | >2000            | >2000             | 10,367            | 0,000              | X         |
| PL 3   | >2000            | >2000             | 11,606            | 0,000              | X         |
| PL1 Δ  | >2000            | 2000-250          | 29,925            | 1,280              | 23,375    |
| PL 2   | >2000            | 2000-250          | 26,740            | 1,199              | 22,286    |
| PL 3   | >2000            | 2000-250          | 25,700            | 1,231              | 20,875    |
| PL1 Δ  | >2000            | 250-53            | 36,992            | 1,729              | 21,400    |
| PL 2   | >2000            | 250-53            | 33,833            | 1,646              | 20,556    |
| PL 3   | >2000            | 250-53            | 26,388            | 1,192              | 22,143    |
| PL1 Δ  | >2000            | 53-10             | 39,203            | 2,039              | 19,231    |
| PL 2   | >2000            | 53-10             | 39,113            | 2,095              | 18,667    |
| PL 3   | >2000            | 53-10             | 36,981            | 2,845              | 13,000    |
| PL1 Δ  | 2000-250         | 2000-250          | 15,329            | 0,632              | 24,250    |
| PL 2   | 2000-250         | 2000-250          | 21,212            | 0,916              | 23,167    |
| PL 3   | 2000-250         | 2000-250          | 16,847            | 0,916              | 18,400    |
| PL1 Δ  | 2000-250         | 250-53            | 43,533            | 2,058              | 21,154    |
| PL 2   | 2000-250         | 250-53            | 35,591            | 1,728              | 20,600    |
| PL 3   | 2000-250         | 250-53            | 27,007            | 1,631              | 16,556    |
| PL1 Δ  | 2000-250         | 53-10             | 40,145            | 2,103              | 19,091    |
| PL 2   | 2000-250         | 53-10             | 33,871            | 1,792              | 18,900    |
| PL 3   | 2000-250         | 53-10             | 33,858            | 2,196              | 15,417    |
| PL 1 Δ | 250-53           | 250-53            | 16,560            | 0,712              | 23,250    |
| PL 2+3 | 250-53           | 250-53            | 21,974            | 1,202              | 18,286    |