Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

Souvislost změn v cyklech dusíku a uhlíku v lesních půdách po odumření stromového patra

Bakalářská práce

Adéla Tupá

Školitel: RNDr. Karolina Tahovská, Ph.D.

České Budějovice 2021

Tupá, A., 2021: Souvislost změn v cyklech dusíku a uhlíku v lesních půdách po odumření stromového patra. [A connection between changes in nitrogen and carbon cycles in forest soils after tree layer dieback, Bc. Thesis in Czech] – 38 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace: Bakalářská práce se zabývá změnami v cyklech dusíku a uhlíku v půdách jehličnatých lesů po odumření stromového patra vlivem disturbancí. Zaměřuje se na změny nitrifikace a dostupnosti dusičnanů v půdách v souvislosti se změnami mikrobiální biomasy a dostupnosti uhlíku zejména v lesích s bezzásahovým režimem. Práce je složena ze dvou částí, z literární rešerše a z návrhu vědeckého projektu, jehož cílem je ověřit možnou platnost hypotézy heterotrofní kompetice mikrobů v půdách.

Annotation: The bachelor's thesis deals with changes in nitrogen and carbon cycles in coniferous forest soils after tree layer dieback due to forest disturbance. The thesis focuses on changes in nitrification and availability of nitrates in soils in connection with microbial biomass and carbon availability, especially in the forests with non-intervention management. This thesis contains of two parts, a literature review, and a scientific project proposal, which aims to verify possible validity of heterotrophic-competition hypothesis of microbes in soils.

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích, dne 13. dubna 2021

Adéla Tupá

Poděkování:

Ráda bych tímto způsobem poděkovala mé školitelce RNDr. Karolině Tahovské, Ph.D. za odborné vedení této práce, cenné rady a čas, který mi během vypracovávání věnovala. Také bych jí chtěla poděkovat za velkou trpělivost. Velké díky za podporu patří také mým přátelům a rodině, a to především dědečkovi RNDr. Zdeňku Kocmoudovi, který mě vždy vyslechl a nasměroval dál.

Obsah

1. Úvod 1

2. Literární rešerše 3

2.1 Klíčové procesy přeměny uhlíku a dusíku v půdě 3

2.1.1 Půdní organická hmota a její dekompozice 3

2.1.2 Mineralizace uhlíku 5

2.1.3 Mineralizace dusíku a nitrifikace 6

2.1.4 Imobilizace dusíku 8

2.1.5 Rovnováha mezi mineralizací a imobilizací N 9

2.2 Interakce cyklů C a N v lesních půdách 11

2.2.1 Vliv disturbance lesa na přeměny C a N 13

2.2.2 Přehled studií 16

3. Laboratorní experiment k ověření hypotézy heterotrofní kompetice mikroorganismů 21

3.1 Zdůvodnění projektu, cíle, hypotézy 21

3.2 Metodika projektu 21

3.2.1 Lokalita odběrů 21

3.3.2 Odběr vzorků 22

3.3.3 Laboratorní experiment 22

3.4 Časový harmonogram projektu 24

3.5 Rozpočet projektu 25

4. Závěr 27

5. Literatura 28

1. Úvod

Narušení (disturbance) jsou nedílnou přirozenou součástí lesních ekosystémů (Svoboda et al., 2012). Pomáhají udržovat různou věkovou strukturu dřevin a zvyšují druhovou rozmanitost organismů lesa. Disturbance mohou být přírodního i antropogenního původu. Přírodní disturbance můžeme rozdělit na (i) abiotické, jako jsou vichřice, sněhové bouře, sucha a požáry, a (ii) biotické, tedy napadení porostu hmyzem (lýkožrout, bekyně mniška, apod.), patogeny či herbivory. V centrální Evropě jde hlavně o disturbance hmyzem a vichřicemi, s jejichž následky se nakládá podle zvoleného managementu pro jednotlivá území. V České republice jsou lesy rozděleny dle zákona č. 289/1995 Sb. - o lesích a o změně a doplnění některých zákonů (lesní zákon), na lesy hospodářské (74,4 %), ochranné (2 %) a zvláštního určení (23,6 %). V hospodářském lese se při disturbancích uplatňuje zásahový management. Provede se těžba poškozeného nebo napadeného porostu, nejčastěji holosečným způsobem, aby se předešlo dalšímu narušení lesa nebo šíření škůdce. Při těžbě lesa často dochází, využíváním těžké mechanizace, k narušení struktury půdy a k jejímu zhutnění, což přispívá k erozi a k následným dalším změnám v koloběhu látek a vyplavování živin, které nejsou již přijímány porostem. Jednou z hlavních živin, která se může z půd ztrácet je dusík (N). V lesech ochranných a zvláštního určení se při disturbancích volí management zásahový, či bezzásahový, podle stupně ochrany pro danou oblast. Při bezzásahovém managementu se vyloučí jakékoliv přímé lesnické zásahy a les se ponechá samovolnému vývoji, kdy je ovlivňován pouze přírodními faktory. V České republice se takové oblasti vyhlašují v národních parcích, národních přírodních rezervacích, v přírodních rezervacích a na území prvních zón chráněných krajinných oblastí. Při bezzásahovém managementu se většinou ponechá veškerá odumřelá biomasa stromů na místě k zetlení. Jde tedy o opak managementu holosečnou těžbou, kdy je biomasa stromů odvezena. V bezzásahovém území můžou prosperovat různorodé organismy vázané na tlející odumřelé dřevo. Odumřelá biomasa stromů obsahuje velké množství uhlíku (C) a živin důležitých pro regeneraci lesa. Naproti tomu, při odvezení biomasy stromů, se půda nemá šanci o živiny obohatit. Z hlediska ochrany půdy by mělo být cílem managementu minimalizovat narušení svrchní vrstvy půdy a ztráty živin z půd. Jako podklad pro kvalitní plánování vhodného managementu by tedy mohla posloužit mimo jiné i znalost vztahů přeměn prvků v půdním ekosystému po disturbanci lesa.

Souvislost ponechání odumřelé biomasy stromů po disturbanci na místě k zetlení a aktivity půdních mikroorganismů může být z hlediska dalšího vývoje lesa velmi důležitá.

Cyklus N probíhá v půdě v úzkém vztahu s cykly ostatních prvků, zejména s cyklem C. Půdní mikroorganismy získávají C rozkladem organické hmoty (heterotrofní mikroorganismy) či fixací oxidu uhličitého (CO_2; autotrofní mikroorganismy). Heterotrofní mikroorganismy jsou tedy hlavními rozkladači půdní organické hmoty, z níž kromě C a energie získávají i další živiny a mineralizují je. V případě N je organická hmota mineralizována na amoniak (NH_3 resp. NH_4^+). Autotrofní mikroorganismy využívají NH_4^+ v energetickém metabolismu při nitrifikaci za vzniku dusičnanů (NO_3^-). Anorganický N může být přijímán a využíván rostlinami a mikroorganismy, abioticky vázán v půdě, uvolňován zpět do půdního prostředí či ve formě NO_3^- vyplavován z půdy do podzemních a povrchových vod. Zvýšené vyplavování NO_3^- pak může přispět k eutrofizaci vod a zhoršení kvality zdrojů pitné vody (Huber et al., 2004). Při disturbancích lesa se obecně sníží příjem N stromy a zároveň se zvýší mineralizace N v půdě (Šantrůčková et al., 2018). Vzniklý NH_4^+ se dostává do nadbytku a následně je očekáván nárůst koncentrace NO_3^-. Studie Kaňa et al. (2015) však poukázala na možnost snížení nebo zpoždění nárůstu koncentrace NO_3^- až o několik let po zvýšení koncentrace NH_4^+ v půdě. Kaňa et al. (2015) se domnívají, že vymizení dusičnanů mohlo být způsobeno interakcí mezi heterotrofními a autotrofními mikroorganismy (hypotéza heterotrofní kompetice; Kaňa et al., 2015; Strauss & Lamberti, 2000).

Cílem literární rešerše je poskytnout základní přehled současného poznání přeměn půdního N a C v lesích po disturbanci, včetně vykácení stromového patra a porovnat oba způsoby managementu z hlediska případných ztrát N z půd. Dalším cílem je navrhnout projekt k experimentálnímu ověření možnosti platnosti hypotézy o kompetici heterotrofních a autotrofních mikroorganismů.

2. Literární rešerše

2.1 Klíčové procesy přeměny uhlíku a dusíku v půdě

Půdní mikroorganismy jsou důležitými činiteli obratu prvků v suchozemských i vodních ekosystémech. V suchozemských ekosystémech tvoří významnou část půdní organické hmoty (POH). Jejich funkční diverzita je obrovská (Šantrůčková et al., 2018) a je primárně ovlivněna fyzikálně-chemickými vlastnostmi půdy, klimatem a rostlinným pokryvem. Mikroorganismy se účastní mnoha klíčových procesů cyklů C a živin, z nichž k nejvýznamnějším patří rozklad půdní organické hmoty (dekompozice) a její mineralizace (Klimek et al., 2016).

2.1.1 Půdní organická hmota a její dekompozice

Půdní organická hmota, ačkoli obvykle představuje pouze malý zlomek půdy (průměrně 5 %), významně ovlivňuje její chemické a fyzikální vlastnosti. Obsahuje neživou složku a živou složku, což jsou organismy žijící v půdě (tzv. edafon) a kořeny rostlin. Větší část živé biomasy tvoří kořeny rostlin (9 %) a menší část edafon (7 %). Edafon je složen zejména z mikroorganismů, tedy bakterií, archaeí a hub. Zbytek tvoří půdní živočichové různých velikostí (tzv. makro-, mezo- a mikrofauna; Šantrůčková et al., 2018). Hlavní část neživé POH tvoří především rostlinný opad, látky vypouštěné kořeny (kořenové exudáty), mikrobiální produkty a zbytky půdních organismů v různém stupni rozkladu. Neživá POH je primárním zdrojem živin a energie pro půdní mikroorganismy (Killham, 1994). Jejich činností se neživá POH může přeměňovat na stabilní POH. Mikroorganismy při rozkladu neživé POH vylučují vedlejší metabolické produkty, jako jsou enzymy, lipidy, glykoproteiny a extracelulární polysacharidy. Právě tyto vedlejší produkty a samotné mikrobiální buňky interagují s půdními minerály a dochází tak k tvorbě organo-minerálních komplexů (Dwivedi et al., 2020). V takové formě se POH stává odolnější vůči chemickým a fyzickým narušením, další dekompozici a zůstává tak v půdách po desetiletí až tisíciletí (Kallenbach et al., 2016). Množství organické hmoty obvykle ubývá s hloubkou půdního profilu, což koreluje s úbytkem půdní mikrobiální biomasy a její aktivity (Lladó et al., 2017).

Centrálním procesem cyklů prvků je tedy dekompozice POH, která vrcholí mineralizací organického C a N (Spohn, 2016). Při dekompozici POH dochází nejprve k fragmentaci odumřelé organické hmoty na menší části. Půdní makro- a mezofauna rozmělňuje a tráví, pomocí střevních symbiontů, odumřelé tkáně a pletiva. Transportuje také organické zbytky půdním profilem a promíchává je s půdou, čímž je dále zpřístupňuje heterotrofním mikroorganismům, které jsou hlavními půdními rozkladači (Šimek, 2019). POH je směsicí snadno a hůře rozložitelných látek. Nejprve dochází k poměrně rychlému rozkladu a vyčerpání snadno dostupných jednoduchých látek, jako jsou cukry a aminokyseliny, a teprve poté jsou s pomocí enzymů rozkládány látky hůře dostupné a složitější (Šantrůčková et al., 2018). Rychlost dekompozice lze předvídat dle poměru lignin : N v rozkládaném materiálu. Lignin patří mezi těžko rozložitelné vysokomolekulární polyfenolické látky. Nachází se v buněčné stěně vyšších rostlin a vytváří zde bariéru kolem molekul celulózy a hemicelulózy a vyztužuje tak buněčnou stěnu rostlin (Andlar et al., 2018). Materiály bohaté na lignin a chudé na N podléhají pomalému rozkladu, zatímco materiály bohaté na N a chudé na lignin se rozkládají mnohem rychleji (Aber & Melillo, 1982). Těžko dostupné komplexní organické sloučeniny (např. škrob, celulóza, hemicelulóza, lignin, chitin apod.) podléhají nejprve procesu depolymerizace, což je přeměna na jednodušší organické látky, např. cukry, aminokyseliny, aminocukry, nukleové kyseliny aj. (depolymerizace POH; Schimel & Bennett, 2003). Ty jsou posléze mineralizovány na látky anorganické (viz kapitola 2.1.2 a 2.1.3), které mohou být uvolněny zpět do půdního prostředí, nebo asimilovány rostlinami a mikroorganismy. Štěpení polymerů probíhá za pomoci extracelulárních enzymů produkovaných půdními mikroorganismy. Enzymy mohou být oxidativního charakteru (fenoloxidáza a peroxidáza), štěpící fenolické sloučeniny a lignin v aerobních podmínkách (Sinsabaugh, 2010), či hydrolytického charakteru (celulázy, proteázy, fosfatázy), zajišťující rozklad celulóz, hemicelulóz a dalších rostlinných polymerů pomocí molekul vody (Šimek, 2019). V nenarušených půdách, zejména v lesích, připadá významná část produkce enzymů mykorhizním houbám žijícím v symbióze s kořeny rostlin (Egamberdieva, 2020). Dalšími producenty enzymů jsou bakterie a také saprotrofní houby, které se řadí mezi hlavní dekompozitory dřeva (Šantrůčková et al., 2018).

2.1.2 Mineralizace uhlíku

Půdní organická hmota je největším aktivním terestrickým zásobníkem organického C. Nachází se v ní celkově ~1500 Pg C (Scharlemann et al., 2014). Kromě organických látek se C v půdě vyskytuje také v anorganické formě, a to zejména v uhličitanech (ca 700 Pg C; Šimek, 2019). Uhlík se do půdy dostává především z rostlin, jejich opadem a kořenovými exudáty. Rostliny získávají C fixací CO_2 (fotosyntéza), kdy využívají sluneční záření k syntéze organických látek bohatých na energii (cukry). Část takto vzniklých organických látek využijí samotné rostliny ve svém metabolismu, část je spotřebována mikroorganismy během procesů dekompozice odumřelé rostlinné hmoty a exudátů a jejich následné mineralizace. Poslední část se respirací (mikrobiální a kořenů) vrací ve formě CO_2 zpět do atmosféry. Případně může být CO_2 opět využit přímo v půdě autotrofními mikroorganismy.

Organický C v podobě rostlinných (a živočišných) zbytků mikroorganismy z části zabudují do své biomasy a produktů metabolismu (jednoduché organické kyseliny, enzymy aj.) a z části zmineralizují (Šantrůčková et al., 2018). Určité množství C může být během rozkladu také uvolněno ve formě rozpuštěného organického C (DOC; dissolved organic carbon) do půdy. Rozdělení organického C mezi využití pro růst mikroorganismů a mikrobiální respiraci (mineralizace C) je zachyceno parametrem CUE (carbon use efficiency). Je-li hodnota CUE vysoká, značí to efektivní využití C pro růst mikrobiální biomasy a také na možnou stabilizaci C v půdě (Manzoni et al., 2012). Při mineralizaci C (1) dochází činností heterotrofních mikroorganismů k oxidaci snadno dostupných organických látek (např. sacharidů) až na anorganický CO_2 (Kandeler, 2007).

(1) $$CH_2O + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O + \text{energie}$$

Rychlost mineralizace C závisí na vlastnostech půdy (např.: pH, struktura) a na mnoha faktorech prostředí, například na obsahu vody v půdě, teplotě, C:N poměru půdy a dostupnosti dalších živin. Ve studii Spohn (2015) bylo pozorováno, že čím vyšší je C:N poměr v půdě, tím vyšší je rychlost mikrobiální respirace. Jedním z vysvětlení je, že mikroorganismy využijí vysoké množství snadno dostupného C jako zdroj energie k dekompozici těžko rozložitelné organické hmoty, čímž si zajistí přísun a přístup k hůře dostupnému a jejich metabolismu limitujícímu N (tzv. microbial N mininig; Craine et al., 2007). Dále může jít o tzv. „overflow“ respiraci. To znamená, že mikroorganismy

se přebytku C zbavují, takzvaně prodýchají jeho nadbytečné množství bez zisku energie (Spohn, 2015).

2.1.3 Mineralizace dusíku a nitrifikace

Mineralizace N zahrnuje oxidaci rozpuštěného organického N mikroorganismy na NH_3 (amonifikace), jeho zabudování do buněčných aminokyselin a uvolňování přebytku NH_4^+ do půdního roztoku. Mineralizace poté pokračuje oxidací NH_4^+ (nitrifikace) postupně přes dusitan (nitrit, NO_2^-, nitritace) až na dusičnan (nitrát, NO_3^-; nitratace). Obě minerální formy, NH_4^+ a NO_3^-, mohou být zároveň přijímány zpět rostlinami a mikroorganismy a zabudovány do jejich biomasy, nebo využity v energetickém metabolismu mikroorganismů (imobilizace minerálního N; Šimek, 2019).

Nitrifikace je sekvence oxidačních procesů prováděných primárně autotrofními mikroorganismy. Nitrifikací získávají energii potřebnou mimo jiné k fixaci CO_2, který umí využít jako zdroj C. Energetický výtěžek reakcí je ale nízký, proto roste biomasa autotrofních nitrifikátorů velmi pomalu. V aerobních podmínkách se při procesu nitrifikace oxiduje NH_3 či NH_4^+ až na dusičnany. Prvním krokem nitrifikace je nitritace, tedy oxidace NH_3 na NO_2^-. Nitritace probíhá postupně přes oxidaci NH_3 (2) na hydroxylamin (NH_2OH). Tato reakce je katalyzována membránově vázaným enzymem amoniak mono-oxygenáza (AMO; Wendeborn, 2020).

(2) $$NH_3 + O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NH_2OH + H_2O$$

Enzym AMO katalyzuje také oxidaci methanu, oxidu uhelnatého, či některých aromatických a alifatických uhlovodíků (Bock & Wagner, 2013).

Dále probíhá oxidace NH_2OH (3) na NO_2^-, kterou katalyzuje enzym hydroxylamin oxidoreduktáza (HAO).

(3) $$NH_2OH + H_2O \rightarrow NO_2^- + 5H^+ + 4e^-$$

Nitritaci provádí amoniak oxidující bakterie (AOB) a amoniak oxidující Archaea (AOA; Peng & Zhu, 2006). Mezi AOB patří dva rody ze třídy *Proteobacteria*, rod *Nitrosomonas* a rod *Nitrosospira* (Isobe et al., 2011). Mezi hojně rozšířené AOA patří např. zástupci kmene *Crenarchaeota* (You et al., 2009). Druhým krokem nitrifikace je nitratace (4), tedy

oxidace NO_2^- na NO_3^-, která probíhá pomocí enzymu nitrit oxidoreduktáza (NOR; Robertson & Groffman, 2007).

(4) $$NO_2^- + H_2O \rightarrow NO_3^- + 2H^+ + 2e^-$$

Nitrataci provádí pouze nitrit oxidující bakterie (NOB; Peng & Zhu, 2006). Mezi NOB patří čtyři rody, a to: *Nitrobacter, Nitrospira, Nitrospina a Nitrococcus* (Isobe et al., 2011). Mnoho NOB umí také v anaerobních podmínkách provést obrácenou reakci, čili umí redukovat NO_3^- na NO_2^- (Abeliovich, 2006). Alternativou k autotrofní nitrifikaci může být nitrifikace heterotrofní. Provádí ji heterotrofní bakterie (např. *Thiosphaera pantotropha* a *Pseudomonas putida*) a houby (*e.g. Aspergillus*), které umí při oxidaci využít jak organické, tak anorganické formy N. Oproti autotrofním mikroorganismům z těchto procesů však nemají žádný zisk energie. Jako zdroj energie tedy využívají organický C a aerobní respiraci. Někteří heterotrofní nitrifikátoři umí za účelem zisku energie využít část nebo veškerý vzniklý NO_3^- při aerobní denitrifikaci, čímž zredukují NO_3^- až na plynný dusík (N_2) nebo oxid dusný (N_2O), viz denitrifikace v kapitole 2.1.4. Heterotrofní nitrifikace je pomalejší než nitrifikace autotrofní (Guo et al., 2013) a probíhá pravděpodobně v kyselejších půdách např. jehličnatých lesů (Li et al., 2018).

Existuje také bakterie, která je schopná provést kompletní nitrifikaci (complete ammonia oxidizer; proces „commamox“). Patří do rodu *Nitrospira* a má k dispozici enzymy oxidující jak NH_3 (amoniak mono-oxygenáza a hydroxylamin oxidoreduktáza), tak i NO_2^- (nitrit oxidoreduktáza; Daims et al., 2015). Rod *Nitrospira* je v přírodě velmi rozšířený, nachází se jak v ekosystémech terestrických, tak v ekosystémech vodních (Koch et al., 2019).

V případě, že mikroorganismy rostou mixotrofně (některé *Nitrosomonas, Nitrosovibrio*), tedy, že umí využívat organický i anorganický C, může po nárůstu obsahu organického C dojít ke zvýšené tvorbě NH_2OH. Za těchto podmínek jsou inhibovány nitrit oxidující bakterie a nemusí tak docházet k tvorbě NO_3^-. Hydroxylamin, jako silné redukční činidlo, v takovém případě redukuje NO_2^- až plynné formy N (NO a N_2O; Stüven et al., 1992).

Oxidace NH_3 může probíhat i v anaerobních podmínkách při procesu zvaném „anammox“ (anaerobic oxidation of amonnium). Amoniak je v takovém procesu oxidován až na N_2 a v průběhu vznikají dva meziprodukty – N_2O a hydrazin. Provádí ho autotrofní

bakterie, které využívají NO_2^- jako akceptor elektronů. Část NO_2^- je také oxidována pomocí enzymu nitrit oxidoreduktáza za účelem doplnění elektronů odčerpávaných na fixaci CO_2 (Kuenen, 2008).

Proces mineralizace N v půdách lze vymezit dvěma způsoby. Hrubou (gross) N amonifikaci (resp. nitrifikaci) chápeme jako přímou přeměnu organického N na NH_4^+ (respektive jako přeměnu NH_4^+ na NO_3^-) a lze ji měřit pomocí izotopových metod (^{15}N; Bruun et al., 2006). Oproti tomu čistá (net) amonifikace (resp. nitrifikace) představuje rozdíl mezi gross amonifikací (resp. nitrifikace) a mikrobiální imobilizací NH_4^+ (resp. NO_3^-; Hart et al., 1994) a můžeme ji jednoduše stanovit jako rozdíl koncentrace NH_4^+ (resp. NO_3^-) v čase. Stanovení gross rychlostí obou procesů je poměrně složitější. Principem stanovení je přidání těžkého izotopu (^{15}N-NH_4^+ nebo ^{15}N-NO_3^-) do půdního prostředí/vzorku a sledování rychlosti jeho ředění v čase. V půdě se tak najednou nachází směs lehkého a těžkého izotopu (^{14}N a ^{15}N-NH_4^+/^{15}N-NO_3^-). Po nějakém čase začne klesat zastoupení těžkého izotopu, protože začnou přirozenou amonifikací (resp. nitrifikací) přibývat ionty s lehkým izotopem (^{14}N-NH_4^+ resp.^{14}N-NO_3^-). Na začátku se tedy změří celkový zásobník NH_4^+ (resp. NO_3^-) a poměr jeho izotopů N a za určitý čas se znovu změří koncentrace N i poměr $^{14}N/^{15}N$ (Di et al., 2000). Net a gross mineralizace spolu často nekorelují, podstatná část mineralizovaného N může být totiž imobilizována mikroorganismy, a z toho důvodu bývá net mineralizace N mnohem nižší než gross mineralizace N (Prescott, 2005).

2.1.4 Imobilizace dusíku

Biologická imobilizace N je nejčastěji chápána jako opak mineralizace N, tedy jako přeměna anorganického N do organických forem (Killham, 1994). Celkově jde ale o příjem (asimilace) všech různých minerálních i organických forem N do mikrobiální a rostlinné biomasy (Persson et al., 2000), nebo o mikrobiální imobilizaci N za účelem zisku energie. Mikroorganismy umí přijmout do buňky jak jednoduché N-organické látky, tak anorganický N ve formě NH_4^+ a NO_3^-. Je pro ně však výhodnější využívat NH_4^+, jelikož NO_3^- musí nejprve zredukovat na NH_4^+, což je energeticky mnohem náročnější než příjem NH_4^+ (Bengtson & Bengtsson, 2005). Případně využívají hojně aminokyseliny, ze kterých asimilují C i N zároveň (Tahovská et al., 2013). Rostliny přijímají hlavně

anorganický N ve formách NH_4^+ nebo NO_3^-. V ekosystémech limitovaných N však umí rostliny využít i aminokyseliny a i další jednoduché organické formy N (Schimel & Bennett, 2003).

Dusičnany mohou být imobilizovány mikroorganismy i pouze z důvodu zisku energie a nejsou tak přímo využity k růstu mikrobiální biomasy. Jedná se o procesy redukce dusičnanů: denitrifikace na plynné formy N a disimilativní redukce dusičnanů na amoniak. Denitrifikace i disimilativní redukce probíhají v anaerobních podmínkách, kdy se akceptorem elektronů místo kyslíku (O_2) stává NO_3^- (tzv. nitrátová respirace; Robertson & Groffman, 2007). Při denitrifikaci (5) se dusičnany redukují až na plynné formy N, jako jsou oxid dusnatý (NO), N_2O a N_2 (Robertson & Groffman, 2007).

(5) $$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$$

$$5CH_2O + 4NO_3^- + 4H^+ \rightarrow 2N_2 + 5CO_2 + H_2O$$

Při disimilativní redukci (6) probíhá přeměna NO_3^- přes NO_2^-, pomoci enzymů nitrit/nitrát reduktáza, až na NH_4^+, který je následně uvolněn do půdy (Neubauer & Götz, 1996).

(6) $$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NH_2OH \rightarrow NH_4^+$$

$$2CH_2O + NO_3^- + 2H^+ \rightarrow NH_4^+ + 2\ CO_2 + H_2O$$

2.1.5 Rovnováha mezi mineralizací a imobilizací N

Rovnováha mezi mineralizací N a jeho imobilizací tvoří dynamiku minerálního N v půdě (Recous et al., 1990). Oba procesy totiž probíhají současně a množství minerálního N obsaženého v půdě závisí na rozdílu rychlostí obou procesů. Je-li v půdě spíše nedostatek N, rovnováha je posunuta směrem k imobilizaci. To znamená, že převažuje příjem a akumulace N rostlinami a mikroorganismy, mineralizace je tedy minimální (Killham, 1994). Je-li v půdě nadbytek N, převládají procesy mineralizace, všechen N není využit a může být případně ve formě NO_3^- vyplavován z půdy do podzemních vod (Šantrůčková et al., 2018). Procesy dekompozice POH i mineralizace, a zejména pak také rovnováha mezi mineralizací a imobilizací N, jsou ovlivněny a limitovány vlastnostmi prostředí. Mezi tyto důležité charakteristiky patří (i) fyzikálně-chemické parametry půdy, jako jsou teplota, vlhkost, aerace a půdní reakce, dále (ii) typ rostlinného společenstva,

které ovlivňuje vstup látek kořeny a opadem do půdy a jejich chemické složení (Prescott, 2010), a (iii) živá část půdní organické hmoty, tedy společenstvo mikroorganismů a jejich interakce s neživou půdní organickou hmotou (substrátem; Spohn, 2016).

Jak bylo uvedeno výše, dekompozici POH řídí heterotrofní mikroorganismy, které rozkladem organických látek – substrátu – získávají energii (katabolické reakce – energetický metabolismus) a C spolu s živinami pro tvorbu své biomasy (anabolismus – asimilační a syntetické reakce; Killham, 1994). Stechiometrický vztah mezi substrátem a tím, kolik C a živin potřebuje půdní mikrobiální biomasa pro svůj metabolismus, určuje, kolik C a živin bude mineralizováno. Mikroorganismy totiž ve své biomase udržují stálý poměr uhlíku ku dusíku a fosforu (C:N:P; homeostáza), nezávisle na poměru prvků obsažených v půdním substrátu. V globálním měřítku terestrických ekosystémů se C:N:P poměr mikrobiální biomasy pohybuje mezi 42:6:1 (Xu et al., 2013) a 60:7:1 (Spohn, 2016), zatímco C:N:P půdy se pohybuje od 186:13:1 (Cleveland & Liptzin, 2007) do 287:17:1 (Xu et al., 2013). Proměnlivost poměru C:N:P v půdách je určena zeměpisnou šířkou, typem klimatu, podloží a vegetace, zatímco variabilita v C:N:P mikrobiální biomasy je primárně ovlivněna vegetačním krytem. Tyto faktory ovlivňují vstupy živin a C do půdy, čímž pozměňují složení substrátu a celého půdního mikrobiálního společenstva (Cleveland & Liptzin, 2007). C:N poměr půdy je ovlivňován především vstupem rostlinného opadu. Vliv na něj však můžou mít i např. zvýšené depozice N, přídavek hnojiv do půd a celkově další antropogenní či přírodní narušení ekosystému. Dle Osler & Sommerkorn (2007) je imobilizace N a jeho mineralizace v rovnováze, když je hodnota obecného C:N poměru 25. Je-li C:N poměr nižší než tato prahová hodnota, značí to v půdě nadbytek N, který podléhá mineralizaci. V takovém případě převládá mineralizace N nad jeho imobilizací a N může být vyplavován z půdy. Je-li C:N poměr vyšší než 25, značí to nedostatek dusíku pro mikroorganismy (limitaci N), a většina N je využita mikrobiální biomasou. V takovém případě převládá imobilizace N nad jeho mineralizací.

Přestože je poměr prvků v mikrobiální biomase homeostatický, mikroorganismy jsou schopny růst z organického substrátu s vyšším obsahem C a živin, než samy potřebují, protože regulují, kolik C a živin přijmou a kolik vyloučí. Existuje několik způsobů této regulace. Jedním z nich je, velmi zjednodušeně řečeno, rozdělení množství prvků využitých mikrobiální biomasou na růst, na tvorbu enzymů a mineralizaci (Spohn, 2016). Záleží také na poměru prvkového složení těl mikroorganismů. Houby mají vyšší C:N

poměr (5-15) než bakterie (3-6), čili využitelnost prvků se může lišit mezi jednotlivými půdními organismy. Houby mají nižší požadavky na N, a proto dominují v půdách, kde je N limitující živinou. Zatímco biomasa bakterií má vyšší nároky na N a v půdách chudých na N biomasa bakterií spíše klesá a je méně aktivní (Strickland & Rousk, 2010). V podmínkách dlouhodobé limitace N v půdě, může dojít až k úplnému odumření některé populace mikroorganismů a následnému nahrazení jinými organismy, které mají jiné prvkové složení těl a/anebo jinou využitelnost prvků v substrátu (Šantrůčková et al., 2018). Dalšími způsoby, jak se může mikrobiální společenstvo přizpůsobit různorodému složení organického substrátu, je přizpůsobení produkce extracelulárních enzymů. Tím mikroorganismy regulují, kolik energie, C a N investují do dalšího rozkladu substrátu (Mooshammer et al., 2014). Mikroorganismy tedy mohou měnit svoji enzymatickou aktivitu tak, aby získávaly a udržovaly dostatek živin, které jsou pro ně právě limitující (Zhou et al., 2017). Umí také například využít zvýšené množství snadno dostupného C za účelem získání nedostupného N, viz kapitola 2.1.2. (Craine et al., 2007). Takto se zvládají přizpůsobit podmínkám, kdy je v půdě hodně dostupného C a málo N (Wild et al., 2019).

2.2 Interakce cyklů C a N v lesních půdách

V půdách temperátních a boreálních lesů je uloženo poměrně významné množství C, přibližně 410 Pg. Pro srovnání, globálně se v půdách nachází kolem 3000 Pg C, zatímco v atmosféře se obsah C odhaduje na 650–750 Pg ve formě oxidu uhličitého (shrnuto v Šimek, 2019). Hlavním zdrojem C v lesních půdách je rostlinný opad a kořenové exudáty (Leppälammi-Kujansuu et al., 2014). Největším dynamickým zásobníkem N je atmosféra, ve které se N vyskytuje převážně v inertní formě N_2. Z atmosféry se N dostává do půdy zejména pomocí biologické fixace N_2 a atmosférickými depozicemi (Šimek, 2019). Částečně se N může do půdy uvolňovat i zvětráváním hornin, které jsou jeho obrovským zásobníkem, zde však záleží na jeho obsahu. V horninách bohatých na N se nachází 500–600 mg N kg^{-1} a v horninách chudších méně než 100 mg N kg^{-1}. Odhad rychlosti uvolňování N do půdy z litosféry je 19–31 Tg N za rok, zatímco vstup biologickou fixací N_2 je globálně odhadován na 60–195 Tg N_2 za rok (Houlton et al., 2018). V lesních ekosystémech řídí biologickou fixaci N_2 heterotrofní bakterie (resp. diazotrofové,

aktinobakterie a cyanobakterie), žijící volně či v symbióze s rostlinami, které jim poskytují zdroje energie na rozštěpení silné trojné vazby v molekule N_2 (Binkley & Högberg, 2016). Volně žijící bakterie získávají dostatek energie hlavně z organických sloučenin vylučovaných ve formě kořenových exudátů (Spohn, 2016). Dalším vstupem N do lesních půd jsou atmosférické depozice N. Högberg et al. (2017) uvádí, že se v severských boreálních lesích biologickou fixací a atmosférickými depozicemi za rok dostane do půdy přibližně stejné množství N, průměrně 1–3 kg ha^{-1} rok^{-1} z každého zdroje, tedy jak z biologické fixace, tak i depozicí.

V nenarušených a antropogenními depozicemi silně neovlivněných lesních ekosystémech bývá běžně nedostatek N (Binkley & Högberg, 2016). Většina vzniklého anorganického N je asimilována půdními mikroorganismy a rostlinami. V půdě tedy převažují procesy imobilizace N nad jeho mineralizací a koncentrace NO_3^- tak bývají nízké a nedochází k jeho významnějšímu vyplavování (Huber et al., 2004; Stark & Hart, 1997). V takových lesních ekosystémech jsou velmi důležitými rozkladači rostlinného opadu mykorhizní houby. Mykorhizní houby umí produkovat řadu hydrolytických i oxidativních enzymů, které jim umožňují rozštěpit komplexní organické látky (Courty et al., 2010). V temperátních a boreálních jehličnatých lesích jde hlavně o ektomykorhizní symbiózu stopkovýtrusných hub (Basidiomycota) s dřevinami (Smith & Read, 2008). Ektomykorhizní houby tvoří až jednu třetinu celkové mikrobiální biomasy v jehličnatých lesích (Högberg & Högberg, 2002). Poskytují rostlinám lepší přístup k živinám a vodě. Pomocí svého mycelia umí získat hůře dostupný N a fosfor (P), který se v půdě nachází i ve větších vzdálenostech od rostliny (Schimel & Bennett, 2003). Houby tedy rostlinám dodávají N a P a rostliny jim poskytují dostatek C (Smith & Read, 2008). V lesních půdách se vyskytují i saprotrofní houby, které pomocí extracelulárních enzymů umí degradovat mrtvé dřevo. Způsobují tzv. bílou a hnědou hnilobu. Houby bílé hniloby rozkládají kromě celulózní a hemicelulózní složky dřeva, také lignin pomocí lignolytických enzymů. Jejich vlivem dřevo měkne, začne se drobit a získá nažloutlou či bílou barvou. Houby hnědé hniloby rozkládají pouze celulózu a hemicelulózu, lignin umí pouze modifikovat, čímž se rozkládající se dřevo mění na nahnědlé drobné kostky (Rytioja et al., 2014).

Při dlouhodobém vstupu N do lesního ekosystému, například depozicemi, může teoreticky dojít až k nasycení (saturaci) půdy N, kdy mikroorganismy ani rostliny víc N již nevyužijí a dochází tak k akumulaci NH_4^+ a/nebo k vyplavování NO_3^- z půdy

a k eutrofizaci vod (Aber et al., 1998). Mimo to mohou mít depozice N okyselující účinek a způsobují acidifikaci půdy, při které dochází k ochuzení svrchní vrstvy půdy o bazické kationty (Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^+ a Na^+). Při acidifikaci půdy se také zvyšuje rozpustnost iontového hliníku (Al^{3+}) a dochází k jeho vyplavování (Huber et al., 2004). Hliník je kationtem slabého hydroxidu ($Al(OH)_3$), který štěpením vody na ionty H^+ a OH^- přispívá ke snižování pH půdy a zároveň je Al_3^+ vysoce toxický pro rostliny a organismy (Šantrůčková et al., 2018). Půdy lesů, zejména s převahou jehličnatých dřevin, se okyselují i přirozeně. Je to způsobeno tím, že podloží jehličnatých lesů je tvořené hlavně z kyselých hornin (např: žula, křemenec), které pomalu zvětrávají. Jehličnany umí díky specifickému listovému povrchu dobře vychytávat suché kyselé depozice (Hruška & Kopáček, 2005), které zvyšují kyselost půdy. Při nedokonalém rozkladu jehličí, které obsahuje hodně fenolických látek a málo N, dochází k tvorbě organických kyselin. V takových lesích proto vzniká nejméně kvalitní forma nadložního humusu typu mor (Šantrůčková et al., 2018).

Dle Mulder et al. (2001) může v kyselých lesních půdách docházet ke snížení mobility organické hmoty, což se projeví snížením koncentrací DOC v půdě. Zároveň také dojde ke zpomalení dekompozice organické hmoty. V půdě se mohou vytvářet vazby Al_3^+ s DOC, čímž se snižuje jeho rozpustnost (Evans et al., 2012) a organický C se tak stává odolným vůči rozkladu a sníží se tak jeho celková dostupnost pro mikroorganismy. Může zde proto docházet až k limitaci mikroorganismů C (shrnuto v Kopáček et al., 2013). V půdách s vysokou dostupností N může také nastat redukce biomasy mykorhizních hub. Jednak proto, že rostlina přestane být závislá na N dodávaném mykorhizními houbami a sníží tak vylučování energeticky bohatých látek kořenovými exudáty směrem k houbě (Högberg et al., 2007), ale také kvůli redukci kořenového vlášení, které je habitatem právě mykorhizních hub (Nadelhoffer, 2000).

2.2.1 Vliv disturbance lesa na přeměny C a N

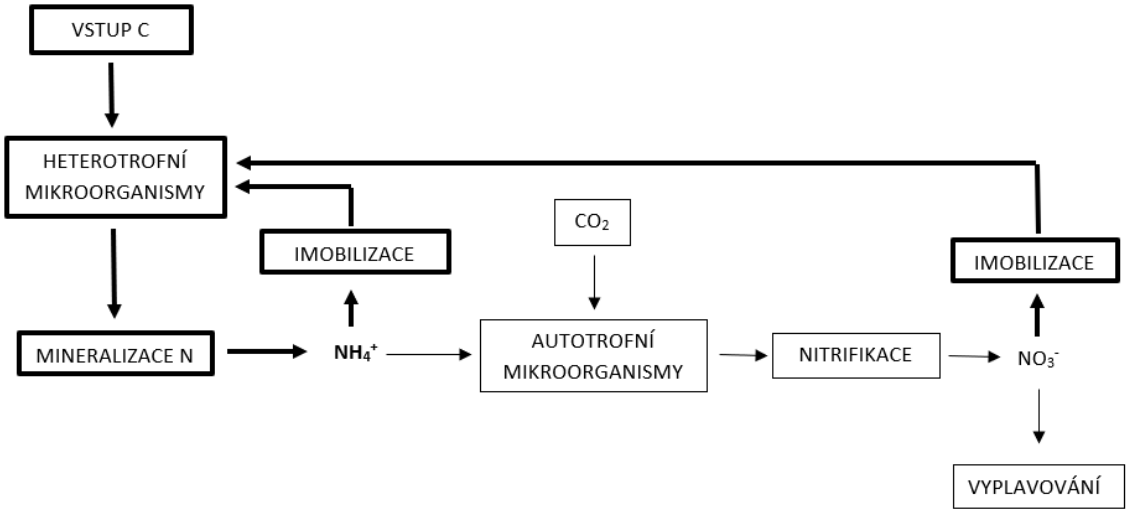
Nejčastějšími disturbancemi ve střední Evropě bývají vichřice a kalamity lýkožroutem smrkovým (*Ips typographus*). Lýkožrout se typicky vyskytuje v temperátních a boreálních jehličnatých lesech (Griffin et al., 2011). Jeho výskyt a vývoj je stimulován suchem, teplem a dostatečným množstvím mrtvé biomasy stromů, popadané v důsledku větrných bouří a jiných disturbancí (Huber et al., 2004; Schelhaas et al., 2003). Podle typu území,

na kterém se disturbovaný les nachází, se volí zásahový či bezzásahový management. Po odumření lesa se v bezzásahové oblasti ponechají napadené stromy na místě. Zůstávají stát až několik let, dokud se postupně nepolámou a nevyvrátí (Huber, 2005). Odumřelé stromy přestávají asimilovat N, transpirovat a vylučovat kořenové exudáty (Brouillard et al., 2017). Jejich kořeny jsou, spolu s mycelii hub, velmi rychle rozkládány a využívány jako zdroj živin a zejména snadno dostupného C. Dalším zdrojem živin a C v napadeném lese je opad z odumřelých stromů. Během prvních dvou let opadá ze stromů, spolu s drobnými větvemi, většina jehličí. Smrkové jehličí z napadených stromů obsahuje hodně N a dostupných organických sloučenin, které mikroorganismy mohou využít (Kopáček et al., 2015). Po polámání a vyvrácení stromů dojde po čase také k určitému zvýšení živin a C v půdě. Není to však již tak intenzivní změna v půdní chemii, jako při počátečním opadu jehlic, protože se dřevní biomasa stromů rozkládá postupně a pomaleji.

V prvních fázích po odumření lesa se tedy zvýší dostupnost živin a především C. Mikroorganismy začnou velmi rychle rozkládat organický substrát a zvýší se tak i procesy mineralizace. Dochází k velkému nárůstu koncentrace NH_4^+. Následně se předpokládá nástup aktivity autotrofních nitrifikátorů a zvýšení procesu nitrifikace a tím koncentrace NO_3^- v půdách a ve vodách. Ve studii Kaňa et al. (2015) však došlo k posunu zvýšení koncentrace NO_3^- o několik let. Heterotrofní mikroorganismy mohly využít dostupný C k rychlému růstu své biomasy, čímž mohly obsadit prostředí pomalu rostoucím autotrofním mikroorganismům (Obr. 1). V půdě tak mohla být většina vytvořeného NH_4^+ rychle spotřebovávána obrovskou heterotrofní biomasou. Bylo vypozorováno, že jakmile došlo k poklesu dostupného C v půdě a tím ke snížení či stabilizaci heterotrofní biomasy, zvýšila se net nitrifikace a koncentrace volného NO_3^- v půdě a ve vodách (Kaňa et al., 2015; Kopáček et al., 2017). Také Hart et al. (1994) pozorovali, tentokrát v laboratorních podmínkách, nárůst koncentrace NO_3^- až ve chvíli, kdy začalo ubývat množství dostupného C a poklesla mikrobiální biomasa. Pozorovaná dynamika mikrobiální biomasy a koncentrací C a N v půdách po odumření lesa poukazuje na možnost platnosti hypotézy o kompetici mezi heterotrofními a autotrofními mikroorganismy publikované pro vodní ekosystémy a sedimenty (Strauss & Lamberti, 2002).

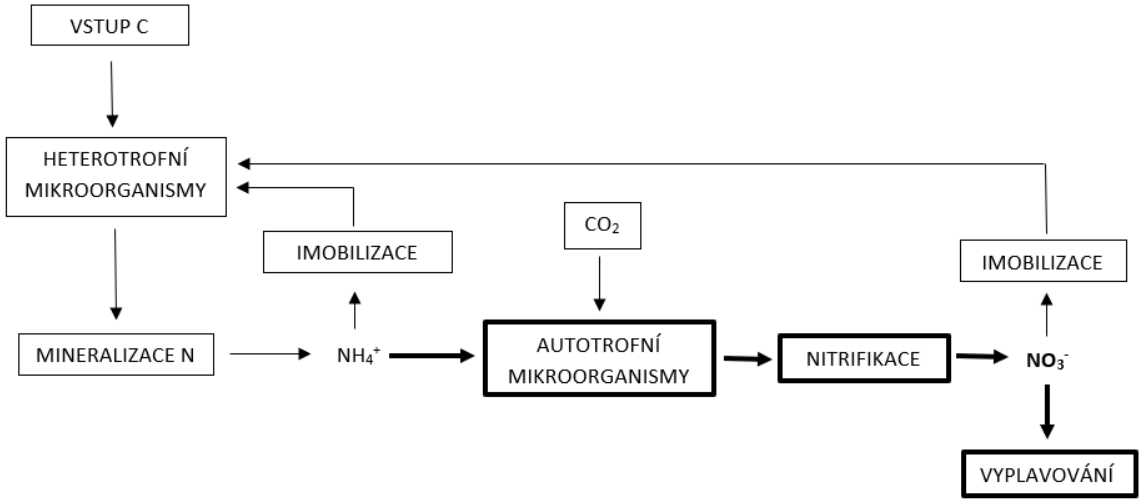
Koncepční schéma (Obr. 1) ukazuje, že pokud do půdy vstupuje dostatek lehce rozložitelného C, heterotrofní biomasa mikroorganismů významně naroste a může inhibovat růst autotrofních mikroorganismů. Jednak obsazením půdního prostoru svou

biomasou, ale také vysokou rychlostí imobilizace NH_4^+. V případě, že nějaký NO_3^- vzniká nitrifikací velmi malé biomasy autotrofních mikroorganismů, je rychle spotřebován heterotrofními mikroorganismy. Jak gross, tak i net nitrifikace tak mohou být velmi nízké. Net nitrifikace by mohla být dokonce až záporná (v případě, kdy by převažovala spotřeba NO_3^- nad jeho produkcí).



Obr. 1: Zjednodušené schéma mineralizace N při zvýšeném vstupu uhlíku do půdy. Tlustá šipka značí převažující procesy a zásobníky. Tenká naopak ukazuje méně významné procesy a zásobníky.

Při snížení dostupnosti organického C (Obr. 2), ke kterému může dojít po odeznění vrcholu vstupu snadno rozložitelného opadu do půdy po odumření porostu, nebo teoreticky i při vykácení napadeného porostu a odvezení biomasy stromů, poklesne heterotrofní biomasa mikroorganismů zpět na původní stabilní úroveň (případně k žádnému významnému nárůstu biomasy nedochází). Imobilizace minerálního N je nízká a NH_4^+ může být využit i autotrofními mikroorganismy a nitrifikován. Gross nitrifikace probíhá, vzniklý NO_3^- není všechen spotřebován a může být vyplavován z půdy do vod (vysoká net nitrifikace).



Obr. 2: Zjednodušené schéma mineralizace N při vyčerpání zvýšeného vstupu uhlíku do půdy. Tlustá šipka značí převažující procesy a zásobníky. Tenká naopak ukazuje méně významné procesy a zásobníky.

2.2.2 Přehled studií

Cílem literární rešerše bylo také provést průzkum studií zabývajících se přeměnami C a N v půdách v lesích po disturbanci hmyzem či po těžbě lesa. Zaměřila jsem se na temperátní jehličnaté lesy. Vyhledala jsem celkem 18 studií, které se zabývaly alespoň některou mnou vybranou charakteristikou půdy, ideálně více parametry. Rozdělila jsem je do dvou tabulek podle typu narušení lesa. V první tabulce se nachází 15 studií z lesů disturbovaných hmyzem a v druhé tabulce jsou 4 studie z lesů po holosečné těžbě.

Tabulka 1: Vybrané charakteristiky půd v lesích disturbovaných hmyzem. V tabulce jsou uvedeny vybrané charakteristiky půd po napadení a odumření porostů, porovnávané s půdou z lesa zdravého: C:N, poměr uhlíku ku dusíku ve svrchní vrstvě půdy (0–20 cm); Ntot, celkový procentuální obsah N v půdě; net mineralizace; NH_4^+, extrahovatelné amonné ionty; net nitrifikace; NO_3^-, extrahovatelné dusičnany; mikrobiální biomasa; DOC, ve vodě rozpustný organický C. Symboly v tabulce znázorňují zvýšení ↑, resp. snížení ↓ dané charakteristiky v půdách lesů po disturbanci v porovnání s půdami nenarušeného lesa, nebo charakteristiku bez průkazné reakce na disturbanci =.

Citace	Vegetace	Měření	C:N půdy	Ntot (%)	Net mineralizace	NH_4^+	Net nitrifikace	NO_3^-	Mikrobiální biomasa	DOC
Custer et al. (2020)	smrk Engelmannův (*Picea engelmannii*)	napadený les	↑	↑	-	-	-	-	-	-
		les po odumření	↑	↑	-	-	-	-	-	-
Ferrenberg et al. (2014)	borovice ohebná (*Pinus flexilis*)	2 roky po odumření	-	↑	=	↑	-	↓	=	=
		4 roky po odumření	-	=	=	=	-	↓	=	=
Griffin et al. (2011)	borovice pokroucená (Pinus contorta)	2 roky po odumření	=	=	↑	↑	↑	=	-	-
		4 roky po odumření	=	=		↑		=	-	-
Griffin & Turner (2012)	douglaska tisolistá (*Pseudotsuga menziesii*)	4-5 let od napadení	↓	=	↑	↑	↑	↑	-	-
Grüning et al. (2017)	douglaska tisolistá (*Douglas-fir*)	rok od napadení	=	↑	-	-	-	=	-	-
Huber et al. (2004)	smrk ztepilý (*Picea abies*)	2 roky po odumření	-	-	-	-	-	↑	-	↑
		5 let po odumření	-	-	-	-	-	↑	-	↑
		7 let po odumření	-	-	-	-	-	↑	-	↑
Kaňa et al. (2013)	smrk ztepilý (*Picea abies*)	1-3. rok po odumření (průměr)	↓	-	-	↑	-	=	-	↑
Kosunen et al. (2020)	smrk ztepilý (*Picea abies*)	7 let od napadení	-	-	-	-	-	-	↓	=
Lybrand et al. (2018)	borovice těžká (*Pinus ponderosa*)	ca 6 let od napadení	-	-	-	↓	-	-	-	↑
Mikkelson et al. (2017)	borovice pokroucená (*Pinus contorta*)	napadený les	↓	-	-	↑	-	-	-	-
Morehouse et al. (2008)	borovice těžká (*Pinus ponderosa*)	napadený les	=	-	=	↑	↑	=	-	-
Norton et al. (2015)	borovice pokroucená (*Pinus contorta*)	rok od napadení	=	=	-	↑	-	=	-	-
		2 roky od napadení	↓	=	-	↑	-	=	-	-
Tahovská et al. (2010)	smrk ztepilý (*Picea abies*)	1-3. rok po odumření (průměr)	↓	-	↑	↑	↑	↑	↓	-
Trahan et al. (2015)	borovice pokroucená (*Pinus contorta*)	4-5 let po odumření	↓	-	-	↑	-	-	↑	↑
Vázquez-Ochoa et al. (2020)	borovice Montezunova (*Pinus montezumae*)	napadený les	=	=	-	=	-	=	-	-

Ve studiích zabývajících se disturbancí lesa hmyzem (Tabulka 1) se měření prováděla buď v roce napadení lesa, několik let od napadení (až 7) nebo po viditelném odumření lesa. Všechny charakteristiky byly porovnávány s kontrolním, nenapadeným porostem. Napadení lesa je zde chápáno jako doba, kdy bylo zjištěno napadení hmyzem. Odumření lesa je spojeno s významným opadáním jehlic, popřípadě dalších částí stromů.

Většina studií (10 z 11) uvádí, že se v disturbovaném lese ve svrchní vrstvě půdy (~ do 20 cm), C:N poměr buď snížil (6 studií), nebo nedošlo k jeho významné změně (4 studie). Pouze Custer et al. (2020) uvádí průkazné zvýšení C:N poměru, což bylo spojeno s nárůstem koncentrací C v půdě. Ve studii Kaňa et al. (2013) se uvádí, že se C:N poměr v půdě snížil kvůli zvýšeným koncentracím N v půdě. Trahan et al. (2015) pozorovali korelaci mezi poklesem C:N poměru a zvýšeným množstvím extrahovatelného NH_4^+ v půdě.

Net mineralizace byla po disturbanci buď vyšší v porovnání s kontrolním porostem (3 z 5 sledovaných) nebo se nezměnila (2 z 5). Griffin et al. (2011) a Griffin & Turner (2012) pozorovali dvojnásobné zvýšení net mineralizace ve svrchní vrstvě půdy disturbovaného lesa oproti lesu kontrolnímu. Množství extrahovatelného NH_4^+ se ve většině (9 z 11) studií sledujících tento parametr také zvýšilo, a to v rozsahu 1–6 krát oproti kontrolnímu lesu. Tahovská et al. (2010), Ferrenberg et al. (2014) a Griffin et al. (2011) poukázali na skutečnost, že množství NH_4^+ bylo zvýšené pouze první dva roky po odumření lesa a poté se jeho dostupnost začala opět snižovat. Ke snížení koncentrace NH_4^+ po disturbanci došlo v porovnání s kontrolou pouze v jednom případě z jedenácti studií sledujících tento parametr.

Net nitrifikace se ve všech studiích, kde byla měřena (4 studie), zvýšila. Ve studii Griffin et al. (2011) se rychlost net nitrifikace, měřená v půdách přímo v terénu, zvýšila trojnásobně oproti půdám lesa kontrolního. Množství extrahovatelných NO_3^- se ve většině studií nijak významně nezměnilo (6 z 10), nebo se v několika málo případech zvýšilo (3 z 10). V jednom z případů dokonce došlo k poklesu dusičnanů vzhledem ke kontrolním půdám. Nezměněné množství NO_3^- bylo pozorováno většinou v případě čerstvě napadeného lesa, nebo do dvou let od napadení lesa. Výjimkou byla pouze studie Griffin et al. (2011), kde se množství NO_3^- nezměnilo ani 4. rok po odumření lesa. Ve studii Ferrenberg et al. (2014) bylo pozorováno snížené množství NO_3^-. Dusičnany zde byly

měřené v terénu po 4 roky od napadení lesa. Časové rozmezí, kdy bylo ve studiích naměřené zvýšené množství NO_3^- je velmi variabilní. U studie Huber at al. (2004) se množství extrahovatelných NO_3^- začalo zvyšovat od druhého roku po napadení lesa, ale maximální hodnoty dosáhlo pátý rok od napadení. Dusičnany zde zůstaly zvýšené až do sedmého roku. Ve studii Norton et al. (2015) pozorovali zvýšení množství extrahovatelných NO_3^- až třetí rok od napadení lesa a maximální hodnoty dosáhlo až pátý rok od napadení lesa. U Kaňa et al. (2013) došlo pouze k statisticky nevýznamnému zvýšení množství NO_3^- a to 2–4 roky po odumření lesa.

Změnami mikrobiální biomasy v půdách disturbovaných lesů se zabývaly pouze 4 studie z patnácti nalezených. Výsledky získaných dat o mikrobiální biomase C a N jsou velmi variabilní a vzhledem k malému počtu sledování z nich nelze vyvodit žádné zobecnění.

Množství ve vodě rozpustného organického C (DOC) se ve všech studiích zvýšilo nebo nedošlo k žádné významné změně. Ve studiích, kde se kromě DOC zabývali i množstvím extrahovatelných NO_3^-, jsem nenašla žádnou shodu.

Z nalezených studií lze poměrně těžko udělat obecnější závěry, jelikož většina studií sledovala jen některý z potřebných parametrů. V ideálním případě by bylo žádoucí, aby se studie zabývaly alespoň dusičnany a mikrobiální biomasou zároveň, což se mi podařilo najít pouze ve dvou případech. V jednom z případů sice došlo k nárůstu NO_3^- po disturbanci, ale biomasa se nezměnila, ve druhém došlo ke snížení mikrobiální biomasy za současného nárůstu NO_3^-. Ze shrnutí studií lze dále pozorovat určitou shodu v tom, že se koncentrace NO_3^- nemusí zvyšovat ihned po odumření lesa. Hypotézu heterotrofní kompetice však není možné na základě provedeného šetření podpořit. V několika studiích nedošlo k žádné významné změně v množství dusičnanů, a to i přes to, že bylo pozorováno zvýšení alespoň jednoho z parametrů tj. net mineralizace, net nitrifikace a koncentrace NH_4^+. K takové prodlevě by mohlo docházet kvůli zvýšení imobilizace N heterotrofními mikroorganismy. Může jít také o situaci, kdy se v laboratorních podmínkách zvýší net nitrifikace, ale v terénu naměřené koncentrace NO_3^- v půdách jsou buď zvýšené jen neprůkazně nebo vůbec. To by mohlo poukazovat i na jiný způsob imobilizace NO_3^-, než jen pro růst mikrobiální biomasy, například na denitrifikaci nebo i ztrátu N vyplavováním. Jestliže se koncentrace dusičnanů nezmění

ani po více jak dvou letech od disturbance, mohlo by to být způsobeno také zvýšením imobilizace regenerující vegetací. Dle Strauss & Lamberti (2002) je dalším vysvětlením inhibice procesu nitrifikace alelopatií. Některými látkami, které jsou součástí DOC, může dojít k inaktivaci enzymu amoniak-monooxidáza a tím k omezení činnosti nitrifikátorů. V lesích disturbovaných hmyzem by tedy v prvních letech po odumření porostu mohlo docházet k určité formě inhibice nitrifikace uhlíkatými látkami produkovanými při rozkladu opadu.

Tabulka 2: Přehled studií zabývajících se přeměnami C a N v půdách v lesích po vymýcení porostu. V tabulce jsou uvedeny vybrané charakteristiky půd po těžbě lesa, porovnávané s půdou z lesa nevytěženého. C:N, poměr uhlíku ku dusíku ve svrchní vrstvě půdy (0–5 cm); net mineralizace; NH_4^+, extrahovatelné amonné ionty; net nitrifikace; NO_3^-, extrahovatelné dusičnany; mikrobiální biomasa. Symboly v tabulce znázorňují zvýšení ↑, resp. snížení ↓ dané charakteristiky v půdách lesů po těžbě v porovnání s půdami nenarušeného lesa, nebo charakteristiku bez reakce na těžbu =.

Citace	Vegetace	Měření	C:N	Net mineralizace	NH_4^+	Net nitrifikace	NO_3^-	Mikrobiální biomasa
Giardina & Rhoades (2001)	borovice pokroucená (*Pinus contorta*)	5 let po těžbě	-	↑	↑	=	=	-
Hazlett et al. (2007)	smrk černý (*Picea mariana*), smrk sivý (*Picea glauca*), jedle balzámová (*Abies balsamea*), bříza papírovitá (*Betula papyrifera*)	2 roky po těžbě	↓	-	↓	-	↑	↓
		12 let po těžbě	↓	-	↓	-	↑	↑
Prescott (1997)	jedlovec západní (*Tsuga heterophylla*), jedle líbezná (*Abies amabilis*)		-	-	=	-	↑	-
Titus et al. (2006)	jedle líbezná (*Abies amabilis*), jedlovec západní (*Tsuga heterophylla*)	4 roky po těžbě	-	↑	-	-	↑	-

Studie uvádějící změny v přeměnách C a N v půdách po vykácení lesa byly dohledány pouze čtyři (Tabulka 2). Výsledky jsou opět velmi variabilní a vzhledem k malému počtu nalezených studií nelze dělat žádné významné závěry. Lze pouze konstatovat, že po těžbě došlo většinou ke zvýšení net mineralizace a NO_3^- v půdách, což však bylo spojeno jak s poklesem, tak i nárůstem půdní mikrobiální biomasy.

3. Laboratorní experiment k ověření hypotézy heterotrofní kompetice mikroorganismů

3.1 Zdůvodnění projektu, cíle, hypotézy

Znalost mechanismů a souvislostí v přeměnách C a N po disturbanci lesa, z hlediska půdních mikroorganismů, může být důležitá při plánování vhodného lesního managementu. Výsledky literárního šetření jsou poměrně variabilní, a proto navrhuji tento projekt. Projekt je zaměřen na vztahy mezi heterotrofními a autotrofními mikroorganismy v různých půdních podmínkách, které je buď podporují nebo naopak, a na souvislost dostupnosti organického C a NO_3^-. Tyto vztahy budou ověřeny v laboratorním experimentu simulujícím superoptimální nebo superinhibující podmínky, buď pro autotrofní mikroorganismy, nebo pro heterotrofní mikroorganismy, nebo pro obě funkční skupiny mikroorganismů současně. Experiment ověřuje pouze mechanismus fungování těchto skupin a tudíž zanedbává, v přírodních podmínkách významné, zapojení mykorhizních hub.

Hypotéza je následující:

V podmínkách omezené dostupnosti snadno rozložitelného organického C bude aktivita autotrofních mikroorganismů zvýšena, ale pouze v případě, že anorganický uhlík (CO_2) nebude limitující. Indukované omezení dostupnosti CO_2 zpomalí rychlost autotrofní nitrifikace.

3.2 Metodika projektu

3.2.1 Lokalita odběrů

Pro odběry vzorků byly vybrány dvě výzkumné lokality na území Národního parku (NP) Šumava. NP Šumava se nachází na hranicích České republiky, Německa (Bavorsko) a Rakouska. První lokalitou je povodí Plešného jezera, které bylo v minulosti disturbováno lýkožroutem a bylo zde napadeno více jak 90 % stromů. Nachází se v nadmořské výšce 1090 m n. m. a typický lesní porost zde tvoří smrk ztepilý (*Picea abies*) s příměsí buku lesního (*Fagus sylvatica*) a náletové dřeviny jeřábu ptačího (*Sorbus aucuparia*; Svoboda

et al., 2006). Druhou lokalitou je povodí Čertova jezera, na kterém bylo disturbováno a polámáno méně jak 10 % stromů (v letech 2000-2011; Kopáček et al., 2020). Nachází se v nadmořské výšce 1028 m n. m. a typický lesní porost zde tvoří smrk ztepilý (*Picea abies*) s příměsí buku lesního (*Fagus sylvatica*; Svoboda et al., 2006). Obě výzkumné lokality byly v minulosti vystaveny zvýšeným atmosférickým depozicím síry (S) a N, což způsobilo acidifikaci a nasycení půdy N. Od 90. let 20. století se obě výzkumné plochy pomalu zotavují (Kopáček & Veselý, 2005).

3.3.2 Odběr vzorků

Odběry vzorků v terénu proběhnou na počátku projektu, na konci jara po odtátí sněhu, jednou v povodí Plešného jezera, podruhé v povodí Čertova jezera. Na každé výzkumné lokalitě se vykope 8 půdních sond, ze kterých se odebere materiál svrchního minerálního horizontu (A horizont). Finální směsný vzorek pro analýzy pro každé povodí vznikne smícháním půdy z těchto osmi sond. Z každého povodí bude potřeba odebrat celkem 4 kg půdy (přibližná váha potřebná po přesetí 3,2 kg). Odebrané vzorky budou zbaveny větších kamínků a kořenů přesetím přes 5 mm síto a budou uchovány v chladícím boxu při teplotě 4 °C maximálně po dobu jednoho týdne před počátkem experimentu.

3.3.3 Laboratorní experiment

Navrhovaný experiment otestuje vztah mezi heterotrofními a autotrofními mikroorganismy. Vytvoří se podmínky (i) stimulující heterotrofní metabolismus mikrobů přídavkem organického substrátu a (ii) podmínky stimulující autotrofní metabolismus mikrobů zvýšením koncentrace anorganického C v podobě CO_2 v půdním vzorku. Zároveň budou vytvořeny experimentální varianty vzorků, kde nebude přidáván ani organický, ani anorganický C, čímž se v dlouhodobém důsledku postupně vytvoří podmínky limitace heterotrofů (vyčerpání dostupného C) i autotrofů. Vyvolání limitace autotrofů bude podpořeno vychytáváním CO_2 z atmosféry vzorku do roztoku hydroxidu sodného (NaOH). Bude se jednat o dlouhodobý inkubační laboratorní experiment, při kterém doba inkubace dosáhne minimálně 150 dnů. Dle průběžných výsledků bude doba inkubace podle potřeby prodloužena až na 8 měsíců. Probíhat bude v kontrolovaných laboratorních podmínkách

při 15 ºC. Na inkubaci vzorků budou využity skleněné, úzkohrdlé, 250 ml lahvičky s gumovou zátkou a šroubovacím víčkem.

Přeseté vzorky budou nejprve zanalyzovány pro zjištění základních parametrů půd: celkový obsah C a N v půdě (NC elementární analýza), NH_4^+ a NO_3^- ve vodném extraktu z půd (automatický spektrofotometr FIA), celkový C a N ve vodném extraktu z půd (vysokoteplotní analyzér LiquiTOC), mikrobiální biomasa C a N (fumigačně-extrakční metoda s koncovkou na LiquiTOC). Rychlost mikrobiální respirace bude stanovena po týdenní inkubaci vzorku při 15 °C, kdy se produkce CO_2 změří na plynovém chromatografu.

Během laboratorního experimentu proběhne celkem 8 analýz vzorků, postupně v různých časech (předběžně 7, 14, 30, 60, 100, 120, 150, + jedna dodatečná analýza v případě prodloužení experimentu nebo znehodnocení vzorků při manipulaci). Časy odběrů mohou být přizpůsobeny průběžně získaným výsledkům. Půdní vzorky budou naváženy do lahviček (25 g) ve čtyřech opakováních pro každé povodí a experimentální manipulaci. Manipulace bude spočívat v ošetření vzorků přídavkem organického C (DOC), nebo CO_2 (DIC; dissolved inorganic carbon) a zároveň ve výměně atmosféry ve vzorku za 1% CO_2, nebo syntetický vzduch bez uhlovodíků. Takto budou vytvořeny všechny kombinace ošetření:

- nízký DOC/nízký DIC = limitace heterotrofů i autotrofů (syntetický vzduch, NaOH)
- nízký DOC/vysoký DIC = maximální podpora autotrofů (1% CO_2)
- vysoký DOC/vysoký DIC = podpora heterotrofů i autotrofů (přídavek DOC, 1% CO_2)
- vysoký DOC/nízký DIC = maximální podpora heterotrofů (přídavek DOC, syntetický vzduch, NaOH)

Lahvičky se vzorky budou vzduchotěsně uzavřeny pomocí gumové zátky a víčka a každý týden bude měněna atmosféra pomocí jehel bez otevření vzorku. Ve vzorcích s nízkým DIC bude navíc umístěn kalíšek s roztokem NaOH k minimalizování CO_2, jehož koncentrace bude kontrolována průběžně pomocí plynového chromatografu. Jednou za tři týdny se do půdy přidá organický C (směs organických kyselin v koncentraci poloviny původní naměřené C mikrobiální biomasy) a po týdnu od přídavku bude změřena produkce

CO_2 na plynovém chromatografu. Vzorky bez přídavku DOC budou pouze ovlhčeny destilovanou vodou.

V průběhu experimentu proběhnou několikrát stejné analýzy vzorků jako před zahájením experimentu (koncentrace NH_4^+, NO_3^- a celkový C a N ve vodním výluhu půd, mikrobiální biomasa C a N), které budou doplněny o extrakci a kvantifikaci (real-time PCR) mikrobiální DNA (určení funkčního potenciálu půd a složení mikrobiálního společenstva hub a bakterií). V polovině experimentu a na jeho konci bude ze vzorků extrahována a kvantifikována i RNA (aktivní část společenstva) a budou stanoveny hrubé (gross) rychlosti amonifikace a nitrifikace ^{15}N izotopovou zřeďovací metodou. Vyextrahovaná DNA resp. RNA bude odeslána k sekvenování. Ze získaných sekvenačních dat bude provedena taxonomická a funkční analýza složení mikrobiálního společenstva, kdy se zaměříme zejména na proces nitrifikace, ale i na skupiny a druhy spojené s imobilizací NO_3^-.

3.4 Časový harmonogram projektu

Tabulka 3: Přibližný časový harmonogram projektu.

aktivita	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
příprava projektu																								
odběry vzorků																								
experiment																								
vyhodnocení dat																								
sepsání publikace																								

Projekt je plánován na 2 kalendářní roky. Od ledna do května bude probíhat příprava projektu, při které se v dubnu uskuteční dva výjezdy do terénu a zajistí se všechen potřebný materiál. Po odběru vzorků se zjistí základní charakteristiky půd a následně se připraví vzorky na dlouhodobý inkubační experiment. Experiment bude probíhat včetně postupné analýzy půdních vzorků a vyhodnocení dat celkem 18 měsíců, od začátku května do začátku listopadu 2. roku. Na vyhodnocování dat se začne pracovat od ledna 2. roku. Následně bude sepsána odborná publikace.

3.5 Rozpočet projektu

Při realizaci rozpočtu jsem vycházela ze skutečnosti, že by základní laboratorní zázemí bylo poskytnuto uchazečem Přírodovědeckou fakultou Jihočeské Univerzity v Českých Budějovicích a v projektu tedy není zahrnuta žádná investiční položka. Veškeré přístrojové vybavení, i základní laboratorní vybavení (např. váhy, pipety apod.), které je k realizaci projektu potřeba, by tak bylo dostupné již před zahájením projektu.

Tabulka 4: Finanční náklady na realizaci projektu.

věcné náklady		**1. rok**	**2. rok**	**Celkem**
drobný dlouhodobý hmotný majetek		29 400 Kč	0 Kč	29 400 Kč
materiál		102 500 Kč	37 800 Kč	140 300 Kč
režijní náklady		79 300 Kč	186 800 Kč	266 100 Kč
služby		53 200 Kč	462 000 Kč	515 200 Kč
cestovní náklady		2 300 Kč	0 Kč	2 300 Kč
celkem		266 700 Kč	686 600 Kč	953 300 Kč
mzdové náklady	**úvazek**	**1. rok**	**2. rok**	**Celkem**
vedoucí	20%	84 000 Kč	84 000 Kč	168 000 Kč
bioinformatik	40%	0 Kč	168 000 Kč	168 000 Kč
laboratorní technik VŠ	20%	72 000 Kč	72 000 Kč	144 000 Kč
povinné zákonné odvody		53 100 Kč	110 200 Kč	163 300 Kč
celkem		209 100 Kč	434 200 Kč	643 300 Kč
náklady celkem		475 800 Kč	1 120 800 Kč	1 596 600 Kč

Celkové finanční náklady na celou dobu trvání projektu činí 1 596 600 Kč. Nejvýznamnější položkou projektu jsou služby, které zahrnují pronájem bomb pro plyny a jejich dopravu a náklady za zpracování vzorků sekvenací DNA, a RNA (houby a bakterie) od externího dodavatele. Druhou významnou položkou je materiál, který zahrnuje především nákup pomůcek na odběry vzorků, laboratorní spotřební materiál a pořízení chemikálií (např.: 1% CO_2 a syntetický vzduch bez uhlovodíků, chemikálie pro extrakci půd a analýzy mikrobní biomasy, filtry ze skleněných vláken, materiál pro molekulárně-biologické analýzy, např. kity pro extrakci DNA a RNA, ^{15}N značené chemikálie, materiál pro stanovení hrubé mineralizace a nitrifikace apod.). Jedinou položkou dlouhodobého drobného majetku jsou redukční ventily, které budou pořízeny pro

účely projektu. Cestovní náklady zahrnují finance pro dva terénní výjezdy na Šumavu. Po celou dobu projektu bude vyplácena mzda dvěma pracovníkům s 20% úvazkem (vedoucí projektu a laboratorní technik VŠ). Vedoucí bude organizovat chod celého projektu a experimentu, provede všechny biochemické analýzy, značení ^{15}N a měření na plynovém chromatografu, vyhodnotí všechna data a sepíše publikace. Laboratorní technik se bude podílet na udržování experimentu, zejména na profukování vzorků plyny, na stanovení koncentrací půdního C a N a extrakci DNA/RNA. V druhém roce projektu bude zaměstnán navíc bioinformatik s 40% úvazkem, který vyhodnotí data získaná ze sekvenací.

4. Závěr

Cílem této práce bylo vyhledání a studium dostupné literatury zabývající se přeměnami a souvislostmi dostupnosti dusíku a uhlíku v půdách v lesích po odumření stromového patra vlivem disturbance hmyzem. Chtěla jsem zejména zjistit, zda po odumření stromového patra dochází obecně ke zvýšení dostupnosti dusičnanů v půdách a pokud ne, pak za jakých podmínek z hlediska reakce půdního uhlíku a mikrobiální biomasy na disturbanci. Druhým cílem pak bylo posouzení možnosti platnosti hypotézy heterotrofní kompetice mikroorganismů v půdách takto narušených lesů. V druhé části práce jsem navrhla laboratorní experiment k ověření mechanismu hypotézy, který bude spočívat v experimentální manipulaci s půdami horských smrkových lesů.

Při průzkumu studií o lesích disturbovaných hmyzem jsem vypozorovala pouze shodu v tom, že se koncentrace NO_3^- v půdě nemusí zvyšovat ihned po odumření lesa a nemusí tak docházet k následnému vyplavování NO_3^- z půdy, avšak hypotézu heterotrofní kompetice není možné na základně tohoto průzkumu podpořit, ale ani vyvrátit. Také byly posuzovány stejné charakteristiky půd v lesích po holosečném kácení, ale vzhledem k omezenému počtu nalezených studií a variabilitě výsledků byly studie jen obtížně porovnatelné.

Uskutečnění navrhovaného projektu by mohlo přispět k objasnění vztahů mezi heterotrofními a autotrofními mikroorganismy, zejména jde o ověření reakce autotrofních nitrifikátorů (a produkce nebo spotřeby NO_3^-) na změny biomasy heterotrofní části mikrobiálního společenstva. Tím bych mohla pomoci prozkoumat vztah dynamiky organického C a NO_3^- v půdě. Výsledná data by mohla být využita jako podklad k plánování takového managementu lesa, při kterém by nemuselo docházet k významnějšímu vyplavování dusíku (a dalších živin) z půdy.

5. Literatura

Abeliovich, A. (2006). The Nitrite-Oxidizing Bacteria Introduction. *The Prokaryotes*, 861–872. https://doi.org/10.1007/0-387-30745-1_41

Aber, J. D., & Melillo, J. M. (1982). Nitrogen immobilization in decaying hardwood leaf litter as a function of initial nitrogen and lignin content. *Canadian Journal of Botany*, *60*(11), 2263–2269. https://doi.org/10.1139/b82-277

Aber, J., McDowell, W., Nadelhoffer, K., Magill, A., Berntson, G., Kamakea, M., McNulty, S., Currie, W., Rustad, L., & Fernandez, I. (1998). Nitrogen Saturation in Temperate Forest Ecosystems. *BioScience*, *48*(11), 921–934. https://doi.org/10.2307/1313296

Andlar, M., Rezić, T., Marđetko, N., Kracher, D., Ludwig, R., & Šantek, B. (2018). Lignocellulose degradation: An overview of fungi and fungal enzymes involved in lignocellulose degradation. *Engineering in Life Sciences*, *18*(11), 768–778. https://doi.org/10.1002/elsc.201800039

Bengtson, P., & Bengtsson, G. (2005). Bacterial immobilization and remineralization of N at different growth rates and N concentrations. *FEMS Microbiology Ecology*, *54*(1), 13–19. https://doi.org/10.1016/j.femsec.2005.02.006

Binkley, D., & Högberg, P. (2016). Forest Ecology and Management Tamm Review : Revisiting the influence of nitrogen deposition on Swedish forests. *Forest Ecology and Management*, *368*, 222–239. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.02.035

Bock, E., & Wagner, M. (2013). Oxidation of Inorganic Nitrogen Compounds as an Energy Source. In: Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) The Prokaryotes. In *The Prokaryotes: Prokaryotic Physiology and Biochemistry* (pp. 1–662). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30141-4

Brouillard, B. M., Mikkelson, K. M., Bokman, C. M., Berryman, E. M., & Sharp, J. O. (2017). Extent of localized tree mortality influences soil biogeochemical response in a beetle-infested coniferous forest. *Soil Biology and Biochemistry*, *114*, 309–318. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.06.016

Bruun, S., Luxhøi, J., Magid, J., De Neergaard, A., & Jensen, L. S. (2006). A nitrogen

mineralization model based on relationships for gross mineralization and immobilization. *Soil Biology and Biochemistry*, *38*(9), 2712–2721. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.04.023

Cleveland, C. C., & Liptzin, D. (2007). C:N:P stoichiometry in soil: Is there a "Redfield ratio" for the microbial biomass? *Biogeochemistry*, *85*(3), 235–252. https://doi.org/10.1007/s10533-007-9132-0

Courty, P. E., Buée, M., Diedhiou, A. G., Frey-Klett, P., Le Tacon, F., Rineau, F., Turpault, M. P., Uroz, S., & Garbaye, J. (2010). The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes: New perspectives and emerging concepts. *Soil Biology and Biochemistry*, *42*(5), 679–698. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.12.006

Craine, J. M., Morrow, C., & Fierer, N. (2007). Microbial nitrogen limitation increases decomposition. *Ecology*, *88*(8), 2105–2113. https://doi.org/10.1890/06-1847.1

Custer, G. F., van Diepen, L. T. A., & Stump, W. L. (2020). Structural and Functional Dynamics of Soil Microbes following Spruce Beetle Infestation. *Environmental Microbiology*, *November 2019*, 1–19. https://doi.org/https://doi.org/10.1128/AEM.01984-19

Daims, H., Lebedeva, E. V., Pjevac, P., Han, P., Herbold, C., Albertsen, M., Jehmlich, N., Palatinszky, M., Vierheilig, J., Bulaev, A., Kirkegaard, R. H., Von Bergen, M., Rattei, T., Bendinger, B., Nielsen, P. H., & Wagner, M. (2015). Complete nitrification by Nitrospira bacteria. *Nature*, *528*(7583), 504–509. https://doi.org/10.1038/nature16461

Di, H. J., Cameron, K. C., & McLaren, R. G. (2000). Isotopic dilution methods to determine the gross transformation rates of nitrogen, phosphorus, and sulfur in soil: A review of the theory, methodologies, and limitations. *Australian Journal of Soil Research*, *38*(1), 213–230. https://doi.org/10.1071/SR99005

Dwivedi, D., Tang, J., Bouskill, N., Georgiou, K., Chacon, S. S., & Riley, W. J. (2020). Abiotic and biotic controls on soil organo mineral interactions: Developing model structures to analyze why soil organic matter persists. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, *85*(1), 329–348. https://doi.org/10.2138/rmg.2019.85.11

Egamberdieva, D. (2020). Role of Microorganisms in Nitrogen Cycling in Soils. *Soil*

Nutrients, January 2011.

Evans, C. D., Jones, T. G., Burden, A., Ostle, N., Zieliński, P., Cooper, M. D. A., Peacock, M., Clark, J. M., Oulehle, F., Cooper, D., & Freeman, C. (2012). Acidity controls on dissolved organic carbon mobility in organic soils. *Global Change Biology*, *18*(11), 3317–3331. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2012.02794.x

Ferrenberg, S., Knelman, J. E., Jones, J. M., Beals, S. C., Bowman, W. D., & Nemergut, D. R. (2014). Soil bacterial community structure remains stable over a 5-year chronosequence of insect-induced tree mortality. *Frontiers in Microbiology*, *5*(DEC), 1–11. https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00681

Giardina, C. P., & Rhoades, C. C. (2001). Clear cutting and burning affect N supply P fractions and seedling growth in soils from a Wyoming. *Forest Ecology and Management*, *140*, 19–28. DOI: 10.1016/S0378-1127(00)00272-3

Griffin, J. M., & Turner, M. G. (2012). Changes to the N cycle following bark beetle outbreaks in two contrasting conifer forest types. *Oecologia*, *170*(2), 551–565. https://doi.org/10.1007/s00442-012-2323-y

Griffin, J. M., Turner, M. G., & Simard, M. (2011). Nitrogen cycling following mountain pine beetle disturbance in lodgepole pine forests of Greater Yellowstone. *Forest Ecology and Management*, *261*(6), 1077–1089. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.12.031

Guo, J., Peng, Y., Wang, S., Ma, B., Ge, S., Wang, Z., Huang, H., Zhang, J., & Zhang, L. (2013). Pathways and organisms involved in ammonia oxidation and nitrous oxide emission. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *43*(21), 2213–2296. https://doi.org/10.1080/10643389.2012.672072

Hart, S. C., Nason, G. E., Myrold, D. D., & Perry, D. A. (1994). Dynamics of gross nitrogen transformations in an old-growth forest: The carbon connection. *Ecology*, *75*(4), 880–891. https://doi.org/10.2307/1939413

Hazlett, P. W., Gordon, A. M., Voroney, R. P., & Sibley, P. K. (2007). Impact of harvesting and logging slash on nitrogen and carbon dynamics in soils from upland spruce forests in northeastern Ontario. *Soil Biology and Biochemistry*, *39*(1), 43–57. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.06.008

Högberg, M. N., & Högberg, P. (2002). Extramatrical ectomycorrhizal mycelium contributes one-third of microbial biomass and produces, together with associated roots, half the dissolved organic carbon in a forest soil. *New Phytologist*, *154*(3), 791–795. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00417.x

Högberg, M. N., Högberg, P., & Myrold, D. D. (2007). Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three? *Oecologia*, *150*(4), 590–601. https://doi.org/10.1007/s00442-006-0562-5

Högberg, P., Näsholm, T., Franklin, O., & Högberg, M. N. (2017). Forest Ecology and Management Tamm Review : On the nature of the nitrogen limitation to plant growth in Fennoscandian boreal forests. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.04.045

Houlton, B. Z., Morford, S. L., & Dahlgren, R. A. (2018). Convergent evidence for widespread rock nitrogen sources in Earth's surface environment. *Science*, *360*(6384), 58–62. https://doi.org/10.1126/science.aan4399

Hruška, J., & Kopáček, J. (2005). Kyselý déšť stále s námi-zdroje, mechanismy, účinky, minulost a budoucnost. Ministerstvo životního prostředí, Praha.

Huber, C. (2005). Long Lasting Nitrate Leaching after Bark Beetle Attack in the Highlands of the Bavarian Forest National Park. *Journal of Environmental Quality*, *34*(5), 1772–1779. https://doi.org/10.2134/jeq2004.0210

Huber, C., Baumgarten, M., Göttlein, A., & Rotter, V. (2004). Nitrogen Turnover and Nitrate Leaching after Bark Beetle Attack in Mountainous Spruce Stands of the Bavarian Forest National Park. *Water, Air, & Soil Pollution: Focus*, 391–414. https://doi.org/10.1023/B:WAFO.0000028367.69158.8d

Isobe, K., Koba, K., Otsuka, S., & Senoo, K. (2011). Nitrification and nitrifying microbial communities in forest soils. *Journal of Forest Research*, *16*(5), 351–362. https://doi.org/10.1007/s10310-011-0266-5

Kallenbach, C. M., Frey, S. D., & Grandy, A. S. (2016). Direct evidence for microbial-derived soil organic matter formation and its ecophysiological controls. *Nature Communications*, *7*, 1–10. https://doi.org/10.1038/ncomms13630

Kaňa, J., Tahovská, K., & Kopáček, J. (2013). Response of soil chemistry to forest dieback after bark beetle infestation. *Biogeochemistry*, *113*(1–3), 369–383.

https://doi.org/10.1007/s10533-012-9765-5

Kaňa, J., Tahovská, K., Kopáček, J., & Šantručková, H. (2015). Excess of organic carbon in mountain spruce forest soils after bark beetle outbreak altered microbial N transformations and mitigated N-saturation. *PLoS ONE*, *10*(7), 1–19. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134165

Kandeler, E. (2007). Physiological and biochemical methods for studying soil biota and their function. In *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry* (Third Edition). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-047514-1.50007-X

Killham, K. (1994). Soil ecology. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. ISBN 0-521-43521-8.

Klimek, B., Chodak, M., & Niklinska, M. (2016). Functional diversity of soil microbial communities in boreal and temperate Scots pine forests Functional diversity of soil microbial communities in boreal and temperate Scots pine forests. *July*. https://doi.org/10.1007/s10342-016-0968-5

Koch, H., van Kessel, M. A. H. J., & Lücker, S. (2019). Complete nitrification: insights into the ecophysiology of comammox Nitrospira. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *103*(1), 177–189. https://doi.org/10.1007/s00253-018-9486-3

Kopáček, J., Fluksová, H., Hejzlar, J., Kaňa, J., Porcal, P., & Turek, J. (2017). Changes in surface water chemistry caused by natural forest dieback in an unmanaged mountain catchment. *Science of the Total Environment*, *584–585*, 971–981. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.148

Kopáček, Jiří, Bače, R., Hejzlar, J., Kaňa, J., Kučera, T., Matějka, K., Porcal, P., & Turek, J. (2020). Changes in microclimate and hydrology in an unmanaged mountain forest catchment after insect-induced tree dieback. *Science of the Total Environment*, *720*. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137518

Kopáček, Jiří, Cosby, B. J., Evans, C. D., Hruška, J., Moldan, F., Oulehle, F., Šantrůčková, H., Tahovská, K., & Wright, R. F. (2013). Nitrogen, organic carbon and sulphur cycling in terrestrial ecosystems: Linking nitrogen saturation to carbon limitation of soil microbial processes. *Biogeochemistry*, *115*(1–3), 33–51. https://doi.org/10.1007/s10533-013-9892-7

Kopáček, Jiří, Cudlín, P., Fluksová, H., Kaňa, J., Picek, T., Šantrůčková, H., Svoboda, M., & Vaněk, D. (2015). Dynamics and composition of litterfall in an unmanaged Norway spruce (Picea abies) forest after bark-beetle outbreak. *Boreal Environment Research*, *20*(3), 305–323.

Kopáček, Jiří, & Veselý, J. (2005). Sulfur and nitrogen emissions in the Czech Republic and Slovakia from 1850 till 2000. *Atmospheric Environment*, *39*(12), 2179–2188. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2005.01.002

Kosunen, M., Peltoniemi, K., Pennanen, T., Lyytikäinen-Saarenmaa, P., Adamczyk, B., Fritze, H., Zhou, X., & Starr, M. (2020). Storm and Ips typographus disturbance effects on carbon stocks, humus layer carbon fractions and microbial community composition in boreal Picea abies stands. *Soil Biology and Biochemistry*, *148*(December 2019). https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107853

Kuenen, J. G. (2008). Anammox bacteria: From discovery to application. *Nature Reviews Microbiology*, *6*(4), 320–326. https://doi.org/10.1038/nrmicro1857

Leppälammi-Kujansuu, J., Aro, L., Salemaa, M., Hansson, K., Kleja, D. B., & Helmisaari, H. S. (2014). Fine root longevity and carbon input into soil from below- and aboveground litter in climatically contrasting forests. *Forest Ecology and Management*, *326*, 79–90. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.03.039

Li, Y., Chapman, S. J., Nicol, G. W., & Yao, H. (2018). Nitrification and nitrifiers in acidic soils. *Soil Biology and Biochemistry*, *116*(January 2019), 290–301. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.10.023

Lladó, S., López-mondéjar, R., & Baldrian, P. (2017). Forest Soil Bacteria : Diversity , Involvement in Ecosystem Processes , and Response to Global Change. *81*(2), 1–27. DOI: 10.1128/MMBR.00063-16

Lybrand, R. A., Gallery, R. E., Trahan, N. A., & Moore, D. J. P. (2018). Disturbance alters the relative importance of topographic and biogeochemical controls on microbial activity in temperate montane forests. *Forests*, *9*(2). https://doi.org/10.3390/F9020097

Manzoni, S., Taylor, P., Richter, A., Porporato, A., & Ågren, G. I. (2012). Environmental and stoichiometric controls on microbial carbon-use efficiency in soils. *New*

Phytologist. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04225.x

Mikkelson, K. M., Brouillard, B. M., Bokman, C. M., & Sharpa, J. O. (2017). Ecosystem resilience and limitations revealed by soil bacterial community dynamics in a bark beetle-impacted forest. *MBio*, *8*(6), 1–13. https://doi.org/10.1128/mBio.01305-17

Mooshammer, M., Wanek, W., Fuchslueger, L., Hofhansl, F., Knoltsch, A., Schnecker, J., Takriti, M., Watzka, M., Wild, B., Keiblinger, K. M., Zechmeister-Boltenstern, S., & Richter, A. (2014). *Adjustment of microbial nitrogen use efficiency to carbon : nitrogen imbalances regulates soil nitrogen cycling*. *April*. https://doi.org/10.1038/ncomms4694

Morehouse, K., Johns, T., Kaye, J., & Kaye, M. (2008). Carbon and nitrogen cycling immediately following bark beetle outbreaks in southwestern ponderosa pine forests. *Forest Ecology and Management*, *255*(7), 2698–2708. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.01.050

Mulder, J., De Wit, H. A., Boonen, H. W. J., & Bakken, L. R. (2001). Increased levels of aluminum in forest soils: Effects on the stores of soil organic carbon. *Water, Air, and Soil Pollution*, *130*(1-4 III), 989–994. https://doi.org/10.1023/A:1013987607826

Nadelhoffer, K. J. (2000). The potential effects of nitrogen deposition on fine-root production in forest ecosystems. *New Phytologist*, *147*(1), 131–139. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00677.x

Neubauer, H., & Götz, F. (1996). Physiology and interaction of nitrate and nitrite reduction in Staphylococcus carnosus. *Journal of Bacteriology*, *178*(7), 2005–2009. https://doi.org/10.1128/jb.178.7.2005-2009.1996

Norton, U., Ewers, B. E., Borkhuu, B., Brown, N. R., & Pendall, E. (2015). Soil Nitrogen Five Years after Bark Beetle Infestation in Lodgepole Pine Forests. *Soil Science Society of America Journal*, *79*(1), 282–293. https://doi.org/10.2136/sssaj2014.05.0223

Osler, G. H. R., & Sommerkorn, M. (2007). Towards a complete soil C and N cycle: incorporate the soil faune. *88*(7), 1611–1621.

Peng, Y., & Zhu, G. (2006). Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *73*(1),

15–26. https://doi.org/10.1007/s00253-006-0534-z

Persson, T., Rudebeck, A., Jussy, J. H., Colin-Belgrand, M., Priemé, A., Dambrine, E., Karlsson, P. S., & Sjöberg, R. M. (2000). *Soil Nitrogen Turnover — Mineralisation, Nitrification and Denitrification in European Forest Soils*. *142*, 297–311. https://doi.org/10.1007/978-3-642-57219-7_14

Prescott, C. (2005). Nutrient Acquisition by Plants. *Nutrient Acquisition by Plants*, *August*. https://doi.org/10.1007/3-540-27675-0

Prescott, C. E. (1997). Effects of clearcutting and alternative silvicultural systems on rates of decomposition and nitrogen mineralization in a coastal montane coniferous forest. *Forest Ecology and Management*, *95*(3), 253–260. https://doi.org/10.1016/S0378-1127(97)00027-3

Prescott, Cindy E. (2010). Litter decomposition : What controls it and how can we alter it to sequester more carbon in forest soils ? Litter decomposition : what controls it and how can we alter it to sequester more carbon in forest soils ? *Biogeochemistry*, *September*. https://doi.org/10.1007/s10533-010-9439-0

Recous, S., Mary, B., & Faurie, G. (1990). Microbial immobilization of ammonium and nitrate in cultivated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, *22*(7), 913–922. https://doi.org/10.1016/0038-0717(90)90129-N

Robertson, G. P., & Groffman, P. M. (2007). Soil Microbiology, Bioghemistry, and Ecology. In *Soil Microbiology, Chemistry, and Ecology* (Third Edit). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-047514-1.50017-2

Rytioja, J., Hildén, K., Yuzon, J., Hatakka, A., de Vries, R. P., & Mäkelä, M. R. (2014). Plant-Polysaccharide-Degrading Enzymes from Basidiomycetes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *78*(4), 614–649. https://doi.org/10.1128/mmbr.00035-14

Šantrůčková, H., Kaštovská, E., Bárta, J., Miko, L., & Tajovský, K. (2018). Ekologie půdy. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2018. Episteme. Natura. ISBN 978-80-7394-695-1.

Scharlemann, J. P. W., Tanner, E. V. J., Hiederer, R., & Kapos, V. (2014). Global soil carbon: Understanding and managing the largest terrestrial carbon pool. *Carbon Management*, *5*(1), 81–91. https://doi.org/10.4155/cmt.13.77

Schelhaas, M. J., Nabuurs, G. J., & Schuck, A. (2003). Natural disturbances in the European forests in the 19th and 20th centuries. *Global Change Biology*, *9*(11), 1620–1633. https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.2003.00684.x

Schimel, J. P., & Bennett, J. (2003). Nitrogen mineralization: Challenges of a changing pardigm. *America*, *June 2000*, 2101–2117. https://doi.org/https://doi.org/10.1890/03-8002

Šimek, M. (2019). Živá půda. Praha: Academia, 2019. Strategie AV21. Špičkový výzkum ve veřejném zájmu. ISBN 978-80-200-2976-8.

Sinsabaugh, R. L. (2010). Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, *42*(3), 391–404. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.014

Smith, S., & Read, D. (2008). Mycorrhizal symbiosis. Third edition. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2008. ISBN 978-0-12-370526-6.

Spohn, M. (2015). Microbial respiration per unit microbial biomass depends on litter layer carbon-to-nitrogen ratio. *Biogeosciences*, *12*(3), 817–823. https://doi.org/10.5194/bg-12-817-2015

Spohn, Marie. (2016). Element cycling as driven by stoichiometric homeostasis of soil microorganisms. *Basic and Applied Ecology*. https://doi.org/10.1016/j.baae.2016.05.003

Stark, J. M., & Hart, S. C. (1997). High rates of nitrification and nitrate turnover in undisturbed coniferous forests. *Nature*, *385*(6611), 61–64. https://doi.org/10.1038/385061a0

Strauss, E. A., & Lamberti, G. A. (2000). Regulation of nitrification in aquatic sediments by organic carbon. *Limnology and Oceanography*, *45*(8), 1854–1859. https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.8.1854

Strauss, E. A., & Lamberti, G. A. (2002). Effect of dissolved organic carbon quality on microbial decomposition and nitrification rates in stream sediments. *Freshwater Biology*, *47*(1), 65–74. https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2002.00776.x

Strickland, M. S., & Rousk, J. (2010). Considering fungal: Bacterial dominance in soils -

Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biology and Biochemistry*, *42*(9), 1385–1395. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.05.007

Stüven, R., Vollmer, M., & Bock, E. (1992). The impact of organic matter on nitric oxide formation by Nitrosomonas europaea. *Archives of Microbiology*, *158*(6), 439–443. https://doi.org/10.1007/BF00276306

Svoboda, M., Janda, P., Nagel, T. A., Fraver, S., Rejzek, J., & Bače, R. (2012). Disturbance history of an old-growth sub-alpine Picea abies stand in the Bohemian Forest, Czech Republic. *Journal of Vegetation Science*, *23*(1), 86–97. https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2011.01329.x

Svoboda, M., Matějka, K., & KopáČek, J. (2006). Biomass and element pools of understory vegetation in the catchments of Certovo Lake and Plesne Lake in the Bohemian Forest. *Biologia (Poland)*, *61*(20). https://doi.org/10.2478/s11756-007-0074-8

Tahovská, K., Kaňa, J., Bárta, J., Oulehle, F., Richter, A., & Šantrůčková, H. (2013). Microbial N immobilization is of great importance in acidified mountain spruce forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, *59*, 58–71. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.12.015

Tahovská, K., Kopáček, J., & Šantrůčková, H. (2010). Nitrogen availability in Norway spruce forest floor-the effect of forest defoliation induced by bark beetle infestation. *Boreal Environment Research*, *15*(6), 553–564.

Titus, B. D., Prescott, C. E., Maynard, D. G., Mitchell, A. K., Bradley, R. L., Feller, M. C., Beese, W. J. (Bill), Benton, R. A., Senyk, J. P., Hawkins, B. J., & Koppenaa, R. (2006). Post-harvest nitrogen cycling in clearcut and alternative silvicultural systems in a montane forest in coastal British Columbia. *The Forestry Chronicle*, *82*(6), 844–859. https://doi.org/10.5558/tfc82844-6

Trahan, N. A., Dynes, E. L., Pugh, E., Moore, D. J. P., & Monson, R. K. (2015). Changes in soil biogeochemistry following disturbance by girdling and mountain pine beetles in subalpine forests. *Oecologia*, *177*(4), 981–995. https://doi.org/10.1007/s00442-015-3227-4

Vázquez-Ochoa, F., Reverchon, F., Sánchez-Velásquez, L. R., Ruíz-Montiel, C., &

Pineda-López, M. R. (2020). Soil Chemical Properties and Biological Processes Under Pine Trees With and Without Dendroctonus Bark Beetle Infestation. *Journal of Sustainable Forestry*, *9811*(May). https://doi.org/10.1080/10549811.2020.1759103

Wendeborn, S. (2020). The Chemistry, Biology, and Modulation of Ammonium Nitrification in Soil. *Angewandte Chemie - International Edition*, *59*(6), 2182–2202. https://doi.org/10.1002/anie.201903014

Wild, B., Li, J., Pihlblad, J., Bengtson, P., & Rütting, T. (2019). Decoupling of priming and microbial N mining during a short-term soil incubation. *Soil Biology and Biochemistry*, *129*(January), 71–79. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.11.014

Xu, X., Thornton, P. E., & Post, W. M. (2013). A global analysis of soil microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus in terrestrial ecosystems. *Global Ecology and Biogeography*, *22*(6), 737–749. https://doi.org/10.1111/geb.12029

You, J., Das, A., Dolan, E. M., & Hu, Z. (2009). Ammonia-oxidizing archaea involved in nitrogen removal. *Water Research*, *43*(7), 1801–1809. https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.01.016

Zhou, Z., Wang, C., & Jin, Y. (2017). Stoichiometric responses of soil microflora to nutrient additions for two temperate forest soils. *Biol Fertil Soils* **53,** 397–406https://doi.org/10.1007/s00374-017-1188-y