

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

**Dostupnost dusíku v půdách horských smrčín v závislosti
na obnově lesa po disturbanci lýkožroutem**

Bakalářská práce

Adéla Šimková

Vedoucí práce: RNDr. Karolina Tahovská, Ph.D.

České Budějovice 2023

Adéla Šimková, 2023: Dostupnost dusíku v půdách horských smrčín v závislosti na obnově lesa po disturbanci lýkožroutem. [Nitrogen availability in mountain spruce soils depending on forest restoration after disturbance by bark beetle. Bc. Thesis, in Czech.] - 30 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Bakalářská práce pojednává o přírodním vývoji horských smrčín a o cyklu dusíku v půdě se zaměřením na lesní ekosystémy. Detailněji se práce zabývá změnami dostupnosti dusíku v půdách horských smrčín během jejich vývoje bez zásahů člověka po disturbanci lýkožroutem. Součástí práce je návrh projektu sledování dostupnosti minerálního dusíku a souvisejících půdně-mikrobiologických parametrů v půdách povodí dvou šumavských jezer (Plešné jezero a Čertovo jezero) na gradientu odumírání a regenerace lesa po disturbanci lýkožroutem.

Annotation:

The bachelor thesis deals with the natural development of mountain spruce forests and the soil nitrogen cycle with a focus on forest ecosystems. In detail, the thesis deals with the changes in nitrogen availability in soils of mountain spruce forests during their regeneration without human intervention after bark beetle disturbance. The thesis includes a project proposal concerning monitoring mineral nitrogen availability and related microbiological parameters in soils of two Bohemian Forest catchments (Plešné lake and Čertovo lake) on the gradient of forest death and regeneration after disturbance by bark beetle.

Čestné prohlášení

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

V Českých Budějovicích, dne 13.4. 2023.

.....

Adéla Šimková

Poděkování:

Ráda bych poděkovala své školitelce RNDr. Karolině Tahovské, Ph.D. za veškerý čas, rady a trpělivost, kterou mi věnovala po celou dobu vypracování bakalářské práce. Také bych ráda poděkovala své rodině a přátelům za trpělivost a podporu, které se mi od nich dostávalo po celou dobu vypracovávání bakalářské práce.

Obsah

Úvod	1
Teoretická část práce.....	3
1. Lesy mírného pásma.....	3
1.1 Horské smrčiny	4
1.2 Specifika půd horských smrčin	5
2. Koloběh dusíku	7
3. Vývojový cyklus horských smrčin s ohledem na dostupnost minerálního N v půdách	12
Projektová část práce	18
4. Cíle projektu	18
5. Hypotézy.....	18
6. Návrh projektu	18
6.1 Popis studovaného území	19
6.2 Metodika projektu.....	20
6.2.1 Vytyčení ploch	20
6.2.2 Odběr vzorků půd.....	20
6.2.3 Stanovení regenerace vegetace	20
6.2.4 Měření dostupnosti dusíku – iontoměničové půdní sondy.....	20
6.2.5 Velikost mikrobiální biomasy C a N	21
6.2.6 Stanovení rychlosti čisté mineralizace N a nitrifikace	21
6.2.7 Složení mikrobiálního společenstva, funkční analýza	22
6.3 Očekávané výstupy.....	22
7. Náklady projektu a jejich zdůvodnění	23
8. Časový harmonogram	24
9. Závěr	25
Zdroje	26

Úvod

Ve vyšších polohách se v České republice nacházejí horské smrčiny. Jen asi 9 % (14 732 ha) jejich území je přírodní les, který se vyvíjel bez aktivních lidských zásahů. Většina smrkových lesů jsou pěstované lesy hospodářské, které jsou v obmýtním věku odtěženy a plocha lesa je osázena novými stromy. Například v národním parku Šumava je celkově v bezzásahovém režimu 27.7 % (zóna přírodní) z celkové plochy území parku a zahrnuje, kromě horských smrčín, i cenná území mokřadů, bučin a bezlesí. Tyto ekosystémy horských smrčín se, pokud je necháme, samovolně vyvíjí působením disturbance. Nejčastěji jsou narušovány větrem a působením škůdců. Přírodní disturbance je důležitým procesem nejen pro regeneraci horských smrčín, ale i pro udržování biodiverzity organismů, které jsou na horské smrčiny vázány.

Z hlediska dusíku v půdách hospodářského lesa dochází po těžbě k rychlému nástupu vyplavování dusičnanů. V lese ponechaném samovolnému vývoji se může načasování zvýšení vyplavování, délka jeho trvání i dostupnost jednotlivých forem dusíku v půdách po disturbance lišit od systémů, v nichž se aktivně těží. Biomasa odumřelých stromů v lese zůstává a podléhá rozkladu. Půda se tak obohacuje o uhlík a živiny. Během regenerace lesa se velká část dusíku a dalších živin opět může zabudovat do biomasy rostlin. Lesy v přírodní zóně jsou tak cenným modelovým systémem pro studium přírodních procesů a získané informace o tom, jak cykly prvků v takových ekosystémech fungují, nám mohou pomoci při tvorbě managementu hospodářských lesů a to nejen, pokud jsou postiženy disturbancemi, ale i po těžbě.

Les v přírodní zóně po degradaci lýkožroutem prochází několika vývojovými fázemi (rozpad, obnova, dorůstání), než dospěje do fáze pralesa, pokud v některé fázi regenerace nepříjde další disturbance. V každé fázi vývoje lesa probíhají v půdách různorodé procesy, které pravděpodobně mohou vést k rozdílné dostupnosti jednotlivých forem dusíku. V odumřelém lese po disturbance se dostupnost dusíku obecně zvyšuje v důsledku snížení jeho asimilace stromy a zvýšení mikrobiální mineralizace. Z dosud publikované literatury však není zcela jasné, do jaké míry a které formy dusíku jsou zvýšené ve které fázi samovolného vývoje lesa a jak se v různých stádiích vývoje mění parametry základních procesů ovlivňujících dostupnost obou minerálních forem (mineralizace dusíku a nitrifikace) v souvislosti s charakteristikami mikrobiálního společenstva (mikrobiální biomasa, funkční složení), a to zejména ve fázi obnovy lesa.

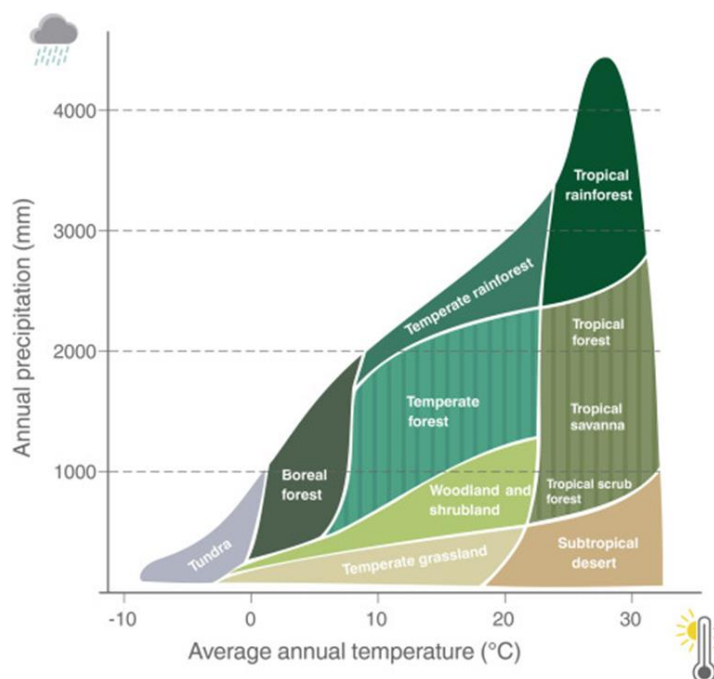
Hlavním cílem této práce bylo: (i) popsat vývojový cyklus horských smrčín po disturbance žírem lýkožrouta se zaměřením na dostupnost dusíku v půdách a (ii) navrhnout

projekt sledování dostupnosti dusíku a úzce souvisejících parametrů půd na gradientu vývoje
lesa stíženého tímto typem disturbance na Šumavě.

Teoretická část práce

1. Lesy mírného pásma

Lesy mírného (temperátního) pásma jsou jednou z hlavních geografických jednotek s podobným typem ekosystémů (biomů) na Zemi. Vyskytují se na území střední zeměpisné šířky mezi subtropickými a polárními oblastmi, přibližně 25 až 50 stupňů severně a jižně od rovníku (Holdridge, 1967). Jsou běžné jak v oblastech s vydatnými srážkami, tak v oblastech suššího klimatu (Obr. 1).



Obr. 1: Rozložení biomů v závislosti na průměrném ročním úhrnu srážek. Average annual temperature (°C) – Průměrná roční teplota (°C), Annual precipitation (mm) – Průměrné roční srážky, Tropical rain forest – Tropický deštný les, Tropical forest – Tropický les, Tropical savanna – Tropická savana, Tropical scrub forest – Tropický křovinatý les, Subtropical desert – Subtropické pouště, Temperate rainforest – Temperátní deštný les, Temperate forest – Temperátní les, Woodland and shrubland – Lesy a křoviny, Temperate grassland – Temperátní pastviny, Boreal forest – Boreální les, Tundra – Tundra (Gutiérrez-Hernández & García, 2021).

Lesy mírného pásma se nachází v severní Americe, kde pokrývají východní část Spojených států až na území Kanady. Dominují také v Anglii, zasahují do Ruska a jejich výskyt zahrnuje i území východní Číny, Japonska, jižního Chile, jihovýchodní Austrálie a Tasmánie. Ve velké míře dominují i v severní části Evropy (Gilliam, 2016) a pokrývají významnou část České republiky (33.3 %) (Čadová, 2021).

I když se jejich další klasifikace poměrně liší, podle výskytu a charakteru převažující vegetace je můžeme jednoduše rozdělit na tyto biomy: opadavé lesy mírného pásma, deštné lesy mírného pásma a stálezelené lesy mírného pásma (Clapham, 1973). Opadavé lesy mírného pásma jsou tvořeny zejména dubem (*Quercus robur*), jasanem (*Fraxinus*), habrem (*Carpinus*), lípou (*Tilia*), jilmem (*Ulmus*) a bukem (*Fagus*). Hojně zastoupeny jsou také vrby (*Salix*), olše (*Alnus*), topoly (*Populus*) a břízy (*Betula*) (Šíma, 2015). Převažující vegetace deštných lesů mírného pásma je tvořena kaučovníky (*Hevea*), kakaovníky (*Theobroma*) a poměrně velkým množstvím palem (*Elaeis*) a epifytů (Schroth, 1998).

V České republice je opadavý les od začátku holocénu v nížinách tvořen převážně doubravami a bučinami, a to v nadmořské výšce od 150 m n. m. Mezi 200 až 400 m n. m. přechází v les buko-dubový až dubo-bukový. Od 500 m n. m. přechází v bukový a ve vyšších polohách příměs tvoří borovice (*Pinus*), tis (*Taxus*), jedle bělokorá (*Abies alba*), bříza (*Betula*) a habr (*Ulmus*). Co se týče popínavých lián vyskytují se v našich podmínkách břečťan popínavý (*Hedera helix*) a zimolez popínavý (*Lonicera periclymenum*). Bučiny se objevují i na pahorkatinách a s nadmořskou výškou přecházejí v buko-jedové lesy až ve stálezelené smrčiny a horské smrčiny (Švábová, 2012). Vlivem lidské činnosti se z českých lesů typických pro mírný pás staly postupem času lesy hospodářské s monokulturním charakterem a převahou smrku i v nižších nadmořských výškách. Jejich velká fragmentace vlivem nevhodného managementu vedla k adaptaci pouze několika druhů dřevin, k mozaikovitému rozložení lesa a snížení biodiverzity (Jeník & Pavliš, 2011).

1.1 Horské smrčiny

Ve vyšších polohách mírného pásma se v České republice přirozeně vyskytují jehličnaté lesy s dominancí smrku – horské smrčiny. Ty se svým charakterem přibližují lesům boreálního typu (tajga), ale jsou tvořeny smrkem ztepilým (*Picea abies*). Vyskytují se přibližně od hranice 1000–1200 m n. m. v závislosti na podmínkách stanoviště (Tab. 1).

	Vegetační stupně	m n. m.
1.	Dubový	150-300
2.	Bukodubový	200-400
3.	Dubobukový	300-500
4.	Bukový	400-700
5.	Jedlobukový	600-1000

6.	Smrkojedlobukový	550-1200
7.	Smrkový	1000-1350
8.	Klečový	nad 1250

Tab. 1: Vegetační stupňovitost podle výskytu dominantních dřevin. Upraveno podle (Zlatník, 1976).

Smrčiny mohou růst přirozeně i v nižších polohách, např. v chladnějších a vlhčích propastech nebo údolích (tzv. zvrát vegetačních stupňů), případně na podmáčených a rašelinných půdách (rašelinné smrčiny). V nižších polohách je najdeme s příměsí břízy, buku a jedle, které svými semenáčky doplňují jejich podrost. V podrostu horské smrčiny není totiž příliš zastoupeno bylinné patro, což je dáno velkým zástinem. Co je ale naopak dobře vyvinuto, je mechové patro se zástupci mnoha druhů mechů, játrovek a také lišejníků. Podle převažujících bylin v podrostu můžeme horské smrčiny rozdělit na tři typy: papratkové smrčiny (výskyt od 1150 do 1300 m), třtinové smrčiny (950–1350 m) a rašelinné a podmáčené smrčiny (od 500 m) (Matějka et al., 2016) .

V papratkové smrčině je bylinné patro sice zastíněné, ale přesto poměrně druhově bohaté. V bylinném patře převládá papratka horská (*Athyrium distentifolium*), která je doplněna vysokými subalpínskými bylinami. V mechovém patře je zastoupeno několik druhů mechů, mezi které patří dvouhrotec chvostnatý (*Dicranum scoparium*), rokyt cypřišovitý (*Hypnum cupressiforme*) a ploník ztenčený (*Polytrichum formosum*). V třtinových smrčinách dominuje metlička křivolaká (*Avenella flexuosa*) a třtina chloupkatá (*Calamagrostis villosa*), kapraď rozložená (*Calamagrostis villosa*) a brusnice borůvka (*Vaccinium myrtillus*). Mechové patro v třtinové smrčině pokrývá až 90 % povrchu půdy. V rašelinné smrčině se ve velké míře nachází suchopýr pochvatý (*Eriophorum vaginatum*), vlohyně (*Vaccinium uliginosum*), klikva (*Oxycoccus palustris*) a přeslička (*Equisetum sylvaticum*). Rašelinné smrčiny mají velmi vyvinuté mechové patro, které dosahuje pokryvnosti až 70 % a je nejvíce zastoupeno rašelíníky (*Sphagnum spp.*), játrovkami (*Bazzania trilobata*) a ploníkem obecným (*Polytrichum commune*) (Šantrůčková et al., 2010).

1.2 Specifika půd horských smrčin

Přirozeně se horské smrčiny v České republice vyskytují v chladných a vlhčích horských oblastech, jejichž podloží je tvořeno převážně kyselými horninami (např. granit, rula, svor). Půdy vznikající na těchto horninách jsou spíše mělké, skeletovité a vzhledem k vyššímu srážkovému úhrnu jsou často promývané. Za takových podmínek vznikají nevyvinuté

organické půdy, kambizemě dystrikové, slabě vyvinuté podzoly a kryptopodzoly (Waroszewski et al., 2016).

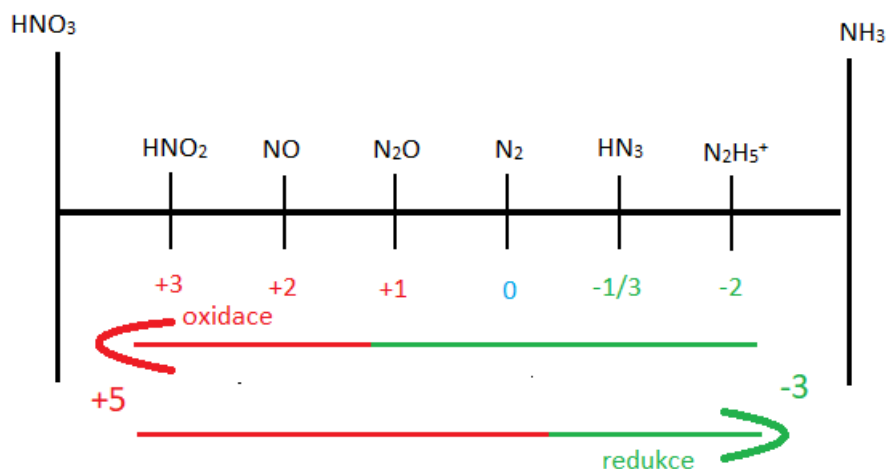
Podzoly se vyskytují od nadmořské výšky okolo 700 m n. m. a vznikají procesem podzolizace (Šarapatka, 2014). Při podzolizaci jsou živiny uvolňovány z povrchových půdních horizontů a přesouvají se do horizontů spodních. To souvisí s kyselým charakterem opadu a s tvorbou kyselin v průběhu jeho rozkladu, dále jsou uvolňovány i fenolické látky a půda se přirozeně acidifikuje (Osman, 2013). Pod humusovým horizontem podzolů se nachází zvětralý eluviální horizont šedavé až bělavé barvy. Tento eluviální horizont hlouběji přechází v horizont iluviální. Iluviální horizont se skládá ze dvou částí. Svrchní část, která často bývá poměrně nevýrazná a tmavé barvy, a spodní s rezavými minerálními horizonty, ve kterých se hromadí hliník a železo. Eluviální horizont obsahuje méně bazických kationtů než povrchové horizonty a také je obohacen o zbytkový křemík (Lundström et al., 2000).

Tím, že jsou půdy horských smrkových lesů kyselé a jsou ochuzovány o zásadité kationty (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+), dochází ke snižování jejich pufrací kapacity (Chovancová, 2012). Pufrací kapacita je schopnost zásaditých kationtů půd vyrovnávat změny v půdní reakci, tedy neutralizovat kyselost půd. Při procesu neutralizace vznikají soli organických kyselin, které se vyplavují z půdy (Kratina et al., 2010).

Smrk dokáže na těchto méně úživných půdách růst díky svému kořenovému systému, který neroste do velkých hloubek, ale v povrchových vrstvách půdy, a rozsáhlá symbióza s mykorhizními houbami mu umožňuje získávat živiny i z velkých vzdáleností. Dalším důvodem, proč je smrk schopný na těchto půdách dobře růst, je jeho vysoká reprodukční schopnost oproti ostatním druhům stromů (Kratina et al., 2010).

2. Koloběh dusíku

Dusík se v přírodě nachází v široké škále oxidačních stavů od -3 do +5 (Obr. 2).



Obr. 2: Oxidační stavy dusíku. Upraveno podle (Karen, 2015).

Tvoří molekuly dusíku v ovzduší (N₂), anorganické sloučeniny (amonné, dusitanové a dusičnanové ionty) a vyskytuje se v mnoha důležitých organických molekulách, což jsou např.: nukleové kyseliny, aminokyseliny tvořící bílkoviny a enzymy, adenosintrifosfát (ATP), chlorofyl a jiné (Říhová Ambrožová, 2007).

Dusík je v přírodě přirozeně limitující živinou a jeho dostupnost proto ovlivňuje primární produkci suchozemských (i vodních) ekosystémů. Je tedy nezbytný pro tvorbu biomasy rostlin. Převážná část jeho cyklu se odehrává v půdě prostřednictvím mikroorganismů. V jejich energetickém metabolismu je jak donorem, tak i akceptorem elektronů. Proto jeho cyklus zahrnuje mnoho různých procesů přeměn. Mezi nejdůležitější přeměny dusíku patří biologická fixace N₂, mineralizace dusíku, nitrifikace, imobilizace dusíku a denitrifikace.

Dusík vstupuje do půdy třemi různými způsoby: fixací molekulárního dusíku [biologická fixace (diazotrofie) i abiotická fixace při bouřkách], dekompozicí (rozkladem) organického materiálu a atmosférickou depozicí (Říhová Ambrožová, 2007). Dusík se však vyskytuje i v horninách, které jsou paradoxně jeho největším zásobníkem (globální odhad je 190×10^{21} g N). Dusík v litosféře je však pro organismy nedostupný a uvolňuje se částečně pouze zvětráváním hornin ($19\text{--}31$ Tg N rok⁻¹) (Houlton et al., 2018). Více dusíku se vyskytuje v horninách usazených. V usazených horninách dusík tvoří až 26 % (Houlton et al., 2018).

Biologická fixace N probíhá prostřednictvím prokaryotických organismů (bakterie, sinice, aktinobakterie a Archea). Diazotrofie jsou schopny jak mikroorganismy žijící volně

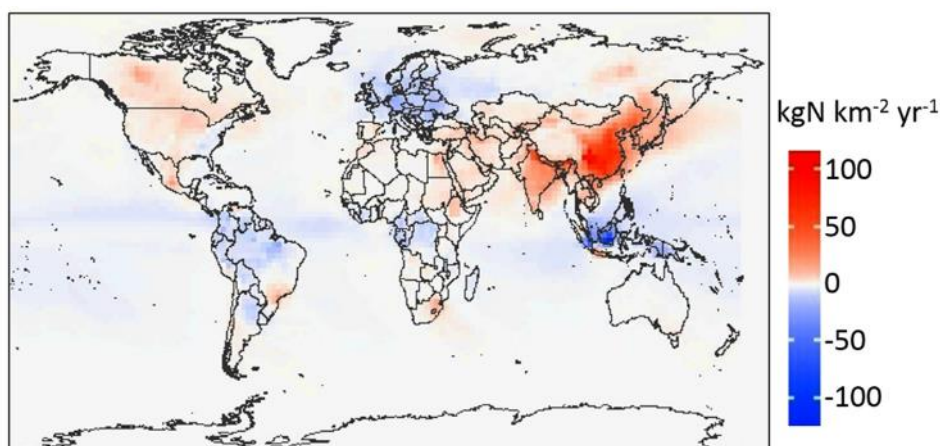
v půdě, tak mnohé symbiotické druhy, které žijí ve spojení s kořeny rostlin. Probíhá jako redukce N_2 na amoniak pomocí enzymu nitrogenázy. V jehličnatých lesích střední Evropy může biologická fixace N dosahovat 1 až 3 kg N ha⁻¹ rok⁻¹ (Högberg et al., 2017).

Diazotrofie je velice energeticky náročná, a proto mají prokaryotické organismy široce rozvinuté symbiotické vztahy s rostlinami. Rostlina prokaryotickému organismu dodá energii v podobě adenosintrifosfátu (ATP) a získává jeho prostřednictvím více dusíku, než který by přijala pouze svými kořeny (Payá-Tormo et al., 2022). Mezi rostliny, které žijí symbioticky s bakteriemi patří například zástupci čeledi *Fabaceae*, z dřevin je to například olše nebo rakytník (Möllerová, 2006). Dalšími významnými fixátory vzdušného dusíku jsou sinice (rodu *Anabea*, *Nostoc*), některé vodní kapradiny, mechorosty a lišejníky. Volně žijící fixátory dusíku najdeme zejména v rhizosféře (rody *Azotobacter*, *Azomonas*, *Azococcus*) i uvnitř kořenových pletiv (rod *Azospirillum*), ale třeba i v rozkládajícím se dřevě a volné půdě (Cleveland et al., 2022).

Dusík se prostřednictvím depozice z atmosféry přenáší na zemský povrch. Nejvíce dusíku je deponováno v minerální formě, ale deponovány mohou být i rozpuštěné organické látky (až 25 % celkové depozice N, Tab. 2) (Cornell et al., 2003).

	ON, % TDN
Evropa	23 ± 8
Severní Amerika	38 ± 19
Jižní/ střední Amerika	29 ± 5
Jihovýchodní Asie	41*
Oceánie	56 ± 27
Antarktida	11*
Island	30 ± 32

Tab. 2: Depozice organického dusíku (ON) ve světě. Čísla uvádí procenta ON z celkové depozice N (TDN). *Byla naměřena pouze jedna hodnota. Upraveno podle (Cornell et al., 2003). Průměrná depozice ve světě byla vypočtena na 183,5 kg N km⁻² rok⁻¹. Celkově se globální depozice anorganického dusíku zvyšuje. Podle posledních výzkumů z 86,6 Tg N v roce 1984 na 93,6 Tg N v roce 2016 (Obr. 3) s různými trendy v rámci světa (Ackerman et al., 2019).



Obr. 3. Průměrná roční míra změny celkové depozice anorganického dusíku mezi lety 1984–2016. Červená barva značí nárůst depozice, modrá barva naopak její snížení. Převzato z Ackerman et al. (2019).

Další možností, jak dusík vstupuje do půdy, je rozklad organické hmoty. Půdní organická hmota je souborem organických látek v různém stupni rozkladu, od zbytků rostlin a živočichů až po přeměněnou a stabilizovanou organickou hmotu, která se nazývá humus (Danková, 2012). Do organické hmoty tedy spadají: rhizodepozice zahrnující kořenové exudáty, kořeny rostlin, rostlinný opad, edafon, živý i jeho neživé zbytky a produkty metabolismu (Miko et al., 2019). Dekompozice spočívá v kombinaci mechanické fragmentace a mikrobiálního rozkladu neživé půdní organické hmoty. Mikroorganismy produkují rozličné extracelulární enzymy, které štěpí složitou organickou hmotu na jednodušší monomery (proces depolymerizace) (Schimel & Bennett, 2004). Dusík obsahující monomery (např. aminokyseliny) jsou posléze deaminovány mikroorganismy až na amoniak NH_3 (proces mineralizace dusíku), který se po vyloučení z buňky může v půdním roztoku protonovat a vzniká amonný iont NH_4^+ . Na depolymerizaci a mineralizaci dusíku navazuje mnoho dalších procesů jeho přeměn. Dusík v organické podobě se tak postupně přetváří na minerální formy a stává se znovu přístupným pro rostliny nebo se uvolňuje zpět do ovzduší či vyplavuje z půdy do vod (Říhová Ambrožová, 2007). Rychlost čisté mineralizace v jehličnatých lesích se pohybuje od -5 do $+15 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N rok}^{-1}$ (Prosser & Nicol, 2012).

Jedním z významných procesů, který navazuje na mineralizaci dusíku, je nitrifikace. Může jít o autotrofní (zdrojem uhlíku je CO_2) i heterotrofní proces. Autotrofní nitrifikace, která spočívá v postupné oxidaci amoniaku přes dusitany až na dusičnany, jsou schopny bakterie (např. rody: *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* a *Nitrosovibrio*) i Archea. Během celé reakce se vytváří 2H^+ za každý mol N, což může vést k okyselení prostředí (Říhová Ambrožová, 2007), pokud nejsou protony zneutralizovány půdními bázemi.

Heterotrofní nitrifikace je spojena zejména s metabolismem hub a není propojena se syntézou ATP, a tudíž nevzniká žádná energie (Prosser & Nicol, 2012).

Nitrifikaci ovlivňuje řada abiotických faktorů: pH půdy, teplota, vlhkost a aerace půdy. Podmínky půdní reakce, při které dochází k nitrifikaci, jsou poměrně široké – od 3,5 až 9,2 (Prosser & Nicol, 2012). Za vhodnou teplotu se považuje teplota od 15 do 30 °C a obsah vody v půdě by měl být v rozmezí 40–70 % MVK (maximální vodní kapacity) (Leitgeb et al., 1983). Dříve se předpokládalo, že musí být nitrifikace prováděna dvěma funkčními skupinami organismů – amoniak oxidujícími a nitrit oxidujícími bakteriemi. Pozdější výzkumy ukázaly, že první krok nitrifikace zprostředkovávají i Archea, a dokonce že oba kroky zároveň dokáže provést i jen jeden organismus – *Nitrospira* (proces commamox) (Daims & Wagner, 2018). Amoniak a dusičnany vzniklé v procesech mineralizace N a nitrifikace mohou být imobilizovány z půdního roztoku rostlinami i mikroorganismy zpět do jejich biomasy. V jehličnatých lesích je pro imobilizaci živin z půd pro rostliny velmi důležitá symbióza s mykorhizními houbami. Ty rostlinu zásobují dusíkem, fosforem a vodou výměnou za její uhlíkaté látky. Mykorhizní houby dokáží transportovat živiny myceliem z velkých vzdáleností od rostliny a významně tak rozšiřují možnosti rostlin živiny z půd získat (Gryndler, 2004). V jehličnatých lesích se setkáme s erikoidní mykorhizou (zejména s rostlinami z čeledi *Ericaceae*) a ektomykorhizou. Ektomykorhizu vytvářejí nejčastěji houby z oddělení Basidiomycota a Ascomycota.

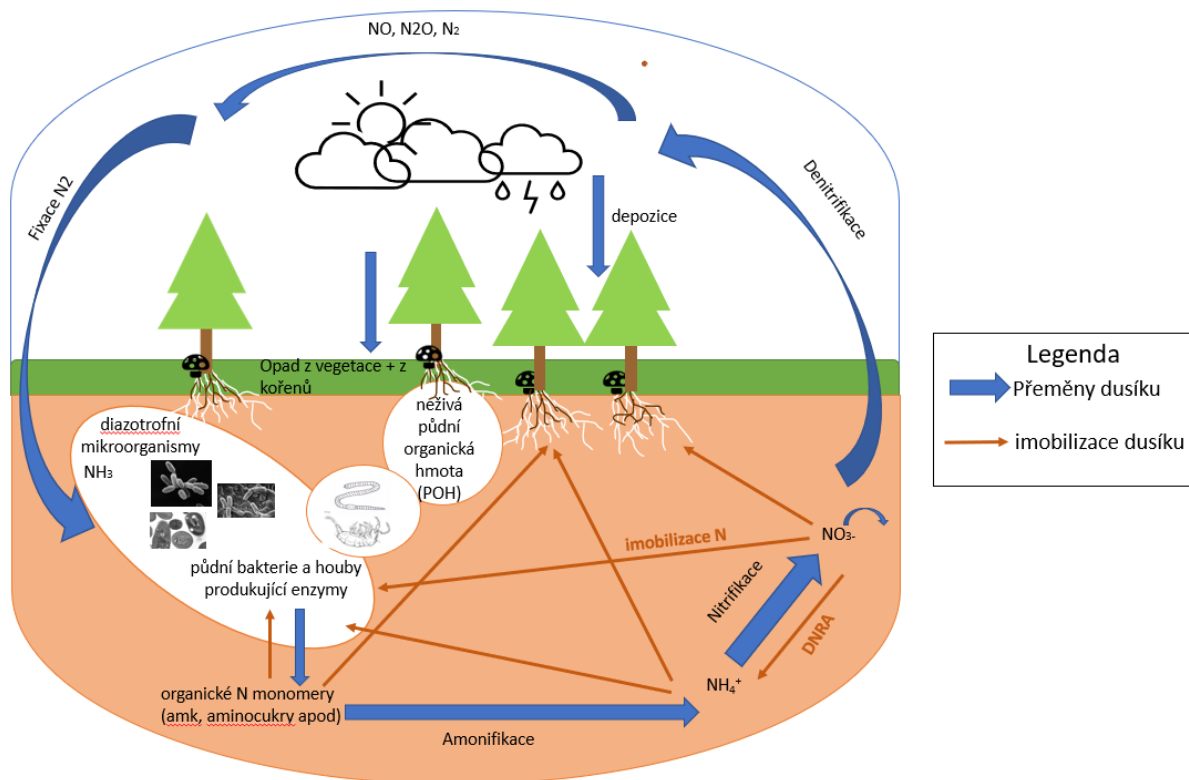
Jestli v půdě bude převažovat proces mineralizace dusíku nebo proces jeho imobilizace, je hodně závislé na tom, jak aktivní jsou mikroorganismy v půdě a kolik dusíku je v půdě k dispozici v porovnání s tím, kolik dusíku spotřebují mikroorganismy pro obnovu své biomasy a růst. Dalším faktorem ovlivňujícím tuto rovnováhu je dostupnost ostatních důležitých živin a uhlíku. Zjednodušeně řečeno, procesy mineralizace dusíku a imobilizace budou v rovnováze, pokud bude poměr C:N v půdě okolo 25 (25 g C na 1 g N). Když bude tento poměr nižší, bude v půdě převládat mineralizace dusíku nad imobilizací a bude docházet k vyplavování dusíku z půdy. Naopak při vyšším poměru bude převládat imobilizace dusíku a rostliny i mikroorganismy mohou být dusíkem limitované (Šantrůčková, 2014). Imobilizace, resp. mineralizace dusíku však závisí i na dostupnosti dalších prvků např. na druhé nejvíce limitující živině – fosforu.

Dusík se z půdy (a i z ekosystému) může ztrácet několika způsoby: volatilizací amoniaku, vyplavováním dusíkatých látek, emisí plyných sloučenin nebo odstraněním dusíku spolu s biomasou rostlin a odnosem dusíku při erozi půd. V kyselých lesních půdách je volatilizace, což je vytěkání N v podobě amoniaku, nevýznamná. Významným procesem je

naopak denitrifikace. Denitrifikace probíhá v anaerobním prostředí. Dusičnany se redukují na plynné sloučeniny dusíku (NO , N_2O , N_2) a dusík se navrácí do atmosféry.

Denitrifikace je tedy důležitým bodem koloběhu dusíku (Obr. 4), kdy se celý cyklus uzavírá. Denitrifikace je také hlavním zdrojem oxidu dusného (N_2O), který spotřebovává stratosférický ozon (Paul, 2015) a je významným skleníkovým plynem. Dusičnany mohou být redukovány i procesem disimilativní redukce (DNRA) až na amoniak a dusík se z půd neztrácí. Disimilativní redukce je též anaerobním procesem, jako denitrifikace, a závisí silně na obsahu organické hmoty v půdě (Dong et al., 2011).

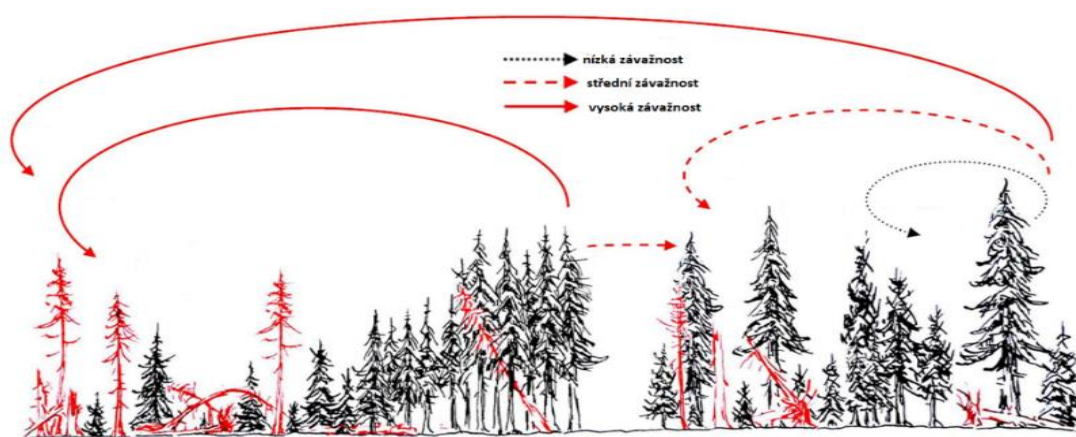
Dusičnan je hlavní mobilní formou dusíku. Může být z půdy snadno vyplaven. V půdách chudých na dusík se dusičnany vyplavují jen omezeně, protože jsou v hojné míře imobilizovány rostlinami i mikroorganismy, a z půdy se ztrácí spíše rozpuštěný organický dusík (produkty dekompozice organické hmoty). Pokud je v ekosystému dusíku nadbytek například kvůli vysoké depozici, narušení půd nebo kvůli poškození vegetace, tak se z půdy dusičnany mohou vyplavovat ve zvýšené míře. Amoniak je spíše nemobilní formou, protože se v půdě hojně váže v rámci kationtové výměnné kapacity a jeho vyplavování je zanedbatelné (Šantrůčková, 2014).



Obr. 4: Zjednodušený cyklus dusíku v terestrickém ekosystému.

3. Vývojový cyklus horských smrčín s ohledem na dostupnost minerálního N v půdách

Horské smrčiny, jak již bylo uvedeno výše, jsou typem lesa, který se nachází přirozeně v mírném pásu přibližně od 1150 m n. m. V jejich skladbě výrazně převládá smrk ztepilý, který je doplněn dalšími dřevinami, jako jsou jeřáb ptačí (*Sorbus aucuparia*), javor klen (*Acer pseudoplatanus*), jedle bělokorá (*Abies alba*) a buk lesní (*Fagus sylvatica*) (Čada et al., 2013). Vysokohorské smrčiny jsou formovány disturbancemi. V podmínkách střední Evropy se jedná zejména o sněhové bouře, vichřice a kalamity způsobené lýkožroutem. Z výsledků výzkumů dendrochronologických a pylových analýz vyplývá, že disturbance jsou přirozenou součástí regenerace horských smrčín (Obr. 5) a umožňují vznik věkově i prostorově rozrůzněných ekosystémů (Čada et al., 2016).



Obr. 5: Disturbance horské smrčiny. Upraveno podle (Mikoláš et al., 2017). Linie ukazují míru intenzity disturbance: černá tečkovaná linie – nízká intenzita, červená čárkovaná linie – střední intenzita, červená plná linie – vysoká intenzita.

Při disturbanci, pokud se les vyvíjí bez zásahu člověka, vstupuje do půdy během několika let velké množství rostlinného materiálu, počínaje jehlicemi, větvičkami, kůrou a lišejníky až po velké větve a celé kmeny stromů (Obr. 6). Tuto fázi nazýváme rozpadem lesa. Fáze rozpadu lesa znamená, že rychle ubývá generace starších stromů, ale zvyšuje se i počet a růst stromů nové generace. Nové stromy však nenahrazují v plné míře stromy odumírající. Na povrchu půdy se začíná hromadit odumřelý opad, včetně dřeva, který se začíná postupně rozkládat (Oulehle et al., 2019). V disturbovaném lese se také mění bylinné patro, začínají se rozrůstat trávy (viz kapitola 1). Podle Norton et al. 2015 může být v lese napadeném lýkožroutem koncentrace N v opadu jehličí až šestkrát vyšší, než by byla v lese lýkožroutem

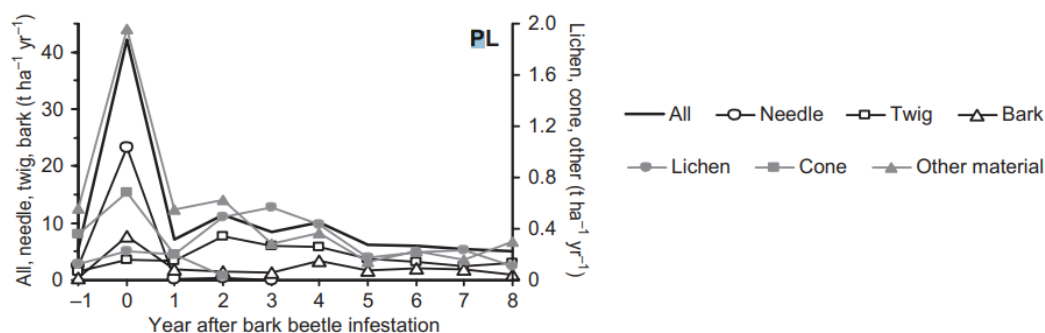
nenapadeném. Pokud je rostlinný opad vstupující do půdy během rozpadu lesa bohatší na živiny, má vyšší rozložitelnost, což může vést k jeho rychlé dekompozici, mineralizaci živin a také jejich většímu uvolňování do půdy. Živiny, a tedy i dusík, se takto stávají v půdě více dostupnými, tj. zvyšují svoji koncentraci v půdě (viz. kapitola 6.2.) a mohou být opět imobilizovány mikroorganismy a regenerující vegetací. Rovnováha mezi procesem mineralizace organické hmoty a imobilizací živin určuje, zda se budou živiny z půdy vyplavovat.

Opad lze rozlišit na nadzemní a opad produkovaný pod zemí. Nadzemní opad se dále dělí na asimilační orgány, kterými jsou jehlice, větve, reprodukční části, kmeny. Z opadu, který se nachází pod zemí, jsou to zejména odumřelé části kořenů a mykorhizních hub. Z hlediska uhlíku je jeho největší množství uloženo v kmenech a kořenech. Rozložení dusíku bývá nerovnoměrné a nejvíce se ho nachází ve větvích a kořenech, u smrku je to až 58 %. Nejvyšší poměr C:N je v kmenech a nejnižší v jehlicích. Opad do půdy vstupuje v několika fázích, a tím se v danou dobu může podstatně lišit poměr C:N rozkládajícího se opadu podle jeho typu. Nejprve se rozkládají jehlice, poté větvičky, a nakonec dřevní biomasa. Různorodý poměr C:N opadu vytváří i různorodé prostředí pro dekompozitory (Růžek, 2016, Oulehle et al., 2019).

Kořeny stromů ve zdravém, nedisturbovaném lese uvolňují do půdy kořenové exudáty, které obsahují organický uhlík. Ve chvíli, kdy strom začne odumírat, dojde ke snížení tohoto toku, a tím se snižuje množství snadno dostupného uhlíku v půdě. Mykorhizy mohou odumírat a jejich biomasa v půdě se začíná rozkládat. V tuto chvíli se také začíná snižovat imobilizace živin stromy. Naopak celková biomasa mikroorganismů v půdě narůstá (Kopáček et al., 2015). Ze studie Holden & Treseder (2013) vyplývá, že po napadení lesa lýkožroutem se v půdním společenstvu zvyšuje abundance bakterií i hub, ale biomasa půdních mikrobů se průkazně nezmění. Tento výsledek může být dán jednak způsobem provedení studií, kdy pozorování probíhala pouze v krátkém časovém úseku, a tudíž se do výsledků nemohly promítnout další fáze obnovy lesa. Štursová et al. (2014) naopak uvádí pokles biomasy hub krátce po odumření lesa včetně poklesu symbiotických druhů hub (Štursová et al., 2014).

Rozklad jehličí trvá obvykle jeden rok, rozklad větví a reprodukčních součástí stromu se pohybuje v rozmezí od dvou do pěti let. Rozklad mrtvého dřeva je nejsložitější a časově nejnáročnější, a tak se jeho rozklad dělí na několik fází. První fáze trvá přibližně pět let a jde o osídlování mrtvého dřeva organismy, a tudíž hodně záleží na tom, jaké množství organismů se na dřevě usídlí, což podmiňuje také dostatečná vlhkost (Olajuyigbe et al., 2011). Druhá fáze

rozkladu je relativně rychlá a rozkládají se během ní snadno dostupné sloučeniny uhlíku a celulóza. Závěrečnou fází rozkladu tvoří rozklad jádra stromu.



Obr. 6: Roční toky opadu v povodí Plešného jezera (PL) před napadením lýkožroutem (rok -1), v průběhu napadení (rok 0) a po napadení (roky 1–8). "Vše – All" představuje součet všech kategorií opadu. Kategorie "ostatní materiál – other material" se týká zbývajícího materiálu, který se skládá převážně ze špatně identifikovatelných úlomků opadu. Uváděné kategorie opadu: needle – jehličí, twig – větve, bark – kůra, lichen – lišejník, cone – šiška (Kopáček et al., 2015).

Po rozpadu lesa následuje fáze obnovy lesa (Čada et al., 2013). Dorůstající stromy jsou na ploše rozmístěny nepravidelně a střídají se skupiny stromů odumřelých a stromy nahrazující generace. Dochází k obnově smrku (pravděpodobně i mykorhiz), ale také k obnově dřevin, které mají vyšší nároky na světlo, jsou málo náchylné k nepříznivým podmínkám a nemají příliš vysoké nároky na dostupnost živin. Jsou to například jeřáb a bříza (Šantrůčková & Vrba, 2010). Jsou to takzvané pionýrské dřeviny, pro něž je charakteristické, že dokáží svými kořeny získávat kationty z hloubek půdního profilu a svým opadem obohacují svrchní vrstvy půdy o tyto, i pro ostatní rostliny, cenné živiny. V této fázi můžeme předpokládat, že imobilizace minerálního N z půdy novou generací stromů může být velmi významná.

V další fázi regenerace lesa po disturbanci, která se nazývá fáze dorůstání, začíná smrk vytvářet nové patro stromů s převážně homogenní strukturou. V důsledku konkurence jednotlivých stromů však postupně dochází k redukci homogenity. Tato fáze vývoje lesa je fáze velmi kritická, protože les je náchylný k novému narušení. Pokud přijde disturbance znovu, les se vrací zpět do stavu, ve kterém byl v první fázi obnovy (Obr. 7). Když se během 100 let nedostaví další disturbance, tak vývoj lesa pokračuje. Díky přirozenému stárnutí a působení narušení nízké intenzity začne postupně docházet k prolomení zápoje lesa

a ke vzniku mezer. V porostních mezerách se smrk přirozeně obnovuje, protože semenáčky mají přístup ke světlu. V porostních mezerách tak odrůstají nové stromy a postupně vzniká složitější struktura lesa, která zahrnuje stromy s různým stářím a výškou. Není však zcela jasné, jak heterogenní bude prostorová struktura lesa. Bednařík (2014) a Bače et al. (2009) uvádí, že může vznikat homogenní struktura lesa stejná, jako byl původní porost, ale stejně tak velmi heterogenní les s výraznými shluky stromů a velkými porostními mezerami.

Závěrečnou fází přirozené obnovy lesa je stav pralesa. Do stavu pralesa se les dostává po 300 až 400 letech vývoje bez narušení. V této fázi lze naopak předpokládat, že imobilizace dusíku bude postupně se snižujícím se růstem a zvyšujícím se stářím porostu slábnout. Dostupnost minerálního dusíku v půdě bude však také záležet na obsahu a dostupnosti uloženého organického uhlíku ve svrchních horizontech, a tedy i limitaci mikroorganismů uhlíkem (Hart et al., 1994; Tahovská et al., 2013). Choma et al. (2021) ukázali na chronosekvenci vývoje lesa v rumunských Karpatech, že organické horizonty půd mladších vývojových stádií lesa po disturbanci měly nižší poměr celkového i rozpuštěného uhlíku ku dusíku ve srovnání se starými lesy. Stark & Hart (1997) uvádí, že nitrifikace v půdách starých lesů je velmi významná, ale podstatná část vznikajících dusičnanů je v půdě imobilizována a čistá nitrifikace tak zůstává nízká. Pokud přijde disturbance v této fázi vývoje lesa, celý cyklus přirozeného vývoje se opakuje (Šantrůčková & Vrba, 2010), les se rozpadá a dostupnost minerálních forem dusíku se může zvýšit (Kaňa et al., 2013, Čada et al., 2016).



Obr. 7: Vývoj horského smrkového lesa 1 – začátek obnovy smrku, 2 – fáze vysoké náchylnosti k narušení, 3 – při narušení návrat k fázi 1, 4 – prolomení zápoje a vznik porostních mezer, v nichž se smrk obnovuje, 5 – pralesovitá fáze, 6 – intenzivní narušení a odumření většiny stromů a vrácení vývoje

na začátek, 7 – částečné narušení stromového patra, 8 – přechod rovnou do fáze obnovy lesa, tj. 5 (Šantrůčková et al., 2010).

Dlouhodobých studií, které by se zabývaly dostupností dusíku v půdách přirozených jehličnatých lesů během jejich vývoje, není mnoho. Pokud jsem nějaké studie našla, šlo o studie, ve kterých autoři měřili pouze některé z forem dusíku nebo byla doba pozorování příliš krátká a neposkytovala komplexnější obraz změn dostupnosti dusíku, ke kterým v jednotlivých vývojových stádiích lesa dochází. Často jde buď o studie bezprostředně po disturbanci, nebo studie z dospělých a starých lesů, které nedospěly ještě do stádia rozpadu.

Ve studii trvající pět let Norton et al. (2015) popisuje, jak se měnily jednotlivé formy dusíku v půdách po napadení lýkožroutem. Rozpuštěný organický dusík (DON) se v opadu v prvních čtyřech letech po napadení porostu nijak neměnil. Teprve pět let po napadení se jeho průměrná koncentrace zvýšila. Naopak NH_4^+ se zvýšil již rok po napadení a jeho koncentrace se neměnila po tři následující roky, poté klesla na stejné hodnoty jako před napadením. Změny NH_4^+ v opadu byly tedy rychlejší než změny v DON. Koncentrace NO_3^- v půdě byla první dva roky neměnná. Dusičnany se zvýšily až třetí rok po napadení a největších koncentrací dosahovaly na konci studie. K velmi podobným výsledkům došli ve své studii Karlsson et al. (2018). Jedinou dlouhodobou studií je studie Kaňa et al. (2013), která byla prováděna v povodí dvou ledovcových jezer na Šumavě. Studie byla prováděna od roku 2003 do roku 2011 a zahrnuje měření forem dusíku v půdách od 2007 do 2011, které bylo prováděno v šestitýdenním intervalu. Dusík byl sledován v půdách povodí Plešného jezera rok po napadení lýkožroutem. Povodí Čertova jezera, které je charakterem podloží, vegetace a klimatu podobné napadenému povodí, sloužilo jako kontrola. Kaňa et al. (2013) ukazují, že množství opadu vstupujícího do půdy v napadeném povodí se zvyšovalo postupně s kulminacemi v letech 2005, 2007 a 2009, kdy byl vstup opadu nejvyšší. V tomto roce (2009) byly také všechny měřené formy dusíku nejvyšší – celkový dusík (TN), DON, NH_4^+ , kromě dusičnanů. Dusičnany průkazně vzrostly až na konci studie (2010–2011), kdy už došlo k poklesu TN a DON a kulminovaly amonné ionty. Kaňa et al. (2015) v navazující studii ukazují, že dusičnany a čistá rychlost nitrifikace (stanovená jako rozdíl koncentrací v čase v laboratorně inkubovaných vzorcích) se zvýšily podstatně až v letech 2012–2013, tedy 6 až 7 let po odumření lesa na výzkumné lokalitě a v souvislosti s poklesem mikrobiální biomasy v půdách. Spolu s dusíkem se také během studie zvýšily koncentrace fosforu a zásaditých kationtů v půdách, což souviselo s rozkladem opadu. Tyto detailní výsledky jsou

však ojedinělé, a přestože jsou ucelenou časovou řadou, pochází pouze z jedné lokality na jednom výzkumném povodí.

Holden & Treseder (2013) provedli metaanalýzu 139 publikovaných studií půdních charakteristik po narušení různých typů lesa. Disturbance zahrnovaly abiotické (požár, těžba, vichřice) i biotické činitele (hmyz, patogeny – pouze dvě studie). Ukázalo se, že disturbance obecně snižují půdní mikrobiální biomasu v lesích v průměru o 29 %. Reakce se však může velmi lišit mezi abiotickými a biotickými činiteli. Mikrobiální biomasa se významně snižuje po požárech, těžbě a vichřicích, ale výsledky po napadení hmyzem jsou nejednoznačné. To souvisí právě s nedostupností dlouhodobých studií pokrývajících celý vývojový cyklus lesa a zároveň různým načasováním studií během vývoje lesa, protože, jak ukázali Kopáček et al. (2015) a Kaňa et al. (2013), půdní i mikrobiální charakteristiky se mění během fáze rozpadu a prvních let regenerace lesa velmi dynamicky. Dalším často opomíjeným faktorem, který ovlivňuje dusík v půdách během disturbancí, je změna ve funkčním složení mikrobiálního společenstva. Ta pravděpodobně bude spočívat v rozvoji společenstev rozkladačů (saprotrofních hub a bakterií) a odumírání mykorhiz během raných fází rozpadu lesa a jejich postupné regeneraci. Do jaké míry a které mykorhizní druhy disturbance přežívají a jak rychle dochází k obnově jejich funkce, není v současné době stále ještě zcela jasné. Mykorhizní houby jsou životně závislé na svých partnerských stromech a jsou tedy nejcitlivější na změny v porostu. Jakmile přestane přicházet uhlík ze stromů, může poklesnout jejich biomasa i se změnit jejich druhové složení, a tudíž i imobilizace minerálního dusíku (Choma et al., 2021).

Projektová část práce

4. Cíle projektu

Cílem projektu je stanovit dostupnost minerálních forem dusíku v půdách horských smrčín na gradientu vývoje lesa po disturbanci lýkožroutem v souvislosti se změnami rychlostí čisté mineralizace N a nitrifikace a funkčním složením mikrobiálního společenstva (ektomykorhizní houby vs. saprotrofní houby a bakterie). Současně bude v půdách stanovena i velikost mikrobiální biomasy jako základního parametru mikrobiálního společenstva, který, zdá se, významně ovlivňuje dostupnost dusíku zejména ve fázích rozpadu lesa a počátcích jeho obnovy.

5. Hypotézy

- 1) V nově disturbovaných porostech bude vysoká mineralizace N a vysoká dostupnost NH_4^+ v půdách, vysoká mikrobiální biomasa s převahou saprotrofů a naopak zde bude zanedbatelná nitrifikace a nízká dostupnost dusičnanů.
- 2) S rostoucí regenerací porostu (fáze obnovy; hustota porostu) se sníží dostupnost NH_4^+ v půdě spolu s mineralizací N a mikrobiální biomasou.
- 3) Dospělý les (fáze dorůstání, prales) bude charakteristický převahou ektomykorhizních hub a nízkou dostupností dusičnanů.

6. Návrh projektu

Projekt navrhuje studium dostupnosti dusíku v půdách horských smrčín Šumavy v závislosti na gradientu vývoje lesa po disturbanci lýkožroutem. Projekt bude prováděn v povodích Plešného jezera a Čertova jezera, jejichž lesní porosty postupně, přibližně od roku 2003 (Plešné jezero) a 2007 (Čertovo jezero), procházejí disturbancí lýkožroutem a přirozenou regenerací. Za tímto účelem bude v každém povodí vytipováno deset výzkumných ploch s kruhovou základnou o rozloze 500 m². Plochy budou na základě předběžného monitoringu, v roce předcházejícím projektu, vybrány tak, aby pokrývaly gradient třech stádií vývoje lesa: čerstvě disturbované (již napadené, odumírající, shazující jehličí, stojící neopadané kmeny s větvemi, polámané kmeny), ve fázi obnovy (v podrostu již zřetelná regenerace, převaha ležícího mrtvého dřeva), ve fázi dorůstání (vzrostlý dospělý les, který odolal lýkožroutu).

Projekt bude tříletý. V prvních dvou letech budou třikrát ročně (jaro, léto, podzim) na všech výzkumných plochách odebrány půdní vzorky a stanoveny tyto parametry: dostupnost dusíku, rychlost čisté mineralizace N a nitrifikace, velikost mikrobiální biomasy C a N, složení mikrobiálního společenstva. Zároveň bude na každé ploše stanovena struktura (druhové složení stromů) a regenerace porostu (hustota porostu). Získané půdní parametry a charakteristika mikrobiálního společenstva (funkční zastoupení mykorhiz a saprotrfních druhů hub a bakterií) bude pak vztažena k parametrům regenerace porostu. Na plochách nově disturbovaných bude určeno také množství stojících/ležících, mrtvých, případně živých dospělých stromů.

6.1 Popis studovaného území

Obě výzkumná povodí se nachází v národním parku (NP) Šumava. Povodí Plešného jezera se nachází na 48°47's.š a 13°52' v. d. v nadmořské výšce 1090 m n. m. a je z velké části bezzásahovou zónou. Rozkládá se na ploše 67 ha a jeho podloží je tvořeno žulou. Půdními typy jsou kambizemě dystrikové, podzoly a nevyvinuté organické půdy (Kopáček et al., 2002). Dominantním druhem stromu na Plešném jezeře je smrk ztepilý (*Picea abies*) (Svoboda et al., 2006).

Povodí Čertova jezera se nachází na 49°10' s. š a 11°13' v. d. v nadmořské výšce 1030 m n. m. (Svoboda et al., 2006) a se rozkládá na 89 ha, jeho podloží je tvořeno svorem. Půdními typy jsou stejně jako u povodí Plešného jezera dystrikové kambizemě, podzoly a nevyvinuté organické půdy (Kopáček et al., 2002).

V roce 2000 bylo Plešné a Čertovo jezero pokryto lesními porosty z 80-90 % a dominantní v nich byl smrk ztepilý. V menším zastoupení se v lese nacházely břízy, jeřáby a buky. Neobhospodařovaný smrkový les v povodí Plešného jezera byl v roce 2000 zdravý, podíl odumřelých stromů v tomto povodí tvořil 7 %. Mezi lety 2004-2008 byla většina lesa povodí Plešného jezera napadena lýkožroutem (*Ips typographus*) a na 93 % plochy povodí Plešného jezera odumřelo více jak 80 % původních smrků (Kopáček et al., 2015). Přírozená regenerace v povodí začala během 1-3 let po napadení lesa a mezi lety 2005-2015 se počet semenáčků smrku v některých částech povodí zvýšil až na 670 stromů ha⁻¹. Les v povodí Čertova jezera byl v roce 2000 téměř nedotčen. Až v letech 2007 a 2008 byl poškozen větrnými polomy. V letech 2007-2011 se v severní části povodí vyskytla první ohniska lýkožrouta. Plocha poškozeného lesa v povodí Čertova jezera se od roku 2000 do roku 2011 zvýšila z 4 % na 18 %. Lesy v povodí Čertova jezera začaly ale masivně odumírat až v roce

2022 a na každém povodí jak Čertova, tak i Plešného jezera zůstala zachovaná jedna plocha se vzrostlým lesem, který lýkožroutu odolal (Kopáček et al., 2020).

6.2 Metodika projektu

6.2.1 Vytyčení ploch

Bude vyměřen kruh 500 m² s poloměrem 12,616 m a střed plochy bude vyznačen hřebíkem. Takto bude vytyčeno 10 ploch na každém povodí tak, aby dohromady pokrývaly gradient lesa od nedávno disturbovaných porostů, přes různá stadia regenerace až po dospělý les.

6.2.2 Odběr vzorků půd

Půdy budou odebírány 3x ročně (konec května, srpen, konec října) ze dvou vrstev v půdním profilu – opadová vrstva (zahrnující opadový a fermentační horizont) a humusová vrstva (A horizont, tj. svrchní organominerální horizont). Vzorky budou odebírány z děr o velikosti 10 x 10 cm a budou rozmístěny přibližně: střed plochy a 6 m od středu, celkem 9 děr, ze kterých budou udělány 3 směsné vzorky na plochu (3 x opad a 3 x A horizont = 9 vzorků na analýzy z každé plochy = celkem 30 vzorků v jednom povodí, dohromady 60 vzorků). Vzorky budou při převozu umístěny do chladicího boxu (4 °C) a po přepravě budou na pracovišti ihned přesety (4 mm síto) a analyzovány. Pouze pro extrakci DNA budou přeseté vzorky zamrazeny při – 40 °C do analýzy (max. po dobu 14 dní).

6.2.3 Stanovení regenerace vegetace

Na každé ploše o výměře 500 m² se budou počítat jedinci stromů rozdělení do kategorií podle druhu a výšky v metrech. Výškové kategorie: <0.5, 0.5-1.3, 1.3-2, 2-2.5, 2.5-3, 3-3.5, 3.5-4, 4-4.5, 4.5-5 m. Poslední kategorie jsou stromy s průměrem kmenu větším než 5 cm v prsní výšce (obvykle stromy o výšce 4 až 5 m a více).

6.2.4 Měření dostupnosti dusíku – iontoměničové půdní sondy

Stanovení dostupnosti dusíku *in-situ*, tedy přímo v terénu, představuje množství N, který se uvolňuje do půdního roztoku a ukazuje, zda množství minerálního N v půdách převyšuje jeho imobilizaci vegetací a půdní mikrobiální biomasou (Binkley & Matson, 1983, Tahovská et al., 2010).

Na každou plochu bude umístěno 5 iontoměničových půdních sond do opadového horizontu (O) a 5 do 10 cm v organickém horizontu (podle tloušťky A horizontu). Na jednu

výzkumnou plošku bude tedy použito 10 iontoměničových půdních sond. Celkem v každém povodí bude 100 iontoměničů, které budou exponovány 3 x ročně v souladu s odběry půd (konec května, srpen, konec října). Iontoměničové půdní sondy budou vyrobeny z PVC trubky o průměru 6 cm a výšce 1 cm (plocha 27.3 cm²), které budou polepeny pomocí neutrálního akvaristického silikonu polyamidovou tkaninou Uhelon (velikost oka 42 μm, Uhelon 160T, Silk & Progress, (Tahovská et al., 2010)). Iontoměnič pro plnění sond tvoří směsný iontoměnič v poměru 1:1 (Katex C100E: Anex A520E, Purolite USA), který bude připraven podle Tahovská et al., 2010.

Iontoměniče po expozici v terénu budou zpracovány dynamickou elucí, tedy proplachovány 10% NaCl na skleněných kolonách podle postupu Tahovské et al., 2010. Koncentrace iontů NH₄⁺ a NO₃⁻ budou měřeny spektrofotometricky pomocí automatizovaného spektrofotometru (QuickChem 8500, Lachat Instruments, USA).

6.2.5 Velikost mikrobiální biomasy C a N

Velikost mikrobiální biomasy představuje celkovou zásobu N a C v biomase mikroorganismů v půdě, a tedy i nepřímou ukazuje na velikost procesu mikrobiální imobilizace N. Množství dusíku a uhlíku v mikrobiální biomase bude stanoveno fumigačně extrakční metodou. Odebrané a přeseté vzorky půdy (10 g) budou umístěny do skleněných lahví (250 ml) ve dvou sadách. První sada vzorků bude extrahována hned 0.5 M K₂SO₄ (K₂SO₄: půda, 4: 1, v/w, třepání 45 min/150 opm, odstředění 4000 ot/min/10 min, filtrováno přes 0,45 μm filtr ze skleněných vláken). Druhá sada bude extrahována po 24hodinové fumigaci v parách chloroformu (stabilizovaný amylenem). Celkový dusík a uhlík v extraktech budou měřeny na přístroji LiquiTOC II (Elementar, Německo). Mikrobiální biomasa uhlíku a dusíku bude vypočtena jako rozdíl celkového uhlíku a dusíku v extraktu mezi fumigovanou a nefumigovanou půdou (Vance et al., 1987).

6.2.6 Stanovení rychlosti čisté mineralizace N a nitrifikace

Rychlost čisté mineralizace a nitrifikace představuje rovnováhu mezi produkcí a imobilizací obou minerálních forem N mikroby v půdách, tedy zjednodušeně jde o potenciál půd tvořit minerální dusík v optimálních podmínkách. K posouzení čisté mineralizace N a nitrifikace budou vzorky čerstvé přeseté půdy (5 g) umístěny do skleněných lahví (250 ml) ve dvou sadách. Vlhkost vzorku bude upravena na 60-70 % vodní kapacity přidáním destilované vody. Poté budou láhve uzavřeny perforovanou folií (Parafilm) a inkubovány při 15 °C ve tmě. První sada půd bude extrahována (0.5 M K₂SO₄) po jednom týdnu a druhá sada po třech týdnech

(K₂SO₄: půda, 4: 1, v/w, třepání 45 min/150 opm, odstředění 4000 ot/min/10 min, filtrováno přes 0,45 µm filtr ze skleněných vláken). Koncentrace iontů NH₄⁺ a NO₃⁻ budou měřeny spektrofotometricky pomocí automatizovaného spektrofotometru (QuickChem 8500, Lachat Instruments, USA). Čistá míra mineralizace N a nitrifikace bude vypočtena jako rozdíl mezi konečnou (21 dní) a počáteční (7 dní) koncentrací NH₄⁺ a NO₃⁻ v extraktech a vydělená dobou inkubace (Ste-Marie & Paré, 1999).

6.2.7 Složení mikrobiálního společenstva, funkční analýza

Půdní DNA bude extrahována z 0.25 g zamražené půdy pomocí DNAeasy PowerSoil Pro Kit (Qiagen, Germantown, MD, USA) a kvantita hub a bakterií bude určena pomocí FastStart SybrGREEN Roche® (Supermix Leininger et al., 2006) na přístroji StepOne™ Real-Time PCR System (Life Technologies, USA) podle postupu uvedeného v Tahovská et al. 2020. V případě bakterií budou použity primery 341Fa 534R (Muyzer et al., 1993) a v případě hub primery nu-SSU-0817-50 a nu-SSU1196-30 (Borneman & Hartin, 2000). Složení mikrobiálního společenstva bude popsáno pomocí sekvenování získané DNA (bakteriální gen SSU rRNA – primer 515F/806R a ITS houbový gen – primery ITS1f a ITS2) pomocí systému Illumina (externí dodavatel, SEQme s.r.o., Česká republika). Bude následovat bioinformatické zpracování dat a vyhodnocení struktury mikrobiálního společenstva včetně přiřazení životní strategie hub podle (Tahovská et al., 2020). Životní strategie bude ručně přiřazena k houbovým OTU na úrovni rodu a druhu pomocí databáze FUNGuild v 1.1 (Nguyen et al., 2016).

6.3 Očekávané výstupy

- Získaná data dostupnosti N v půdách v souvislosti s rychlostí mineralizace N a nitrifikace, funkčním složením mikrobiálního společenstva a velikostí mikrobiální biomasy zkombinujeme s daty o stavu vegetace, což nám umožní vyhodnotit dostupnost dusíku v jednotlivých stádiích vývoje lesa po disturbanci.
- Výsledná data budou publikována ve dvou článcích v odborných časopisech.
- Vznikne populárně naučný článek pro časopis NP Šumava – Silva Gabreta.
- Závěrečné vyhodnocení projektu a odprezentování výsledků na odborném semináři za účasti zástupců správy NP Šumava, dodání souhrnné zprávy pro potřeby parku.

7. Náklady projektu a jejich zdůvodnění

Celkové náklady projektu činí 3 156 000 Kč (Tab. 3). Pro projekt nebude pořizován žádný drobný dlouhodobý hmotný ani nehmotný majetek. Položka materiál zahrnuje převážně náklady pro výrobu iontoměničových půdních sond (PVC trubka, syntetická tkanina, lepidlo, iontoměničové pryskyřice) a činnosti v terénu (dřevěné kolíky, sáčky apod.), potřebné chemikálie (např.: NaCl, chloroform, síran draselný, spotřební materiál a chemikálie k přístrojům pro N a C analýzy, kity pro extrakci DNA, qPCR master mix, pufry) a doplňkový laboratorní materiál (lahvičky, sáčky, centrifugačky, špičky pro pipety, vialky, kryozkumavky pro uchování DNA a půdních extraktů) pro provedení analýz v laboratoři a také náklady na pohonné hmoty (3 výjezdy ročně v rozsahu 980 km, 5Kč/km). Režijní náklady činí max. 20 % z celkové částky projektu. Do položky služby jsou zahrnuty sekvenace DNA (3x ročně, 2 roky, 360 vzorků celkem, obvyklá cena za vzorek ~1500Kč), sekvenace hub i bakterií, pronájem bomby se syntetickým vzduchem k přístroji LiquiTOC. Položka cestovné zahrnuje diety a ubytování při výjezdech na odběr vzorků (šest dvoudenních výjezdů pro 4 pracovníky). Ve mzdách je zahrnut 70 % úvazek laboratorního technika v prvních dvou letech (pomoc v terénu, hrubé zpracování půd – setí, navažování apod., analytické koncovky FIA a LiquiTOC, extrakce DNA a qPCR) a 20 % v třetím roce (dokončovací práce), 30 % úvazek pro vědeckého pracovníka – bioinformatika (zpracování a vyhodnocení sekvenačních dat, vzorkování v terénu, metodický dohled nad extrakcí DNA a qPCR), 20 % úvazek pro vědeckého pracovníka – půdně mikrobiální parametry, dostupnost dusíku a administrativa projektu. Další položkou nákladů budou 4 externí spolupráce na DPP: v prvních dvou letech stanovení regenerace porostu 3 pracovníci (250Kč/hod, práce v terénu 1x ročně na dva dny, 10tis/osoba/rok), třetí rok celkové vyhodnocení získaných dat (1 x 10 tis/1 pracovník) a 1 externí spolupráce na DPP (výroba 20 ti skleněných kolon pro eluci iontoměničů 1x 20 tis).

Mzdy vycházejí z následujících mzdových tarifů:

laboratorní technik 32 000 – 100%

1. vědecký pracovník 35 000 – 100 %

2. vědecký pracovník 35 000 – 100 %

Věcné náklady	Požadováno v Kč
Materiál	331 000 Kč
Doplňkové (režijní) náklady	526 000 Kč
Služby	540 000 Kč
Cestovní náklady	40 000 Kč

Mzdové náklady	
Mzdy	1 245 000 Kč
OON	50 000
Povinné zákonné odvody	424 000 Kč
Celkové náklady projektu	3 156 000 Kč

Tab. 3: Rozpočet.

8. Časový harmonogram

Projekt bude probíhat od ledna 2024 do prosince 2026 (Tab. 4). V prvních třech měsících r. 2024 a 2025 budou vždy probíhat přípravné práce projektu (zejm. výroba iontoměničových kolon). Odběry vzorků proběhnou v prvních dvou letech třikrát ročně vždy květen, srpen, říjen. Již po prvním odběru začne probíhat zpracovávání vzorků a po dobu dvou let se bude činnost opakovat. Výsledky se budou zpracovávat a vyhodnocovat průběžně po celou dobu projektu. V třetím roce proběhne kompletní zpracování a vyhodnocení bio infromatických dat, syntéza všech získaných dat včetně dat o stavu vegetace a bude vypracována závěrečná zpráva pro zástupce NP Šumava. Výsledky budou publikovány a prezentovány během třetího roku projektu.

ROK	2024				2025				2026			
Činnosti	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Přípravné práce												
Odběr vzorků půd												
Monitoring stavu vegetace												
Eluce ionexů												
Laboratorní analýzy půdních vzorků												
Sekvenace půdní DNA												
Zpracování sekvenčních dat												
Vyhodnocení dat												
Publikace článků												
Prezentace pro NP Šumava, Zpráva												

Tab. 4: Harmonogram projektu.

9. Závěr

Cílem této práce bylo zpracování rešerše literatury o dostupnosti minerálních forem dusíku v půdách horských smrčín během jejich přírodního vývoje po disturbance lýkožroutem. Z dostupné literatury vyplynulo, že N je v půdách lesů napadeném lýkožroutem několikanásobně vyšší než v lesích nedisturbovaných. Po disturbance zpravidla rostou všechny formy dusíku v půdě, ale v některých případech dochází ke zpoždění nárůstu koncentrace dusičnanů v extraktech z půd. Dusičnany se mohou zvýšit ihned nebo až po několika letech od disturbance lýkožroutem. Záleží pravděpodobně na tom, v jaké z vývojových fází se les nachází, zda je právě v rozpadu nebo ve fázi obnovy, anebo dorůstání. S tím bude souviset i velikost mikrobiální biomasy v půdách, a tedy i imobilizace N mikroby a související procesy mineralizace N a nitrifikace. Rovnováha mezi imobilizací a mineralizací N by mohla být také ovlivněna zastoupením saprotrofů (zejm. mineralizace N) a ektomykorhizních hub (zejm. imobilizace N) v souvislosti s rozpadem, resp. obnovou lesa. Stejně tak bude při imobilizaci N hrát roli hustota obnovující se vegetace. V navržené projektové části jsem proto chtěla zjistit, jak se mění dostupnost dusíku přímo v terénu měřena pomocí iontoměničových půdních sond v jednotlivých fázích vývoje lesa, v závislosti na stavu vegetace a v souvislosti se změnami rychlostí mineralizace N a nitrifikace, velikostí mikrobiální biomasy a funkčním složením mikrobiálního společenstva.

Uskutečnění navrhovaného projektu poskytne důležité informace z hlediska poznání probíhajících dějů v lesních ekosystémech zasažených disturbancemi a během jejich přirozené regenerace, což může být vodítkem při volbě budoucího vhodného managementu takovýchto území. Informace o dostupnosti dusíku v půdách, velikosti mikrobiální biomasy a rychlosti mineralizace N a nitrifikace v jednotlivých vývojových stádiích lesa (data o stavu vegetace) mohou být vhodné pro nastavení vhodného managementu i hospodářských lesů a budoucí lesnickou praxi (např. management po kácení, volba druhové skladby lesa, přihnojování sazenic apod.). Dále mohou být důležité pro výuku a pochopení chování lesních ekosystémů.

Zdroje

- Ackerman, D., Millet, D. B., & Chen, X. (2019). Global Estimates of Inorganic Nitrogen Deposition Across Four Decades. *Global Biogeochemical Cycles*, 33(1), 100–107. <https://doi.org/10.1029/2018GB005990>
- Bače, R., Janda, P., & Svoboda, M. (2009). Vliv mikrostaniště a horního stromového patra na stav přirozené obnovy v horském smrkovém lese na Trojmezí. *Silva Gabreta*, 15(1), 67–84.
- Bednařík, J. (2014). *Sekundární sukcesie smrku ztepilého (Picea abies /L./ Karst.) v oblasti Medvědí hory* [Diplomová práce]. Česká zemědělská univerzita v Praze, 72 p.
- Binkley, D., & Matson, P. (1983). Ion Exchange Resin Bag Method for Assessing Forest Soil Nitrogen Availability. *Soil Science Society of America Journal*, 47(5), 1050–1052. <https://doi.org/https://doi.org/10.2136/sssaj1983.03615995004700050045x>
- Borneman, J., & Hartin, R. (2000). PCR Primers That Amplify Fungal rRNA Genes from Environmental Samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(10), 4356–4360.
- Čada, V., Brůna, J., Svoboda, M., & Wild, J. (2013). Dynamika horských smrčů na Šumavě. *Živa*, 61(5), 213–216.
- Čada, V., Morrissey, R. C., Michalová, Z., Bače, R., Janda, P., & Svoboda, M. (2016). Frequent severe natural disturbances and non-equilibrium landscape dynamics shaped the mountain spruce forest in central Europe. *Forest Ecology and Management*, 363, 169–178. <https://doi.org/10.1016/J.FORECO.2015.12.023>
- Čadová, P. (2021). *Vliv klimatických změn na lesy České republiky* [Diplomová práce]. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 51 p.
- Choma, M., Šamonil, P., Kaštovská, E., Bárta, J., Tahovská, K., Valtera, M., & Šantrůčková, H. (2021). Soil Microbiome Composition along the Natural Norway Spruce Forest Life Cycle. *Forests*, 12(410), 1–24. <https://doi.org/10.3390/f12040410>
- Chovancová, S. (2012). *Geochemické aspekty acidifikace způsobené vlivem kyselých emisí v České republice* [Diplomová práce]. Univerzita Palackého Olomouc, 40 p.
- Clapham, W. B. (1973). *Natural Ecosystems*. Macmillan Publishing, 248 p.
- Cleveland, C. C., Reis, C. R. G., Perakis, S. S., Dynarski, K. A., Batterman, S. A., Crews, T. E., Gei, M., Gundale, M. J., Menge, D. N. L., Peoples, M. B., Reed, S. C., Salmon, V. G., Soper, F. M., Taylor, B. N., Turner, M. G., & Wurzbarger, N. (2022). Exploring the Role of Cryptic Nitrogen Fixers in Terrestrial Ecosystems: A Frontier in Nitrogen Cycling Research. *Ecosystems*, 25, 1653–1669. <https://doi.org/10.1007/s10021-022-0080>
- Cornell, S. E., Jickells, T. D., Cape, J. N., Rowland, A. P., & Duce, R. A. (2003). Organic nitrogen deposition on land and coastal environments: a review of methods and data. *Atmospheric Environment*, 37(16), 2173–2191. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(03\)00133-X](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(03)00133-X)
- Daims, H., & Wagner, M. (2018). Nitrospira. *Trends in Microbiology*, 26(5), 462–463. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.02.001>

- Danková, L. (2012). *Antrakologie a NMR spektroskopie v paleoekologickém výzkumu černoze* [Diplomová práce]. Univerzita Karlova v Praze, 84 p.
- Dong, L. F., Sobey, M. N., Smith, C. J., Rusmana, I., Phillips, W., Stott, A., Osborn, A. M., & Nedwell, D. B. (2011). Dissimilatory reduction of nitrate to ammonium, not denitrification or anammox, dominates benthic nitrate reduction in tropical estuaries. *Limnology and Oceanography*, 56(1), 279–291. <https://doi.org/10.4319/lo.2011.56.1.0279>
- Gilliam, F. S. (2016). Forest ecosystems of temperate climatic regions: from ancient use to climate change. *New Phytologist*, 212(4), 871–887. <https://doi.org/10.1111/nph.14255>
- Gryndler, M. (2004). *Mykorhizní symbióza O soužití hub s kořeny rostlin*. Academia, 366 p.
- Gutiérrez-Hernández, O., & García, L. V. (2021). Relationship between precipitation and species distribution. *Precipitation: Earth Surface Responses and Processes*, 239–259. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822699-5.00010-0>
- 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>
- Högberg, P., Näsholm, T., Franklin, O., & Högberg, M. N. (2017). Tamm Review: On the nature of the nitrogen limitation to plant growth in Fennoscandian boreal forests. *Forest Ecology and Management*, 403, 161–185. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.04.045>
- Holden, S. R., & Treseder, K. K. (2013). A meta-analysis of soil microbial biomass responses to forest disturbances. *Frontiers in Microbiology*, 4, 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00163>
- Holdridge, L. R. (1967). *Life Zone Ecology*. Tropical Science Center San Jose, 206 p.
- 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>
- Jeník, J., & Pavliš, J. (2011). *Terestrické biomy: Lesy a bezlesí země*. Mendelova univerzita v Brně, 238 p.
- 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., & Šantrůčková, 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>
- Karen, P. (2015). Oxidation State, A Long-Standing Issue! *Angewandte Chemie International Edition*, 54(16), 4716–4726. <https://doi.org/10.1002/anie.201407561>
- Karlsson, P. E., Akselsson, C., Hellsten, S., & Pihl Karlsson, G. (2018). A bark beetle attack caused elevated nitrate concentrations and acidification of soil water in a Norway spruce stand. *Forest Ecology and Management*, 422, 338–344. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.04.021>
- Kopáček, J., 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, 1–13.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137518>
- Kopáček, J., Cudlín, P., Fluksová, H., Kaňa, J., Pícek, 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, J., Stuchlík, E., Veselý, J., Schaumburg, J., Anderson, I. C., Fott, J., Hejzlar, J., & Vrba, J. (2002). Hysteresis in Reversal of Central European Mountain Lakes from Atmospheric Acidification. Water, Air, & Soil Pollution. *Water, Air and Soil Pollution: Focus*, 2(2), 91–114.
<https://doi.org/10.1023/A:1020190205652>
- Kratina, J., Borůvka, L., Tejnecký, V., Drábek, O., & Šebek, O. (2010). Rozdíly ve vlastnostech horských lesních půd na kyselých a bazických matečných horninách. *Geologické Výzkumy Na Moravě a ve Slezsku*, 17(1–2), 50–57.
- Leitgeb, S., Vošta, J., & Leitgeb, J. (1983). *Mikrobiologie*. Vysoká škola zemědělská Praha, 337 p.
- Lundström, U. S., Van Breemen, N., & Bain, D. (2000). The podzolization process. A review. *Geoderma*, 94(2–4), 91–107. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(99\)00036-1](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(99)00036-1)
- Matějka, K., Dušek, D., Jurásek, A., Kacálek, D., Leugner, J., Novák, J., Souček, J., & Špulák, O. (2016). *Katalog pěstebních opatření pro zvýšení biodiverzity lesů v chráněných územích*. Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, 64 p.
- Miko, L., Šantrůčková, H., & Máchal, A. (2019). *Život v půdě – Příručka pro začínající půdní biology*. Lipka, 240 p.
- Mikoláš, M., Svitok, M., Bollmann, K., Reif, J., Bače, R., Janda, P., Trotsiuk, V., Čada, V., Vítková, L., Teodosiu, M., Coppes, J., Schurman, J. S., Morrissey, R. C., Mrhalová, H., & Svoboda, M. (2017). Mixed-severity natural disturbances promote the occurrence of an endangered umbrella species in primary forests. *Forest Ecology and Management*, 405, 210–218.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.09.006>
- Möllerová, J. (2006). Symbiotická fixace dusíku: Bakterie *Rhizobium* s. l. a *Frankia*. *Živa*, 1, 9–12.
- Muyzer, G., de Waal, E., & Uitterlinden, A. G. (1993). Profiling complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S Rna. *Applied and environmental microbiology*, 59, 695–700.
- Nguyen, N. H., Song, Z., Bates, S. T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., Schilling, J. S., & Kennedy, P. G. (2016). FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 20, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.06.006>
- 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>
- Olajuyigbe, S. O., Tobin, B., Gardiner, P., & Nieuwenhuis, M. (2011). Stocks and decay dynamics of above- and belowground coarse woody debris in managed Sitka spruce forests in Ireland. *Forest Ecology and Management*, 262(6), 1109–1118.
<https://doi.org/10.1016/J.FORECO.2011.06.010>

- Osman, K. T. (2013). Organic Matter of Forest Soils. In: *Forest Soils: Properties and Management*. Springer International Publishing, 63–76. https://doi.org/10.1007/978-3-319-02541-4_4
- Oulehle, F., Wright, R. F., Svoboda, M., Bače, R., Matějka, K., Kaňa, J., Hruška, J., Couture, R. M., & Kopáček, J. (2019). Effects of Bark Beetle Disturbance on Soil Nutrient Retention and Lake Chemistry in Glacial Catchment. *Ecosystems*, 22(4), 725–741. <https://doi.org/10.1007/s10021-018-0298-1>
- Paul, E. A. (2015). *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry*. Academic Press, 582 p.
- Payá-Tormo, L., Coroian, D., Martín-Muñoz, S., Badalyan, A., Green, R. T., Veldhuizen, M., Jiang, X., López-Torrejón, G., Balk, J., Seefeldt, L. C., Burén, S., & Rubio, L. M. (2022). A colorimetric method to measure in vitro nitrogenase functionality for engineering nitrogen fixation. *Scientific Reports*, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14453-x>
- Prosser, J. I., & Nicol, G. W. (2012). Archaeal and bacterial ammonia-oxidisers in soil: the quest for niche specialisation and differentiation. *Trends in Microbiology*, 20(11), 523–531. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.08.001>
- Říhová Ambrožová, J. (2007). *Encyklopedie hydrobiologie* [online skripta]. VŠCHT.
- Růžek, M. (2016). *Zásoby a toky uhlíku a dusíku ve dvou lesních ekosystémech Krušných hor* [Diplomová práce]. Univerzita Karlova v Praze, 92 p.
- Šantrůčková, H. (2014). *Základy ekologie půdy* (pp. 75–95). Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 116 p.
- Šantrůčková, H., Vrba, J., Křenová, Z., Svoboda, M., Benčoková, A., Edwards, M., Fuchs, R., Hais, M., Hruška, J., Kopáček, J., Matějka, K., & Rusek, J. (2010). *Co vyprávějí šumavské smrčiny: Průvodce lesními ekosystémy Šumavy*. Správa NP a CHKO Šumava, PŘF JČU a ČSPE, 153 p.
- Šarapatka, B. (2014). *Pedologie a ochrana půdy*. Univerzita Palackého Olomouc, 232 p.
- Schimel, J. P., & Bennett, J. (2004). Nitrogen mineralization: Challenges of a changing paradigm. *Ecology*, 85(3), 591–602. <https://doi.org/10.1890/03-8002>
- Schroth, G. (1998). A review of belowground interactions in agroforestry, focusing on mechanisms and management options. *Agroforestry Systems*, 43(1), 5–34.
- 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>
- Ste-Marie, C., & Paré, D. (1999). Soil, pH and N availability effects on net nitrification in the forest floors of a range of boreal forest stands. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(11), 1579–1589. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00086-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00086-3)
- Štursová, M., Šnajdr, J., Cajthaml, T., Bárta, J., Šantrůčková, H., & Baldrian, P. (2014). When the forest dies: the response of forest soil fungi to a bark beetle-induced tree dieback. *The ISME Journal*, 8(9), 1920–1931. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.37>
- Šváblová, B. (2012). *Vývoj lesa ve střední Evropě v holocénu* [Diplomová práce]. Univerzita Karlova v Praze, 57 p.

- Svoboda, M., Matějka, K., & Kopáček, J. (2006). Biomass and element pools of selected spruce trees in the catchments of Plešné and Čertovo Lakes in the Šumava Mts. *Journal of Forest Science*, 52(10), 482–495.
- Tahovská, K., Choma, M., Kaštovská, E., Oulehle, F., Bárta, J., Šantrůčková, H., & Moldan, F. (2020). Positive response of soil microbes to long-term nitrogen input in spruce forest: Results from Gårdsjön whole-catchment N-addition experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 143, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107732>
- 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 Environmental Research*, 15(6), 553–564.
- Vance, E. D., Brookes, P. C., & Jenkinson, D. S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(6), 703–707. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90052-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6)
- Waroszewski, J., Egli, M., Kabala, C., Kierczak, J., & Brandova, D. (2016). Mass fluxes and clay mineral formation in soils developed on slope deposits of the Kowarski Grzbiet (Karkonosze Mountains, Czech Republic/Poland). *Geoderma*, 264, 363–378. <https://doi.org/10.1016/J.GEODERMA.2015.08.044>
- Zlatník, A. (1976). *Přehled skupin typů geobiocénů původně lesních a křovinných v ČSSR*. Geogr. Úst. Čs. Akad. Věd, 55–64.