

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

**Přírodovědecká fakulta**

**Role žížal v rozkladu a stabilizaci  
kukuřičné biomasy v půdě**

**Bakalářská práce**

**Anna Kellerová**

Školitelka: Mgr. Veronika Jílková, Ph.D.

Garant: RNDr. Jiří Kaňa, Ph.D.

České Budějovice 2022

Kellerová, A., 2022: Role žížal v rozkladu a stabilizaci kukuřičné biomasy v půdě. [The role of earthworms in decomposition and stabilization of corn biomass in the soil, Bc. Thesis, in Czech] – 35 p. Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

**Anotace:**

Bakalářská práce popisuje roli žížal v rozkladu labilní a rekalci-trantní formy kukuřičné biomasy. Tato práce také objasňuje způsoby, jakými žížaly mohou usnadnit stabilizaci uhlíku z kukuřičné biomasy do stabilních půdních frakcí.

**Annotation:**

This bachelor thesis describes the role of earthworms in decomposition of a labile and recalcitrant form of corn biomass. It also clarifies the ways in which earthworms can facilitate stabilization of carbon from the corn biomass into stabilized soil fractions.

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

České Budějovice, 12. 4. 2022

.....

Anna Kellerová

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala své školitelce Mgr. Veronice Jílkové, Ph. D. za příležitost provedení bakalářské práce na Ústavu půdní biologie, za její trpělivost a velkou pomoc při psaní práce. Dále děkuji RNDr. Jiřímu Kaňovi, Ph. D. za cenné rady při psaní práce. Děkuji také celé své rodině za podporu v průběhu celého studia.

## Obsah

1	Úvod	1
2	Literární rešerše	3
2.1	Půda	3
2.2	Složení půdy	3
2.2.1	Minerální složka	3
2.2.2	Půdní organická hmota	4
2.3	Zdroje půdní organické hmoty v půdě	4
2.4	Rozložitelnost organických látek	5
2.4.1	Rozklad organických látek a respirace půdy	6
2.5	Vztah minerální a organické složky	6
2.6	Obsah C a půdní organické hmoty v půdě	8
2.7	Ukládání a fixace C	9
2.8	Půdní organismy	10
2.8.1	Půdní mikroorganismy	10
2.8.2	Půdní mikrofauna	10
2.8.3	Půdní mezofauna	10
2.8.4	Půdní makrofauna	11
2.8.5	Půdní megafauna	11
2.9	Žížaly a jejich vliv na půdní organickou hmotu	12
3	Cíle práce a hypotézy	13
4	Metody a manipulační pokus	14
4.1	Odběr a příprava půdy a žížal	14
4.2	Založení manipulačního pokusu	14
4.3	Měření respirace půdy	16
4.4	Frakcionace půdy	18
4.5	Měření na TC analyzátoru a stanovení C v jednotlivých frakcích	22

4.6	Statistické zpracování dat respirace a frakcionace	23
5	Výsledky	23
5.1	Respirace	23
5.2	Frakcionace	25
6	Diskuse	28
7	Závěr	30
8	Seznam literatury	31

# 1 Úvod

Mezi aktuální otázky půdní ekologie se řadí zejména ukládání uhlíku (C) a jeho stabilizace v půdě pomocí půdních organismů (Angst a kol., 2019). V dnešní době dochází na zemědělských půdách k nadměrnému čerpání půdních živin častými mechanickými zásahy (sklizení jednoletých plodin nebo orba). Pravidelná roční sklizeň rychle plodících jednoletých plodin má za následek nedostatečné množství vstupujících rostlinných zbytků do půdy (McLauchlan, 2006). Častá orba půdy navíc způsobuje rozrušení vazeb mezi velkými půdními částicemi, tudíž není možné navázat živiny a stabilizovat C vazbou na větší částice a různé velké agregáty (Bronick a Lal, 2005). Živiny jsou následně vyplavovány a volný C se dostává do vodních ekosystémů nebo atmosféry. Právě procesy při fixaci a stabilizaci C zabraňují uvolňování volného C do atmosféry a tím pomáhají snižovat koncentraci skleníkového plynu oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>) (Del Galdo a kol., 2003).

Aby se mohl C navázat zpět do půdy, je nutné nejprve dodat do půdy zdroj organického C, například ve formě posklizňových zbytků rostlin (čerstvé biomasy) nebo biouhlu (zuhelnatělé biomasy). Rostlinné zbytky ve formě biomasy nebo biouhlu se stávají potravou půdních organismů, přičemž podléhají enzymatickým a chemickým přeměnám (Šantrůčková a kol., 2018). Mikroorganismy rostlinné zbytky částečně zapracují do své biomasy, částečně je zpracují na produkty metabolismu, které jsou následně využity dalšími dekompozitory. Zbytek je zmineralizován na CO<sub>2</sub> a následně je uvolněn do atmosféry (Miko a kol., 2019).

Pomocí půdních živočichů a jejich metabolismu jsou rostlinná biomasa a biouhel rozloženy různou rychlostí lišící se dostupností obsaženého C. Čerstvá biomasa se rozkládá rychleji kvůli obsahu velkého množství snadno dostupného (labilního) C pro mikroorganismy (Bossuyt a kol., 2004). Procesem vzniku biouhlu (zuhelnatěním) získává biouhel složitě uspořádanou chemickou strukturu a pevně navázaný C (Sohi a kol., 2010). Takto navázaný C je hůře dostupným (rekalcitrantním) zdrojem pro mikroorganismy a dochází k pomalému rozkladu biouhlu (Ferreira a kol., 2021).

Postupnými rozkladnými procesy se původní zdroj organického C přemění na půdní organickou hmotu (angl. soil organic matter, SOM), která je jedním z největších zásobníků C a energie v suchozemských ekosystémech (Šantrůčková a kol., 2018). SOM je důležitá pro udržení kvality a úrodnosti půdy, zadržování vody v půdě a odolnosti půdy proti erozi. Přímý vstup C do půdy formou SOM zajišťují hlavně rostliny a jiní primární producenti, jako jsou například řasy a sinice (Miko a kol., 2019). Pro ukládání C do půdy je však nutné SOM

následně během postupných fyzikálních a biochemických procesů přeměnit a tím stabilizovat, aby nedocházelo k její mineralizaci, a tím i k ochuzování půdy o C (Šimek a kol., 2019).

Množství a stabilita C v půdě závisí na aktivitě půdních mikroorganismů a živočichů, která je ovlivněna množstvím a kvalitou rostlinného materiálu. K zajištění průběhu hlavních půdních procesů dochází pomocí obrovského druhového bohatství a vysoké početnosti půdních organismů. Díky tomu se jejich potravní preference překrývají a dochází také k překryvu funkcí zajišťovaných organismy (Šantrůčková a kol., 2018). Mezi půdní organismy se řadí mikroflóra (např. bakterie, houby a řasy), mikrofauna (např. prvoci, hlístice), mezofauna (např. roupice, roztoči), makrofauna (např. žížaly, korýši, pavoukovci) a megafauna (např. plazi, hmyzožravci, hlodavci). Jedněmi z nejdůležitějších živočichů pro ukládání C do stabilnějších frakcí a zabránění jeho rozkladu jsou však žížaly (Miko a kol., 2019).

Pro stabilizaci a ukládání C v půdě je zásadní potravní strategie žížal. Žížaly se živí mrtvou organickou hmotou, kterou ale konzumují s minerální složkou půdy (Miko a kol., 2019). Během průchodu trávicím traktem dochází k chemické přeměně SOM, ale také k jejímu fyzikálnímu vázání na minerální částice (Angst a kol., 2019). Vztah žížal a C v půdě byl již tématem mnoha studií. Například studie o vlivu žížal na zabudování rostlinných zbytků z kořenů a listů do půdních agregátů v lesních půdách potvrdila pozitivní vliv žížal na stabilizaci C v agregátech (Yavitt a kol., 2015). Po tříleté inkubaci byl zabudovaný C hůře rozložitelný, což indikuje vliv žížal na stabilizaci C na delších časových škálách. Další výzkum se zabýval přeměnou těžce rozložitelných částí rostlin do mikrobiální nekromasy a ukázal důležitost přítomnosti žížal v tomto procesu (Angst a kol., 2019).

Cílem této práce je porovnat vliv žížal na rozklad čerstvé kukuřičné biomasy a zuhelnatělé kukuřičné biomasy (biouhlu). Dále bude objasněn vliv žížal na stabilizaci a vazbu labilního C z čerstvé biomasy a rekalciřantního C ze zuhelnatělé biomasy na povrch minerální částic a do půdních agregátů. Výsledek práce by mohl usnadnit výběr udržitelného zdroje organického C pro obohacování půd a zároveň pro ukládání C do půdy, které následně vede ke zmírnění změny klimatu.

## **2 Literární rešerše**

### **2.1 Půda**

Půda tvoří spojnici mezi atmosférou, litosférou a hydrosférou a je důležitou složkou veškerých suchozemských ekosystémů (Smith a kol., 2015). Je součástí rozkladných potravních řetězců, a tedy koloběhů živin, včetně hlavních biogenních prvků (např. C, dusíku (N) a fosforu (P)). Půda má různé důležité funkce pro zajištění fungování biosféry (Paul, 2016). Mechanická funkce půdy je v tvorbě substrátu a transportu živin (Smith a kol., 2015; Miko a kol., 2019). Umožňuje také oporu a ochranu pro organismy. Fyzikální funkce zahrnuje fyzikální parametry prostředí (např. vlhkost, salinitu, teplotu). Chemická funkce spočívá ve zdroji iontů nebo médiu pro rozklad a syntézu látek (Paul, 2016). Nezbytná funkce půdy je biologicko-ekologická. Tato funkce zahrnuje zásobník C, který má vliv na globální klima. Půda je také prostředím pro různé druhy organismů a stabilním prvkem ekosystému.

### **2.2 Složení půdy**

Půda se skládá ze tří základních složek, a to z vody, vzduchu a pevné složky. Voda je nejdůležitějším rozpouštědlem a je podmínkou pro živé organismy (Schjønning a Rasmussen, 2000; Huang a kol., 2022). Půdní roztok s živinami je nutný pro růst a výživu rostlin. Voda je také životním prostředím pro mikroorganismy a mikrofaunu. Výjimkou jsou mycelia hub a aktinobakterií, které jsou schopny přerůst póry vyplněné vzduchem. Vzduch v půdě je složen z dusíku (N<sub>2</sub>), kyslíku (O<sub>2</sub>) a CO<sub>2</sub>. V půdě je vyšší koncentrace CO<sub>2</sub> než v atmosféře.

Pevná složka půdy se dělí na anorganickou (minerální) a organickou složku (Šantrůčková a kol., 2018). Anorganickou složku tvoří minerální částice různé velikosti, tvaru a chemického složení, které je ovlivněno matečnou horninou. Matečná hornina má také vliv na uvolňování živin (např. P, vápníku, draslíku). Pod organickou složku se řadí SOM tedy neživá organická hmota a živé organismy.

#### **2.2.1 Minerální složka**

Minerální částice svou velikostí ovlivňují půdní zrnitost, podle které se dále půdy rozlišují na půdní druhy (Šantrůčková a kol., 2018). Písčité půdy s převahou velkých minerálních částic (0,05 až 2 mm) mají nejhrubší zrnitost. Kvůli velkým částicím mají písčité půdy velké póry, které nedokáží vázat vodu a živiny, a proto snadno vysychají a jsou chudé na živiny, které se snadno vymyjí (Siddique a kol., 2001). Pohyb organismů i růst rostlinných kořenů je v hrubozrnných půdách snadný, ale nevýhodou je kolísání vlhkosti, teploty a nedostatek organické hmoty (Miko a kol., 2019). Nejjemnější zrnitost mají půdy jílovité, které mají



převahu minerálních částic menších než 0,002 mm (Šantrůčková a kol., 2018). Díky malým pórum dokáží lépe navázat vodu a velké množství živin, ale naopak jsou náchylné k sedimentaci a utužení. Kvůli tomu rostliny v těchto půdách trpí nedostatkem vzduchu. Mikroorganismy mají v jemnozrnných půdách omezený prostor k životu, ale mají lepší ochranu vazbu na jemné částice (Miko a kol., 2019).

### **2.2.2 Půdní organická hmota**

SOM je největší aktivní zásobník C v suchozemských ekosystémech (Smith a kol., 2015; Müller a kol., 2017). Skládá se ze směsi rostlinných, živočišných a mikrobiálních zbytků v různých fázích rozkladu (Lavelle a Spain, 2001). V SOM se nacházejí také živé půdní organismy, které se ale většinou do její definice nezahrnují (Šimek a kol., 2019).

### **2.3 Zdroje půdní organické hmoty v půdě**

Původ organických látek vstupujících do půdy je rostlinný, živočišný a mikrobiální (Šimek a kol., 2019). Největší část mrtvé organické hmoty tvoří odumřelá rostlinná biomasa a malou část zaujímají těla živočichů a mikroorganismů a produkty jejich metabolismu. Hlavním zdrojem SOM je rostlinná biomasa tvořená primárními producenty (fotoautotrofními rostlinami, řasami, sinicemi a některými bakteriemi) (Miko a kol., 2019). Fotoautotrofní mikroorganismy fixují CO<sub>2</sub> za pomoci slunečního záření, kdy ve fotosyntetických procesech mění navázaný CO<sub>2</sub> na organické látky. Chemoautotrofní mikroorganismy k tomuto procesu využívají chemickou energii. Činností těchto producentů vzniká čerstvá rostlinná biomasa, která vstupuje do půdy především opadem a zbytky nadzemních částí rostlin (Smith a kol., 2015). Tento proces je pravidelným zdrojem organických látek pro vznik SOM.

Hlavním zdrojem mrtvé organické hmoty je rostlinná biomasa (Šimek a kol., 2019). Čerstvá biomasa může do půdy vstupovat různými způsoby. Nadzemní opad se rozkládá převážně na povrchu půdy. Rozložené látky z opadu nejsou s půdou v přímém kontaktu. Tímto způsobem vznikají horizonty na povrchu půdy bohaté na SOM (Šantrůčková a kol., 2018). Transport SOM do podpovrchových minerálních horizontů tak probíhá pomocí vymývání rozpustných látek a přenosem nerozpustných látek pomocí půdních organismů. Dalším způsobem vstupu biomasy do půdy je přímý kontakt (Smith a kol., 2015). Biomasa ve formě rostlinného opadu a odumřelých kořenových částí rostlin se přemění na SOM. Ta dále vstupuje přímo do půdy.

Zuhelnatělá rostlinná biomasa (biouhel) je dalším pravidelným zdrojem SOM. Zuhelnatělé rostlinné zbytky jsou ve formě uhlí a sazí (Šimek a kol., 2019). Primárním

zdrojem jsou zuhelnatělé látky vzniklé při lokálních požárech. Sekundárním zdrojem je přenos zuhelnatělých látek atmosférou z jiné lokality. Biouhel je spojen s vysokým množstvím organického C (Hlaváčiková a kol., 2019). V současném udržitelném zemědělství je proto biouhel využíván jako aditivum pro zvýšení obsahu SOM. Biouhel zvyšuje kvalitu zemědělské půdy pozitivním vlivem na zásobu stabilního C, vázání a dostupnost živin a schopnost zadržení vody.

Malou část mrtvé organické hmoty zauímají těla odumřelých živočichů a mikroorganismů. Půdní autotrofní i heterotrofní organismy jsou zdrojem organických látek během života i po odumření (Šimek a kol., 2019). Během života organismy vylučují organické látky např. ve formě extracelulárních enzymů mikroorganismů a rostlin, kořenových exsudátů a výkalů živočichů. Po odumření se z půdních organismů stává nekromasa. Všechny tyto látky jsou následně rozkládány.

## **2.4 Rozložitelnost organických látek**

Organické látky se liší náchylností k rozkladu (dekompozici). Dělí se na relativně dostupné (labilní), hůře dostupné (rekalitrantní) a téměř nerozložitelné (inertní) organické látky (Bossuyt a kol., 2005). Rostlinná biomasa obsahuje například monosacharidy, aminokyseliny a organické kyseliny převážně v kořenových částech rostlin, ale tyto sloučeniny se vyskytují také v nadzemních částech (Šimek a kol., 2019). Tyto látky jsou labilní a například kyseliny jsou důležité pro zvětrávání hornin a dostupnost minerálních živin pro rostliny a mikroorganismy. Labilní části biomasy jsou rychle rozloženy mikroorganismy a půdními živočichy jako snadno dostupný zdroj C a energie. Snadno dostupné organické látky jsou také přítomny ve tkáních všech rostlinných orgánů. Jsou to především monosacharidy vznikající fotosyntézou. Monosacharidy jsou základem pro tvorbu rostlinných struktur, které se skládají z rekalitrantnějších látek (např. celulózy, hemicelulózy a ligninu). Hůře dostupné organické látky delší dobu odolávají rozkladným procesům.

Čerstvá rostlinná biomasa je snadno dostupný zdroj labilního C, tudíž se lépe a rychleji rozkládá (Bossuyt a kol., 2004). Látky jako polysacharidy jsou rychlým a dostupným zdrojem energie pro mikroorganismy a dochází k rychlému rozkladu rostlinných zbytků. Množství zkonsumované rostlinné biomasy ovlivňuje přítomnost C, který je potřebný pro růst tělní hmoty půdních živočichů (Bonkowski a kol., 1998).

Biouhel je svým zpracováním stabilní a odolný rozkladu (Šimek a kol., 2019). Výroba biouhlu spočívá v procesu pyrolýzy z rostlinných zbytků, což je rozklad rostlinné biomasy při

vysokých teplotách za nepřístupu vzduchu (Sohi a kol., 2010; Hlaváčiková a kol., 2019). Obsahuje velké množství aromatičticky vázaného organického C, který je stabilní, těžko rozložitelný a hůře dostupný pro mikroorganismy a živočichy. Tudíž bývá zabudován v půdě jako dlouhodobý zdroj C (Sohi a kol., 2010; Ścisłowska a kol., 2015).

#### **2.4.1 Rozklad organických látek a respirace půdy**

Po vstupu SOM do půdy dochází k jejímu postupnému rozkladu. Část SOM může být zpracována půdními živočichy (Bossuyt a kol., 2005). Rozklad probíhá uvnitř živočichů, ale SOM je rozkládána i mimo těla živočichů, protože živočichové vylučují trávicí enzymy. Následně fragmentovaná SOM získá stabilitu a je uložena do půdních agregátů. Fragmentovaná SOM je dále dostupná pro mikroorganismy. Postupným rozkladem mikroorganismů dochází k respiraci, při které je uvolněno určité množství CO<sub>2</sub> zpět do atmosféry (Schlesinger a Andrews, 2000).

Ke zjištění rychlosti rozkladu organických látek se využívá měření koncentrace CO<sub>2</sub> uvolněného do vzduchu při respiraci půdy. Respirace půdy je proces produkce CO<sub>2</sub> při postupném rozkladu u organických látek pomocí mikroorganismů a živočichů v půdě (Schlesinger a Andrews, 2000). Výsledkem procesu je získání energie a uvolňování CO<sub>2</sub>. Až polovina celkové respirace půdy je tvořena autotrofním metabolismem rostlin při růstu kořenových částí (Bond-Lamberty a kol., 2004). Většina množství z druhé poloviny uvolněného CO<sub>2</sub> pochází z heterotrofní respirace mikrobiálních společenstev, které využívají čerstvou organickou biomasu jako snadný zdroj energie. Pouze malá část CO<sub>2</sub> pochází z rozkladu starších, rekalcitrantních zdrojů C. Měření respirace je proto potenciálním indikátorem pro kontrolu metabolismu v ekosystému (Ryan a Law, 2005).

Respirace půdy závisí na substrátu a fyzikálních podmínkách prostředí. Autotrofní respirace je velmi ovlivněna půdní vlhkostí, teplotou, dostupností živin a zdrojem O<sub>2</sub> (Bond-Lamberty a kol., 2004). Heterotrofní respirace mikroorganismů závisí na množství a kvalitě substrátu, teplotě a vlhkosti (Bradford, 2013; Moyano a kol., 2013). Aktivita mikroorganismů je limitována zdrojem snadno dostupných živin z čerstvé rostlinné biomasy, jako jsou rostlinné zbytky nebo opad. Malá aktivita mikroorganismů při rozkladu staršího, hůře dostupného C v substrátu je způsobena těžce rozložitelnou chemickou strukturou C (Ryan a Law, 2005).

#### **2.5 Vztah minerální a organické složky**

V půdě se na minerální částice mohou navázat organické látky. Minerální frakce půdy může obsahovat jednotlivé molekuly nebo mikroskopické fragmenty organického materiálu

(Lavallee a kol., 2020). SOM je navázána pomocí přímé silné vazby i na malé minerální částice, které díky svému velkému povrchu umožňují sorpční interakce s částicemi SOM (Vidal a kol., 2021). Tato schopnost je také podpořena přítomností a aktivitou mikroorganismů (Mikutta a kol., 2019). SOM navázaná na minerální složku je velmi odolná vůči rozkladu díky přímé vazbě na povrch minerálních částic (Lavallee a kol., 2020). Vazby SOM na minerální částice jsou nezbytným mechanismem pro vytváření stabilních organominerálních komplexů neboli agregátů, které následně určují strukturu půdy (Šantrůčková a kol., 2018; Vidal a kol., 2021).

Agregáty vznikají spojováním různě velkých minerálních částic (koloidních částic jíly) s organickými částicemi (např. bakteriemi, hyfami hub, kořeny rostlin a čerstvými organickými zbytky) (Šantrůčková a kol., 2018). Pro tvorbu stabilních agregátů je nutná přítomnost tzv. cementačních látek (např. sesquioxidů železa, hliníku a uhličitánů) (Kaiser a Berhe, 2014). V půdách s malým zastoupením cementačních látek se pevné částice nespojí a nevznikají stabilní agregáty. Pro vznik větších shluků agregátů je také důležitá přítomnost rostlinných kořenů a půdních organismů vylučujících slizy, které mohou různě velké agregáty snadno slepit (Miko a kol., 2019).

Podle velikosti se rozlišují mikroagregáty (<0,25 mm) a makroagregáty (>0,25 mm) (Šantrůčková a kol., 2018). Agregáty vznikají postupně a odlišným způsobem slepování. Podle hierarchické teorie agregace se nejprve tvoří mikroagregáty, aby shlukováním vznikly makroagregáty (Bronick a Lal, 2005). Vazby uvnitř mikroagregátů jsou pevnější než vazby mezi jednotlivými mikroagregáty. Mikroagregáty jsou složeny z organických molekul rostlinného, živočišného a mikrobiálního původu a jejich metabolických zbytků. Organické molekuly jsou navázány na jíly a mnohovazebné kationty. Tyto složené částice se spojují s dalšími složenými částicemi a formují makroagregáty, které se případně mohou utvářet kolem částic SOM. Při postupném rozkladu SOM makroagregáty získávají stabilitu a obsahují větší množství stabilního C. Makroagregáty ztrácí stabilitu v závislosti na snižující se aktivitě mikroorganismů, což vede k nedostatku slizů a exkrementů spojujících makroagregáty. To způsobí ztrátu stability makroagregátů a dojde k rozpadu na více stabilní mikroagregáty.

Vlivy na tvorbu agregátů mají kolísání půdní vlhkosti, střídání teplot, aktivita mikroorganismů a živočichů a rozklad SOM. Na tvorbu agregátů mají pozitivní vliv rostliny, mikroorganismy a také žížaly (Bronick a Lal, 2005). Svými biochemickými procesy zvyšují stabilitu agregátů. Žížaly způsobují přeuspořádání půdních částic a uvolňují do půdy trávicí enzymy způsobující postupný rozklad SOM. Také ovlivňují průtok vody a mikrobiální

aktivitu. V zemědělsky využívaných půdách mají žížaly prokazatelně významný vliv na tvorbu stabilních makroagregátů (Bossuyt a kol., 2004). Dochází také k ukládání většího množství C do makroagregátů a stabilních frakcí půdy (Angst a kol., 2019).

Díky aktivitě mikroorganismů a půdní fauny (hlavně žížal) je čerstvá biomasa, a hlavně biouhel, rychleji rozložena (Ferreira a kol., 2021). Významnou schopností biouhlu je podpora tvorby agregátů. Tato vlastnost je určena hlavně povrchem částic biouhlu (Sohi a kol., 2010). Pomocí skenovací elektronové mikroskopie byla popsána jeho povrchová struktura. Na povrchu biouhlu jsou různě velké póry (mikropóry a makropóry), které významně zvětšují povrch biouhlu. Na velký povrch jsou snadno navázány jak živiny, tak volný C, který se stává stabilnějším, a tím je podpořena tvorba půdní struktury a větších půdních částic (Smith a kol., 2010).

## **2.6 Obsah C a půdní organické hmoty v půdě**

Půdy jsou velkým zásobníkem C v organické i anorganické formě (Smith a kol., 2015). Odhady celkového obsahu navázaného C v půdách se velmi liší. Nicméně je jisté, že více C se nachází v půdách než v biomase a atmosféře dohromady. Zvyšování obsahu C v půdě by tak mohlo významně snižovat koncentraci CO<sub>2</sub> v atmosféře.

Obsah SOM v půdě závisí nejvíce na teplotě a srážkách (Šimek a kol., 2019). Při vyšších teplotách dochází k rychlejšímu rozkladu organického materiálu a ke snižování obsahu SOM. Naopak vyšší vlhkost v půdě způsobí vyšší obsah SOM. V zamokřených půdách jsou totiž póry zaplněné vodou a dochází ke špatnému provzdušnění půdy, tudíž mají vlhké půdy vyšší podíl SOM než provzdušněné půdy. SOM je důležitým činitelem kvality půdy, reguluje půdní vlhkost a strukturu, rychlost přísunu živin a mikrobiální aktivitu (McLauchlan, 2006). Mechanismy při formování SOM včetně její stabilizace závisí na rozdílech mezi vstupy a výstupy C.

Obsah SOM je zpravidla redukován zemědělskou činností (Bossuyt a kol., 2004). Ke snižování SOM dochází různými způsoby nadměrného odebírání C a nedostatečného dodávání C zpět do půdy. Jedním způsobem je odstraňování biomasy z jednoletých plodin při sklizni, které neumožňuje dodávání biomasy a vracení C do půdy (McLauchlan, 2006). Významným přísunem C do půdy jsou přitom právě rostlinné zbytky. Druhým způsobem je fyzikální rozrušování půdy orbou. Orba způsobuje rozpad půdních agregátů, následné zvýšení rozkladu SOM a uvolnění vázaných živin a C (Bronick a Lal, 2005). Kombinace orby a nízké hustoty rostlin v zemědělských půdách zvyšuje pravděpodobnost půdní eroze způsobené vodou nebo

větre (McLauchlan, 2006). Erozí se ztrácí minerální složka společně s navázanou SOM. Volný C se následně uvolní z půdního systému do atmosféry nebo vodních ekosystémů.

Obsah SOM ovlivňuje také převládající vegetace a textura půdy, která má význam i pro obsah N (McLauchlan, 2006). Kultivace půd také významně ovlivňuje obsah SOM. U nově obdělávaných půd dochází k rychlému poklesu počátečního vysokého obsahu SOM. Zachování obsahu SOM a živin pak bývá zajištěno především hnojením. Pravidelné dodávání organických látek do půdy obvykle probíhá ve formě organických hnojiv (např. chlévský hnůj), kompostů a dalších organických zbytků (Šimek a kol., 2019). Další variantou je tzv. zelené hnojení, kdy dochází k vědomému zaorání rostlin k tomu určených. Pozitivní vliv na obsah SOM má pěstování rostlin s velkým množstvím posklizňových zbytků (např. jetelovin nebo luskovin).

## **2.7 Ukládání a fixace C**

Ukládání a fixace C (tedy sekvestrace C) jsou důležité pro zamezení uvolnění C do atmosféry. Sekvestrace v půdě je dlouhodobý proces a část fixovaného C je tak oddělena od globálního cyklu C. Navázání C do půdy je možné různými formami SOM, které se liší dostupností pro organismy a tedy rozkladem (Del Galdo a kol., 2003). Čerstvá biomasa je fragmentována za přítomnosti půdních organismů na částicovou organickou hmotu (angl. particulate organic matter, POM). Je to labilní forma SOM se snadnou dostupností pro živočichy a mikroorganismy a rychlým rozkladem. Postupnou agregací do větších půdních částic a vazbou na minerální částice získává stabilitu (Lavallee a kol., 2020). Vzniklé malé póry mezi minerálními částicemi zabraňují vstupu půdním organismům a dostatečnému přístupu vzduchu, tudíž je rozklad zpomalen nebo zastaven. Dochází k přeměně na více rekalciitrantní SOM (Šimek a kol., 2019).

POM obsahuje větší částice SOM vyskytující se ve frakcích volné POM (angl. free particulate organic matter, fPOM) nebo obalené POM (angl. occluded particulate organic matter, oPOM). Zbylé menší minerální částice nebo přímo molekuly jsou v samotné minerální frakci (MIN) (Bronick a Lal, 2005; Gunina a kol., 2015). Jednotlivé frakce se od sebe liší hustotou spojenou s navázáním na minerální částice. fPOM se vyskytuje volně v půdě, zatímco oPOM je navázána na minerální částice uvnitř agregátů a pro její uvolnění je nutné jejich rozbití. Ve frakci MIN je SOM pevně navázána přímo na minerální částice. Odlišnost frakcí je také ve stupni degradace C. Více dostupný a snadno rozložitelný C je v fPOM. Stabilnější a hůře rozložitelný C je pak v oPOM (Lavallee a kol., 2020). Nejstabilnější a téměř nedostupný

C je pak vázán na minerální částice (MIN). oPOM se nachází také v makroagregátech, ale umožňuje vyšší stabilizaci C v mikroagregátech. Agregáty se přirozeně přeměňují, a tak dochází k pravidelnému přemístění frakcí mezi vnitřními a vnějšími částmi agregátů (Gunina a kol., 2015).

## **2.8 Půdní organismy**

Organismy v půdě (edafon) jsou rozdělovány podle velikosti, přesněji podle průřezu těla. Jejich tělní velikost souvisí s velikostí půdních pórů, ve kterých se vyskytují. Podle toho se také liší jejich funkce v půdních procesech.

### **2.8.1 Půdní mikroorganismy**

Mikroorganismy v půdě jsou bakterie (Bacteria), archea (Archaea), houby (Fungi), sinice (Cyanobacteria) a řasy (Algae) (Miko a kol., 2019). Živé mikroorganismy tvoří sice jen 5 % z celkového půdního C, ale jsou hlavními činiteli v rozkladných procesech (Müller a kol., 2017). Heterotrofní bakterie hrají velkou roli při rozkladu SOM. Významné skupiny rozkladných bakterií jsou aktinobakterie, myxobakterie a acidobakterie, které rozkládají i nejodolnější organické sloučeniny. Zdrojem C jsou organické látky vyšších rostlin, hlavně rostlinné zbytky, v jejichž přítomnosti se v půdě vyskytují rozkladné bakterie (Šimek a kol., 2019). Bakterie a saprotrofní houby využívají C získaný rozkladem SOM pro svůj růst. Mají schopnost rozkládat snadno rozložitelné rostlinné zbytky i hůře rozložitelné organické látky. Vlákňité houby z kmenů Basidiomycota a Ascomycota rozkládají rostlinné zbytky na povrchu půdy a transportují je ve formě organických látek do hlubších vrstev, čímž přispívají k ukládání SOM. Do půdy se tak vrací C a minerální živiny.

### **2.8.2 Půdní mikrofauna**

Mikrofauna (délka těla do 0,2 mm nebo průměr těla do 0,1 mm) zahrnuje ve většině prvoky (Protozoa) a hlístice (Nematoda) (Miko a kol., 2019). Malou část zastupují i vířníci (Rotatoria) a vzácně želvušky (Tardigrada). Jsou to převážně organismy vázané na vodní roztok v půdních pórech. Hlístice jsou součástí různých procesů vzniku a rozkladu SOM (Šimek a kol., 2019). Vířníci a želvušky zpřístupňují živiny rostlinám natrávením pozřených částic SOM.

### **2.8.3 Půdní mezofauna**

Mezofaunu (0,2 mm až 2 mm) zastupují většinou půdní členovci. Pro příklad jsou zde zastoupeny roupice (Enchytraeidae), roztoči (Acari) a chvostoskoci (Collembola) (Šantrůčková a kol., 2018; Miko a kol., 2019). Mezofauna se člení podle dominantního výskytu v půdě. Jedná se o epigeickou (povrchové organismy), hemiedafickou (přechod mezi

povrchovými a podpovrchovými organismy) a hypogeickou (podpovrchové organismy, euedafon) faunu. Jejich výskyt určuje hlavně množství SOM. V kyselých půdách mohou roupice nahrazovat přítomnost žížal, jelikož mají podobnou funkci v půdě (Šimek a kol., 2019). Konzumují detrit, mikroflóru a mikrofaunu. Přemísťují SOM z povrchových vrstev do hlubších vrstev půdy. Díky trávicím procesům SOM váží na minerální částice a podporují tvorbu agregátů. Roztoči mají velký počet druhů vyskytujících se v půdě. Čmelíkovci (Mesostigmata) jsou hlavními půdními predátory a regulují početnost půdních členovců, mikrofauny a mezofauny. Ovlivňují rozkladné procesy a tvorbu půdní struktury. Chvostokoci regulují a také se účastní půdních rozkladných procesů. Konzumují látky z mikrobiální produkce v zemědělských půdách.

#### **2.8.4 Půdní makrofauna**

Pod makrofaunu (šířka těla > 2 mm, délka těla > 2 cm, některé druhy přesahují i 10 cm a jsou řazeny k megafauně) se řadí plži (Mollusca, Gastropoda), kroužkovci (Annelida), někteří korýši (Crustacea), pavoukovci (Arachnida), mnohonoží (Myriapoda) a půdní hmyz (Insecta) (Miko a kol., 2019). Makrofauna se také dělí podle výskytu na epigeickou, hemiedafickou a hypogeickou faunu (Šantrůčková a kol., 2018; Miko a kol., 2019). Půdní plži ovlivňují strukturu půdy a dodávají živiny v podobě trusu z jejich rostlinné potravy (Miko a kol., 2019). Vylučovaný sliz podporuje agregaci a je zdrojem energie pro mikroflóru. Půdní korýši jsou zastoupeni stínkami (Oniscidea). Potravu tvoří odumřelá organická hmota, tím pomáhají rozkladu i hůře rozložitelným strukturám (např. dřevo). Výkaly podporují tvorbu agregátů a strukturu půdy (Šimek a kol., 2019). Zástupci pavoukovců jsou štírci (Pseudoscorpionida), pavouci (Aranea) a sekáči (Opilionida). Sekáči se živí hlavně detritem, částmi hub, odumřelými živočišnými tkáněmi i výkaly. Přispívají tak k rozkladu mrtvé organické hmoty. Mnohonožky (Diplopoda) se živí rostlinným detritem, ale mohou požírat i živé rostlinné tkáně. Mají pozitivní vliv na rychlost rozkladu SOM. Produkci exkrementů ovlivňují strukturu půdy a stabilizaci SOM.

#### **2.8.5 Půdní megafauna**

Megafaunou jsou obratlovci s vazbou na půdu (Miko a kol., 2019; Šimek a kol., 2019). Své zastoupení zde mají obojživelníci (Amphibia) (např. červoři a žáby), plazi (Reptilia) (např. ještěři, dvojplazi a hadi) a savci (Mammalia) (např. hmyzožravci, chudozubí a hlodavci).



## 2.9 Žížaly a jejich vliv na půdní organickou hmotu

Nejvýznamnější půdní organismy z makrofauny jsou zástupci kroužkovců, a to žížaly. Žížaly se dříve řadily mezi máloštětinatce (třída Oligochaeta), nové fylogenetické systémy je však řadí do monofyletické třídy opaskovci (Clitellata) (Domingues a kol., 2018). Válcovitý tvar těla a zatažitelné štětiny na každém tělním článku umožňují žížalám snadný pohyb v půdních prostorách (Šimek a kol., 2019). Pohybem často zvětšují půdní póry. Příznivé prostředí pro přítomnost žížal je tvořeno dostatkem kvalitních zdrojů potravy, vhodnou vlhkostí, teplotou, půdními reakcemi a strukturou. Hlavní potravou žížal je především odumřelá organická hmota rostlinného, vzácně i živočišného původu a mikroorganismy v půdě.

Žížaly lze dělit podle složení potravy a ekologie. Složením potravy se liší detritivorní a geofágní skupiny (Šimek a kol., 2019). Detritivorní skupina žížal konzumuje rostlinné zbytky na povrchu a v nejsvrchnějších vrstvách půdy. Geofágní skupina je schopna požít velký objem půdy a následně trávit obsaženou SOM a mikroflóru. Geofágní druhy se shlukují v místech s vysokým obsahem SOM. Jako snadno stravitelné rostlinné zbytky preferují žížaly vojtěšku a jetel, některé druhy trav, naopak těžko stravitelné jsou jehlice jehličnanů s vysokým obsahem hůře rozložitelných látek. Ekologické rozdělení žížal do funkčních skupin souvisí také s významem žížal (Eijsackers, 2011). Epigeické druhy se vyskytují ve vrstvě opadu, v nahromaděných zbytcích rostlin a pod kůrou padlých kmenů. Požírají i všečen okolní rostlinný materiál. Endogeické druhy se nacházejí ve svrchních úživných vrstvách půdy. Svým pohybem vytvářejí nestabilní chodbičky většinou horizontálně orientované, kde konzumují již rozložené organické zbytky a mikroorganismy. Anektické druhy se živí rostlinnými zbytky na povrchu půdy, ale tvoří také hluboké vertikální chodby, kterými transportují rostlinný materiál do hlubších vrstev půdy.

Žížaly mají význam při tvorbě půd, koloběhu živin, tvorbě půdní struktury i regulaci rozkladu SOM a svou přítomností dokáží přetvořit prostředí, které obývají (Tiunov a Scheu, 2000; Fahey a kol., 2013; Šimek a kol., 2019). Tuto schopnost určují hlavně exkrementy, které obsahují pečlivě promíchané minerální částice s částečně rozloženými organickými zbytky a mikroorganismy (Fahey a kol., 2013). Žížaly jsou také významní činitelé při transportu organických částic mezi vrstvami půdy. Na povrchu půd odstraňují konzumováním rostlinné zbytky a další organické materiály. Trávením ve střevě se organický materiál zabuduje do půdních agregátů (Bossuyt a kol., 2005). Spolu se zkonzumovanými zbytky čerstvé rostlinné biomasy mohou být transportovány i částice biouhlu. Malé zuhelnatělé částice jsou

přemísťovány spolu s minerálními částicemi ve formě tmavých zrněk výkalů žížal (Ferreira a kol., 2021).

Díky velké početnosti žížal a jejich vysoké produkci exkrementů zabírají významnou část povrchové půdy (Šimek a kol., 2019). Povrchové půdy obecně obsahují vyšší podíl jílových částic a menší podíl písku než spodní půdní horizonty, což v důsledku vykazuje vyšší stabilitu než u ostatních půdních agregátů (Bossuyt a kol., 2004; Fahey a kol., 2013). Půdní částice získají stabilitu při střevních procesech a vysokou aktivitou mikroorganismů v čerstvých exkrementech (Angst a kol., 2019). Sliz, sekreční enzymy ze střev a střevní mikrobi v trávicích traktech žížal jsou zapojeni v mnoha biochemických procesech, které ovlivňují dostupnost živin a celkovou úrodnost půdy.

### **3 Cíle práce a hypotézy**

Cílem práce je porovnat vliv žížal na rozklad čerstvé kukuřičné biomasy a zuhelnatělé kukuřičné biomasy (biouhlu). Dále bude objasněn vliv žížal na stabilizaci a vazbu labilního C z čerstvé biomasy a rekalitrantního C ze zuhelnatělé biomasy na povrch minerální částic a do půdních agregátů.

Pomocí informací z literární rešerše byly stanoveny následující hypotézy:

1. Rozklad bude vyšší u čerstvé biomasy než u biouhlu.
2. Žížaly svojí činností sníží rozklad biomasy díky stabilizaci v půdních agregátech.
3. V nepřítomnosti žížal bude většina čerstvé biomasy volně v půdě, naopak biouhel bude navázán na minerální částice díky svému velkému specifickému povrchu, který bude s minerálními částicemi interagovat.
4. Oba typy biomasy budou v přítomnosti žížal stabilizovány v půdních agregátech.

## **4 Metody a manipulační pokus**

### **4.1 Odběr a příprava půdy a žížal**

Zemědělská půda byla odebrána 17. 6. 2020 z konvenčně obhospodařovaného pole s kukuřicí poblíž Krasejovky u Českých Budějovic. Půda byla odebrána lopatkou do hloubky 10 cm ve 20 opakováních na ploše 20 x 20 m v celkovém množství 3 kg. Půda byla v laboratoři proseta přes 2 mm síto kvůli homogenizaci a odstranění kamenů a kořenů. Žížaly druhu *Aporrectodea caliginosa* (Obr. 1) byly odebrány téhož dne v listnatém lese poblíž Plavu u Českých Budějovic v celkovém počtu 100 kusů. Půda i žížaly byly uchovány v lednici (4 °C) do doby založení pokusu.



Obrázek 1: Odběr žížal *Aporrectodea caliginosa*

### **4.2 Založení manipulačního pokusu**

Biomasa kukuřice byla odebrána na podzim 2019 poblíž Krasejovky u Českých Budějovic, usušena na vzduchu a zhomogenizována přes 2 mm síto (Obr. 2). Větší části byly namlety ve třecí misce. Biouhel z kukuřičné biomasy byl zakoupen u komerčního dodavatele (Biouhel.cz) a zhomogenizován přes 2 mm síto. Do 250 ml sklenic (mikrokosmů) bylo naváženo 80 g půdy, která byla stlačena na objemovou hmotnost 1 g.cm<sup>-3</sup>. Do osmi mikrokosmů byly naváženy 3 g biomasy kukuřice, do dalších osmi mikrokosmů 3 g biouhlu z kukuřice (Obr. 3) a do dalších osmi mikrokosmů 1,5 g biomasy kukuřice a 1,5 g biouhlu z kukuřice. Osm mikrokosmů zůstalo bez přídavku a čtyři mikrokosmy zůstaly prázdné jako BLANK (prázdné sklenice pro odečtení koncentrace CO<sub>2</sub> ve vzduchu uzavřeného do sklenic při zakládání inkubace). Do

poloviny mikrokosmů s půdou byly vloženy dvě přibližně stejně velké žížaly (Obr. 4). Celkem bylo založeno 36 mikrokosmů [4 přídavky substrátu (biomasa vs. biouhel vs. biomasa + biouhel vs. bez přídavku) x 2 přídavky žížal (s žížalami vs. bez žížal) x 4 opakování + 4 BLANKy] (Obr. 5).



Obrázek 2: Homogenizace kukuřičné biomasy přes síto



Obrázek 3: Zuhelnatělá kukuřičná biomasa - biouhel



Obrázek 4: Stejně velké žížaly připravené k aplikaci do mikrokosmu



Obrázek 5: Všechny mikrokosmy připravené k založení pokusu

Připravené mikrokosmy byly přiklopeny plnými víčky a umístěny do klimaboxu, kde byly po celou dobu pokusu inkubovány při 15 °C. V průběhu pokusu byla pravidelně doplňována odpařená voda. V mikrokosmech byla také pravidelně kontrolována přítomnost žížal a v případě úmrtí byly žížaly doplněny.

### **4.3 Měření respirace půdy**

Ve stanovených dnech pro měření respirace (den 14, den 28, den 63, den 96, den 124 a den 152) byly vždy mikrokosmy vyjmuty z klimaboxu a došlo k výměně plného víčka za neprodyšně uzavřené víčko s gumovým septem pro odběr vzorku vzduchu. Poté byly mikrokosmy vráceny do klimaboxu k inkubaci na 5 hodin při 15 °C. Po skončení inkubace byly mikrokosmy vyjmuty z klimaboxu. Z každého mikrokosmu byl odebrán vzorek vzduchu pomocí 10 ml injekční stříkačky (Obr. 6) do připravených evakuovaných vialek (Obr. 7). Odběr vzorků trval obvykle 30 minut. Pak bylo mikrokosmům zpět vráceno plné víčko (Obr. 8) a byly vráceny do klimaboxu.



Obrázek 6: Injekční stříkačka o objemu 10 ml pro odběr vzorku vzduchu



Obrázek 7: Evakuovaná vialka pro uchování plyných vzorků



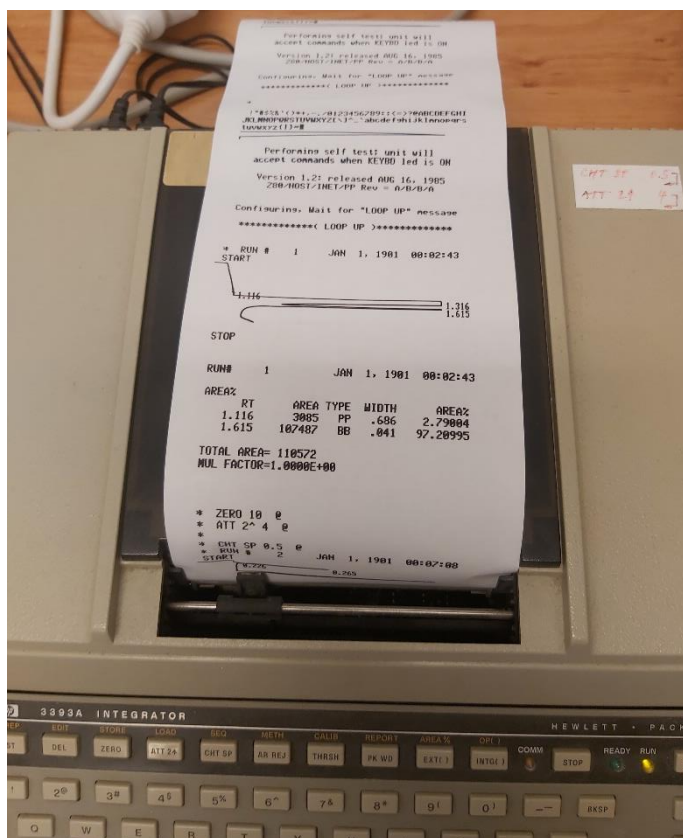
Obrázek 8: Mikrokosmy přiklopené plným víčkem po odběru vzorků vzduchu

Měření respirace půdy proběhlo pomocí plynového chromatografu (Hewlett Packard 5890) (Obr. 9), který stanovuje koncentraci  $\text{CO}_2$  porovnáním se standardem  $\text{CO}_2$  o určité známé koncentraci.



Obrázek 9: Plynový chromatograf s integrátorem

Výsledky z měření na plynovém chromatografu, tedy koncentrace CO<sub>2</sub> v jednotkách ppm, se zobrazily i s danými píky jednotlivých měření na integrátoru (Obr. 10) a byly zaznamenány do tabulek pro výpočet respirace.



Obrázek 10: Integrátor s výsledky a píky po měření

Vzorec pro výpočet respirace

respirace ( $\mu\text{g CO}_2 \text{ C.h}^{-1}$ ) = [(koncentrace CO<sub>2</sub> vzorku (ppm) – průměr koncentrace CO<sub>2</sub> BLANKŮ (ppm)) \* objem mikrokosmu (l) \* konverze] / doba inkubace (h)

Objem mikrokosmu (l): 0,165

Konverze: 0,535 – převod objemu CO<sub>2</sub> ( $\mu\text{l}$ ) na hmotnost CO<sub>2</sub> ( $\mu\text{g}$ )

Doba inkubace (h): 5

#### 4.4 Frakcionace půdy

Po 153 dnech by pokus ukončen a půda z jednotlivých mikrokosmů byla sklizena, usušena na vzduchu a použita na analýzu frakcionace půdního C. Pro analýzu bylo do skleněné kyvety (400 ml) naváženo 20 g půdy a přidáno 100 ml roztoku sodium polytungstate (SPT) o hustotě  $1,6 \text{ g.cm}^{-3}$ . Vzorek byl důkladně promíchán skleněnou tyčinkou, hladina SPT byla označena

ryskou a kyveta přikryta hliníkovou fólií (Obr. 11). Vzorek se nechal odstát přes noc při laboratorní teplotě. Frakcionace byla provedena se třemi opakováními pro každý substrát.



Obrázek 11: Skleněné kyvety s připravenými vzorky

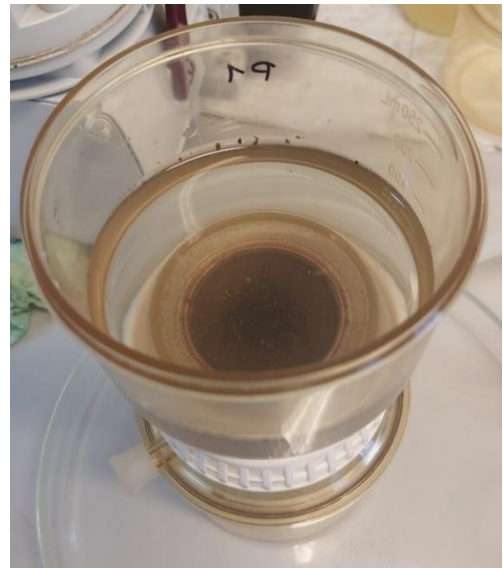
Před vložením vzorků do centrifugy byly vždy vzorky vyváženy doplněním roztoku SPT. Dále byly vzorky centrifugovány (Obr. 12) při 3000 g po dobu 30 minut. Po vyjmutí z centrifugy (DIGTOR 21, Orto Alresa) byla pomocí pipety odebrána první oddělená frakce fPOM, která plavala na hladině a tedy měla hustotu  $< 1,6 \text{ g.cm}^{-3}$ . Vzorek fPOM byl hned přefiltrován, aby bylo použité SPT doplněno zpět do vzorku půdy k dalšímu uvolnění zbylé fPOM v centrifuze. Usazený vzorek byl rovnoměrně promíchán skleněnou tyčinkou, vyvážen a vložen do centrifugy. Tento postup byl opakován obvykle třikrát, dokud se již neoddělovaly další části frakce fPOM.

Získaná frakce fPOM byla po odebrání promývána čistou destilovanou vodou přes fritu s filtrem ( $0,45 \mu\text{m}$ ) a vývěvou (Obr. 13) dokud se hodnota konduktivity (elektrické měrné vodivosti) odebrané destilované vody nedostala pod  $5 \mu\text{S}$ , kdy už byla frakce vyčištěna od navázaného SPT. Měření konduktivity bylo provedeno pomocí konduktometru (107L, GRYF). Čistá fPOM byla kvantitativně převedena destilovanou vodou do předem zvážené skleněné kádinky a sušena při  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  v sušárně.





Obrázek 12: Centrifuga s nastavenými parametry

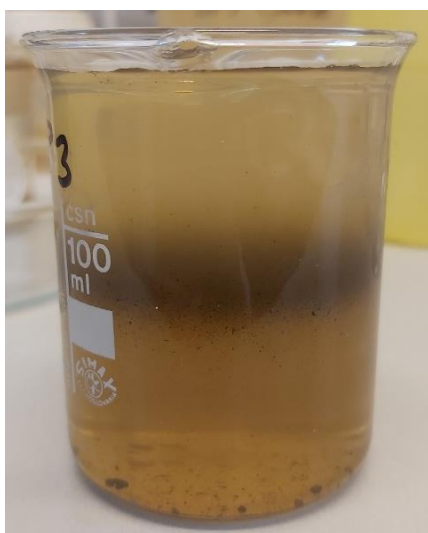


Obrázek 13: Filtrace a čištění frakce fPOM

Následně byly vzorky půdy doplněny čistým SPT po rysku a usazený vzorek byl opět promíchán. K oddělení frakce oPOM bylo třeba rozbít agregáty sonifikací pomocí ultrazvukového homogenizátoru (Sonopuls, Bandelin) při  $440 \text{ J.ml}^{-1}$  po dobu 18 minut (Obr. 14). Kyveta byla vložena do plastové nádoby s ledem kvůli chlazení a sonda byla ponořena do vzorku cca 3 cm pod hladinu (Obr. 15). Po sonifikaci byly kyvety centrifugovány při 3000 g po dobu 60 minut, kdy došlo k oddělení uvolněné oPOM (opět  $< 1,6 \text{ g.cm}^{-3}$ ), která byla hned přefiltrována (Obr. 16) a následně čištěna ve fritě s filtrem ( $0,45 \mu\text{m}$ ) a vývěvou. Přefiltrované SPT bylo doplněno do vzorku půdy k dalšímu uvolnění zbylé oPOM v centrifuze. Usazený vzorek byl rovnoměrně promíchán skleněnou tyčinkou, vyvážen a vložen do centrifugy. Tento postup byl opakovan obvykle třikrát, dokud se již neoddělovaly další části frakce oPOM.



Obrázek 14: Ultrazvukový homogenizátor s příslušným nastavením



Obrázek 16: Odebraná frakce oPOM připravená k filtraci



Obrázek 15: Vzorek s ponořenou sondou

Frakce oPOM byla také filtrováním s čistou destilovanou vodou čištěna od navázaného SPT na hodnotu konduktivity méně než  $5 \mu\text{S}$ . Čistá frakce oPOM byla kvantitativně převedena destilovanou vodou do předem zvážené skleněné kádinky a sušena při  $40^\circ\text{C}$  v sušárně.

Zbylá minerální frakce (MIN) ( $> 1,6 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) ze vzorku půdy byla doplněna po rysku jen destilovanou vodou a její čištění od zbylého SPT bylo provedeno pouze v centrifuze. Oddělená destilovaná voda byla odebrána pipetou již bez filtrace. Tento postup byl opakován, dokud se hodnota konduktivity odebrané destilované vody nedostala pod  $50 \mu\text{S}$ . Čistá minerální frakce byla kvantitativně převedena z kyvety do skleněné kádinky a sušena při  $40^\circ\text{C}$  v sušárně.

Jednotlivé vysušené frakce (fPOM, oPOM i MIN) byly zváženy pro výslednou hmotnost frakce. Frakce fPOM, oPOM a MIN byly převedeny do skleněných uzavíratelných 5 ml vialek.

Následně byly všechny frakce (celý vzorek pro fPOM a oPOM kvůli malému množství, pouze určitá část vzorku pro MIN kvůli dostatečnému množství) namlety a zhomogenizovány na kulovém mlýnu (MM 400, RETSCH) pro následné měření na analyzátoru celkového C (TC).

#### 4.5 Měření na TC analyzátoru a stanovení C v jednotlivých frakcích

Vzorky frakcí byly naváženy na analytických vahách (Scaltec, SPB31) s přesností na 4 desetinná místa do čistých a vypálených keramických lodiček (Obr. 17), se kterými se manipulovalo pouze pomocí pinzety. Před každým měřením bylo nutné navážit a změřit standard Peaty pro ověření stálosti kalibrace TC analyzátoru (TOC-L<sub>CPH/CPN</sub> a SSM-5000A solid sample module, Shimadzu) (Obr. 18). Pokud byla změřená hodnota standardu ve správném rozmezí hodnot ( $\pm 5\%$ ), mohlo se přistoupit k měření vzorků.



Obrázek 17: Lodičky s naváženými vzorky frakcí



Obrázek 18: Analyzátor celkového C (TC)

Výsledná hodnota daného vzorku udávala množství celkového C ve vzorku dané frakce. Hodnoty z TC analyzátoru byly výpočty převedeny na množství C (mg) pro danou frakci přepočtené na 1 g suché půdy.

Vzorce pro výpočet celkového C (TC) dané frakce na 1 g půdy ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )

$$TC (\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}) = \frac{\text{výsledná hodnota z TC (mg)}}{\text{navážka frakce (g)}}$$

$$TC \text{ frakce ve vzorku (mg)} = TC(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}) * \text{váha frakce ve vzorku (g)}$$

$$TC \text{ frakce na 1 g půdy (mg}\cdot\text{g}^{-1}) = TC \text{ frakce ve vzorku (mg)} / \text{váha vzorku (20 g)}$$

#### **4.6 Statistické zpracování dat respirace a frakcionace**

Ke statistickému zpracování dat respirace byla použita metoda two-way repeated measures ANOVA. Ke statistickému zpracování dat frakcionace byla použita metoda two-way ANOVA. U obou analýz byly kategoriálními proměnnými přidavek substrátu a přidavek žížal. Pro stanovení rozdílů mezi jednotlivými treatmenty byl použit post hoc test Fisher LSD.

Data byla transformována pomocí přirozeného logaritmu, aby splňovala podmínky homogenity variancí. Statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí programu Statistica 13 (StatSoft Inc., USA).

## **5 Výsledky**

### **5.1 Respirace**

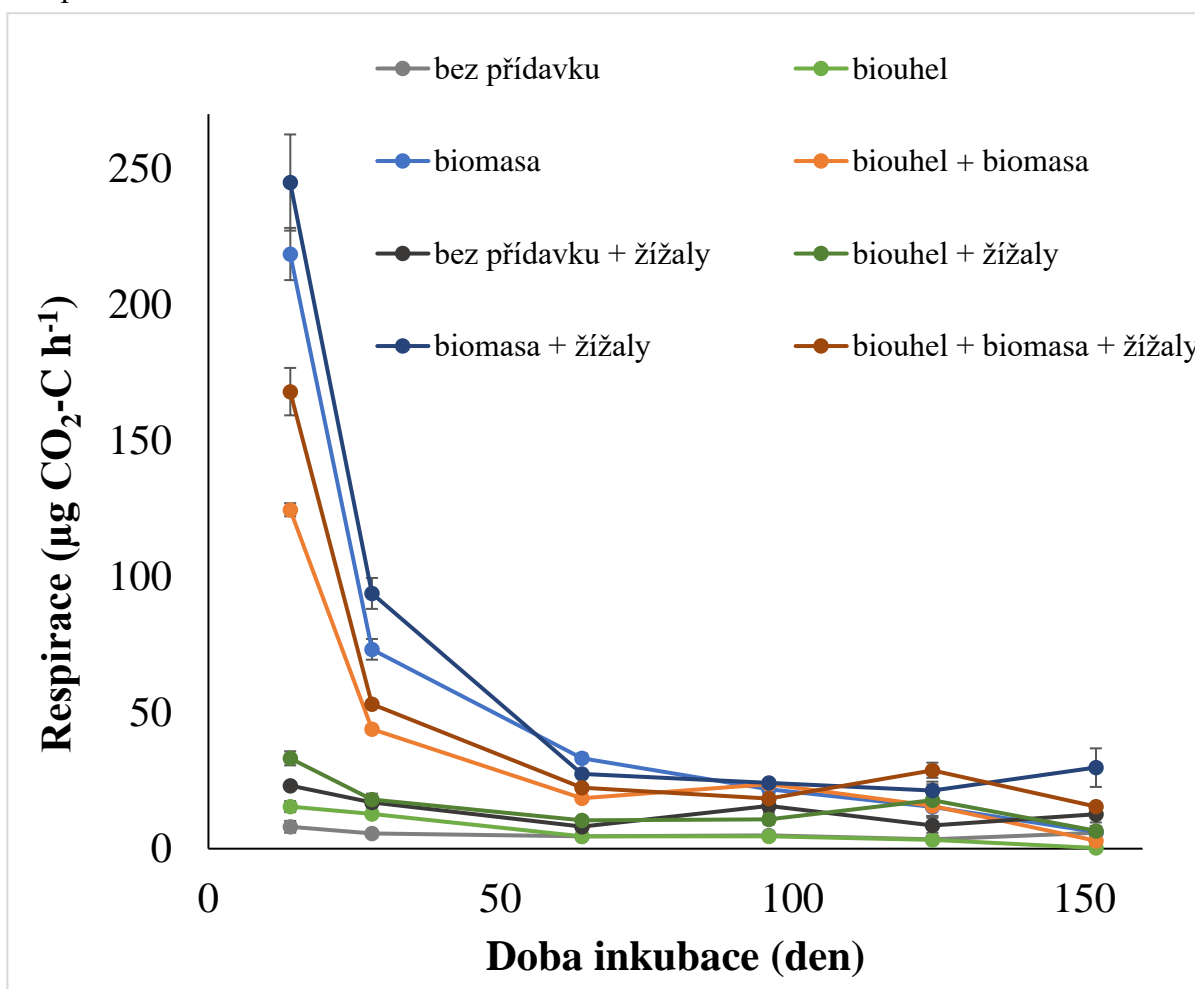
Respirace během celé doby inkubace byla ovlivněna přidavkem substrátu ( $F_{3,13} = 132,98$ ;  $P < 0,001$ ) (Obr. 19). Nejvyšší respirace byla naměřena v treatmentu s přidavkem biomasy, který měl 1,8krát vyšší průměrné hodnoty respirace než treatment bez přidavku. Přidavek biouhlu respiraci nezvyšoval, ale v treatmentu s kombinací biomasy a biouhlu se respirace zvýšila 1,4krát oproti treatmentu bez přidavku.

Respirace během celé doby inkubace byla také ovlivněna přítomností žížal ( $F_{1,13} = 88,06$ ;  $P < 0,001$ ). U treatmentů s přidavkem žížal byla naměřena 1,3krát vyšší respirace než u treatmentů bez žížal. Respirace byla také ovlivněna interakcí substrátu a žížal ( $F_{3,13} = 5,21$ ;  $P < 0,05$ ). Nejvyšší rozdíl nárůstu respirace mezi treatmenty s přidavkem žížal a bez přidavku byl u přidavku biouhlu, a to 1,6krát. Blízké hodnoty respirace, ale vyšší jen 1,5krát, byly naměřeny u treatmentu bez přidavku. Nejmenší vliv přítomnosti žížal na respiraci byl zjištěn

u treatmentu s biomasou a treatmentu s kombinací biomasy a biouhlu. U obou treatmentů došlo ke zvýšení respirace jen 1,1krát.

Respirace půdy po celou dobu inkubace klesala ( $F_{5,65} = 152,57$ ;  $P < 0,001$ ). Prudce klesla respirace mezi prvním měření (den 14) a třetím měření (den 64), kdy se respirace snížila 1,5krát. Mezi následujícími měřeními klesala respirace pomalu. Průměrné hodnoty respirace měly všechny treatmenty srovnatelné ve třetím, čtvrtém a pátém měření (den 64, 96 a 124). Průměrná hodnota respirace všech treatmentů při prvním měření byla dvakrát vyšší než při posledním měření.

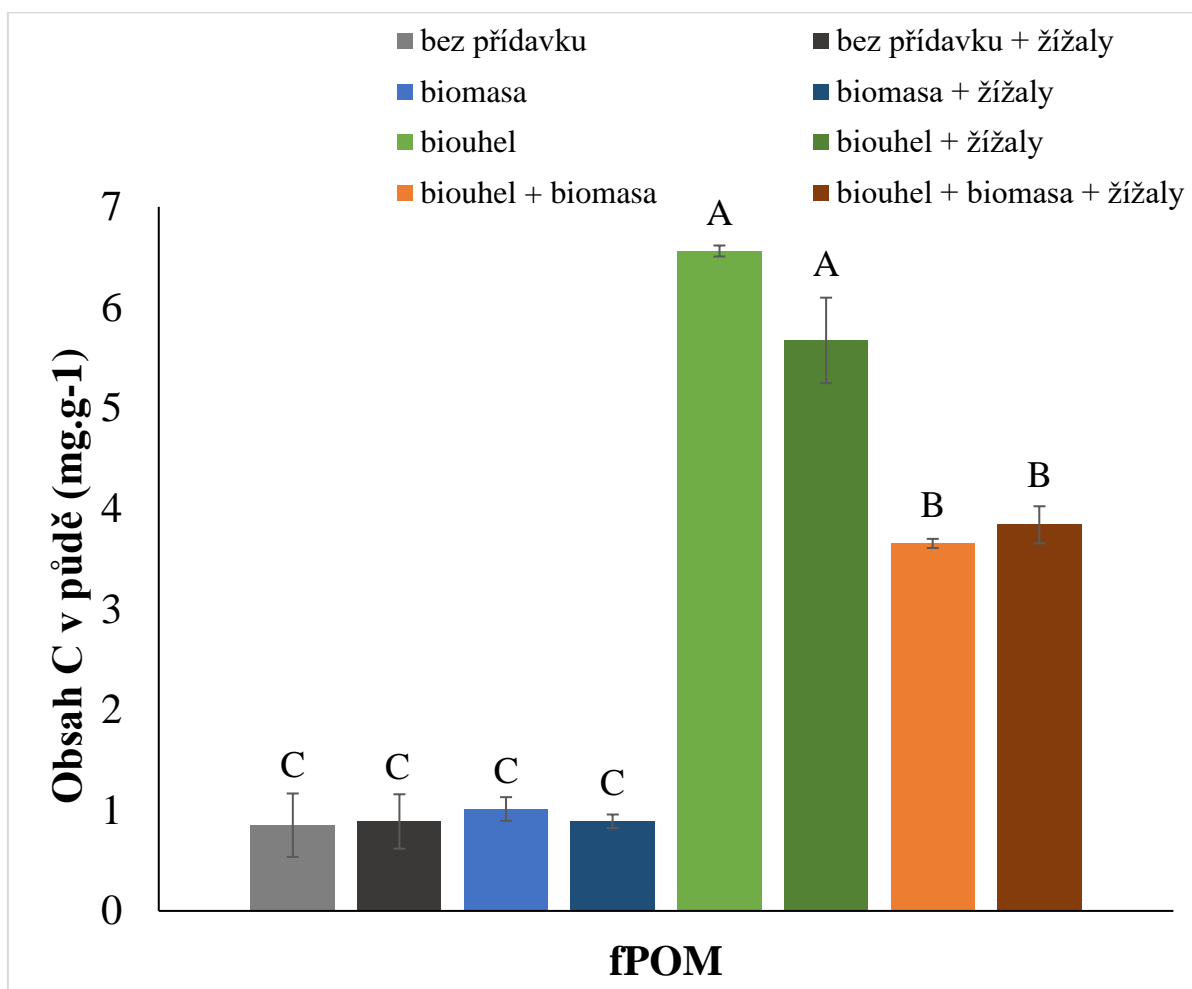
Rychlost klesání respirace byla ovlivněna přítomností žížal ( $F_{5,65} = 10,175$ ;  $P < 0,001$ ). V průběhu inkubace klesala respirace rychleji u treatmentů bez přídavku žížal. Mimo prudkého poklesu v prvních měřeních měly treatmenty bez žížal další výrazný pokles respirace v posledním měření. Mezi dnem 124 a dnem 152 respirace klesla 1,5krát. Treatmenty s žížalami měly 1,2krát vyšší hodnoty respirace a hodnoty klesaly pomaleji než treatmentech bez přídavku žížal.



Obrázek 19: Průběh hodnot respirace během manipulačního pokusu (průměr ± SEM, n = 4).

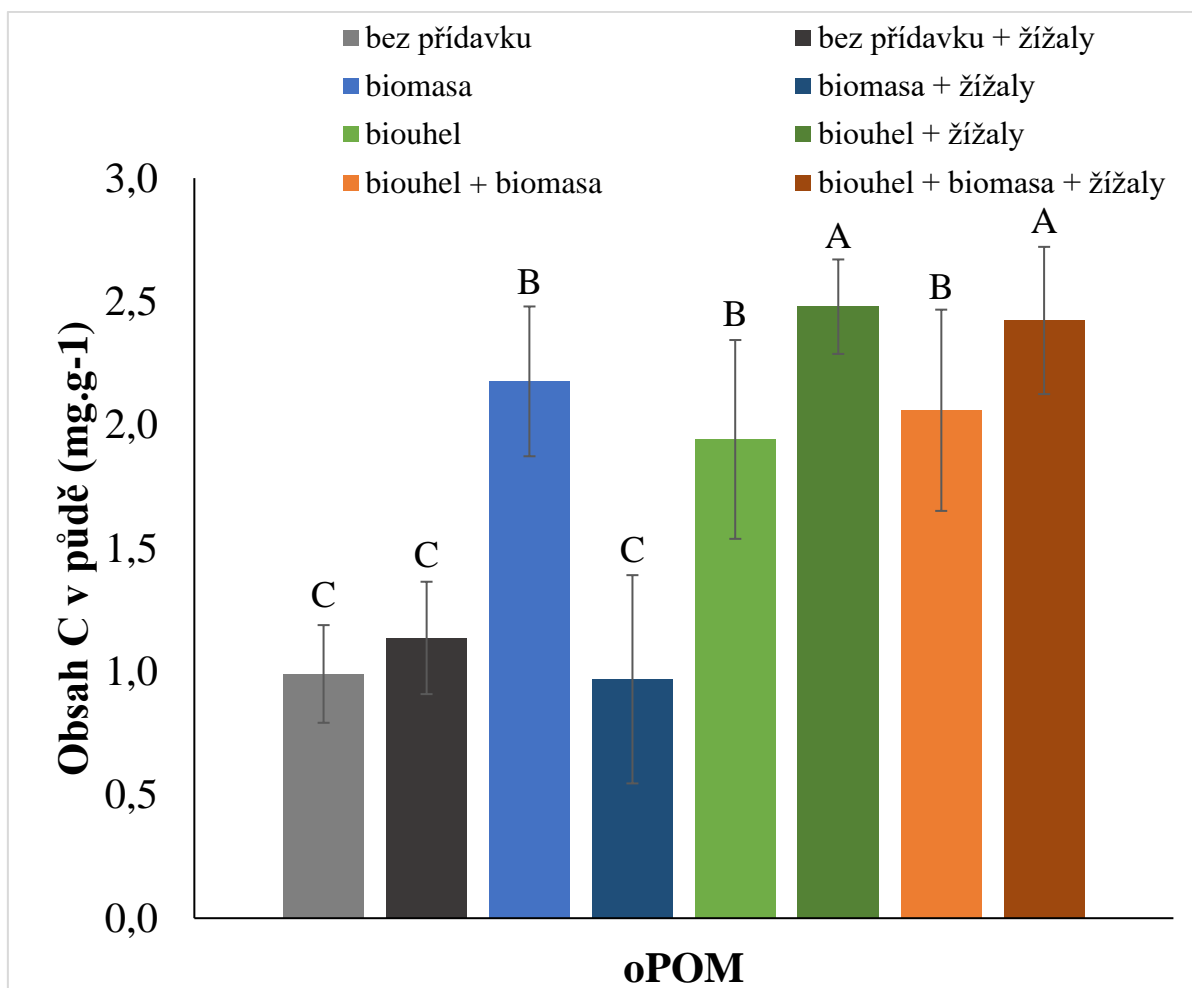
## 5.2 Frakcionace

Ve frakci fPOM ovlivnil obsah C přidavek substrátu ( $F_{3,16} = 234,56$ ;  $P < 0,001$ ) (Obr. 20). Přídavek biomasy neovlivnil obsah C v porovnání s treatmentem bez přídavku. Naopak obsah C byl navýšen 14,5krát přidavkem kombinace biomasy a biouhlu a 19,8krát přidavkem biouhlu. Přídavek žížal ( $F_{1,16} = 2,6$ ;  $P > 0,05$ ) ani interakce přídavku substrátu a žížal ( $F_{3,16} = 1,2$ ;  $P > 0,05$ ) neměly na obsah C žádný vliv.



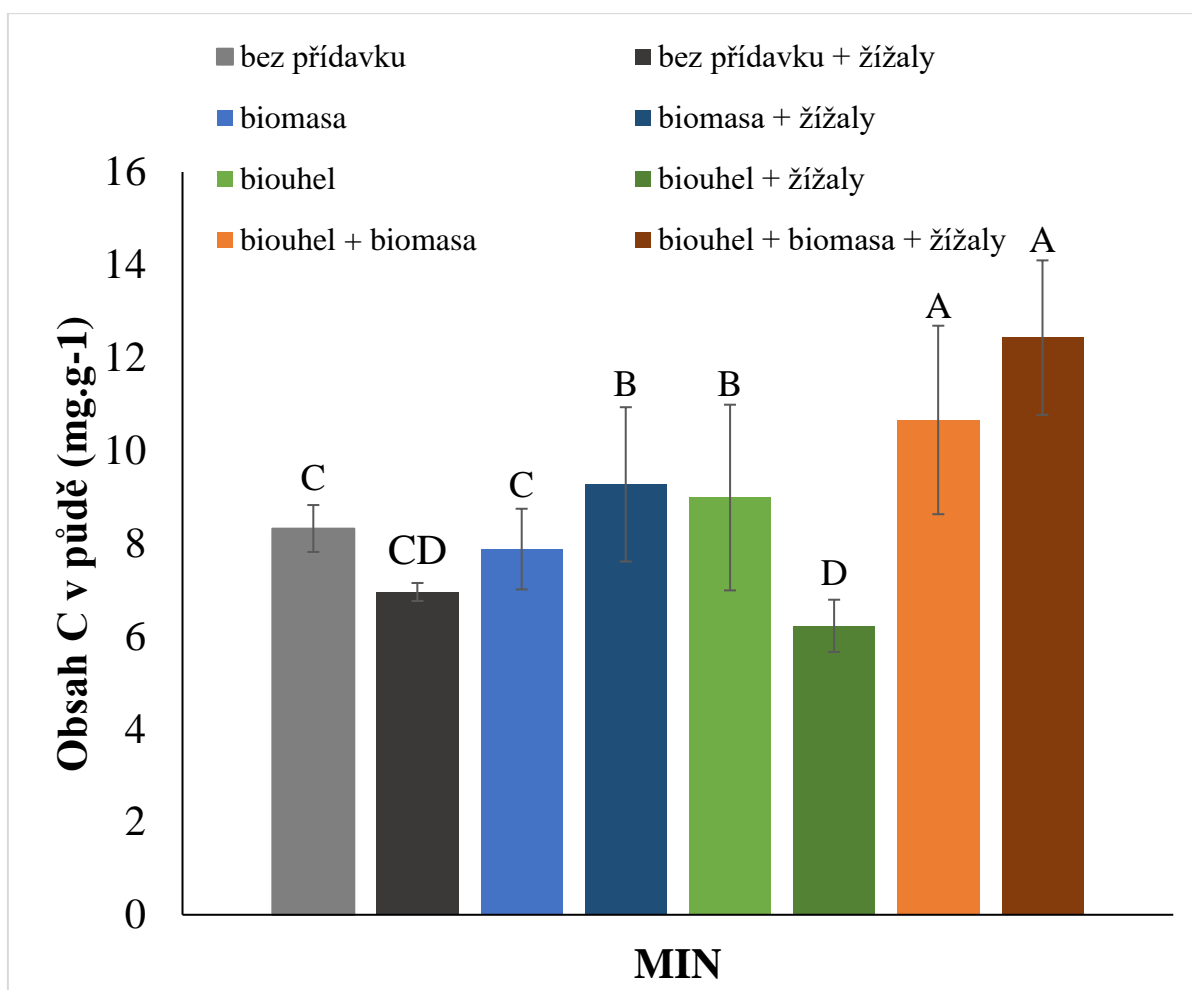
Obrázek 20: Hodnoty obsahu celkového C ve volné částicové organické hmotě (fPOM) (průměr  $\pm$  SEM,  $n = 3$ ). Různá písmena označují signifikantní rozdíly mezi hodnotami.

Ve frakci oPOM byl také zjištěn vliv substrátu na obsah C ( $F_{3,16} = 57,20$ ;  $P < 0,001$ ) (Obr. 21). Oproti treatmentu bez přídavku došlo k navýšení obsahu C 2,7krát u přídavku biomasy, 3,9krát u přídavku biouhlu a 4,2krát u kombinace biomasy a biouhlu. Vliv přídavku žížal opět nebyl signifikantní ( $F_{1,16} = 2,6$ ;  $P > 0,05$ ). Na obsah C však měla vliv interakce přídavku substrátu a přídavku žížal ( $F_{3,16} = 16,2$ ;  $P < 0,001$ ). Signifikantně rozdílné hodnoty však byly nalezeny jen u treatmentu s přídavkem biomasy, kdy měl treatment bez žížal 2,9krát vyšší hodnoty obsahu C než treatment s žížalami.



Obrázek 21: Hodnoty obsahu celkového C v obalené částicové organické hmotě (oPOM) (průměr ± SEM, n = 3). Různá písmena označují signifikantní rozdíly mezi hodnotami.

Ve frakci MIN byl opět prokázán vliv substrátu na obsah C ( $F_{3,16} = 33,34$ ;  $P < 0,001$ ) (Obr. 22). Nejnižší obsah C měly treatmenty bez přídavku a s přídavkem biouhlu, 1,05krát vyšší obsah C měl pak přídavek biomasy a 1,3krát vyšší přídavek kombinace biomasy a biouhlu. Vliv přídavku žížal opět nebyl signifikantní ( $F_{1,16} = 0$ ;  $P > 0,05$ ). Opět však byl prokázán vliv interakce přídavku substrátu a přídavku žížal na obsah C ( $F_{3,16} = 6,79$ ;  $P < 0,01$ ). Výrazný rozdíl v obsahu C se projevil u treatmentu s přídavkem biomasy a přídavkem biouhlu, kdy byl obsah C 1,1krát vyšší u přídavku biomasy a 0,9krát nižší u přídavku biouhlu v přítomnosti žížal než bez nich.



Obrázek 22: Hodnoty obsahu celkového C v minerální frakci (MIN) (průměr  $\pm$  SEM,  $n = 3$ ). Různá písmena označují signifikantní rozdíly mezi hodnotami.



## 6 Diskuse

Při rozkladu organického substrátu půdními organismy dochází k produkci CO<sub>2</sub>, a tedy k respiraci. Měření respirace tak umožňuje stanovit rychlost rozkladu přidaného substrátu, a to porovnáním s respirací bez přidaného substrátu. Přídavek kukuřičné biomasy měl podle předpokladu nejvyšší rychlost respirace na začátku inkubace, tudíž došlo k nejrychlejšímu rozkladu v porovnání s ostatními přídávky. Labilní C v biomase je rozkládán nejdříve a nejefektivněji a po krátké době se snadno dostupný zdroj C vyčerpá (Bonanomi a kol., 2018). Podobně klesla i rychlost respirace při druhém měření respirace (den 28). Přídavek kukuřičného biouhlu se naopak na hodnotách respirace téměř neprojevil. Respirace v prvních měřeních (den 14 a 28) byla zvýšena jen mírně, protože biouhel obsahuje jen malé množství labilního C (Smith a kol., 2010). Většinu tvoří aromatické sloučeniny, které mají tendenci se shlukovat a tvořit komplexní molekuly, které jsou odolné vůči rozkladu. Další schopností biouhlu je vázat na svůj povrch živiny. Na povrchu jsou mikropóry a také makropóry, které zvyšují povrch biouhlu. Tím na sebe biouhel dokáže navázat velké množství živin, které se stávají nedostupnými pro půdní organismy, které je potřebují pro svůj metabolismus, a tedy respiraci. Ve studii Bamminger a kol. (2014) byl studován vliv žížal na rozklad biouhlu při inkubaci v délce 37 dnů. V krátké inkubační době byla zjištěna pouze mírně zvýšená mineralizace C z biouhlu a žížaly nedokázaly asimilovat biochar ve větším množství. Tento výsledek opět potvrzuje tvrzení, že biouhel je rekalcitrantní.

Žížaly svou přítomností zvýšily respiraci mikrokosmů, takže u všech treatmentů s přídávkem žížal bez rozdílu v substrátu byly naměřeny vyšší hodnoty respirace než u treatmentů bez žížal. Ve studii Lubbers a kol. (2013) bylo také prokázáno signifikantní zvýšení CO<sub>2</sub> v treatmentech s žížalami, a to při inkubaci v délce 750 dní. V této studii byly použity 2 druhy žížal (epigeický a endogeický) a oba druhy zvýšily respiraci mezokosmů téměř o 25 %. V treatmentech s přídávkem kukuřičné biomasy a žížal však sice byla naměřena vyšší respirace než u treatmentů jen s kukuřičnou biomasou, ale respirace neodpovídala součtu respirace půdy, žížal a substrátu. To znamená, že aktivita žížal pravděpodobně snížila rozklad kukuřičné biomasy. To ale nelze říci s jistotou, protože v rámci celkové respirace nelze rozlišit relativní příspěvek respirace žížal, půdy a samotné kukuřičné biomasy. Pro toto stanovení by bylo nutné použít značení stabilními izotopy, pomocí kterých by bylo možné stanovit relativní příspěvky jednotlivých částí systému. Žížaly však pravděpodobně usnadňují stabilizaci C, díky čemuž nedochází k uvolnění dostupného C ve formě CO<sub>2</sub> do atmosféry. Přítomnost žížal celkově způsobila pomalejší pokles respirace, zřejmě proto že došlo ke zpomalení rozkladu C

v treatmentech se žížalami. Vyšší rychlost respirace s rychlejším poklesem byla naopak zaznamenána u treatmentů bez žížal, kde se dostupný C rychle vyčerpá.

Žížaly svojí aktivitou zpomalily rozklad biomasy, nebylo to však způsobeno stabilizací biomasy v půdních agregátech, protože obsah C po přidavku biomasy nebyl ve frakci oPOM navýšen. K navýšení obsahu C po přidavku biomasy však došlo v přítomnosti žížal v MIN frakci, což naznačuje, že žížaly svojí aktivitou zprostředkovávají navázání C z kukuřičné biomasy přímo na minerální částice. Podobné výsledky ukázala práce Angst a kol. (2019), kde byla provedena inkubace v délce 32 týdnů. Původní labilní C z rostlinných zbytků byl pomocí žížal stabilizován v mikrobiální nekromase navázané na minerální částice a v agregátech, a to bez navýšení mineralizace C. oPOM v mikroagregátech se následně pomocí žížal navázala přímo na minerální částice.

Čerstvá biomasa bez přítomnosti žížal nezůstala volně v půdě (frakce fPOM). U treatmentu s biomasou bez žížal došlo jen k malému zvýšení celkového C ve fPOM než u treatmentu s biomasou a žížalami a rozdíl nebyl signifikantní. Biomasa bez přítomnosti žížal samovolně agregovala a C byl obsažen v oPOM. Ve svém výzkumu však došel Bossuyt a kol. (2004) k jiným výsledkům. Po 20denní inkubaci byl vysoký obsah labilního C rostlinného původu v treatmentu bez přítomnosti žížal navázan na minerální částice. Bez žížal se po 20 dnech nevytvořily velké makroagregáty, ale jen mikroagregáty. Nejvyšší obsah celkového C v přítomnosti žížal byl naopak navázan v makroagregátech. V porovnání s krátkodobou inkubací v předešlé práci, frakcionace půdního C v této práci proběhla až po 152 dnech, tudíž krátkodobé přeměny v průběhu inkubace nebyly zachyceny a výsledky ukázaly až pozdější fázi přeměn biomasy vlivem žížal a uložení C. Žížaly tedy z dlouhodobého hlediska zabudovávají čerstvou biomasu do MIN frakce, což bylo také potvrzeno ve výzkumu Angst a kol. (2019). Studie Yavitt a kol. (2015) se zabývala zabudováním listnatého opadu a kořenových částí do agregátů v lesních půdách pomocí žížal (*Lumbricus rubellus* a *Lumbricus terrestris*). Po 3 letech inkubace studie prokázala pozitivní vliv žížal na tvorbu agregátů. Listnatý opad byl zcela rozložen, zatímco hůře rozložitelné kořenové části nebyly zcela rozloženy. Labilní C byl pomocí žížal stabilizován ve frakci oPOM v makroagregátech. Protože čerstvá biomasa byla přidávána v pravidelném ročním intervalu, žížaly měly dostatek labilního C, který byl během kratší doby uložen do agregátů.

Treatment s přidavkem biouhlu měl v fPOM vyšší obsah C než přidavek biomasy i kombinace biomasy a biouhlu, což podporuje tvrzení, že je biouhel rekalciitrantní a v půdě zůstane nerozložen delší dobu než biomasa. Bez přítomnosti žížal pak biouhel zvýšil obsah C

převážně ve frakci oPOM, což znamená, že podobně jako částice biomasy, i částice biouhlu samovolně podporují tvorbu agregátů. Vliv žížal tento efekt ještě umocňuje. Z krátkodobého hlediska (37denní inkubace) ale nebyl agregační efekt prokázán (Bamminger a kol., 2014). Rekalцитrantní biouhel tak zřejmě působí na agregaci až po delší době, což bylo prokázáno v této práci, kdy biouhel na konci inkubace podporoval tvorbu agregátů. Biouhel naopak nepodpořil vazbu C do frakce MIN, a to ani v přítomnosti žížal. Pro vazbu C do frakce MIN je tedy zřejmě zásadní dostupnost substrátu.

## **7 Závěr**

Přidávky čerstvé biomasy i zuhelnatělé biomasy (biouhlu) kukuřice jsou prospěšné pro přísun C do půdy. Při ukládání C do půdy přitom mají zásadní vliv žížaly, a to především proto, že zpomalují rozklad čerstvé biomasy a usnadňují vazbu C z biomasy na minerální částice, a tedy do stabilnějších frakcí. Podobně žížaly usnadňují vazbu zuhelnatělé biomasy do půdních agregátů. Bez žížal by se C z biomasy, případně i z biouhlu, rychleji uvolnil ve formě CO<sub>2</sub> do atmosféry. Žížaly tedy prokazatelně zabraňují uvolnění CO<sub>2</sub> do atmosféry a snižují tím jeho koncentraci, čímž se stávají důležitým činitelem při boji s globálním oteplováním.

## **8 Seznam literatury**

ANGST, G., MUELLER, C. W., PRATER, I., ANGST, Š., FROUZ, J., JÍLKOVÁ, V., PETERSE, F., NIEROP, K. G. J., 2019. Earthworms act as biochemical reactors to convert labile plant compounds into stabilized soil microbial necromass. *Communications Biology*. 2, 441. DOI: 10.1038/s42003-019-0684-z

BAMMINGER, C., ZAISER, N., ZINSSER, P., LAMERS, M., KAMMANN, C., MARHAN, S., 2014. Effects of biochar, earthworms, and litter addition on soil microbial activity and abundance in a temperate agricultural soil. *Biology and Fertility of Soils*. 50(8), 1189-1200. ISSN 0178-2762. DOI: 10.1007/s00374-014-0968-x

BONANOMI, G., INCERTI, G., EL-GAWAD, A. M. A. B. D. a kol., 2018. Comparing chemistry and bioactivity of burned vs. decomposed plant litter: different pathways but same result? *Ecology*. 99(1), 158-171. ISSN 0012-9658. DOI: 10.1002/ecy.2053

BOND-LAMBERTY, B., WANG, C. K., GOWER, S. T., 2004. A global relationship between the heterotrophic and autotrophic components of soil respiration? *Global Change Biology*. 10(10), 1756-1766. ISSN 1354-1013. DOI: 10.1111/j.1365-2486.2004.00816.x

BONKOWSKI, M., SCHEU, S., SCHAEFER, M., 1998. Interactions of earthworms (*Octolasion lacteum*), millipedes (*Glomeris marginata*) and plants (*Hordelymus europaeus*) in a beechwood on a basalt hill: implications for litter decomposition and soil formation. *Applied Ecology*. 9(1-3), 161-166. ISSN 0929-1393. DOI: 10.1016/S0929-1393(98)00070-5

BOSSUYT, H., SIX, J., HENDRIX, P. F., 2004. Rapid incorporation of carbon from fresh residues into newly formed stable microaggregates within earthworm casts. *European Journal of Soil Science*. 55(2), 393-399. ISSN 1351-0754. DOI:10.1111/j.1351-0754.2004.00603.x

BOSSUYT, H., SIX, J., HENDRIX, P. F., 2005. Protection of soil carbon by microaggregates within earthworm casts. *Soil Biology & Biochemistry*. 37(2), 251-258. ISSN 0038-0717. DOI: 10.1016/j.soilbio.2004.07.035

BRADFORD, M. A., 2013. Thermal adaptation of decomposer communities in warming soils. *Frontiers in Microbiology*. 4, 333. ISSN 1664-302X. DOI:10.3389/fmicb.2013.00333

BRONICK, C. J., LAL, R., 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma*. 124(1-2), 3-22. ISSN 0016-7061. DOI: 10.1016/j.geoderma.2004.03.005

- DEL GALDO, I., SIX, J., PERESSOTTI, A., COTRUFO, M. F., 2003. Assessing the impact of land-use change on soil C sequestration in agricultural soils by means of organic matter fractionation and stable C isotopes. *Global Change Biology*. 9(8), 1204-1213. ISSN 1354-1013. DOI: 10.1046/j.1365-2486.2003.00657.x
- DOMINGUEZ, J., AIRA, M., PORTO, P. G., COSIN, D. J. D., PEREZ-LOSADA, M., 2018. Multigene phylogeny reveals two new isolated and relic earthworm genera (Oligochaeta: Lumbricidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*. 182(2), 258-274. ISSN 0024-4082. DOI: 10.1093/zoolinnean/zlx031
- EIJSSACKERS, H., 2011. Earthworms as colonizers of natural and cultivated soil environments. *Applied Soil Ecology*. 50, 1-13. ISSN 0929-1393. DOI: 10.1016/j.apsoil.2011.07.008
- FAHEY, T. J., YAVITT, J. B., SHERMAN, R. E., MAERZ, J. C., GROFFMAN, P. M., FISK, M. C., BOHLEN, P. J., 2013. Earthworm effects on the incorporation of litter C and N into soil organic matter in a sugar maple forest. *Ecological Applications*. 23(5), 1185-1201. ISSN 1051-0761. DOI: 10.1890/12-1760.1
- FERREIRA, T., HANSEL, F. A., MAIA, C. M. B. F., GUIOTOKU, M., CUNHA, L., BROWN, G. G., 2021. Earthworm-biochar interactions: a laboratory trial using *Pontoscolex corethrurus*. *Science of the Total Environment*. 777, 146147. ISSN 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.146147
- GUNINA, A., RYZHOVA, I., DORODNIKOV, M., KUZYAKOV, Y., 2015. Effect of plant communities on aggregate composition and organic matter stabilisation in young soils. *Plant and Soil*. 387(1-2), 265-275. ISSN 0032-079X. DOI: 10.1007/s11104-014-2299-y
- HLAVÁČIKOVÁ, H., NOVÁK, V., KAMEYAMA, K., BREZIANSKA, K., RODNÝ, M., VÍTKOVÁ, J., 2019. Two types of biochars: one made from sugarcane bagasse, other one produced from paper fiber sludge and grain husks and their effects on water retention of a clay, a loamy soil and a silica sand. *Soil and Water Research*. 14(2), 67-75. ISSN 1801-5395. DOI: 10.17221/15/2018-SWR
- HUANG, X. J., HORN, R., REN, T. S., 2022. Soil structure effects on deformation, pore water pressure, and consequences for air permeability during compaction and subsequent shearing. *Geoderma*. 406, 115452. ISSN 0016-7061. DOI: 10.1016/j.geoderma.2021.115452

- KAISER, M., BERHE, A. A., 2014. How does sonication affect the mineral and organic constituents of soil aggregates? A review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 177(4), 479-495. ISSN 1436-8730. DOI: 10.1002/jpln.201300339
- LAVELLE, P., SPAIN, A. V., 2001. *Soil Ecology*. Kluwer Academic Publishers. ISBN 1-4020-0490-7.
- LUBBERS, I. M., VAN GROENIGEN, K. J., FONTE, S. J., SIX, J., BRUSSAARD, L., VAN GROENIGEN, J. W., 2013. Greenhouse-gas emissions from soils increased by earthworms. *Nature Climate Change*. 3(3), 187-194. ISSN 1758-678X. DOI: 10.1038/NCLIMATE1692
- MCLAUCHLAN, K., 2006. The nature and longevity of agricultural impacts on soil carbon and nutrients: a review. *Ecosystems*. 9(8), 1364-1382. ISSN 1432-9840. DOI: 10.1007/s10021-005-0135-1
- MIKO, L., ŠANTRŮČKOVÁ, H., ZÁHORA, J., MÁCHAL, A., 2019. *Život v půdě: Příručka pro začínající půdní biologie*. 1. Brno: Lipka. ISBN 978-80-88212-17-1.
- MIKUTTA, R., TURNER, S., SCHIPPERS, A. a kol., 2019. Microbial and abiotic controls on mineral-associated organic matter in soil profiles along an ecosystem gradient. *Scientific Reports*. 9, 10294. ISSN 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-019-46501-4
- MOYANO, F. E., MANZONI, S., CHENU, C., 2013. Responses of soil heterotrophic respiration to moisture availability: an exploration of processes and models. *Soil Biology & Biochemistry*. 59, 72-85. ISSN 0038-0717. DOI: 10.1016/j.soilbio.2013.01.002
- MÜLLER, K., MARHAN, S., KANDELER, E., POLL, C., 2017. Carbon flow from litter through soil microorganisms: from incorporation rates to mean residence times in bacteria and fungi. *Soil Biology & Biochemistry*. 115, 187-196. ISSN 0038-0717. DOI: 10.1016/j.soilbio.2017.08.017
- PAUL, E. A., 2016. The nature and dynamics of soil organic matter: plant inputs, microbial transformations, and organic matter stabilization. *Soil Biology & Biochemistry*. 98, 109-126. ISSN 0038-0717. DOI: 10.1016/j.soilbio.2016.04.001
- RYAN, M. G., LAW, B. E., 2005. Interpreting, measuring, and modeling soil respiration. *Biogeochemistry*. 73(1), 3-27. ISSN 0168-2563. DOI: 10.1007/s10533-004-5167-7

- ŚCISŁOWSKA, M., WŁODARCZYK, R., KOBYLECKI, R., BIS, Z., 2015. Biochar to improve the quality and productivity of soils. *Journal of Ecological Engineering*. 16(3), 31-35. ISSN 2299-8993. DOI: 10.12911/22998993/2802
- SCHJØNNING, P., RASMUSSEN, K. J., 2000. Soil strength and soil pore characteristics for direct drilled and ploughed soils. *Soil & Tillage Research*. 57(1-2), 69-82. ISSN 0167-1987. DOI: 10.1016/S0167-1987(00)00149-5
- SCHLESINGER, W. H., ANDREWS, J. A., 2000. Soil respiration and the global carbon cycle. *Biogeochemistry*. 48(1), 7-20. ISSN 0168-2563. DOI: 10.1023/A:1006247623877
- SIDDIQUE, K. H. M., REGAN, K. L., TENNAN, D., THOMSON, B. D., 2001. Water use and water use efficiency of cool season grain legumes in low rainfall Mediterranean-type environments. *European Journal of Agronomy*. 15(4), 267-280. ISSN 1161-0301. DOI: 10.1016/S1161-0301(01)00106-X
- SMITH, J. L., COLLINS, H. P., BAILEY, V. L., 2010. The effect of young biochar on soil respiration. *Soil Biology & Biochemistry*. 42(12), 2345-2347. ISSN 0038-0717. DOI: 10.1016/j.soilbio.2010.09.013
- SMITH, P., COTRUFO, M. E., RUMPEL, C. a kol., 2015. Biogeochemical cycles and biodiversity as key drivers of ecosystem services provided by soils. *Soil*. 1(2), 665-685. ISSN 2199-3971. DOI: 10.5194/soil-1-665-2015
- SOHI, S. P., KRULL, E., LOPEZ-CAPEL, E., BOL, R., 2010. A review of biochar and its use and function in soil. *Advances in Agronomy*. 105, 82-47. ISSN 0065-2113. DOI: 10.1016/S0065-2113(10)05002-9
- ŠANTRŮČKOVÁ, H., KAŠTOVSKÁ, E., BÁRTA, J., MIKO, L., TAJOVSKÝ, K., 2018. *Ekologie půdy*. 1. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. ISBN 978-80-7394-695-1.
- ŠIMEK, M. a kolektiv, 2019. *Živá půda: Biologie půdy*. 1. Praha: Academia. ISBN 978-80-200-2976-8.
- ŠIMEK, M. a kolektiv, 2019. *Živá půda: Ekologie, využívání a degradace půdy*. 1. Praha: Academia. ISBN 978-80-200-2976-8.

TIUNOV, A. V., SCHEU, S., 2000. Microbial biomass, biovolume and respiration in *Lumbricus terrestris* L. cast material of different age. *Soil Biology & Biochemistry*. 32(2), 265-275. ISSN 0038-0717. DOI: 10.1016/S0038-0717(99)00165-0

VIDAL, A., KLOFFEL, T., GUIGUE, J., ANGST, G., STEFFENS, M., HOESCHEN, C., MUELLER, C. W., 2021. Visualizing the transfer of organic matter from decaying plant residues to soil mineral surfaces controlled by microorganisms. *Soil Biology & Biochemistry*. 160, 108347. ISSN 0038-0717. DOI: 10.1016/j.soilbio.2021.108347

YAVITT, J. B., FAHEY, T. J., SHERMAN, R. E., GROFFMAN, P M., 2015. Lumbricid earthworm effects on incorporation of root and leaf litter into aggregates in a forest soil, New York State. *Biogeochemistry*. 125(2), 261-273. ISSN 0168-2563. DOI: 10.1007/s10533-015-0126-z