

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Biologická fakulta**



Bakalářská diplomová práce

Přímý vliv eutrofizace na mikrobiální procesy v mokřadních půdách s důrazem na cyklus dusíku

Jiří Mach

Vedoucí práce: Mgr. Eva Uhlířová, Ph.D.

České Budějovice 2007

Mach J. (2007): Přímý vliv eutrofizace na mikrobiální procesy v mokřadních půdách s důrazem na cyklus dusíku. (Direct effect of eutrophication on microbial processes in wet meadows soils with accent on nitrogen cycle, Bc. Thesis, in Czech) – 48 p., Faculty of Biological Sciences, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

Increased nutrient input to wet meadows ecosystems often leads to eutrophication. This thesis observes direct effect of fertilization on microbial processes and transformations of nitrogen in three different types of soils. A laboratory experiment consisted in one-shot nutrient addition (fertilizer NPK). Changes in C, N, P microbial biomass, changes in transformations of nitrogen (nitrification, mineralization N, asimilation N, denitrification) and changes in mineralization C (soil respiration) were studied during 21 days.

Anotace:

Zvýšený přísun živin mokřadních ekosystémů často vede k jejich eutrofizaci. Tato práce sledovala přímý vliv hnojení na mikrobiální procesy a přeměny dusíku ve třech odlišných půdách. Laboratorní experiment spočíval v jednorázovém přidavku živin (hnojivo NPK), přičemž byly po dobu 21 dnů sledovány změny v C, N, P mikrobiálních biomasách, změny v přeměnách dusíku (nitrifikace, mineralizace N, asimilace N, denitrifikace) a změny v mineralizaci C (půdní respiraci).

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně, pouze za vedení Mgr. Evy Uhlířové, Ph.D. a s použitím citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 9.5. 2007

.....

Poděkování

Zde bych velice rád poděkoval všem lidem, kteří mi byli nápomocni při vzniku této práce. Největší dík náleží mé školitelce Mgr. Evě Uhlířové, Ph.D., které jsem vděčný za rady, výpomoc a ochotu, kterou mi poskytla. Dále děkuji Mgr. Barboře Černé, Mgr. Karolíně Tahovské a Ing. Tomášovi Pickovi, Ph.D. za pomoc v laboratoři a za věcné rady a připomínky. Dr. Keithu Edwardsovi a Mgr. Jiřímu Duškovi, Ph.D. za poskytnutí informací z terénních měření. Za psychickou podporu při vytváření této práce bych chtěl poděkovat hlavně své rodině a také kamarádům, především Ivaně Palatkové a Zuzaně Ondráčkové. Rád bych také poděkoval Grantové agentuře ČR, která svým grantem podpořila vznik této práce.

NA TITULNÍ STRANĚ JE FOTOGRAFIE MOKRÝCH LUK U TŘEBONĚ (OBR. 1)

Obsah:

1. ÚVOD	4
2 LITERÁRNÍ PŘEHLED	5
2.1 MOKŘADY	5
2.2 MINERÁLNÍ A ORGANICKÉ PŮDY MOKŘADŮ	6
2.2.1 Organické půdy	6
2.2.2 Minerální půdy	6
2.3 DUSÍK V PŮDĚ	7
2.3.1 Množství a formy dusíku v půdě	7
2.3.2 Cyklus dusíku v půdě	7
2.3.3 Eutrofizace a její vliv na cyklus N v půdě	8
2.3.4 Eutrofizace a její vliv na cyklus C v půdě	9
3 CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY	11
4 MATERIÁL A METODIKA	12
4.1 LOKALITY	12
4.2 LABORATORNÍ EXPERIMENT	14
4.2.1 Odběr a úprava vzorků	14
4.2.2 Uspořádání experimentu	14
4.2.3 Použité metody	15
4.3 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT	20
3. VÝSLEDKY	21
3.1 VÝTĚŽNOST EXTRAKCE N-NO ₃ A N-NH ₄ PO PŘIDÁNÍ HNOJIVA	21
3.2 MIKROBIÁLNÍ BIOMASA	21
3.2.1 Dusík v mikrobiální biomase (N _{mic})	21
3.2.2 Fosfor v mikrobiální biomase (P _{mic})	22
3.2.2 Uhlík v mikrobiální biomase (C _{mic})	23
3.3 MINERALIZACE UHLÍKU	25
3.1 Rychlost mineralizace C (respirace) v průběhu 21 dní	25
3.3.2 Kumulativní respirace	26
3.4 ZÁSoba N-NH ₄ A N-NO ₃	26
3.4.1 Množství dostupného N-NH ₄	26
3.4.2 Množství dostupného N-NO ₃	27
3.5 PŘEMĚNY DUSÍKU	28
3.5.1 Nitrifikace	28
3.5.2 Mineralizace N	29
3.5.3 Asimilace N	29
3.5.4 Denitrifikace	30
4 DISKUZE	32
4.1 VLIV LOKALITY (MNOŽSTVÍ SOM A TROFIE)	32
4.2 VLIV HNOJENÍ NPK V LABORATORNÍM POKUSU	35
4.3 VLIV ČASU	37
4.4 OMEZENÍ V INTERPRETACI VÝSLEDKŮ	37
7. ZÁVĚR	38
8. LITERATURA	39

1. Úvod

Ekosystémy mokřadů zaujímají přibližně 5 % rozlohy zemského povrchu (Aselman a Crutzen, 1989). V České republice je zastupují zejména nivní mokřady a lužní lesy, rybníky a jezera se svými litorály, sladkovodní bažiny, rašeliniště a slatiniště, a v neposlední řadě i periodicky zaplavované mokré louky. V krajině plní mnoho jedinečných funkcí. Slouží jako retenční prostory povodní, zlepšují kvalitu vody, podílejí se na stabilizaci globálních cyklů uhlíku, dusíku a síry (Mitsch a Gosselink, 2000). Jsou klíčové pro přežívání ohrožených druhů rostlin, hub i živočichů, a to včetně kriticky ohrožených (viz. např. Chytil a kol., 1999). Mokřady jsou však často narušeny činností člověka. V posledních letech se jedním z nejzávažnějších problémů stalo obohacování systémů sloučeninami dusíku a fosforu (eutrofizace). Je známo, že eutrofizace způsobuje ztrátu druhové diverzity rostlin a změnu ve složení a produkci společenstev. Vliv eutrofizace na Chráněnou krajinnou oblast Třeboňsko dokládají např. Prach a Soukupová (2002). Důležitými faktory ovlivňujícími dostupnost živin (zvýšenou eutrofizací) v mokřadech je kromě míry zaplavení půdy i její typ. Na Třeboňsku se vyskytují jak organické tak i minerální půdy.

Předkládaná práce je součástí grantového projektu (GA ČR 526/06/0276), který sleduje vliv eutrofizace mokřadů na interakci půda-rostlina s důrazem na transformace uhlíku a dusíku. V roce 2006 byl založen terénní experiment v CHKO Třeboňsko. Na vybraných lokalitách (louky s organickou a minerální půdou) byly vytyčeny pokusné plochy a na podzim byly pohnojeny minerálním hnojivem NPK. Prvními analýzami zatím nebyly zjištěny průkazné rozdíly v rostlinné produkci (Edwards, terénní měření – nepublikované) ani v transformacích uhlíku a dusíku (mnou naměřená data, která budou součástí časové řady měření v magisterské práci). Za účelem získání dat do této bakalářské práce jsem založil jednoduchý laboratorní experiment s vyloučením vlivu rostlin, ve kterém byl simulován jednorázový vstup živin do půdy a následně zkoumán přímý vliv hnojení na mikrobiální procesy s důrazem na cyklus dusíku.

2 Literární přehled

2.1 Mokřady

Termín mokřad je poměrně mladý, začal se široce používat v druhé polovině 20. století. Z ekologického hlediska tvoří mokřady přechod mezi suchozemským a vodním ekosystémem, z čehož vyplývá značná nestálost prostředí (Vymazal, 1995; Orme, 1990). Má i své jedinečné vlastnosti, které nejsou známy z přilehlého vodního a suchozemského prostředí (Patten, 1990). Definice mokřadu je poměrně obtížná, protože se jednotlivé mokřady liší velikostí, hydrologickými poměry, lokalitou i stupněm ovlivnění člověkem. Problém tvoří i široká škála rostlinných společenstev, kvůli níž je obtížné stanovit, kde mokřad začíná a kde končí (Gopal a kol., 1990; Mitsch a Gosselink, 2000). V Ramsarské úmluvě („Úmluva o mokřadech majících mezinárodní význam především jako biotopy ptactva“), přijaté v roce 1971, je mokřad definován jako území bažin, slatin, rašelinišť i území pokrytých vodou, přirozeně i uměle vytvořených, trvalých či dočasných, s vodou stojatou či tekoucí, sladkou, brakickou či slanou, včetně území s mořskou vodou, jejíž hloubka při odlivu nepřesahuje šest metrů (IUCN, 1971; Chytil a kol., 1999). Komplexní členění mokřadů, které bylo zpracováno pro databanku Ramsarské konvence, uvádí Hudec a kol. (1993). Rozděluje mokřady na 1) mořské a pobřežní (mořské, estuarinní, laguny) a 2) vnitrozemské (říční, jezerní, bažinné a mokřinné, geotermální biotopy, kulturní krajina).

Mokřady se vyskytují na všech kontinentech kromě Antarktidy a ve všech klimatických pásmech od tropů po tundru (Vymazal, 1995), většina mokřadů se však nachází v boreálním a tundrovém pásmu na severní polokouli (Archibold, 1995). Jejich plocha zaujímá 8 milionů km², což představuje asi 5 % povrchu Země (Aselman a Crutzen, 1989; Mitsch a Gosselink, 2000). Na ekosystémové úrovni mokřady zmírňují následky záplav a bouřek, tvoří zásobník vody a mají estetickou hodnotu (Larson, 1990; Mitsch a Gosselink, 2000). Zlepšují kvalitu vody (Sather a kol., 1990), čehož se v posledních letech masivně využívá v kořenových čistírnách odpadních vod (KČOV) (Kadlec a Knight, 1996). Z globálního hlediska pak mokřady ovlivňují cykly makronutrientů uhlíku, dusíku a síry.

Má práce se zabývá mokřadními loukami („wet meadows“). Jejich studium bylo na okraji zájmu vědců (Williams, 1990), což významně změnilo teprve přijetí Ramsarské dohody o ochraně mokřadů („Úmluva o mokřadech majících mezinárodní význam především jako biotopy ptactva“, IUCN) v roce 1971. V minulosti byly tyto mokřady (tehdy označované spíše

za bažiny a močály) často záměrně odvodňovány za účelem jejich zemědělského využití. Vlivem nadměrného přísunu živin docházelo ke zvýšení rostlinné biomasy (Kruk, 2003), snížení druhové skladby rostlinných společenstev (Prach, 1996; Keddy, 2000; Aerts a kol., 1990; Tamm, 1991), společenstev živočichů včetně půdních mikroorganismů (Arnebrant a kol., 1990; Galatowitsch a kol., 2000), což vedlo ke změnám struktury i funkce těchto ekosystémů (Craft a Richardson, 1998). Mnoho mokrých luk bylo také ponecháno ladem, bez jakékoliv péče. Všechny tyto procesy vedly k tomu, že se z mokrých luk staly jedny z nejohroženějších ekosystémů v České republice (Moravec a kol., 1995).

2.2 Minerální a organické půdy mokřadů

2.2.1 Organické půdy

Organickou půdou se rozumí půda s obsahem půdní organické hmoty větší než 20-30 % hmotnosti (Brady a Weil, 2002) a s ním spojený vysoký obsah organického dusíku, pH v kyselé oblasti, nízká objemová hmotnost půdy a vysoká pórovitost. Barva je tmavě hnědá nebo černá. Z globálního hlediska jsou důležitým úložištěm uhlíku (přibližně 20 % celosvětového množství). Poměr C/N je asi 20:1 (Brady a Weil, 2002). Ze zkoumaných lokalit v této práci odpovídají organické půdě půdy Zábřatských a Mokrých luk.

2.2.2 Minerální půdy

V minerální půdě dosahuje podíl organické složky méně než 20-30 % hmotnosti a obsah organického uhlíku je menší než 12-20 %, pH je obvykle neutrální, vysoká je objemová hmotnost a dostupnost živin. Pro mokřadní minerální půdy je charakteristický tzv. redoximorfnní horizont oxidů železa a manganu, který ovlivňuje barvu půdy. Poměr C/N v organickém podílu je asi 12:1 (Brady a Weil, 2002). Ze zkoumaných lokalit odpovídá minerálními typy půd lokalita Hamr.

2.3 Dusík v půdě

2.3.1 Množství a formy dusíku v půdě

Většina dusíku na Zemi je obsažena v litosféře, která obsahuje celkem $1\,636\,000 \cdot 10^{14}$ kg N (Stevenson a Cole., 1999). Koncentrace N v horninách je ale velmi malá. Naopak svrchní vrstva litosféry – pedosféra, tedy půda, je o dusík velmi obohacena. Přesto i toto množství tvoří jen asi 2% z celkového dusíku na Zemi. Celkový obsah dusíku v půdě je $2,4 \cdot 10^{14}$ kg N, z toho $2,2 \cdot 10^{14}$ kg N se vyskytuje v organických formách a $0,2 \cdot 10^{14}$ kg N v minerálních formách (Stevenson a Cole., 1999).

Obsah celkového dusíku se liší u různých typů ekosystémů, od $0,2 \text{ kg N m}^{-3}$ v poušti po 2 kg N m^{-3} v tundře (Post a kol., 1985). Obsah dusíku v lučním ekosystému je $8316 \text{ kg N ha}^{-1}$ (Rychnovská, 1993). Obsah celkového dusíku je taktéž ovlivněn hloubkou půdního horizontu. Obecně platí, že koncentrace N se snižuje s hloubkou půdního horizontu. Více než 90% půdního dusíku se tedy vyskytuje v organických formách, z toho 5-10% ve formě aminocukrů, 20-40% ve formě aminokyselin a proteinů, 1-5 % ve formě biomasy a zbytek v těžko přístupných formách aromatických sloučenin nebo mukopeptidů (Úlehlová, 1989). Pouze 20 – 30 % organicky vázaného N se může snadno uvolnit mineralizací ve formě N-NH_4 . V minerálních formách se může dusík vyskytovat v půdě v plynných formách jako N_2O , NO, NO_2 , NH_3 , které jsou přítomné v nízkých koncentracích v půdní atmosféře, a nebo ve formě iontů NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , vyskytujících se v půdním roztoku, které mohou být vázány na organo-minerální komplex.

2.3.2 Cyklus dusíku v půdě

Ve všech ekosystémech platí, že mikrobiální procesy hrají klíčovou roli v cyklu dusíku (Rosswall, 1982). Vstup minerálních dusíkatých sloučenin do půdy probíhá buď mineralizací organických dusíkatých látek z odumřelé biomasy (rostlin a živočichů), depozicí, fixací atmosférického N nebo hnojením. Mnoho druhů heterotrofních bakterií, aktinomycet a hub dokáže rozložit organické formy dusíku na amoniak a amonné soli. Tento proces, při kterém se uplatňuje mnoho extracelulárních a částečně také intracelulárních enzymů (Sylvia a kol., 1998) se nazývá **mineralizace N** (amonifikace) (Dykyjová a kol., 1989). Mineralizace N probíhá v aerobním i anaerobním prostředí a je závislá především na dostupnosti živin a na teplotě (Mitch a Gosselink, 2000).

Mineralizací N vzniklý amonný dusík je většinou **asimilován kořeny rostlin nebo mikroorganismy** pro syntézu aminokyselin a bílkovin. Při $\text{pH} > 8$ se amonný dusík uvolňuje volatilizací do atmosféry jako NH_3 . Mikroorganismy nejprve oxidují amoniak a amonné soli na dusitany a dále pak na dusičnany. Tento proces, který je striktně aerobní (Úlehlová, 1989) se nazývá **nitrifikace**. Mezi hlavní faktory, které nitrifikaci ovlivňují, patří tedy aerace půdy, pak také velikost populace mikroorganismů schopných nitrifikace a také dostupnost substrátu, tj. amoniaku a amonných solí (Sylvia a kol., 1998). Nitrifikace je také velmi citlivá na pH půdy (Dykyjová a kol., 1989), přičemž když je $\text{pH} < 4,5$, tak rychlost nitrifikace výrazně klesá. Vzniklé dusičnany jsou ve vodě velmi dobře rozpustné a jsou proto v půdách dobře pohyblivé. Pokud nejsou rychle zužitkovány kořeny vyšších rostlin nebo mikroorganismy, rychle se z ekosystému vyplaví. Koncentrace nitrátů se mění také během vegetačního období, kdy se jejich množství zvyšuje v zimě, protože jsou vylouhovány z půdy a nejsou odčerpány kořeny rostlin (Kadlec a Knight, 1996).

Redukce dusičnanů na plynné formy dusíku je další důležitý proces, který označujeme jako **denitrifikaci**. Mikroorganismy redukují nitráty na nitrity a dále pak na plynné formy dusíku. Denitrifikace probíhá anaerobně, v půdách málo provzdušněných nebo s vysokým obsahem organické hmoty, která k rozkladu potřebuje velké množství kyslíku (Johnston, 1991; Dykyjová a kol., 1989). Plynné produkty denitrifikace (NO , N_2O , N_2) se z půdy uvolňují do atmosféry.

Cyklus dusíku v mokřadech má oproti jiným systémům svá specifika. Pro mokré louky je charakteristické, že se v průběhu roku periodicky mění hladina vody, a tedy saturace půdy vodou a její aerační status. Zatímco v letních měsících je obsah vody nižší, v důsledku čehož převažují aerobní procesy (nitrifikace), tak v zimních a jarních měsících jsou pak mokřady z většiny zaplaveny vodou, tudíž zde probíhají hlavně procesy anaerobní (denitrifikace) (Úlehlová, 1989; Golterman 1995).

2.3.3 Eutrofizace a její vliv na cyklus N v půdě

Limitující živinou rostlinné produkce a mikrobiální aktivity v prostředí je dusík (Venterink a kol., 2002) nebo častěji fosfor (Lellák a Kubíček, 1991; Pitter, 1999). Množství těchto živin v prostředí (trofie) je ovlivněno řadou přirozených procesů (přirozená eutrofizace) i činností člověka (antropogenní eutrofizace). Hlavními původci eutrofizace jsou kyselý déšť, zemědělská činnost a vypouštění odpadních vod (Barendregt a Beltman, 2005). Mechanismem eutrofizace je zvýšení dostupnosti těchto limitujících živin pro rostliny i

mikroorganismy. Tak dojde ke zvýšení trofie prostředí, čímž se mění produkce, struktura a funkce ekosystému. Eutrofizace je jev a pojem nejčastěji spojovaný s vodními ekosystémy, především pak se stojatými vodami. Pitter (1999) proto definuje eutrofizaci jako růst obsahu minerálních živin (především fosforu a dusíku) ve vodách, který je doprovázen rozvojem fotosyntetizujících organismů. Eutrofizaci lze ale pozorovat i v terestrických ekosystémech, a to zejména v mokřadech blízce spojených s vodním prostředím. Hlavní příčinou eutrofizace mokřých luk je splavování hnojiv ze zemědělsky obdělávané půdy a vlastní hnojení mokřých luk za účelem navýšení rostlinné produkce.

Obecně platí, že hnojení anorganickým i organickým N (rostlinný opad, prasečí kejda) zvyšuje koncentraci N v půdě (Magill a kol., 2004). Přídavek dusíku průkazně zvyšuje růst rostlin (Henry a kol., 2005) a s tím souvisí i vyšší exudace (rhizodepozice) (Kuzyakov a kol., 2002; Peterson a kol., 2006). Hnojení také snižuje poměr C/N rostlinného opadu (Corstange, 2007). Všechny tyto faktory pak ovlivňují procesy a přeměny N v půdě. Dochází ke zrychlení dekompozice, snižuje se imobilizace N z opadu s vyšší koncentrací dusíku, v důsledku čehož se zvyšuje čistá mineralizace N (Dijkstra a kol., 2004). V ekosystémech s přebytky dusíku je dominantním procesem nitrifikace (Subbarao a kol., 2006). To ve výsledku zvyšuje ztráty N z ekosystému (De Vries a kol., 2006), protože nitrátová forma je náchylnější k vyplavování nebo k přeměně na plynné formy N denitrifikací (Subbarao a kol., 2006). Lze tedy shrnout, že se s přidáváním N zvyšuje rychlost mineralizace N (amoniifikace) a nitrifikace (Lovett a Rueth, 1999). Rychnovská (1993) sledovala vliv hnojení na cyklus dusíku v travních ekosystémech, přičemž zaznamenala u hnojené varianty výrazný nárůst rostlinné biomasy, mírné navýšení amonia a dusičnanů, výrazný nárůst ztráty N ze systému denitrifikací a velmi výrazný nárůst ztráty N vyplavením. Tento trend je zřejmý i u mokřadních ekosystémů, kde přídavky živin (hnojení) způsobují větší ztráty N a degradaci okolních ekosystémů právě v důsledku vyplavování nitrátů.

2.3.4 Eutrofizace a její vliv na cyklus C v půdě

Cykly prvků C, N, P a S jsou navzájem propojeny biologickými procesy (Stevenson, 1986), avšak sledování vlivu depozice dusíku na cykly prvků neposkytují jednoznačné výsledky (Madricht a Hunter, 2003). Většina autorů se shoduje na tom, že obohacení půdy živinami významně zvyšuje rostlinnou produkci a tedy vstup organických látek do půdy (např. Brady a Weil (2002) a Pokorný a kol. (1990)). Vliv hnojení na dekompozici organické hmoty je spíše nejasný. Zatímco Brady a Weil (2002) a Limpens a Berendse (2003) naměřili

zvýšenou dekompozici po přidavku živin, což může být způsobeno vyšší koncentrací dusíku v opadu, Bridgham a Richardson (2003) zjistili, že neexistuje důkaz o tom, že by zvýšený exogenní vstup dusíku obecně způsoboval vyšší rychlost dekompozice. Zvýšení rostlinné produkce bývá vyšší než zvýšení rychlosti dekompozice a může docházet k hromadění nerozložené organické hmoty. Nepřímým vlivem eutrofizace mokřadních ekosystémů může tedy dojít k prohloubení anaerobních podmínek v půdě (Picek, 2001).

Vliv hnojení na půdní mikrobiální biomasu je rovněž nejasný. Ettema a kol. (1999) zjistili, že přidavky dusíku snižují množství C mikrobiální biomasy. Madricht a Hunter (2003) a Lijleroth a kol. (1990) naměřili naopak vyšší mikrobiální biomasu, což vysvětlují zvýšenou rhizodepozicí. Mikroorganismy v hnojených půdách mají větší účinnost metabolismu, a tedy relativně nižší respiraci (Lovell a kol., 1995; Liljeroth a kol., 1990).

V souhrnu lze tedy říci, že vliv přidavku dusíku na koloběh uhlíku nelze příliš zobecňovat, protože klíčovou roli zřejmě hrají specifika konkrétních míst.

3 Cíle práce a hypotézy

Cíle práce

- Zjistit přímý vliv hnojení na mikrobiální procesy v půdě se zřetelem na přeměny dusíku
 - a) Srovnat vliv hnojení na procesy v organické a minerální půdě
 - b) Srovnat vliv hnojení na procesy v půdách, které se primárně liší dostupností živin

Hypotézy

Z literárního přehledu jsem vyvodil následující hypotézy:

- 1) Vlivem přidavku živin (hnojení) dojde k urychlení procesů přeměn N, zejména mineralizace N a nitrifikace (Úlehlová, 1989; Dijkstra a kol., 2004; Subbarao a kol., 2006 a další).
- 2) Vlivem hnojení se zvýší mineralizace C (půdní respirace) (Madricht a Hunter, 2003).
- 3) Jednorázová dávka hnojení bude mít větší vliv na mikrobiální procesy v minerální půdě (Haslam a kol., 1998).
- 4) Jednorázová dávka hnojení bude mít významnější vliv na mikrobiální procesy v půdě s nižší primární dostupností živin (s nižší trofíí).

4 Materiál a metodika

4.1 Lokality

Zkoumané půdy byly odebrány ze tří různých lokalit, které se nacházejí v Třeboňské pánvi. Všechny lokality jsou na území CHKO Třeboňsko. Ve všech případech se jedná o louky, jejichž plocha je po část roku zaplavena vodou, a proto je lze označit jako mokřady. Jde o lokality Hamr (HM), Záblatské louky (ZL) a Mokré louky (ML). Vybrané charakteristiky lokalit shrnuje Tab. 1.

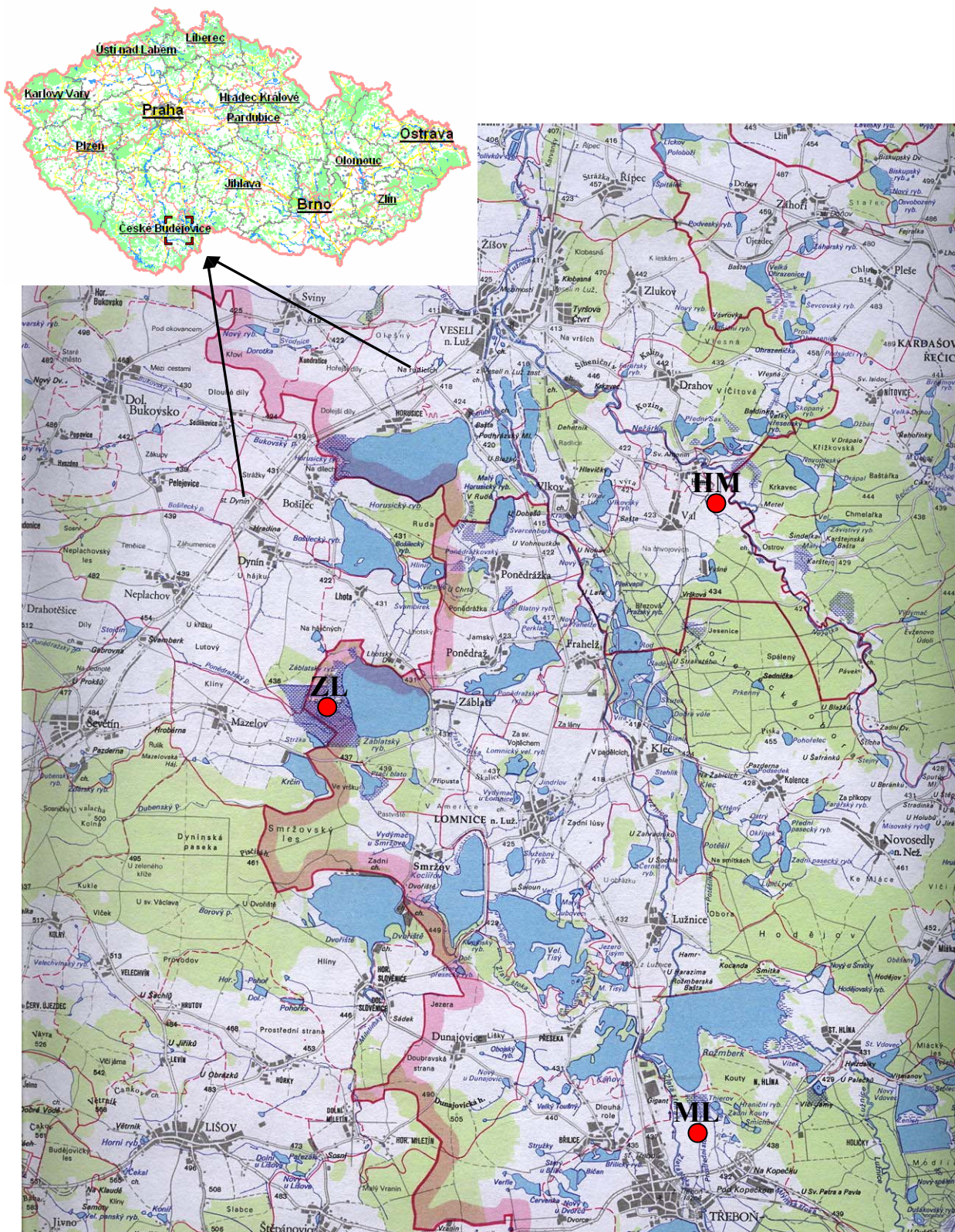
Tab. 1. Vybrané charakteristiky sledovaných lokalit. Zdrojem zeměpisných souřadnic je systém WGS 84.

Lokalita	HM	ZL	ML
Nadmořská výška [m n.m.]	415	426	427
Zeměpisná šířka [severní]	49° 09′	49° 06′	49° 01′
Zeměpisná délka [východní]	14° 46′	14° 39′	14° 46′
Objemová hmotnost [g.cm-3]	0,52 ± 0,04	0,21 ± 0,02	0,32 ± 0,02
Obsah celkového C [%]	9,93 ± 1,65	22,41 ± 2,25	11,22 ± 1,12
Obsah celkového N [%]	0,67 ± 0,1	1,20 ± 0,09	0,86 ± 0,07
Poměr C:N	14,60	18,66	13,04
Půdní druh	prachovitá hlína	prachovitá hlína	prachovitá hlína
Obsah jílových částic [%]	12,50	22,50	17,80
Obsah písku [%]	15,00	0,00	9,50
Kategorizace půd podle trofie*	mezotrofní	mezotrofní	eutrofní
Kategorizace půd podle SOM	minerální	organická	organická
Dominantní druhy vegetačního pokryvu:	<i>Glyceria maxima</i> <i>Carex gracilis</i>	<i>Carex gracilis</i> <i>Carex vesicaria</i>	<i>Phalaris</i> <i>arundinacea</i>
Management lokality	kosená	kosená	kosená

* Trofie půd byla stanovena na základě vegetačního pokryvu lokalit (Ellenbergova čísla).

Všechny sledované plochy byly v minulosti postiženy silnou eutrofizací, způsobenou nadměrnou aplikací prasečí kejdy z nedalekých výkrmů (Albrecht a kol., 2003). ML byly navíc za účelem trvalého navýšení povrchu půdy zasypávány ornici nebo stavební sutí (Jeník, 1983). Na všech lokalitách byla vlivem eutrofizace snížena druhová rozmanitost a byl zaznamenán výskyt ruderalních druhů. Lokalita ZL je součástí přírodní rezervace. Plán péče o PR Záblatské louky stanovuje jako dlouhodobý cíl obnovu druhového bohatství lučních, mokřadních a litorálních porostů rybníčního ekosystému a zároveň zachování lokality pomocí přirozené vývoje s trvalou údržbou sečením. Jakékoliv hnojení je tedy dnes vyloučeno. Pozice lokalit je znázorněna na obrázku 2.

Obr. 2. Pozice sledovaných lokalit na mapě Třebońska (upraveno dle Gerátové (2007))



4.2 Laboratorní experiment

4.2.1 Odběr a úprava vzorků

Směsné vzorky půd pro laboratorní experiment byly z lokalit odebrány na podzim 2005 z hloubky 5-20 cm. Další den byly půdy přesáty přes síto s velikostí ok 2 mm a dále skladovány v polyethylenových sáčcích v lednici při konstantní teplotě 4°C. Poté byl proveden laboratorní experiment.

4.2.2 Uspořádání experimentu

Půdy z každé lokality byly rozděleny na tři směsné vzorky podle potřeby experimentu – kontrola (K), půda s nízkou dávkou hnojení (L) a půda s vysokou dávkou hnojení (H). Dávka hnojiva byla vypočtena na suchou hmotnost půdy. Bylo použito hnojivo NPK 15-15-15 (Lovofert, Lovochemie), kde tvoří N-NO₃ 43 % a N-NH₄ 57 % obsahu. Hnojivo bylo aplikováno jako roztok, kontroly byly ovlhčeny destilovanou vodou. Hnojivo bylo aplikováno v následujících dávkách:

- nižší dávka odpovídala 200 µg N, P a K na gram suché půdy (L)
- vyšší dávka odpovídala 400 µg N, P a K na gram suché půdy (H)
- byly založeny kontroly ovlhčené stejně jako vzorky vodou (K)

Experiment trval 21 dní (3.11. – 24.11.2006) a vzorky byly k analýzám odebrány v časech T0 (3.11. 2006), T1 (10.11. 2006), T2 (24.11.2006).

V časech T0, T1, T2 byly stanoveny koncentrace N-NH₄ a N-NO₃ a C, N, P - biomasy mikroorganismů. Zbytek vzorků byl vždy dále inkubován v aerobních podmínkách při stálé teplotě 20°C.

V průběhu 21 dní byla celkem šestkrát měřena respirace půdy (3. den, 6. den, 10.den, 14. den, 17. den a 21. den experimentu).

Na závěr celého experimentu (21.den) byla změřena aktivita denitrifikačních enzymů (DEA). Každá analýza byla provedena ve třech opakováních pro každý vzorek.

4.2.3 Použité metody

Stanovení suché hmotnosti půdy

Do předem zvážené hliníkové misky (váženky) bylo přidáno přibližně 5 g půdy. Váženka se vzorkem byla opět zvážena a následně vysušena v sušárně do konstantní hmotnosti při stálé teplotě 105°C. Poté byl vzorek i s váženkou znovu zvážen. **Suchá hmotnost půdy s** (sušina) je bezrozměrné číslo, které udává podíl suché půdy v 1 g čerstvého vzorku. Suchá hmotnost půdy se vypočítá ze vztahu:

$$s = (ms - mv) / (ml - mv)$$

mv	hmotnost váženky [g]
ms	váženka se suchou půdou [g]
ml	váženka s vlhkou půdou [g]

Stanovení koncentrace dostupného N-NO₃ a N-NH₄

Koncentrace N-NH₄ a N-NO₃ byla stanovena po extrakci vzorků ve 40 ml 0,5 M K₂SO₄, následném třepání na horizontální třepačce (30 min., 200 otáček/min.) a centrifugaci 10 minut při 4000 otáčkách. Poté byly vzorky zfiltrány přes skleněné filtry a v plastových zkumavkách zamrazeny. V průběhu týdne pak byly rozmrazeny a byla změřena koncentrace iontů ve filtrátu pomocí FIA (Flow Injection Analyzer). Koncentrace N-NH₄ se vypočítá ze vztahu:

$$c = \frac{(c \text{ N-NH}_4 - B) * V}{m * \text{sušina}} \quad [\mu\text{g N-NH}_4 \cdot \text{g}^{-1} \text{ suché půdy}]$$

c N-NH ₄	koncentrace amonných iontů v extraktu půdního vzorku v mg N-NH ₄ ⁺ · l ⁻¹
B	koncentrace amonných iontů v blanku v mg N-NH ₄ ⁺ · l ⁻¹
V	objem extrakčního činidla v ml
m	navážka půdy v g

Koncentrace N-NO₃ se vypočítá ze vztahu:

$$c = \frac{(c \text{ N-NO}_3 - B) \cdot V}{m \cdot \text{sušina}} \quad [\mu\text{g N-NO}_3 \cdot \text{g}^{-1} \text{ suché půdy}]$$

c N-NO ₃	koncentrace dusičnanů v extraktu půdního vzorku v mg N-NO ₃ ⁻ · l ⁻¹
B	koncentrace dusičnanů v blanku v mg N-NO ₃ ⁻ · l ⁻¹
V	objem extrakčního činidla v ml
m	navážka půdy v g

Stanovení C, N, P – mikrobiální biomasy

Pro stanovení mikrobiální biomasy dusíku, uhlíku a fosforu byla vybrána fumigačně-extrakční metoda (Vance a kol., 1987; Cabrera a Beare., 1993; Brookes a kol., 1982). Páry chloroformu působící na půdní vzorek (po dobu 24 hodin) poruší buněčné stěny mikroorganismů, dojde k vyelití buněčné protoplazmy, čímž se zvýší obsah snadno přístupných živin ve vzorku. Rozpustné sloučeniny C, N a P lze z půdy extrahovat činidly. Z rozdílu mezi kontrolou a fumigovanými vzorky se stanoví množství mikrobiální C_{mic}, N_{mic} a P_{mic} v půdě.

Pro výpočet **C_{mic}** se vzorky extrahují v 0,5M K₂SO₄ po dobu 30 minut za stálého třepání a následně se zfiltrují. Do tohoto filtrátu se přidá chromsíranová směs a organický uhlík (C_{org}) se pak zoxiduje při 125 °C během 45 minut. Množství spotřebované chromsíranové směsi se stanovuje titračně 0,05M Mohrovou solí za přítomnosti ferroinfeantrolinu jako indikátoru. Množství organického uhlíku (C_{org}) se vypočítá ze vztahu:

$$C \text{ org} = (A - B) \cdot 0,15 \cdot 1000 \cdot V \cdot f / V_I \cdot \text{navážka} \cdot \text{sušina} \quad [\mu\text{g C g}^{-1}]$$

A	spotřeba Mohrovy soli na titraci slepého vzorku [ml]
B	spotřeba Mohrovy soli na titraci vzorku [ml]
f	faktor Mohrovy soli
0,15	1 ml 0,05M Mohrovi soli odpovídá 0,15 mg C
V	objem extraktu
V _I	použitý objem extraktu
1000	přepočítání z mg na μg

Množství C_{mic} vypočítáme ze vztahu:

$$C_{mic} = (C_F - C_{NF}) / 0,38 \quad [\mu\text{g C g}^{-1}]$$

C_F	uhlík v extraktu fumigovaného vzorku [$\mu\text{g C.g}^{-1}$]
C_{NF}	uhlík v extraktu nefumigovaného vzorku [$\mu\text{g C.g}^{-1}$]
0,38	konverzní faktor (Vance a kol., 1987)

Při stanovení **N_{mic}** probíhá extrakce pomocí stejného činidla jako u C_{mic} za stálého třepání po dobu 60 minut a centrifugováním vzorků po dobu 10 minut při otáčkách 4000/min. Po následném zfiltrování se odebere 1 ml filtrátu a k němu se přidají 4 ml persulfátového mineralizačního činidla a 3 ml destilované vody. Zkumavky se autoklávuji 30 minut při 120 °C (Cabrera a Beare, 1993). Po zchladnutí se stanoví koncentrace $N\text{-NO}_3$ na analyzátoru FIA.

Množství N_{mic} vypočítáme ze vztahu:

$$N_{mic} = (N_F - N_{NF}) / 0,54 \quad [\mu\text{g N. g}^{-1}]$$

N_F	[$\mu\text{g N/g}$ suché půdy] dusík v extraktu fumigovaného vzorku
N_{NF}	[$\mu\text{g N/g}$ suché půdy] dusík v extraktu nefumigovaného vzorku
0,54	konverzní faktor (Brooks a kol., 1982)

Při výpočtu **P_{mic}** extrahujeme fosforečnany v 0,5M NaHCO_3 (z fumigovaného i nefumigovaného vzorku) po dobu 45 minut za stálého třepání a poté centrifugujeme po dobu 15 minut (3500 otáček/min.) Pro korekci sorbce fosforečnanů na půdní částice se analyzuje také vzorek s vnitřním standardem ($25 \mu\text{g P.g}^{-1}$ standardního roztoku KH_2PO_4). Ze zcentrifugovaného půdního extraktu bylo odebráno 25 ml a k nim přidáno 1,75 ml 4,5 M H_2SO_4 . Vzorek byl ponechán otevřený 24 hodin při 4 °C. Extrakt byl zfiltrován přes filtr KA4 (modrá páska) těsně před tím, než byl analyzován. Ze zfiltrovaného extraktu bylo napipetováno 5 ml. Po přidání 0,8 ml činidla A a 1,6 ml činidla B byly vzorky důkladně promíchány. Po deseti minutách byla měřena absorbance vzorku při 886 nm.

Množství fosforu v biomase se vypočítá ze vztahu:

$$P_{mic} = \frac{L \cdot (AF - AN)}{0,4 \cdot (ANP - AN) \cdot \text{sušina}} \quad [\mu\text{g P} \cdot \text{g}^{-1}]$$

L	množství přidaného P ve standardu [$\mu\text{g P} \cdot \text{g}^{-1}$]
AF	absorbance fumigovaného vzorku
AN	absorbance nefumigovaného vzorku
ANP	absorbance vzorku s vnitřním standardem
0,4	konverzní faktor (Brookes a kol., 1982).

Stanovení rychlostí nitrifikace, N-mineralizace a N-asimilace

Z hodnot získaných při analýzách koncentrací N-NH₄ a N-NO₃ a N_{mic} biomasy byly na základě rozdílu hodnot v časech T₀, T₁ a T₂ spočítány rychlosti nitrifikace, N-mineralizace a N-asimilace. Výpočet byl proveden z rozdílu časů T₁-T₀ (7 dní) a T₂-T₁ (14 dní). Výpočet rychlosti nitrifikace, N.mineralizace a N-asimilace shrnuje souhrnná rovnice:

$$v = (N_t - N_0) / t \quad [\mu\text{g N-NH}_4^- \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{den}^{-1}] / [\mu\text{g N-NO}_3^- \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{den}^{-1}]$$

N _t	obsah N-NH ₄ , N-NO ₃ nebo N _{mic} v půdě na konci inkubace
N ₀	obsah N-NH ₄ , N-NO ₃ nebo N _{mic} v půdě na počátku inkubace
t	doba inkubace [dny]

Stanovení respirace půdy pomocí plynové chromatografie

Bylo naváženo 10 g půdy do inkubačních nádob (sérovek). Ty pak byly vzduchotěsně uzavřené v inkubátoru při teplotě 20°C. Pro měření respirace na plynovém chromatografu (GC) bylo odebráno vždy 0,2 ml vzorku pomocí injekční stříkačky a přes septum vstříknuto do GC, který byl předtím kalibrován pomocí kalibračního standardu. Po každém měření byly vzorky vyvětrány. Na závěr byl stanoven plyný objem láhve, kdy byla nejprve na předvážce zjištěna její hmotnost, pak byla láhev naplněna vodou a opět zvážena. Rozdíl hmotností udává plyný objem. Na závěr byla vypočtena kumulativní respirace, která udává celkovou produkci C-CO₂ za 21 dnů. **Měření mineralizace C byly provedeny Jitkou Hospodkovou.**

Objem CO₂ v plynném objemu nádoby vypočítáme ze vztahu:

$$G = c_{\text{CO}_2} \cdot V_G / 1000 \quad [\mu\text{l CO}_2]$$

c_{CO_2} koncentrace CO₂ změřená na plynovém chromatografu (ppm)

V_G plynný objem nádoby (ml)

Objem CO₂ rozpuštěného v půdním roztoku vypočítáme ze vztahu:

$$L = 0,83 \cdot p_{\text{CO}_2} \cdot V_L \quad [\mu\text{l CO}_2]$$

p_{CO_2} parciální tlak CO₂ ve vzorku (c_{CO_2} v ppm / 10⁶)

V_L objem půdního roztoku v láhvi (ml)

Celkový objem CO₂ vyprodukovaný na 1 g půdy:

$$V = \frac{(G + L)}{(\text{navážka} \cdot \text{sušina})} \quad [\mu\text{l CO}_2 \text{ g}^{-1}]$$

Rychlost respirace vypočítáme ze vztahu:

$$Y = \frac{0,536 \cdot (V \text{ na konci inkubace}) - V \text{ na počátku inkubace}}{\text{délka inkubace}} \quad [\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ den}^{-1}]$$

koeficient 0,536 je přepočtem z $\mu\text{l CO}_2$ na $\mu\text{g C-CO}_2$

Stanovení aktivity denitrifikačních enzymů (DEA)

Metoda DEA využívá inhibici redukce N₂O na N₂ vhodnou koncentrací acetylénu – řádově cca 10% objemových (Smith a Tiedje, 1979; Tiedje a kol., 1989). Oxid dusný se tak stává jediným produktem denitrifikace a je dobře kvantitativně stanovitelný plynovou chromatografií.

Ve vzorcích půd (25 g) byly optimalizovány podmínky pro denitrifikaci přidavkem substrátu (organického uhlíku-glukózy a dusičnanů – 5 mg glukózy a 25 mg KNO₃ ve

vodném roztoku na 25 g). Poté byl vzorek vzduchotěsně uzavřen a bylo v něm výměnou vzduchu za helium vytvořeno anaerobní prostředí. Pak bylo přidáno 10 ml acetylénu. Ihned po přidání byl změřen obsah N₂O na GC (čas T₀) a poté byl vzorek umístěn na třepačku. Měření se pak opakovalo v časech T₃₀ (po 30 minutách třepání), T₆₀ (po hodině třepání) a T₁₂₀ (po dvou hodinách třepání). Na závěr byla opět stanoven plynný objem sérovky.

Aktivitu denitrifikačních enzymů (DEA) vypočítáme z následujících vztahů:

$$G = \frac{(c_{N_2O(60min.)} - c_{N_2O(30min.)}) * V_g}{1000} \quad [\mu l N_2O]$$

$$L = 0,544 * G * V_l / V_g \quad [\mu l N_2O]$$

$$T = (G + L) * 2 / (\text{navážka} * \text{sušina}) \quad [\mu l N_2O g^{-1} h^{-1}]$$

$$DEA = T / 22,4 * 28 * 1000 \quad [ng N-N_2O g^{-1} h^{-1}]$$

G, L	koncentrace N ₂ O v plynné fázi (G) a kapalně fázi (L)
0,544	koeficient rozpustnosti dle Bunsena
T	celkový objem N ₂ O uvolněný jedním gramem suchého vzorku za hodinu
DEA	aktivita denitrifikačních enzymů
22,4	objem 1 mol ideálního plynu – přepočten na μmol N ₂ O
28	molární hmotnost N ₂ v molekule N ₂ O – přepočten na μg N-N ₂ O
V _g	plynný objem (ml)
V _l	objem kapaliny (ml)

4.3 Statistické zpracování dat

Grafy byly vytvořeny v programu Statistika 6.0 for Windows (STATSOFTINC.2001).

Statistické vyhodnocení dat bylo provedeno v programu Statistika 6.0 for Windows (STATSOFTINC.2001). Pomocí dvoucestných testů variance (Repeated measures ANOVA) a mnohonásobného porovnání Tukey HSD testem byly hodnoceny koncentrace N-NH₄ a N-NO₃ a C, N, P biomasy a rychlosti přeměn N na studovaných lokalitách. Byl porovnáván vliv lokality, hnojení a času (jako within-plot factor). U kumulativní respirace byl použit dvoucestný test variance (Factorial ANOVA).

3. Výsledky

3.1 Výtěžnost extrakce N-NO₃ a N-NH₄ po přidání hnojiva

U studovaných půd byla změřena výtěžnost extrakce N-NO₃ a N-NH₄ ihned po přidání hnojiva. Obecně platí, že výtěžnost extrakce N-NO₃ iontů je vyšší než extrakce N-NH₄ iontů (Tab. 2). Je patrné, že v oligotrofní organické půdě Záblatských luk (ZL) je efektivita extrakce N-NO₃ a N-NH₄ nižší než na ostatních lokalitách. Výtěžnost extrakce N-NH₄ v minerální půdě na lokalitě Hamr (HM) je srovnatelná jako v eutrofní organické půdě na lokalitě Mokřých luk (ML), kde je zároveň nejvyšší výtěžnost extrakce N-NO₃.

Tab. 2. Výtěžnost extrakce N-NO₃ a N-NH₄ (% , průměr ± sd, n=3) po přidání hnojiva. Zkratka L značí nízkou dávku hnojiva, H vysokou dávku hnojiva.

Lokalita / Hnojení	N- NO ₃	N –NH ₄
Hamr / L	87,79 ± 4,78	78,51 ± 2,73
/ H	91,60 ± 1,06	77,10 ± 1,66
Záblatské louky / L	80,49 ± 2,96	55,63 ± 2,10
/ H	86,20 ± 0,37	64,29 ± 1,94
Mokré louky / L	93,54 ± 1,60	78,82 ± 4,04
/ H	93,60 ± 1,94	77,97 ± 2,00

3.2 Mikrobiální biomasa

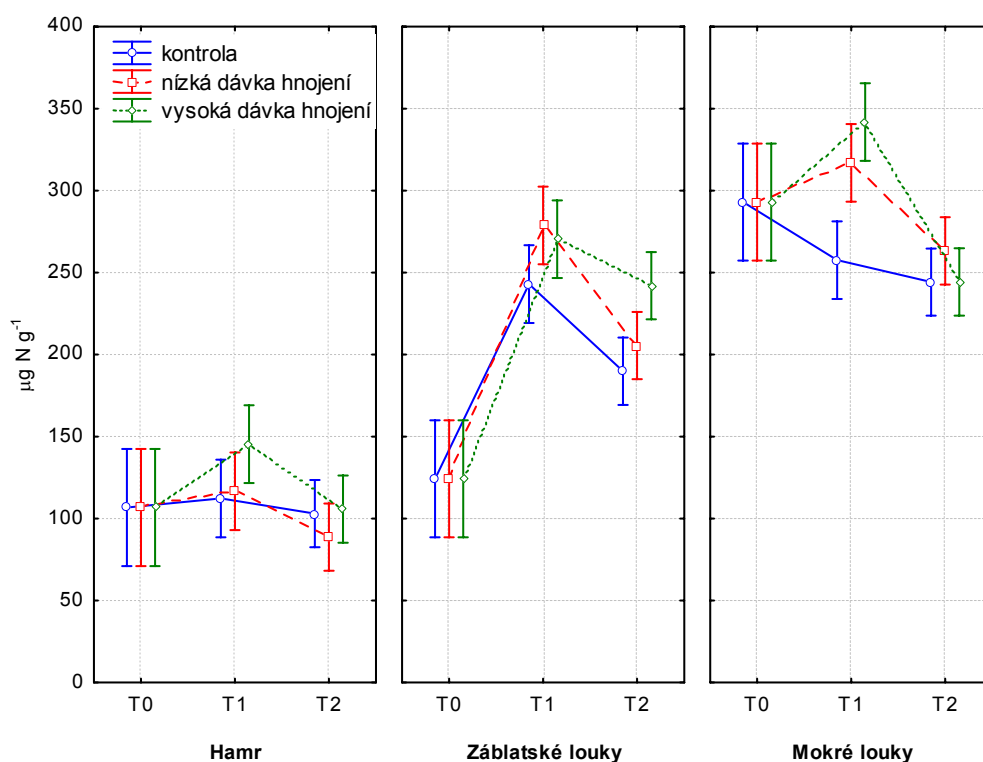
3.2.1 Dusík v mikrobiální biomase (Nmic)

Změny v Nmic na třech sledovaných lokalitách v průběhu pokusu shrnuje obr. 3. Vliv lokality je průkazný (Tab. 3.). Na HM jsou hodnoty Nmic nejnižší, průkazně se odlišují od ZL i od ML ($p < 0,001$ v obou případech). Nejvyšší hodnoty Nmic jsou na ML, průkazně se liší od HM i od ZL ($p < 0,001$ v obou případech). Vliv hnojení je celkově také průkazný (Tab. 3.), ovšem na jednotlivých lokalitách se Nmic v kontrolách a hnojených půdách průkazně neliší. U ZL i u ML je zřejmé, že hnojení nízkou i

vyšší dávkou mírně zvyšuje hodnoty N_{mic} . U HM je vzestupný trend patrný pouze po vyšší dávce hnojení.

N_{mic} se měnil také v čase (Tab. 3.) Během prvního týdnu inkubace došlo k nárůstu N_{mic} na všech lokalitách, ovšem průkazný byl pouze u ZL ($p < 0,001$). Během dalších 14 dnů jsme zaznamenali pokles N_{mic} na všech lokalitách. Sestupný trend byl průkazný na lokalitách ZL ($p < 0,001$) a ML ($p < 0,01$).

Obr. 3. Množství mikrobiální biomasy - N_{mic} ($\mu\text{g N g}^{-1}$) v časech T0, T1, T2



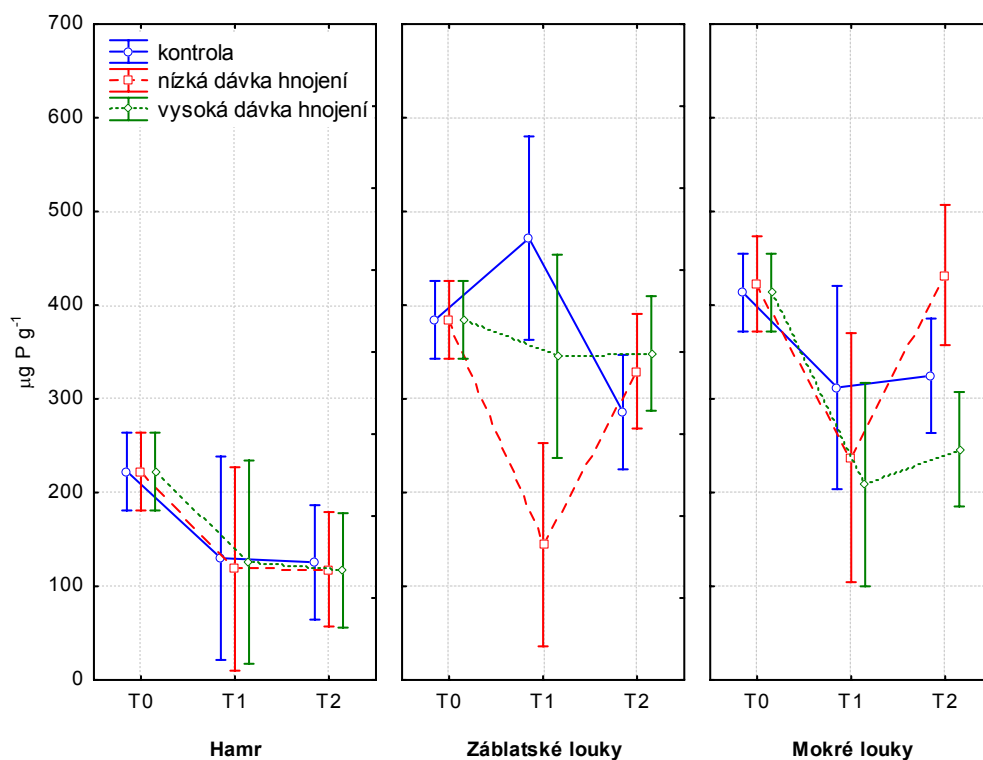
3.2.2 Fosfor v mikrobiální biomase (P_{mic})

P_{mic} se liší na jednotlivých lokalitách (Tab. 3.). Nejnižší hodnoty P_{mic} byly ve všech časech naměřeny na HM, průkazně se liší od ZL i ML ($p < 0,001$ v obou případech). ZL a ML se od sebe průkazně neliší (Obr. 4.).

Hnojení nemá na P_{mic} průkazný vliv (Tab. 3.).

Množství P_{mic} ovlivňuje i čas (Tab. 3.). Během prvního týdne inkubace jsme zaznamenali průkazný pokles hodnot P_{mic} na všech lokalitách ($p < 0,001$ ve všech případech), zatímco dalších 14 dnů došlo k nárůstu P_{mic} , který byl průkazný pouze u ZL a ML ($p < 0,001$ v obou případech). U ML v čase T1 vyšly u kontroly a u nízké dávky hnojení značně odlišné hodnoty s vysokou variabilitou, které nelze považovat za spolehlivé.

Obr. 4. Množství mikrobiální biomasy – Pmic ($\mu\text{g P}\cdot\text{g}^{-1}$) v časech T0, T1, T2.



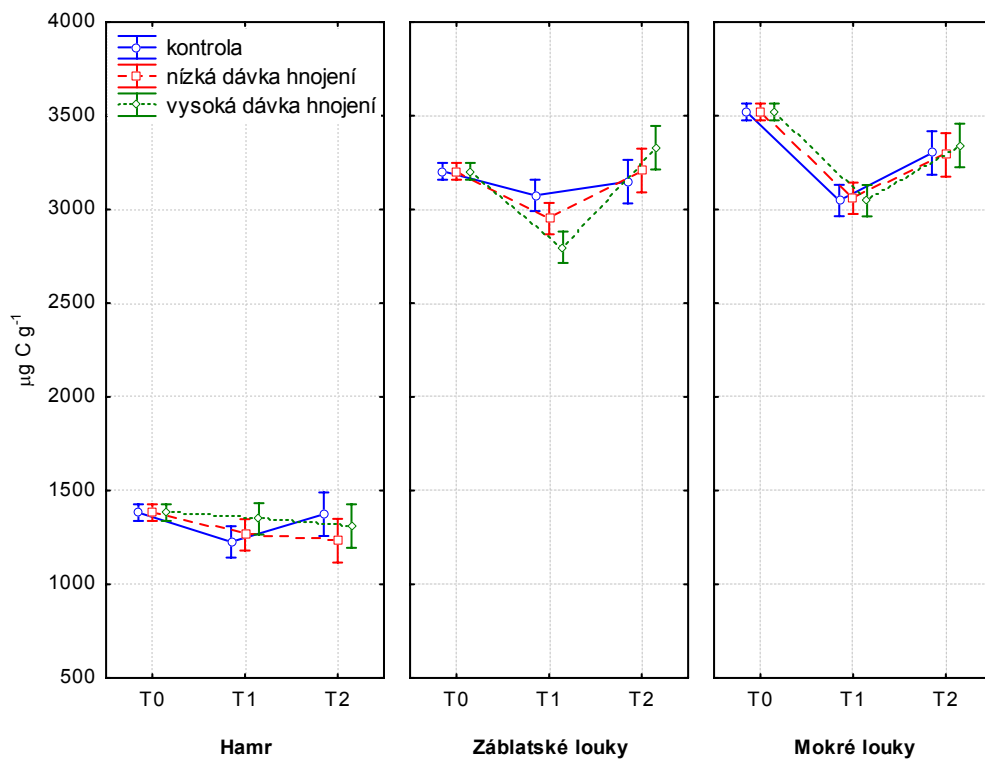
3.2.2 Uhlík v mikrobiální biomase (Cmic)

Na množství mikrobiální biomasy má průkazný vliv lokalita (Tab. 3.). Nejnižší hodnoty jsou na HM, od něhož se průkazně liší jak ZL ($p < 0,001$), tak ML ($p < 0,001$) (Obr.5).

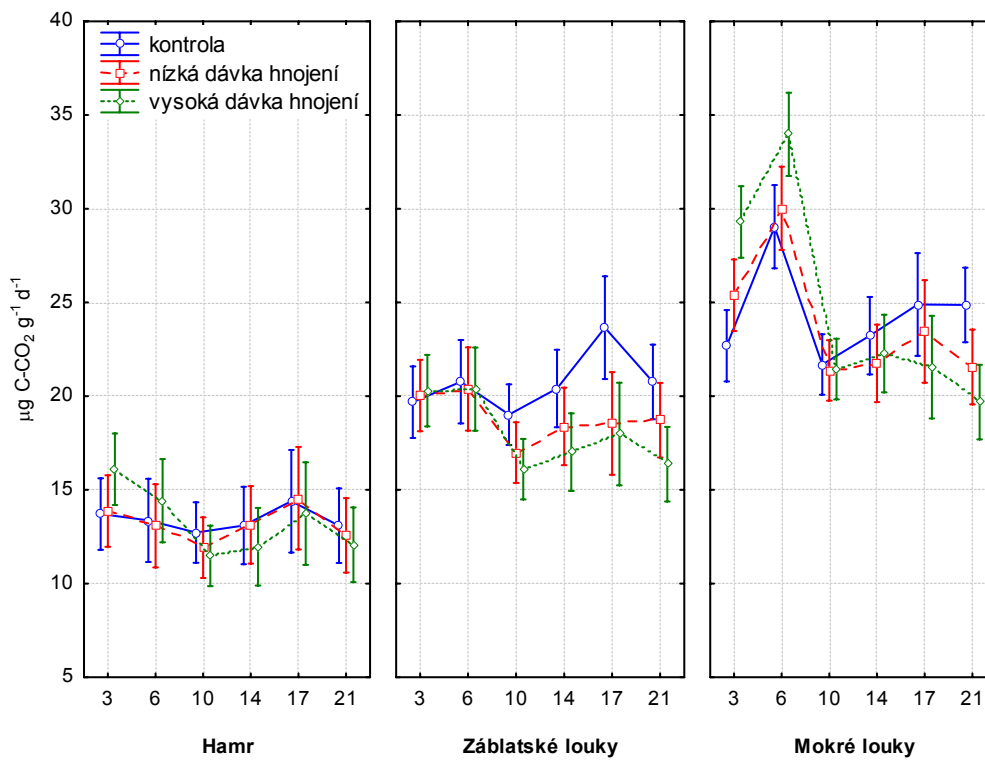
Hnojení na množství mikrobiální biomasy průkazný vliv nemá (Tab. 3.).

Čas má na množství biomasy průkazný vliv (Tab. 3.). Stejně jako u Pmic jsme během prvního týdne inkubace zaznamenali průkazný pokles hodnot Cmic na všech lokalitách ($p < 0,001$ ve všech případech), zatímco dalších 14 dnů došlo k nárůstu Cmic, který byl průkazný pouze u ZL a ML ($p < 0,001$ v obou případech).

Obr. 5. Množství mikrobiální biomasy C_{mic} ($\mu\text{g C g}^{-1}$) v časech T0, T1, T2.



Obr. 6. Rychlosti respirace ($\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ den}^{-1}$) ve vybraných časech experimentu.



Tab. 3. Souhrn statistického zpracování vybraných půdních charakteristik pomocí Repeated measurement ANOVA. Pro každou proměnnou (lokalita, hnojení, čas) a jejich interakce jsou udány hodnoty F statistiky a hladina pravděpodobnosti (p), neprůkazný vliv označen zkratkou ns.

Proměnná	Lokalita (L)	Hnojení (H)	Čas (T)	L x H	T x L.	T x H.	T x L x H
Df	2	2	2	4	4	4	8
Nmic (mg kg ⁻¹)	430,2 <0,001	7,1 <0,01	44,9 <0,001	1,1 ns	28,2 <0,001	2,7 <0,05	1,4 ns
Pmic (μg kg ⁻¹)	51,9 <0,001	1,2 ns	27,4 <0,001	2,3 ns	2,4 ns	6,7 <0,001	3,2 <0,01
Cmic (mg kg ⁻¹)	3204,2 <0,001	0,3 ns	208,5 <0,001	0,3 ns	38,9 <0,001	3,5 <0,01	8,0 <0,001
N-NH ₄ (mg kg ⁻¹)	3,6 <0,05	200,7 <0,001	10,8 <0,001	9,2 <0,001	1,6 ns	0,5 ns	1,9 ns
N-NO ₃ (mg kg ⁻¹)	338,6 <0,001	220,6 <0,001	34,7 <0,001	7,0 <0,01	1,5 ns	1,6 ns	2,2 ns
Nitrifikace (mg N kg ⁻¹ d ⁻¹)	2476,1 <0,001	1857,2 <0,001	751,3 <0,001	3,0 <0,05	24,2 <0,001	32,1 <0,001	6,87 <0,001
Mineralizace N (mg N kg ⁻¹ d ⁻¹)	4,4 <0,05	3038,5 <0,001	152,2 <0,001	12,0 <0,001	27,5 <0,001	17,4 <0,001	7,0 <0,001
Asimilace N (mg N kg ⁻¹ d ⁻¹)	430,2 <0,001	7,1 <0,001	44,9 <0,001	1,1 ns	28,2 <0,05	2,7 <0,05	1,4 ns

3.3 Mineralizace uhlíku

3.1 Rychlost mineralizace C (respirace) v průběhu 21 dní

Hodnoty rychlostí respirace v šesti sledovaných časech za celkovou dobu 21 dní shrnuje obr. 6. Rychlost respirace byla po celou dobu měření nejvyšší u ML a nejnižší u HM. V rozmezí prvních dvou měření jsme pozorovali, že u hnojených půd je rychlost respirace vyšší než u kontrol. Tento jev je patrný zvláště u HM a ML (Obr. 6). Jedná se však o krátkodobé zvýšení rychlosti respirace, které je způsobeno aplikací dávek hnojení. Přibližně po osmi dnech se respirace kontrolních a hnojených půd na všech lokalitách vyrovnává.

Následuje postupný růst respirace u kontrol – nehnojených půd. Ve výsledku pak pozorujeme, že právě kontroly dosahují vyšší rychlosti respirace než hnojené půdy.

3.3.2 Kumulativní respirace

Kumulativní respirace půd za 21 dní ze všech lokalit a s různými dávkami hnojení jsou shrnuty v tab. 3. Nejnižších hodnot dosahuje HM, průkazně se liší od ZL ($p < 0,01$) i ML ($p < 0,001$). Nejvyšších hodnot dosahuje v obou hnojených variantách ML (Tab. 4).

Na ostatních lokalitách nemá hnojení průkazný vliv (Tab. 4).

Nejzřetelnější rozdíl uvolňování C je mezi kontrolou a hnojenými půdami u ZL. Je zde patrný trend, že ve výsledku se uvolňuje více C z nehnojených půd.

Tab. 4. Kumulativní respirace (průměry \pm sd, $n=3$; $\mu\text{g C/g}$) za 21 dní v různě hnojených půdách (K-kontrola; L-nízká dávka hnojení; H-vysoká dávka hnojení) studovaných lokalit. Odlišná písmena značí statisticky průkazné rozdíly ($p < 0,05$) mezi hodnotami v rámci celé tabulky.

Lokalita	Hamr	Záblatské louky	Mokrý louky
K	279,39 \pm 38,29 ^a	431,68 \pm 27,32 ^b	506,27 \pm 30,51 ^b
L	274,48 \pm 11,02 ^a	391,78 \pm 26,59 ^b	494,00 \pm 12,18 ^c
H	274,85 \pm 12,84 ^a	373,24 \pm 13,09 ^b	507,28 \pm 20,47 ^c

3.4 Zásoba N-NH₄ a N-NO₃

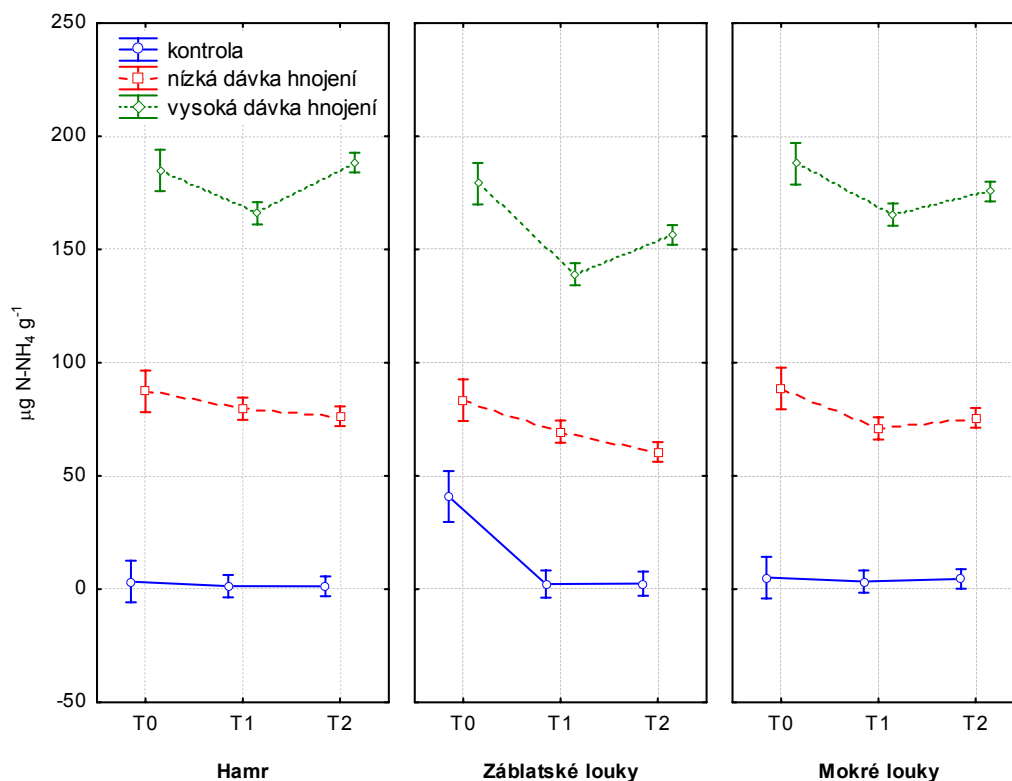
3.4.1 Množství dostupného N-NH₄

Dostupnou zásobu minerálního N-NH₄ na třech různě hnojených lokalitách shrnuje obr. 7. Lokalita má na celkový obsah N-NH₄ průkazný vliv (Tab. 3). Nejnižší koncentrace N-NH₄ byla zjištěna na ZL, průkazně se liší pouze od HM ($p < 0,05$), ML se od HM průkazně neliší.

Dostupnou zásobu N-NH₄ průkazně ovlivňuje hnojení (Tab. 3). Kontroly, půdy hnojené nízkou i vysokou dávkou se od sebe průkazně odlišují na HM i na ML ($p < 0,001$ ve všech případech). U ZL se průkazně odlišuje pouze kontrola a půda hnojená vysokou dávkou ($p < 0,001$).

Čas má na množství dostupného N-NH₄ průkazný vliv (Tab. 3). Během prvního týdne inkubace došlo na všech lokalitách k poklesu hodnot, průkazně pouze na ZL (p<0,01). Během dalších 14 dnů se hodnoty průkazně nezměnily.

Obr. 7. Zásoba dostupného N-NH₄ (μg N-NH₄ · g⁻¹) v časech T0, T1, T2.



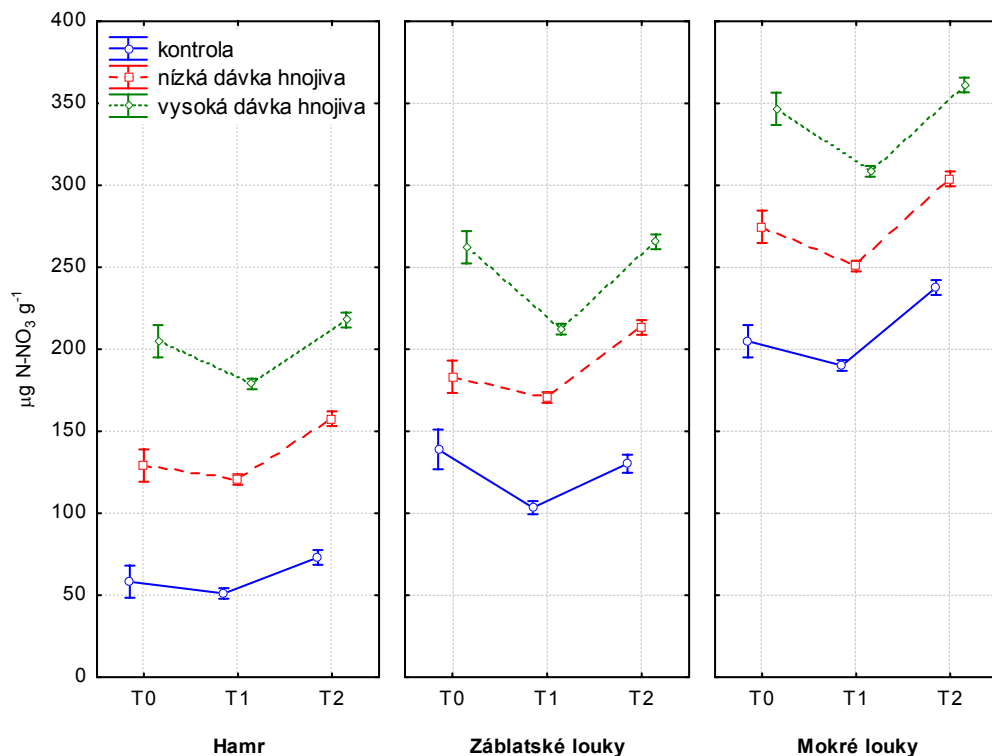
3.4.2 Množství dostupného N-NO₃

Obr. 8 shrnuje dostupnou zásobu minerálního N-NO₃ na třech různě hnojených lokalitách. Lokalita má na celkový obsah N-NO₃ průkazný vliv (Tab. 3). Nejnižší koncentrace dostupného N-NO₃ byla změřena na HM, na ZL byla vyšší a na ML nejvyšší, průkazně se liší pouze ML od HM (p < 0,001). ZL se od HM průkazně neliší.

Po hnojení se zvýšila koncentrace N-NO₃ (Tab. 3) U HM a ML se od kontroly průkazně liší i nížce hnojená půda (p < 0,001) i více hnojená půda od nížce hnojené půdy (p < 0,001), u ZL se liší jen kontrola od půdy s vysokou dávkou hnojení (p<0001).

Čas má na obsah N-NO₃ průkazný vliv (Tab. 3). Během prvního týdne inkubace došlo na všech lokalitách k poklesu hodnot, průkazně pouze na ZL (p<0,001) a ML (p<0,001). Během dalších 14 dnů je na všech lokalitách patrný nárůst, průkazně vychází pouze u HM (p<0,001).

Obr. 8. Zásoba dostupného N-NO₃ ($\mu\text{g N-NO}_3 \cdot \text{g}^{-1}$) v časech T0, T1, T2.



3.5 Přeměny dusíku

3.5.1 Nitrifikace

Rychlost nitrifikace shrnuje tab. 5.

Během prvního týdne inkubace (T1-T0) byla rychlost nitrifikace na všech lokalitách záporná. Nelišily se hodnoty vlivem lokalit ani hnojení..

Během následujících 14 dnů inkubace (T2-T1) byly všechny hodnoty kladné. Projevil se vliv lokality i hnojení. Nejvyšší rychlost nitrifikace byla naměřená na ML, nejnižší byly na HM. Průkazně se mezi sebou liší všechny lokality ($p < 0,001$).

Hnojení zvyšuje rychlost nitrifikace na všech lokalitách, u ML tento nárůst není průkazný. Mezi kontrolou a půdami s nízkou dávkou hnojení je vliv průkazný u HM a ZL ($p < 0,001$ v obou případech). K dalšímu průkaznému navýšení dochází pouze u ZL ($p < 0,001$).

3.5.2 Mineralizace N

Rychlost mineralizace N shrnuje tab. 5.

Během prvního týdne inkubace (T1-T0) byla rychlost mineralizace N na všech lokalitách záporná. Lokalita nemá vliv, liší se pouze kontrola u ZL, která je velmi nízká, má vysokou variabilitu a tudíž je zřejmě nespolehlivá. Hnojení způsobuje celkový pokles rychlosti mineralizace N. Vliv hnojení je průkazný pouze mezi kontrolou a půdou s vysokou dávkou hnojení ($p < 0,001$).

Během následujících 14 dnů inkubace (T2-T1) se situace změnila. Záporné hodnoty byly u kontrol a u půd s nízkou dávkou hnojení u HM a ZL (Tab. 5). V ostatních případech byly hodnoty kladné. Vysoká dávka hnojení obecně způsobila vysokou kladnou mineralizaci N na všech lokalitách.

3.5.3 Asimilace N

Asimilaci N shrnuje tab. č.5. Během prvního týdne inkubace (T1-T0) byly hodnoty asimilace s výjimkou kontroly na ML kladné. Lokalita vliv má, průkazně se od sebe liší ZL oproti HM a ML oproti ZL. HM a ML se od sebe průkazně neliší. ZL dosáhly řádově vyšších hodnot asimilace N. Hnojení zvyšuje rychlost asimilace pouze u HM a ML.

Během následujících 14 dnů inkubace (T2-T1) došlo k výraznému poklesu rychlosti asimilace N na všech lokalitách (Tab. 5). U HM a ML hnojení snížilo asimilaci N, u ZL nelze tento trend potvrdit, protože hodnota pro půdu s vysokou dávkou hnojení má vysokou variabilitu a nelze jí tak považovat za spolehlivou.

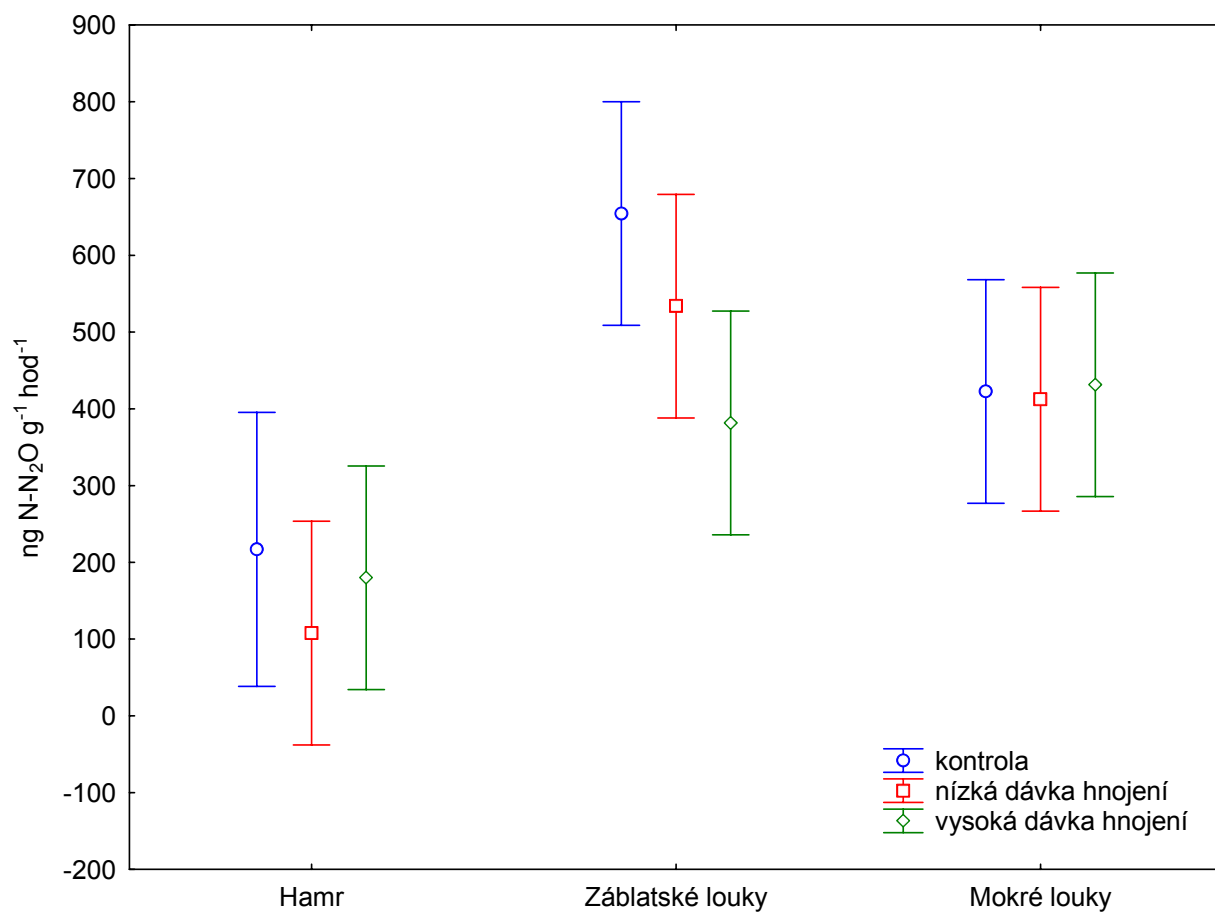
Tab. 5. Přeměny N (nitrifikace, mineralizace N a asimilace N), každá v rozdílu časů T1-T0 a T2-T1. Zkratky K,L,H znamenají K-kontrola, L – nízká dávka hnojení, H- vysoká dávka hnojení. (průměr±sd; $\mu\text{g N}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, n=3)

Lokalita / Hnojení	Nitrifikace		Mineralizace		Asimilace	
	T1-T0	T2-T1	T1-T0	T2-T1	T1-T0	T2-T1
Hamr / K	-1,02 ± 0,19	1,57 ± 0,07	-2,00 ± 1,79	- 0,06 ± 0,06	5,50 ± 4,59	-9,22 ± 4,40
/ L	-1,22 ± 0,75	2,65 ± 0,19	-7,64 ± 1,10	-3,29 ± 2,19	9,95 ± 3,02	-28,00 ± 6,34
/ H	-3,73 ± 0,25	2,78 ± 0,02	-18,42 ± 1,38	22,40 ± 1,38	38,62 ± 23,85	-39,88 ± 6,04
Zábl. louky / K	-5,07 ± 2,34	1,98 ± 0,19	-38,69 ± 17,21	-0,07 ± 0,43	122,55 ± 42,91	-39,88 ± 6,04
/ L	-1,81 ± 0,65	3,05 ± 0,20	-13,89 ± 0,89	-8,95 ± 1,68	154,45 ± 54,14	-73,20 ± 1,27
/ H	-7,13 ± 0,18	3,81 ± 0,17	-39,97 ± 1,95	17,37 ± 2,54	146,07 ± 30,83	-28,32 ± 30,76
Mokrý louky / K	-2,12 ± 0,24	3,40 ± 0,09	-1,75 ± 0,46	1,16 ± 1,18	-35,43 ± 8,34	-13,39 ± 22,07
/ L	-3,43 ± 0,53	3,80 ± 0,01	-17,60 ± 3,74	4,66 ± 0,23	23,92 ± 24,85	-53,71 ± 22,31
/ H	-5,44 ± 0,60	3,76 ± 0,24	-22,46 ± 1,30	10,18 ± 2,61	48,78 ± 9,01	-97,52 ± 7,66

3.5.4 Denitrifikace

Denitrifikační aktivitu enzymů ukazuje obrázek č. 9. DEA byla měřena ve dvou časech, v T60-T30 a v T120-T60. V obou časech dosáhli nejvyšších hodnot kontroly u ZL. Lokalita má statisticky průkazný vliv ($F = 18,99$; $p < 0,001$). ZL se průkazně liší od HM ($p < 0,001$), stejně tak jako se od HM liší ML ($p < 0,01$). ML se od ZL průkazně neliší. Hnojení nemá na denitrifikaci statisticky průkazný vliv ($F = 2,15$; ns)

Obr. 9. Aktivita denitrifikačních enzymů v čase T60-T30 ($\text{ng N-N}_2\text{O g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)



4 Diskuze

4.1 Vliv lokality (množství SOM a trofie)

C, N, a P v mikrobiální biomase

Mikrobiální biomasa je ovlivněna mnoha faktory, především obsahem půdní organické hmoty (SOM) a její kvalitou (Šantrůčková, 1993a; Tesařová, 1988), dále pak množstvím živin (Schlesinger, 1977), teplotou a vlhkostí půdy (Lovell a kol., 1995; Lovell a Jarvis, 1998) a texturou půdy (Franzluebbers a kol., 1996).

Půdní organická hmota (SOM) je zásobárna C, N, P (Anderson a Domsch, 1980), přičemž existuje pozitivní korelace mezi množstvím mikrobiální biomasy a půdní organickou hmotou (Schnürer a kol., 1985; Anderson a Domsch, 1989). Tomuto tvrzení odpovídají i mnou naměřené hodnoty, kdy byla zjištěna vyšší mikrobiální biomasa (P_{mic} , C_{mic} i N_{mic}) u organických půd (ZL a ML), zatímco u minerální půdy HM s nižším obsahem SOM byla mikrobiální biomasa vždy nižší. Mezi lokalitami s organickou půdou (ZL a ML) existovaly v množství biomasy některé podobnosti a některé rozdíly. P_{mic} dosáhla stejně jako C_{mic} podobných hodnot jak u ZL, tak u ML. U N_{mic} jsem naměřil nejvyšší hodnoty u ML, což je zřejmě důsledkem vyššího obsahu živin na této lokalitě. Přídavky hnojiv mohou mít za důsledek nárůst C a N mikrobiální biomasy (Dalal, 1998). To potvrzují i Ghosal a Singh (1995), kteří pozorovali dlouhodobý vliv hnojení na množství mikrobiální biomasy. Zvýšení mikrobiální biomasy je vysvětlováno především tím, že rostliny v důsledku přídavku minerálních živin zvyšují produkci biomasy, zvětšuje se tak i množství opadu a rhizodepozice, tedy vstup organické hmoty do půdy (Paterson a kol., 2006). Ale například v lesních ekosystémech byl pozorován i opačný trend, tedy pokles biomasy v důsledku hnojení N (Wallenstein a kol., 2006).

Z výsledků C a N-biomas na jednotlivých lokalitách je dále zřejmé, že poměr C/N v biomase je na každé lokalitě odlišný. Je známo, že bakterie mají nižší poměr C/N než houby (např. Anderson a Domsch, 1980; Lavelle a Spain, 2001), tudíž na ML, kde je podíl C/N 10:1 lze předpokládat větší množství bakterií než na ZL, kde je poměr C/N 29:1, a kde lze očekávat větší množství hub. Je také známo, že poměr mezi houbami a bakteriemi se mění v závislosti na přídavku živin do půdy. Např. De Vries a kol. (2006) a Bradley a kol. (2006) zjistili, že s přídavkem N do půdy klesá poměr houbových/bakteriálních společenstev, což je v souladu s tím, co patrně probíhá na sledované lokalitě ML.

Mineralizace C

Konečným produktem rozkladu organické hmoty je CO_2 . Proto může být rychlost uvolňování tohoto plynu z půdy použita k odhadu mineralizace SOM mikroorganismy (Johnson a Daman, 1993). Respirace mikroorganismů je především ovlivněna teplotou a vlhkostí půdy (Schlesinger, 1977). Oba tyto vlivy však byly v laboratorních podmínkách vyloučeny. V laboratorních podmínkách lze na druhou stranu zcela oddělit mikrobiální respiraci od respirace kořenů rostlin a poskytuje tak přímý prostředek k odhadu rozkladné aktivity (Bridgham a Richardson, 1992).

Ve všech odběrech byly hodnoty C – mineralizace (mikrobiální respirace) vyšší v organických půdách (ML, ZL) vzhledem k minerální půdě (HM), což je důsledkem vyššího obsahu SOM a vyšší mikrobiální biomasy na těchto lokalitách. K podobným výsledkům dospěly i Misařová (2004) a Gerátová (2007). Pozitivní vztah mezi množstvím SOM a mikrobiální respirací popsal např. Schnürer a kol. (1985). V rámci organických půd jsem zjistil vyšší rychlosti mineralizace uhlíku v ML, což je zřejmě způsobeno vyšším obsahem živin (podobně Madricht a Hunter, 2003) na této lokalitě.

Množství dostupného minerálního N

Obsah dostupného amonného dusíku byl na všech lokalitách prakticky stejný. Pouze v čase T0 byla zjištěna vyšší hodnota u mezotrofní organické půdy ZL, později se však od ostatních lokalit již nelišila.

Všechny půdy se ale lišily v obsahu nitrátů. Největší obsah dostupného N-NO_3 byl zjištěn v organické půdě ML, která má v důsledku silné eutrofizace způsobené kejdováním největší množství živin, což bylo potvrzeno laboratorními rozbory Misařové (2004) a Gerátové (2007) i terénním měřením pomocí iontoměničových sond (Misařová, 2004). Naopak nejnižší hodnoty dostupného N-NO_3 jsem zjistil v minerální půdě HM, což je rovněž v souladu s výsledky Misařové (2004) a Gerátové (2007), které ovšem označují ve svých pracích lokalitu HM jako eutrofní. Mnou změřený nízký obsah nitrátů na této lokalitě (nejen v půdách z podzimu 2005, ale i ze dvou odběrů v roce 2006, jejichž výsledky zde nejsou prezentovány) však naznačuje, že zařazení této půdy jako eutrofní je zřejmě chybné. Už i Misařová (2004) polemizovala nad správností tohoto zařazení. Rovněž druhové složení rostlinného společenstva a jeho živinové nároky indikují spíše mezotrofní podmínky (Ellenberg a kol., 1991). Pro účely této práce byla tedy lokalita označena za mezotrofní.

Rozdíly v množství SOM a trofii mezi lokalitami se projevily i po přidavku hnojiva. Ze žádné půdy se mi nepodařilo vyextrahovat veškerý dusík přidaný v hnojivu o známé koncentraci. Obecně platilo, že výtěžnost extrakce N-NO₃ iontů byla vyšší než pro N-NH₄ ionty, které jsou v půdě méně pohyblivé (Jones a kol., 2005). Předpokládám, že fixace dusíku byla abiotická, protože mikroorganismy by nestačily fixovat N během tak krátkého času (několik minut), což potvrzuje např. Wickramasinge a kol. (1985). Významnou roli abiotické fixace zmiňují i Christie a Wasson (2001), kteří v minerální půdě (C_{tot} <4%) zjistili fixaci 5% amonných iontů a <2% dusičnanových iontů. V mém případě se fixace amonných a dusičnanových iontů pohybovala v rozmezí 21% - 44% (N-NH₄) a 6% - 20% (N-NO₃), což je způsobeno větším obsahem SOM na mnou měřených lokalitách. Nejvyšší fixaci obou forem dusíku jsem zjistil v mezotrofní půdě ZL, která má největší obsah SOM a tudíž i největší sorbční potenciál. Naopak nejméně nitrátů a amonia bylo fixováno v eutrofní půdě ML, což je patrně důsledek vysokého obsahu nitrátů na této lokalitě a vysoké nasycenosti systému dusíkem vůbec.

Přeměny dusíku

Obecně platí, že toky dusíku nitrifikací a N – mineralizací byly nižší než změny v N_{mic} (N-asimilací) (viz. Tab. 5). Zatímco nitrifikací či mineralizací byly přeměněny řádově jednotky mg N g⁻¹ den⁻¹, změny v N_{mic} byly řádově v desíkách až stovkách mg N g⁻¹ den⁻¹ (Tab. 5).

Ve všech sledovaných procesech se vliv lokality projevilo až v čase T₂-T₁, tedy až po 7 dnech inkubace. Větší rychlosti nitrifikace a mineralizace dusíku byly zjištěny u ML, zatímco u ZL a HM byly hodnoty nižší. Příčinou vyšších rychlostí nitrifikace a N-mineralizace na ML je vyšší obsah živin na této lokalitě. V hnojených půdách jsou tyto procesy urychlovány a nitrifikace zde tvoří hlavní proces v cyklu dusíku (Subbarao a kol., 2006). Trochu jiná situace byla pozorována v případě asimilace N. U ML docházelo po celou dobu inkubace k úbytku N_{mic}, v HM se N_{mic} na konci inkubace vyrovnala s N_{mic} na počátku inkubace a výsledná asimilace N tedy byla nulová. U ZL jako u jediné půdy byl ve výsledku pozorován nárůst N_{mic}.

Další sledovanou přeměnou v cyklu N byla denitrifikace (aktivita denitrifikačních enzymů). Plynné formy dusíku představují významnou položku v cyklu dusíku v terestrických ekosystémech a denitrifikace je jedním z nejvýznamnějších procesů jejich tvorby a přeměn (Šimek, 1998). Oxidované formy dusíku jsou redukovány na plynné dvojitomové dusíkaté

sloučeniny N_2O a N_2 (Tiedje, 1988; Groffman, 1995), které jsou uvolňovány z půdy a ekosystém tak ztrácí dusík. Nejvyšší hodnoty denitrifikace jsem zjistil v mezotrofní organické půdě ZL, která má nejvyšší obsah dostupného uhlíku (C extrahovaný v 0,5 M K_2SO_4). Množství dostupného uhlíku tvoří na ZL $208,83 \pm 6,77 \mu\text{g C g}^{-1}$, na ML $49,76 \pm 4,79 \mu\text{g C g}^{-1}$ a na HM $67,96 \pm 9,80 \mu\text{g C g}^{-1}$. Dostupná půdní organická hmota je zdrojem pro většinu denitrifikačních bakterií (Šimek, 1998). Významným faktorem ovlivňujícím denitrifikaci je také přítomnost hub, které jsou schopny nitrifikace a denitrifikace, a které v lučních ekosystémech často převažují nad biomasou bakterií (Laughlin, Stevens, 2002), což zřejmě vysvětluje vyšší denitrifikaci na ZL, které mají v důsledku nižšího obsahu živin vyšší houbovou biomasu. ML dosahovaly hodnot nižších, což může být ovlivněno výše zmíněnou skutečností. Oproti minerální půdě HM však byly znatelně vyšší, což může být opět důsledkem větší eutrofizace ML. K nízké hodnotě denitrifikace na HM mohlo přispět i nižší pH půdy. Při snižujícím se pH se snižuje denitrifikační aktivita (Šimek, 1998).

4.2 Vliv hnojení NPK v laboratorním pokusu

C, N, a P v mikrobiální biomase

Hnojení minerálním NPK hnojivem nemělo v mém experimentu žádný nebo jen přechodný vliv na množství C, N, P mikrobiální biomasy. U C_{mic} a P_{mic} lze vyzorovat, že u některých hnojených vzorků dosahovalo množství biomasy nižších hodnot než u kontroly. Nicméně tento jev byl patrný pouze v čase T1. Ve výsledku se ale vliv hnojení na C a P mikrobiální biomasu neprojevil.

U N_{mic} dosahovaly hnojené půdy ve všech případech nepatrně vyšších hodnot než kontroly, přičemž nejzřetelnější rozdíl jsem vždy zaznamenal v čase T1 (Obr. 3). Došlo tedy pouze k přechodné imobilizaci N v biomase hnojených půd, ale na konci inkubace nebyl vliv hnojení na N mikrobiální biomasu vůbec patrný na lokalitách HM a ML. Pouze na lokalitě ZL obsahovala hnojená půda více N biomasy než kontrola. Obdobný výsledek zaznamenali i Ettema a kol. (1999), kteří zjistili, že přidavek hnojiva nezpůsobuje zabudování N do mikrobiální biomasy.

Mineralizace C

Během 21 dní, kdy byla měřena mineralizace C (respirace) se projevil vliv hnojení (+ ovlhčení) nejprve jejím značným nárůstem v prvních dnech (Obr. 6). Nejzřetelněji se vliv

hnojení projevil u ML, kde byla rychlost respirace u více hnojené půdy přibližně o $8 \mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ den}^{-1}$ vyšší než u kontroly. Stejný trend se projevil, ne však již tak zřetelně, i na zbývajících lokalitách. Po přibližně šesti dnech došlo k výraznému poklesu respirace na všech lokalitách, nejvýrazněji opět na ML, přičemž se více snížila respirace na hnojených půdách než u kontrol. Tomuto trendu pak odpovídala všechna zbývající měření. Lze tedy říci, že hnojení má na mineralizaci C pouze krátkodobý vliv. Z hlediska celkové respirace budou dosahovat vyšších hodnot, a tedy vyšších ztrát uhlíku z půdy, spíše nehnojené půdy. K podobným závěrům dospěli i Ettema a kol. (1999), kteří tvrdí, že přídavek minerálního hnojiva nepatrně snižuje respirace. Vysvětlením by mohl být fakt, že mikroorganismy v hnojených půdách mají větší účinnost metabolismu, a tedy relativně nižší respiraci (Lovell a kol., 1995; Liljeroth a kol., 1990). Přidání anorganického N může také zpomalovat dekompozici organické hmoty (Berg a Matzner, 1997), což může mít vliv i na snížení mineralizace C.

Množství dostupného minerálního N a přeměny N

Aplikace hnojiva navýšila množství dostupného minerálního N na všech lokalitách (Magill a kol., 2004; Corstanje a kol., 2007), přičemž navýšení odpovídá dávkám hnojení (Obr. 7 a 8). Aplikace hnojiva také mění poměr dostupného C/N/P v půdě (Corstanje a kol., 2007).

Obecně lze říci, že hnojení urychlilo všechny sledované procesy přeměn dusíku – tedy N-mineralizaci, nitrifikaci a N-asimilaci (viz. Tab. 5), s výjimkou denitrifikace (Obr. 9). V souladu s mými výsledky jsou např. zjištění Dijkstra a kol. (2004), že hnojení dusíkem zvyšuje čistou mineralizaci N, protože urychlí dekompozici a sníží imobilizaci N z opadu s vyšší koncentrací N. Zvyšuje se také nitrifikace, což má za následek zvýšení obsahu nitrátů v půdě. Nitrifikace je v eutrofních půdách dominantní proces přeměny N (Úlehlová, 1989), čemuž napovídá i celkový obsah dusičnanů v eutrofní půdě ML. Nitrátová forma dusíku se pak snadněji vyplavuje či přeměňuje na plynné formy pomocí denitrifikace (Subbarao a kol., 2006). Pro asimilaci N platilo, že hnojení NPK vedlo nejprve k navýšení N-mikrobiální biomasy a po ustálení podmínek v inkubovaných půdách (v čase T2-T1) ke snížení biomasy, přičemž čím více hnojiva bylo aplikováno, tím větší byl zprvu nárůst posléze ztráta N z biomasy. Toto platilo pro lokality ML a HM, na ZL se vliv hnojení na rychlosti přeměn neprojevil. V mém pokusu jsem nezjistil vliv hnojení na denitrifikaci, ovšem například Grant a kol. (2006) zjišťovali lineární vzrůst emisí N_2O v temperátní vlhké oblasti po aplikaci hnojiva.

4.3 Vliv času

Ze všech prezentovaných grafů je patrné, že množství mikrobiální biomasy a zejména rychlosti přeměn dusíku se měnily v průběhu inkubace. Tyto změny nebyly způsobeny pouze hnojením vzorků, protože podobné změny studovaných charakteristik lze vždy sledovat i v kontrolních vzorcích. Změny v čase T1-T0 (během 1. týdne inkubace) lze považovat spíše za důsledek disturbance, kterou způsobila práce se vzorky a jejich ovlhčení (Orchard a Cook, 1983; Bottner, 1985; Šantrůčková a kol., 2001). V čase T2-T1 lze již považovat vzorky za ustálené a získané hodnoty lze považovat za reprezentativnější pro danou půdu (Šantrůčková a kol., 2001).

4.4 Omezení v interpretaci výsledků

Celý experiment probíhal v aerobních podmínkách, což neposkytuje ucelený obraz o procesech, které probíhají na lokalitách v průběhu celého roku. Například jen během loňského roku byly všechny mokřady několikrát opakovaně zatopeny, a to i po dobu několika dnů až týdnů (Dušek, terénní měření, nepublikováno). Zamokření může vést k anaerobii, tedy ke zvýšení významu denitrifikace (Úlehlová, 1989) a naopak ke snížení procesů N-mineralizace.

Vstup živin do půdy hnojením byl jednorázový, ale dlouhodobá eutrofizace může mít jiné důsledky. Každý systém má určitou kapacitu zadržovat živiny, tato kapacita však není dopředu známa. Po jejím překročení se systém může začít chovat zcela jinak.

Na laboratorní pokus neměly vliv rostliny, nebyl tedy simulován ani přísun organických látek z rhizodepozice ani kompetice mikroorganismů a kořenů o dodané živiny. Právě kvůli těmto aspektům byla celá práce pojmenována jako přímý vliv hnojení na mikrobiální procesy. Je známo, že rostliny dokážou přijímat jak minerální dusík (Streeter a kol., 2000), tak organický dusík (Bardgett a kol., 2003), a jsou efektivními kompetitory o tyto zdroje (Lipson a Monson, 1998). Podle Rosswalla (1982) jsou např. kořeny rostlin účinnějšími kompetitory o amoniak než nitrifikační bakterie. V mém experimentu byla tato kompetice vyloučena, což mohlo ovlivnit jak množství mikrobiální biomasy, tak rychlosti a důležitost jednotlivých mikrobiálních přeměn N. Předpokládal bych, že rostliny odčerpají značné množství přidaných živin, což bude mít za důsledek snížení dostupnosti živin pro půdní mikroorganismy. Lze tedy očekávat, že v přítomnosti rostlin by probíhaly procesy přeměn N výrazně pomaleji než u tohoto laboratorního experimentu.

7. Závěr

Z tohoto laboratorního experimentu simulujícího jednorázový vstup živin do půdy s vyloučením vlivu rostlin vyplývají následující závěry:

- Množství mikrobiální biomasy a její aktivita je primárně ovlivněna lokalitou, a to především množstvím půdní organické hmoty.
- Přídavek živin (hnojení) neměl významný vliv na množství C, N, P mikrobiální biomasy, pouze u N mikrobiální biomasy došlo v průběhu experimentu k jejímu přechodnému nárůstu.
- Hnojení NPK způsobilo pouze krátkodobé zvýšení mineralizace C, ve výsledku však hnojené půdy vykazovaly spíše nižší ztráty uhlíku mineralizací oproti kontrolám. Tento výsledek není v souladu s předkládanou hypotézou, že hnojení zvýší půdní respiraci.
- Přídavek živin (hnojení) urychluje přeměny N, zejména jeho mineralizaci a nitrifikaci, ne však denitrifikaci. V hnojených půdách tedy dochází k hromadění dostupných dusičnanů v půdě. Tento závěr je v souladu s předkládanou hypotézou.
- Jednorázová aplikace živin se významněji projevila u minerální půdy HM. Zřejmé je to hlavně u procesů mineralizace N a asimilace N, kde byly rozdíly mezi kontrolami a hnojenými vzorky vyšší než u organických půd. I tento závěr je tak v souladu s předkládanou hypotézou.
- Jednorázová dávka hnojení způsobila větší rozdíly v mikrobiálních procesech v půdě s primárně nižším obsahem živin (ZL), než v půdě s primárně vyšším obsahem živin (ML). Tento závěr rovněž odpovídá předkládané hypotéze.

Zde pokládám za nutné znovu zdůraznit omezení v interpretaci získaných výsledků pro přirozené terénní podmínky. Předpokládám, že přítomnost rostlin zásadně ovlivní sledované procesy přeměn C, N a P v půdě.

8. Literatura

Aerts, R., Berendse, F., De Caluwe, H., Schmitz, M. (1990): Competition in heathland along an experimental gradient of nutrient availability. *Oikos* 57: 310-318

Albrecht, J., et al. (2003): Českobudějovicko. In: Mackovič, P., Sedláček, M. (eds.). *Chráněná území ČR, svazek VIII. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a EkoCentrum Brno, Praha*

Anderson, J.P.E., Domsch, K.H. (1980): Quantities of plant nutrients in the microbial biomass of selected soils. In: *Soil Science* 130 (4): 211-216

Archibold, O.W. (1995): *Ekology of world vegetation. Chapman and Hall, London*

Arnebrant, K., Bååth, E., Söderström, B. (1990): Changes in microfaunal community structure after fertilization of Scots pine forest soil with ammonium nitrate or urea. *Soil Biol. Biochem.* 22: 309-212

Aselman, I., Crutzen, P.J. (1989): Global distribution of natural fresh water wetlands and rice paddies, their net primary productivity, seasonality, and possible methane emissions. *Journal of atmospheric chemistry* 8:307-358. cited in Mitsch et Gosselink (2000)

Bardgett, R.D., Streeter, T., Bol, R. (2003): Soil microbes compete effectively with plants for organic nitrogen inputs to temperate grasslands. In: *Ecology* 84, 1277-1287.

Barendregt, A., Beltman, B. (2005): Nature conservation and ecosystem restoration. *Studijní materiály. Universitát Utrecht, Utrecht*

Berg, B., Matzner, E. (1997): Effect of N deposition on decomposition of plant litter and soil organic matter in forest systems. In: *Environ. Rev./Dossiers Environ.* 5: 1-25

Bottner, P. (1985): Response of microbial biomass to alternate moist and dry conditions in a soil incubated with ¹⁴C- and ¹⁵N-labelled plant material. In: *Soil Biol. Biochem.* 17: 329 - 337

- Bradley, K., Drijber, R.A., Knops, J. (2006): Increased N availability in grassland soils modifies their microbial communities and decreases the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi. In: *Soil Biology and Biochemistry* 38: 1583-1595
- Brady, N.C., Weil, R.R. (2002): Nature and properties of soils. *Thirteen edition, Pearson education, New Jersey*
- Bridgham, S.D., Richardson, C.J. (1992): Mechanism controlling soil respiration (CO₂ and CH₄) in southern peatlands. In: *Soil Biol. Biochem.* 24: 1089-1099
- Bridgham, S.D., Richardson, C.J. (2003): Endogenous versus exogenous nutrient control over decomposition and mineralization in North Karolina peatlands. In: *Biogeochemistry* 65: 151-178
- Brookes, P.C., Powlson, D.S., Jenkinson, D.S. (1982): Measurement of Microbial Phosphorus in Soil. In: *Soil Biol. Biochem.* 14: 319-329
- Cabrera, M.L., Beare, M.H. (1993): Alkaline persulfát oxidation for determinig total nitrogen in microbial biomass extracts. In: *Soil Science Society of America Journals* 57: 1007-1012
- Corstanje, R., Reddy, K.R., Prenger, J.P., Newman, S., Ogram, A.V. (2007): Soil microbial eco-physiological response to nutrient enrichment in a sub-tropical wetland. In: *Ecological indicators* 7 (2): 277-289
- Craft, C.B., Richardson, C.J. (1998): Recent and long-term organic soil accretion and nutrient accumulation in the Everglades. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62: 834-843
- Dalal, R.C. (1998): Soil microbial biomass – what do the numbers really mean? In: *Australian Journal of Experimental Agriculture* 38: 649-665
- De Vries, F.T., Hoffland, E., Van Eekeren, N., Brussaard, L., Bloem, J. (2006): Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. In: *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2092-2103

Dijkstra, F.A., Hobbie, S.E., Reich, P.B., Knops, J.M.H. (2004): Divergent effects of elevated CO₂, N fertilization, and plant diversity on soil C and N dynamics in a grassland field experiment. *In: Plant and Soil* 272: 41-52

Dykyjová, D., et al. (1989): Metody studia ekosystémů. *Academia, Praha*

Ellenberg, H., Weber, H.E., Dull, R., Wirth, V., Werner, W., Paulsen, D. (1991): Zeigewerte von Pflanzen in Mitteleuropa. *In: Scripta Geobot.* 18: 1-248

Ettema, Ch.H., Lowrance, R., Coleman, D.C. (1999): Riparian soil response to surface nitrogen input: temporal changes in denitrification, labile and microbial C and N pools, and bacterial and fungal respiration. *In: Soil Biology and Biochemistry* 31: 1609-1624

Franzluebbers, A.J., Haney, R.L., Hons, F.M., Zuberer, D.A. (1996): Active fractions of organic matter in soils with different texture. *In: Soil Biol. Biochem.* 28: 1367-1372

Galatowitsch, S.M., Whited, D.C., Lehtinen, R., Husveth, J., Schink, K. (2000): The vegetation of wet meadows in relation to their land-use. *Environmental Monitoring and Assessment* 60: 121-144

Gerátová, L. (2007): Vliv eutrofizace na mikrobiální procesy v půdách mokřadního ekosystému. *Magisterská diplomová práce, Biologická fakulta JU, České Budějovice*

Ghosal, N., Singh, K.P. (1995): effects of farmyard manure and inorganic fertiliser on the dynamics of soil microbial biomass in a tropical dryland agroecosystem. *In: Biology and Fertility of Soils* 19: 231-238

Golterman, H.L. (1995): The labyrinth of nutrient cycles and buffers in wetlands: Result based on reseach in the Vamargue (southern France). *In: Hydrobiologia* 315 (1): 39-58

Gopal, B., Květ, J., Löffler, H., Masing, V. (1990): Definition and classification. *In: Patten, B.C. (ed.), Wetlands and shallow continental water bodies. Volume 1. Natural and human relationships. SPB Academic Publishing bv, The Hague*

Grant, R.F., Pattey, E., Goddard, T.W., Kryzanowski, L.M., Puurveen, H. (2006): Modeling the effects of fertilizer application rate on nitrous oxide emissions. *In: Soil Science Society of America Journal* 70 (1): 235-248

Groffman, P.M. (1995): A conceptual assessment of the importance of denitrification as a source of soil nitrogen loss in tropical agro-ecosystems. *In: Fertil. Res.* 42: 139-148

Haslam, S.M., Klötzi, F., Sukopp, H., Szczepánski, A. (1998): The management of wetlands. *In: Westlake et al. (1998)*, 405-464

Henry, F., Nguyen, C., Paterson, E., Sim, A., Robin, C. (2005): How does N availability alter rhizodeposition in *Lolium multiflorum* Lam. during vegetative growth? *In: Plant and Soil* 269: 181-191

Hudec, K., Husák, Š., Janda, J., Pellantová, J. (1993): *Přehled vodních a mokřadních biotopů České republiky, Český ramsarský výbor, Třeboň*

Christie, P., Wasson, E.A. (2001): Short-term immobilization of ammonium and nitrate added to a grassland soil. *In: Soil Biology and Biochemistry* 33: 1277-1278

Chytil, J., Hakrová, P., Hudec, K., Husák, Š., Jandová, J., Pellantová, J. (eds.) (1999): *Mokřady České republiky – přehled vodních a mokřadních lokalit ČR. Český ramsarský výbor, Mikulov*

Jeník, J. (1983): Mokré louky u Třeboně: modelová lokalita biosférického fondu. *In: Jeník, J., Květ, J., (eds.). Studie zaplavovaných ekosystémů u Třeboně. Academia, Praha*

Johnson, L.C., Daman, A.W.H. (1993): Decay and its regulations in Sphagnum peatlands. *In: Advances in Bryology* 5: 249-296

Johnston, C.A. (1991): Sediment and nutrient retention by freshwater wetlands: effect on surface water quality. *CRC Crit. Rev. Environ. Control.* 21: 491. (*non vidi*)

Jones, D.L., Healey, J.R., Willett, V.B., Farrar, J.F., Hodge, A. (2005): Dissolved organic nitrogen uptake by plants - an important N uptake pathway? *In: Soil Biol. Biochem.* 37, 413-

423.

Kadlec, R.H., Knight, R.L. (1996): Treatment wetlands. *Lewis Publisher, New York*

Keddy, P.A. (2000): Wetland ecology: principles and conservation. *Cambridge University Press, Cambridge*

Kruk, M. (2003): Biogeochemical multifunctionality of wetland ecotones in lakeland agriculture landscape. *Polish Journal of Ekology 51: 247-254*

Kuzyakov, Y., Biryukova, O.V., Kuznetzova, T.V., Mölter, K., Kandeke, E., Stahr, K. (2002): Carbon partitioning in plant nad soil, karbon dioxide fluxes and enzyme activities as affected by cutting ryegrass. *In: Biol Fertil Soils 35: 348-358*

Larson, J.S. (1990): Wetland value assessment. *In: Patten, B.C. (ed.), Wetlands and shallow continental water bodies. Volume 1. Natural and human relationships. SPB Academic Publishing bv, The Hague*

Laughlin, R.J., Stevens, R.J. (2002): Evidence for Fungal Dominance of Denitrification and Codenitrification in a Grassland Soil. *In: Soil Soc. Am. J. 66: 1540-1548*

Lavelle, P., Spain, A.V. (eds.) (2001): Soil Ecology, *Kluwer Academic Publishers, Netherlands*

Lellák, J., Kubiček, F. (1991): Hydrobiologie. *Univerzita Karlova, Praha*

Liljeroth, R., van Veen, J.A., Miller, H.J. (1990): Assimilate translocation to the rhizosphere of two wean lines and subsequent utilization by rhizosphere microorganism at two soil nitrogen concentrations. *In: Soil Biol. Biochem. 22: 1015-1021*

Limpens, J., Berendse, F. (1991): How litter quality affects mass loss and N loss from decomposing *Sphagnum*. *In: Oikos 103: 537-547*

- Lipson D.A., Monson R.K. (1998): Plant-microbe competition for soil amino acids in the alpine tundra: effects of freeze-thaw and dry-rewet events. *In: Oecologia 113:406-414*
- Lovell, R.D., Jarvis, S.C., Bardgett, R.D. (1995): Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: effects of management changes. *In: Soil Biol. Biochem. 27: 969-975*
- Lovell, R.D., Jarvis, S.C. (1998): Soil microbial biomass and activity in soil from different grassland management treatments stored under controlled conditions. *In: Soil Biol. Biochem. 30: 2077-2085*
- Lovett, G.M., Rueth, H. (1999): Soil nitrogen transformations in beech and maple stands along a nitrogen deposition gradient. *In: Ecological Applications 9 (4): 1330–1344*
- Madritch, M.D., Hunter, M.D. (2003): Intraspecific litter diversity and nitrogen deposition affect nutrient dynamics and soil respiration. *In: Oecologia 136: 124-128*
- Magill, A.H., Aber, J.D., Curie, W.S., Nadelhoffer, K.J., Martin, M.E., McDowell, W.H., Melillo, J.M., Steudler, P. (2004): Ecosystem response to 15 years of chronic nitrogen additions at the Harvard Forest LTER, Massachusetts, USA. *In: Forest Ecology and Management 196 (1): 7-2*
- Misařová, L. (2005): Obsah dusíku a rozklad organické hmoty v půdách zamokřených luk. *Magisterská diplomová práce, Biologická fakulta JU, České Budějovice*
- Mitsch, W.J., Gosselink, J.G. (2000): Wetlands. *Third edition John Wiley and Sons, New York*
- Moravec, J. et al. (1995): Rostlinná společenstva ČR a jejich ohrožení, 2. ed. *Severočeskou přírodou, Litoměřice*
- Orchard, V.A. and Cook, F.J. (1983): Relationship between soil respiration and soil moisture. *In: Soil Biol. Biochem. 15: 447 - 453*
- Orme, A.R. (1990): Wetland morphology, hydrodynamics and sedimentation. *In: Williams, M. (ed.), Wetlands: A threatened landscape. Basil Blackwell, Oxford.*

Paterson, E., Sim, A., Standing, D., Dorward, M., James, A., McDonald, S. (2006): Root exudation from *Hordeum vulgare* in response to localized nitrate supply. In: *Journal of Experimental Botany*, Page 1 of 8

Patten, B.C. (1990): Introduction and overview. In: Patten, B.C. (ed.), *Wetlands and shallow continental water bodies. Volume 1. Natural and human relationships*. SPB Academic Publishing bv, The Hague

Picek, T. (2001): The effect of soil aeration status on microbial activities and organic substrate transformation. *Doktorská disertační práce, Biologická fakulta JU, České Budějovice*

Pitter, P. (1999): *Hydrochemie*. Vydavatelství VŠCHT, Praha

Pokorný, J., Květ, J., Ondok, J.P. (1990): Functioning of the plant komponent in densely stocked fishpond. In: *Bulletin of Ekology 21: 44-48*

Post, W.M., Pastor, J., Zinke, P.J., Stangenberger, A.G. (1985): Global Patterns of soil nitrogen storage. In: *Nature 317: 613-616*

Prach, K. (1996): Degradation and restoration of wet and moist meadows in the Czech Republic: general trends and case studies. *Acta bot. Galiica 143: 441-449*

Prach, K., Soukupová, L. (2002): Alterations in the wet meadows vegetation pattern. In: *Květ et al., (2002b), 243-254*

Rosswall, T. (1982): Microbiological regulation of the biogeochemical nitrogen cycle. In: *Plant and Soil 67: 15-34*

Rychnovská, M. (1993): Functioning of grasslands in the landscape. In: *Rychnovská, M. (ed.). Structure and functioning of seminatural meadows*. Academia, Praha

Sather, J.H., Smith, R.D., Larson, J.S. (1990): Natural values of wetlands. *In: Patten, B.C. (ed.), Wetlands and shallow continental water bodies. Volume 1. Natural and human relationships. SPB Academic Publishing bv, The Hague*

Schlesinger, W.H. (1977): Carbon balance in terrestrial detritus. *In: Ann. Rev. Ecol. Systém. 8: 51-81*

Schnürer, J., Clarholm, M., Rosswall, T. (1985): Microbial biomass and activity in an agricultural soil with different organic matter contents. *In: Soil Biology and Biochemistry 17 (5): 611-618*

Smith, M.S., Tiedje, J.M. (1979): Phases of denitrification following oxygen depletion in soil. *In: Soil Biology and Biochemistry 11: 261-267*

Sylvia, D.M., Fuhrman, J.J., Hartel, P.G., Zuberer, D.A. (eds.) (1998): Principles and Applications of Soil Mikrobiology. *Prentice Hall, Inc., Upper Saddle River*

Stevenson, F.J. (1986): Cycles of soil carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. *John Wiley and Sons, New York*

Stevenson, F.J., Cole, M.A. (1999): Cycles of Soil. *John Wiley and Sons, 427 p.*

Streeter, T.C., Bardgett, R.B., Bol, R. (2000): Amino acids as a nitrogen source in temperate upland grasslands: the use of dual labelled (^{13}C , ^{15}N) glycine to test for direct uptake by dominant grasses. *In: Rapid Commun. Mass Spectrom 14: 1351-1355.*

Subbarao, G.V., Ito, O., Sahrawat, K.L., Berry, W.L., Nakahara, K., Ishikawa, T., Watanabe, T., Suenaga K., Rondon, M., Rao, I.M. (2006): Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems – challenges and opportunities. *In: Critical Reviews in Plant Science 25 (4): 303-335*

Šantrůčková, H. (1993a): Mikrobiální biomasa jako ukazatel biologické aktivity půdy. *In: Rostlinná výroba 39: 779-788*

Šantrůčková, H., Grund, M., Pícek, T., Šimek, M. (2001): Estimation of net nitrification in mountain soils. *In: Silva Gabreta 7: 79-86*

Šimek, M. (1998): Denitrifikace v půdě – terminologie a metodologie (studie). *In: Rostlinná výroba 44: 385-394*

Tamm, C.O. (1991): Nitrogen in terrestrial ecosystems. Questions of produktivity, vegetational changes, and ecosystem stability. *Springer-Verlag, Berlin*

Tesařová, M. (1988): Microorganism and the carbon cycle in ecosystem. *In: Vančura, V., Kunc, F. (eds.): Soil microbial associations control of structures and functions. Academia, Praha*

Tiedje, J.M. (1988): Ekology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. *In: Zehnder, A.J.B. (ed.): Biology of anaerobic microorganism. John Wiley, New York, 179-244*

Tiedje, J.M., Simkins, S., Groffman, P.M. (1989): Perspectives on measurement of denitrification in the field including recommended protocols for acetylene based methods. *In: Clarholm, M., Berstrom, L. (eds.). Ecology of Arable Land. Dordrecht, Kluwer Academic Publisher, 217-240*

Úlehlová, B. (1989): Koloběh dusíku v travních ekosystémech. *Academia, Praha*

Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S. (1987): An extraction Method for measuring soil microbial biomass C. *In: Soil Biology and Biochemistry 19: 703-707*

Venterink, H.O., Pieterse, N.M., Belgers, J.D.M., Wassen, M.J. et de Ruiter, O.D. (2002): N, P and K budgets nutrient availability and produktivity gradients in wetlands. *Ecological Applications 12: 1010-1026*

Vymazal, J. (1995): Čištění odpadních vod v kořenových čistírnách. *Envi s.r.o., Třeboň*

Wallenstein, M.D., McNulty, S., Fernandez, I.J., Boggs, J., Schlesinger, W.H. (2006): Nitrogen fertilization decreases forest soil fungal and bacterial biomass in three long-term experiments. *In: Forest Ecology and Management* 222: 459-468

Wickramasinge, K.N., Rodgers, G.A., Jenkinson, D.S. (1985): Transformations of nitrogen fertilizers in soil. *In: Soil Biology and Biochemistry* 17 (5): 625-630

Williams, M. (1990): Understanding wetlands. *In: Williams, M. (ed.), Wetlands: A threatened landscape. Basil Blackwell, Oxford.*