

## AKTIVITA PÔDNYCH MIKROORGANIZMOV NA KALAMITNÝCH PLOCHÁCH TANAP-u

E.Gömöryová, K. Střelcová, D. Gömöry

Lesnícka fakulta, Technická univerzita vo Zvolene, T.G.Masaryka 24, 960 53 Zvolen,  
e-mail: [egomory@vsld.tuzvo.sk](mailto:egomory@vsld.tuzvo.sk)

### Abstract

In November 2004, spruce stands in the Tatra National Park (TANAP) were affected by windthrow and one year later a wildfire broke out on a part of this area. The overall objective of this study was to examine the response of soil microbial biomass, activity and functional diversity to disturbance events. Basal and potential soil respiration, N-mineralization, catalase activity, soil microbial biomass and functional diversity were measured in soil samples, taken from the A-horizon along 100 m transects established on 4 plots (reference site, burnt, non-extracted and extracted sites) several times during the vegetation period.

All microbial characteristics exhibited high spatial variability, especially microbial biomass and N-mineralization. Generally, soil microbial biomass and activity decreased at disturbed plots (except burnt plot). The burnt plot exhibited significantly higher microbial activity than the other disturbed plots. No significant differences in soil microbial characteristics were observed between extracted and non-extracted plots. The plots, where fallen trees have been removed, exhibited generally lower richness and diversity of functional groups than the others. Temporal shift in the representation of functional groups was revealed.

**Kľúčové slová:** lesné pôdy, respirácia pôdy, aktivita katalázy, diverzita mikroorganizmov, veterná kalamita, požiar

### Úvod

Pôdne mikroorganizmy zohrávajú významnú a nezastupiteľnú úlohu pri dekompozícii a mineralizácii odumretej organickej hmoty, v kolobehu uhlíka, dusíka, fosforu a ďalších prvkov, a pod. Pretože citlivo reagujú na akékoľvek zmeny prostredia, považujú sa za "skoré" indikátory environmentálnych zmien.

Po veternej kalamite, ktorá postihla rozsiahlu časť smrekových porastov v TANAP-e, došlo k výrazným zmenám v mikro- a mezoklíme daných plôch, k zmenám v prísune čerstvej organickej hmoty na povrch pôdy atď., je teda predpoklad, že následkom týchto zmien dôjde aj k zmenám niektorých pôdnych vlastností, najmä k zmenám v rozdelení teplôt a vlhkosti pôdy; mnohé štúdie poukazujú na to, že následkom disturbancií dochádza k zmenám aj v aktivite, štruktúre a funkcii mikrobiálnych spoločenstiev (BÅÅTH *et al.* 1994, PAPANATHAN *et al.* 2004). O necelý rok neskôr bola časť kalamitnej plochy zasiahnutá povrchovým požiarom, z pôdy bol zasiahnutý a zničený (spálený) len pokrývkový humus. Vplyv požiaru na pôdne mikroorganizmy, na ich biomasu a aktivitu, je pomerne dobre zdokumentovaný vo viacerých prácach (CERTINI 2005, FIORIN *et al.* 2005, MABUHAY *et al.* 2006), menej informácií je už ohľadom ich diverzity, zastúpenia jednotlivých taxonomických či funkčných skupín.

Cieľom tejto práce je podať stručné informácie o spôsobe sledovania pôdnych mikroorganizmov na vybraných plochách TANAP-u, ako i podať informácie o niektorých výsledkoch, ktoré sme doteraz

analýzou pôdnych vzoriek získali, a na základe ktorých si môžeme urobiť obraz o tom, ako sa vyvíja a aká je aktivita pôdnych mikroorganizmov na jednotlivých sledovaných plochách.

## Materiál a metódy

Monitorovanie mikrobiálnej aktivity a diverzity uskutočňujeme na štyroch výskumných plochách, ktoré boli založené pracovníkmi Výskumnej stanice TANAP-u (FLEISCHER *et al.* 2007) – tri plochy sa nachádzajú v kalamitnej oblasti a jedna plocha je kalamitou nepostihnutá. Ide o tieto plochy:

- plocha extrahovaná (EXT) – kalamitné drevo bolo z plochy odstránené
- plocha neextrahovaná (NEX) – kalamitné drevo, popadané stormy, boli na ploche ponechané
- plocha po požiarí (FIR)
- plocha referenčná (REF) – kalamitou nezasiahnutá

Podrobnejší opis plôch sa nachádza v prácach FLEISCHER *et MATEJKA.* (2007), MIČUDA *et al.* (2005), prípadne ďalších autorov.

Na každej z uvedených plôch sme niekoľkokrát počas vegetačného obdobia od r. 2006 až doteraz odobrali vzorky z A-horizontu (hĺbka 0-10 cm) pozdĺž transektu v 10 m odstupoch, na každej ploche sme odobrali v každom termíne teda 10 vzoriek, len na začiatku výskumných prác v lete 2006 boli z každej plochy odobraté iba 3 vzorky.

Po odobratí sme zo vzoriek odstránili pomocou pinzety hrubší podiel (skelet a korene rastlín) a vzorky sme následne uschovávali v chladničke pri teplote 4 °C. Vo vzorkách sme určovali momentálnu vlhkosť pôdy gravimetricky, sušením do konštantnej hmotnosti pri teplote 105 °C. pH pôdy sme zisťovali vo vodnom výluhu a vo výluhu 1 M KCl (20 g pôdy + 50 ml vody, resp. KCl). Obsah organického uhlíka sme stanovovali Ľurinovou metódou.

Z mikrobiálnych charakteristík sme zisťovali:

- bazálnu respiráciu (BR) – Isermeyerovou metódou (in ALEF 1991) - stanovením množstva z pôdnej vzorky uvoľneného CO<sub>2</sub> počas 24 hod.; CO<sub>2</sub> sa počas inkubácie zachytávalo do 0,05 M NaOH a následne jeho množstvo sa určilo titračne pomocou 0,05 M HCl a fenolftaleínu.
- substrátom-indukovanú respiráciu (SIR) – ten istý postup ako pri stanovení bazálnej respirácie, len s tým rozdielom, že sa na začiatku stanovenia pridala k pôdnej vzorke glukóza a inkubácia trvala 5 hod.
- mikrobiálnu biomasu (Cmik) – podľa ISLAMA *et WEILA* (1998) – mikrobiálne bunky sa usmrtili mikrovlnným žiarením; mikrobiálna biomasa sa následne stanovila na základe rozdielu množstva uhlíka v ožiarenej a neožiarenej vzorke, uhlík vo vzorkách sa stanovil Ľurinovou metódou
- aktivitu katalázy (Akat) – podľa CHAZIJEVA (1976) – meraním objemu kyslíka, ktorý sa uvoľnil po 10 min. z pôdnej vzorky po pridaní 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- N-mineralizáciu (Nmin) – KANDELER (1993) – pôdne vzorky sme inkubovali za anaeróbných podmienok pri 40 °C počas 7 dní a uvoľnený NH<sub>4</sub>-N sme následne stanovovali kolorimetricky.

Na každej ploche, pri každom odbere, sme v troch vzorkách zisťovali metabolické profily mikrobiálnych spoločenstiev použitím BIOLOG<sup>®</sup> Eco plates (BIOLOG Unc., Hayward, CA; GARLAND 1996). Mikrotitračné platničky s 31 rôznymi organickými substrátmi sme inokulovali so 150 µl pôdneho extraktu pri 27 °C po dobu 8 dní. Počas inkubácie vzoriek sme pomocou prístroja Sunrise Microplate Reader (Tecan, Salzburg, Rakúsko) dvakrát denne stanovovali hodnoty absorbancie pri 590 nm odpovedajúce aktivite mikroorganizmov na jednotlivých substrátoch.

Multiplicitu funkčných skupín mikroorganizmov predstavoval počet substrátov, na ktorých sme zaznamenali metabolickú (nenulovú) aktivitu. Diverzitu funkčných skupín sme hodnotili pomocou Hillovho indexu diverzity (HILL 1973):

$$N_2 = 1/\sum p_i^2,$$

kde  $p_i$  je frekvencia  $i$ -tej funkčnej skupiny, hodnotená na základe absorbcie na príslušnom substráte.

Všetky výsledky sú prepočítané na sušinu. Pri štatistickom spracovaní údajov sme využili štatistický program SAS/STAT<sup>®</sup> (SAS 1998). Na zistenie rozdielov v mikrobiálnej aktivite medzi jednotlivými plochami a jednotlivými termínmi odberu sme použili dvojfaktorovú analýzu kovariancie. Rozdiely výberových priemerov medzi plochami a termínmi odberu boli následne testované Duncanovým testom. Na hodnotenie rozdielov v zložení mikrobiálneho spoločenstva sme využili analýzu základných komponentov.

## Výsledky

V príspevku uvádzame spracované údaje z troch termínov odberu – leto a jeseň 2006, a jar 2007. V tab. 1 sú uvedené výsledky analýzy kovariancie pôdných charakteristík, pričom vlhkosť pôdy bola použitá ako kovariančná premenná. V tab. 2 sú zobrazené výsledky Duncanových testov rozdielov výberových priemerov pôdných charakteristík medzi plochami a v tab. 3 medzi termínmi odberu.

Analýzy pôdných vzoriek poukazujú na to, že väčšina zisťovaných charakteristík sa vyznačovala značnou priestorovou variabilitou v rámci jednotlivých sledovaných plôch. Obsah organického uhlíka (humusu), či hodnoty reakcie pôdy boli veľmi podobné na všetkých troch kalamitných plochách, zatiaľ čo referenčná plocha bola v porovnaní s kalamitnými o niečo kyslejšia a s vyšším obsahom humusu (GÖMÖRYOVÁ *et al.* 2009). Nezistili sme štatisticky významné rozdiely vo vlhkosti pôdy medzi jednotlivými plochami. Naopak, medzi jednotlivými termínmi odberu sme zaznamenali významné rozdiely. Momentálna vlhkosť pôdy bola v priemere najvyššia na jar r. 2007, naopak najnižšia v lete 2006.

Mikrobiálna biomasa sa vyznačovala veľmi veľkou priestorovou variabilitou v rámci plôch, najmä v lete 2006 a na jar 2007. Na referenčnej ploche bola signifikantne vyššia ( $87,80 \mu\text{g C.g}^{-1}$ ) ako na ostatných plochách ( $46,02\text{--}54,49 \mu\text{g C.g}^{-1}$ ). V lete bola C<sub>mic</sub> najnižšia, avšak rozdiely neboli štatisticky významné.

Hodnoty bazálnej respirácie sa významne líšili medzi jednotlivými plochami, pričom najvyššie hodnoty sme pozorovali na ploche referenčnej a najnižšie na plochách EXT a NEX. Vo všeobecnosti, bazálna respirácia bola na jar 2007 vyššia ako v ostatných termínoch odberu. Pri substrátom-indukovanej respirácii sme pozorovali podobný trend ako pri BR, teda s najvyššou priemernou hodnotou na ploche referenčnej a najnižšou na ploche s nevyťaženou kalamitnou hmotou. Podobne, najvyššie hodnoty boli namerané na jar 2007.

N-mineralizácia patrila k tým charakteristikám, ktoré sa vyznačovali veľmi veľkou priestorovou variabilitou. Vo všeobecnosti, najnižšie hodnoty ( $4,18 \mu\text{g N-NH}_4^+.\text{g DW}^{-1}.\text{7d}^{-1}$ ) sme zaznamenali na ploche s vyťaženým kalamitným drevom, najvyššie opäť na ploche referenčnej.

Pri aktivite katalázy sme nepozorovali významné rozdiely medzi jednotlivými termínmi odberu, avšak významné rozdiely existujú medzi plochami, pričom najvyššie hodnoty boli zistené na REF a FIR ploche ( $1,21$ , resp.  $1.16 \text{ ml O}_2 \text{ g DW}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ).

Tab. 1 Analýza kovariancie pôdných mikrobiálnych charakteristík ( $F$ -test)

Zdroj variacie	d.f.	$F$ -test							
		vlhkosť	respirácia	SIR	C <sub>mic</sub>	N-min	kataláza	multiplic.	diverzita
dátum	2	3,76*	7,80***	24,04***	1,49	9,50***	1,85	12,48***	8,94***
plocha	3	1,50	12,25***	3,99*	4,82**	4,96**	7,33***	2,85	3,30*
dát.* pl.	6	7,16***	20,47***	5,18***	1,35	2,30*	11,06***	0,69	0,68
vlhkosť	1		30,79***	10,69**	3,18	18,46***	17,88***	0,26	0,72

\*\*\*  $P > 0.999$ , \*\*  $P > 0.99$ , \*  $P > 0.95$ , d.f. – stupeň voľnosti

Tab. 2 Duncanove testy rozdielov výberových priemerov pôdnych charakteristík medzi plochami; plochy s rovnakými písmenami za číselným údajom sa neodlišujú významne v danej charakteristike ( $P>0.05$ )

Plocha	vlhkosť	respirácia	SIR	Cmik	Nmin	kataláza	multiplicita	diverzita
REF	35,99 a	0,15 a	0,65 a	87,80 a	6,75 a	1,21 a	15,11 a	8,81 ab
EXT	38,42 a	0,09 b	0,51 ab	54,49 b	4,18 b	0,90 b	12,44 b	7,25 b
FIR	42,36 a	0,11 b	0,57 a	46,02 b	6,40 a	1,16 a	12,33 b	7,99 ab
NEX	38,40 a	0,09 b	0,40 b	51,53 b	5,39 ab	0,92 b	14,56 ab	9,89 a

Vlhkosť pôdy (% w/w), respirácia ( $\mu\text{g C-CO}_2\cdot\text{gDW}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ), SIR ( $\mu\text{g C-CO}_2\cdot\text{gDW}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ), Cmik ( $\mu\text{g C}\cdot\text{gDW}^{-1}$ ), Nmin ( $\mu\text{g N-NH}_4^+\cdot\text{gDW}^{-1}\cdot\text{7d}^{-1}$ ), kataláze ( $\text{ml O}_2\cdot\text{gDW}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )

Tab. 3 Duncanove testy rozdielov výberových priemerov pôdnych charakteristík medzi jednotlivými termínmi odberu; plochy s rovnakými písmenami za číselným údajom sa neodlišujú významne v danej charakteristike ( $P>0.05$ )

Dátum	vlhkosť	respirácia	SIR	Cmik	Nmin	kataláza	multiplicita	diverzita
VII.06	33,27 b	0,08 b	0,29833 b	41,63 a	6,88 a	0,93 a	10,42 b	6,38 b
X.06	37,41 ab	0,10 b	0,39762 b	64,97 a	4,37 b	1,10 a	15,33 a	9,16 a
V.07	41,81 a	0,13 a	0,73903 a	60,78 a	6,61 a	1,04 a	15,08 a	9,91 a

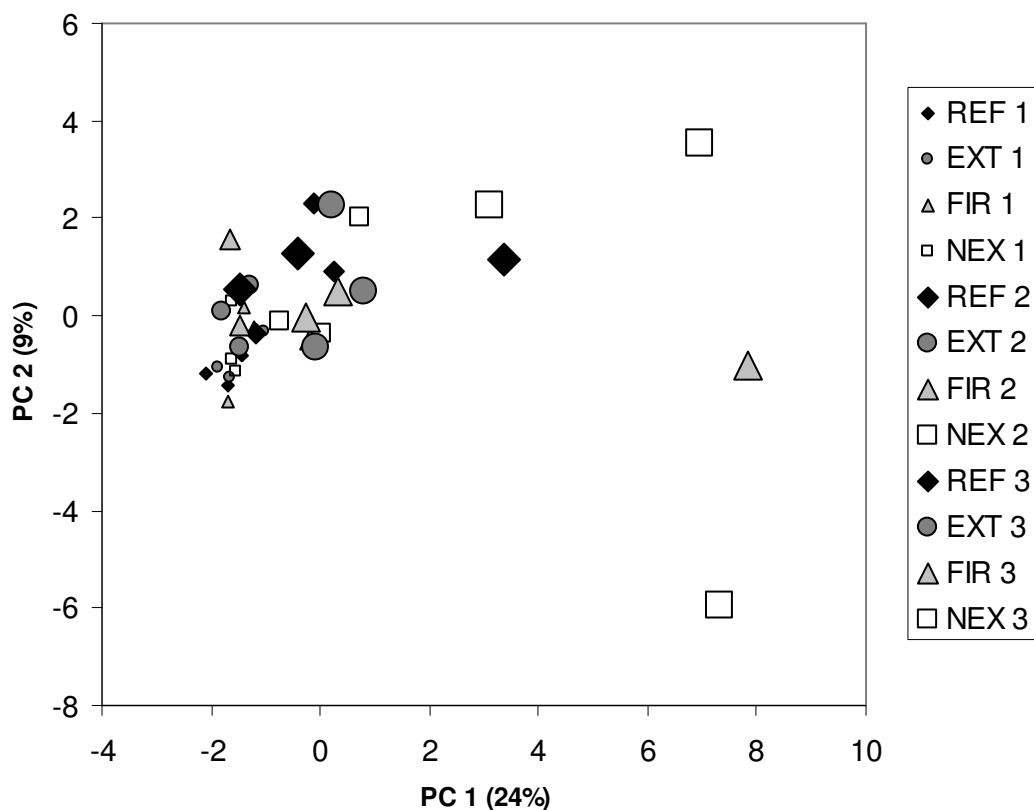
Vlhkosť pôdy (% w/w), respirácia ( $\mu\text{g C-CO}_2\cdot\text{gDW}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ), SIR ( $\mu\text{g C-CO}_2\cdot\text{gDW}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ), Cmik ( $\mu\text{g C}\cdot\text{gDW}^{-1}$ ), Nmin ( $\mu\text{g N-NH}_4^+\cdot\text{gDW}^{-1}\cdot\text{7d}^{-1}$ ), kataláze ( $\text{ml O}_2\cdot\text{gDW}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )

Na základe výsledkov analýzy kovariancie multiplicity a diverzity funkčných skupín môžeme konštatovať, že existujú významné rozdiely medzi jednotlivými termínmi odberu. Najnižšiu multiplicitu funkčných skupín mikroorganizmov a ich diverzitu sme pozorovali v lete 2006, zatiaľ čo na jeseň 2006 a na jar 2007 bolo viac skupín mikroorganizmov aktívnych. Plochy, na ktorých stromy neboli odstránené, sa vo všeobecnosti vyznačovali vyššou diverzitou funkčných skupín ako plochy s odstránenou kalamitnou hmotou (EXT, FIR).

Analýza základných komponentov (obr. 1) poukazuje na fakt, že nebadat' jednoznačnú odozvu pôdnych mikroorganizmov na spôsob obhospodarovania daných plôch. Na strane druhej, zloženie mikrobiálnych spoločenstiev bolo na začiatku výskumu viac-menej rovnaké na všetkých sledovaných plochách. Avšak postupom času dochádza k určitej divergencii, najlepšie pozorovateľnej na neextrahovanej ploche. Určité zmeny, aj keď nie veľmi výrazné pozorovať aj na EXT a FIR ploche. Naopak, v dospelom, kalamitou nepostihnutom poraste (referenčnej ploche), sú zmeny najmenšie.

## Záver

Všetky sledované pôdne charakteristiky sa vyznačovali značnou priestorovou variabilitou, najmä však mikrobiálna biomasa a N-mineralizácia. Vo všeobecnosti, biomasa a aktivita mikroorganizmov boli na kalamitných plochách nižšie ako na ploche referenčnej. Spomedzi kalamitných plôch, sa plocha po požari vyznačovala vyššou mikrobiálnou aktivitou ako ostatné kalamitné plochy. Medzi extrahovanou a neextrahovanou plochou neboli pozorované pri mikrobiálnych charakteristikách významné rozdiely. Plochy, na ktorých padnuté stromy boli odstránené, sa vo všeobecnosti vyznačovali nižšou multiplicitou a diverzitou funkčných skupín mikroorganizmov ako ostatné plochy.



Obr. 1 Analýza základných komponentov na základe abundancie funkčných skupín mikroorganizmov na sledovaných plochách. Veľkosť symbolov zodpovedá jednotlivým termínom odberu (1-leto 2006, 2-jeseň 2006, 3-jar 2007) (GÖMÖRYOVÁ *et al.* 2009).

### Pod'akovanie

Táto práca bola vypracovaná v rámci riešenia grantových úloh APVV 0468-06, APVV 0456-07 a APVV 0022-07.

### Literatúra

- Alef K., 1991: Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie. Aktivitäten, Biomasse, Differenzierung. Ecomed, Landesberg.
- Bååth E., Frostegård Å., Pennanen T., Fritze H., 1995: Microbial community structure and pH responses in relation to soil organic matter quality in wood-ash fertilized, clear-cut or burned coniferous forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 27:229–240.
- Certini G., 2005: Effects of fire on properties of forest soils: a review. *Oecologia*, 143: 1–10.
- Fioletto A., Papa S., Pellgrino A., 2005: Effects of fire on soil respiration, ATP content and enzyme activities in Mediterranean maquis. *Applied Vegetation Science* 8: 13–20.
- Fleischer P., Giorgi S., Miglieta F., Schulze D., Valentini R., 2007: Large-scale forest destruction by November 2004 windstorm in the Tatra Mts – reasons, consequences and ecological research. In: Štrelcová K., Škvarenina J., Blaženec M. (Eds.): *BioClimatology and Natural Hazards Proceedings*, Poľana: 56.
- Fleischer P., Matejka F., (eds.), 2007: Pokalamitný výskum v TANAP-e. Zborník príspevkov. Výskumná stanica TANAP-u, ŠL TANAP-u, Geofyzikálny ústav SAV, CD nosič.

- Garland J.L., 1996: Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbial Ecology* 24: 289–300.
- Gömöryova E., Štřelcová K., Škvarenina J., Bebej J., Gömöry D., 2009: Responses of soil microbial activity and functional diversity to disturbance events in the Tatra National Park (Slovakia). In: Štřelcová K. et al. (eds.) *Bioclimatology and Natural Hazards*. Springer Science, 249–257 (*in press*).
- Hill M.O., 1973: Diversity and evenness: A unifying notation and its consequences. *Ecology* 54: 427–432.
- Islam K.R., Weil R.R., 1998: Microwave irradiation of soil for routine measurements of microbial biomass carbon. *Biology and Fertility of Soils*, 27: 408–416.
- Kandeler E., 1993: Bestimmung der N-Mineralisation im anaeroben Brutversuch.. In: Schinner F., Öhlinger R., Kandeler E., Margesin R.: *Bodenbiologische Arbeitsmethoden*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 160–161.
- Khazijev F.Ch., 1976: Fermentativnaja aktivnost' počv. *Metodičeskoje Posobje*, Moskva.
- Mabuhay J.A., Nakagoshi N., Isagi Y., 2006: Soil microbial biomass, abundance and diversity in a Japanese red pine forest: first year after fire. *Journal of Forest Research*, 11(3): 165–173.
- Papatheodorou E.M., Argyropoulou M.D., Stamou G.P., 2004: The effects of large- and small-scale differences in soil temperature and moisture on bacterial functional diversity and the community of bacterial nematodes. *Applied Soil Ecology*, 25: 37–49.
- SAS (1998): SAS/STAT® User's guide, Release 6.03 Edition. SAS Institute, Cary.