

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Ekologie a ochrana životního prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí



**Věra Müllerová**

Vliv hnojení dusíkem na růst rostlin během primární sukcese  
The effect of N fertilization on plant growth during primary succession

Bakalářská práce

Vedoucí práce: prof. Mgr Ing. Jan Frouz, CSc.

Praha, 2017

Prohlašuji tímto, že jsem zadanou bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením prof. Ing. Mgr. Jana Frouze, CSc. a že jsem v seznamu literatury uvedla veškerou použitou literaturu a další zdroje, které jsem pro tuto práci použila. Tato práce se plně shoduje s verzí uloženou v elektronické podobě do SIS.

V Praze dne 22.5.2017

.....

Podpis

## **Abstrakt**

Dusík jakožto čtvrtý nejzastoupenější prvek v živých organismech a limitující faktor vodního i terestrického ekosystému je stále klíčovým zájmem vědců po celém světě. V současné době se v rozvinutých zemích daří udržovat jeho vstupy v podobě depozic na stejných hodnotách, avšak je tu otázka dlouhodobého působení chronických přídavek dusíku. Cílem práce je porovnat vliv hnojení dlouhodobého a jednorázového na různé druhy rostlin, konkrétně na zástupce trávy a dusík fixující rostlinu, v souvislosti se stářím půd, na kterých vyrůstají. Tuto souvislost budu zkoumat pomocí metody ANOVA v praktickém experimentu na zvolených rostlinách vyrůstajících na různě starých půdách, které byly či nebyly dlouhodobě přihnojovány dusíkem. Jako modelové organismy jsem si vybrala dusík fixující rostlinu štirovník růžkatý (*Lotus corniculatus*) a dusík nefixující rostlinu kostřavu červenou (*Festuca rubra*), která je zároveň zástupce trav. Jednorázové hnojení mělo na všechny rostliny pozitivní efekt v nárůstu nadzemní biomasy. Při dlouhodobém hnojení se vliv lišil podle druhu rostliny. V tomto případě bych doporučila podrobnější testování na širším vzorku rostlin.

## **Abstract**

Nitrogen as the fourth most abundant element of living organisms and the limiting factor of the aquatic and terrestrial ecosystem is still a major problem for scientists around the world. Today, developed countries are able to store their inputs in the form of depositions in the same values, but there is a question of long-term effects of chronic nitrogen add-ons. The aim of the thesis is to compare the effect of long-term and one-time fertilization on various plant species, especially on grass and nitrogen fixation plants in relation to the age of the soil on which they grow. This connection will be investigated by the ANOVA method in a practical experiment on selected plants growing on different old soils that have been or have not been fertilized for long periods with nitrogen. As model organisms, I chose a nitrogen fixing device, *Lotus corniculatus*, and *Festuca rubra* an unstable plant, which is also a representative of the grass. One-off fertilization had a positive effect on the growth of above-ground biomass on all plants. We have a different impact according a type of plant on long-term fertilization. In this case, I recommend more detailed testing of a wider sample of plants.

### **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu své bakalářské práce panu doc. Ing. Mgr. Janu Frouzovi, CSc. za ochotu, trpělivost, odborné vedení a podnětné připomínky. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Haně Šimáčkové za zaškolení a vedení při práci v laboratoři.

<b>1. ÚVOD</b> .....	<b>5</b>
<b>2. DUSÍK A KOLOBĚH DUSÍKU</b> .....	<b>6</b>
2.1 Dusík jako prvek .....	6
2.2 Cyklus dusíku .....	6
2.2.1 Fixace.....	8
2.2.2 Mineralizace N.....	9
<b>3. DUSÍK A RŮST ROSTLIN</b> .....	<b>10</b>
3.1 Příjem rostlinou.....	10
3.1.1 Formy dusíku.....	10
3.1.2 Toxicita $\text{NH}_4^+$ .....	11
3.1.3 Další faktory ovlivňující příjem N .....	12
3.2 Limitace dusíkem .....	12
3.3 Význam dusíku v těle rostlin .....	13
<b>4. DUSÍK A SLOŽENÍ ROSTLINNÝCH SPOLEČENSTEV</b> .....	<b>13</b>
4.1 N limitující prvek, růstové strategie s N .....	13
4.2 Rostlinné společenstvo na gradientu dusíku - produktivita, biomasa, druhová bohatost.....	14
4.3 Antropogenní vstup N do ekosystému a jeho důsledky.....	16
4.3.1 Depozice .....	16
4.4 Kvalita opadu a dekompozice.....	18
<b>5. VÝVOJ PŮD A DUSÍK</b> .....	<b>19</b>
5.1 Primární a sekundární sukcese .....	19
5.2 Faktory ovlivňující změny N během sukcese .....	20
5.2.1 Množství organické hmoty a vyplavování.....	20
5.2.2 Vývoj dostupnosti N ve vztahu k ostatním limitujícím faktorům .....	21
<b>6. SHRNU TÍ</b> .....	<b>22</b>
<b>7. PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>22</b>
7.1 Popis ploch a odběr půd.....	22
7.2 Postup práce a zpracování výsledků .....	23
7.3 Výsledky .....	23
7.4 Diskuze .....	27
7.4.1 Možné limity experimentu.....	28
<b>8. ZÁVĚR</b> .....	<b>28</b>
<b>9. SEZNAM LITERATURY</b> .....	<b>30</b>

# 1. Úvod

Dusík (N) je důležitou složkou bílkovin, které jsou základním kamenem všech živých organismů. Tvoří nukleové kyseliny, které poskytují genetickou informaci, a aminokyseliny, které tvoří proteiny a jsou základní stavební jednotkou těl organismů. Hovoříme proto o prvku esenciálním, jehož množství ovlivňuje kvalitu a vývoj ekosystému. Dusík je limitujícím prvkem ve většině terestrických ekosystémů a hnojení dusíkem je jedním z hlavních intenzifikačních faktorů moderního zemědělství.

Přídavek dusíku je také jedním z významných faktorů používaných k urychlení obnovy vegetace během rekultivace (Štýs, 1981). Zvýšený přísun dusíku do ekosystémů má pozitivní a někdy také negativní dopady i mimo cílené prostředí. Proces, který sledujeme při navýšení stavu dusíku (případně fosforu) oproti dlouhodobému standardu, nazýváme eutrofizace. Ta vede ke změně společenstva, koloběhu látek a dalším souvisejícím projevům. Studium přidávání dusíku do primárně vznikajících ekosystémů nám může pomoci odhalit i předpokládanou reakci eutrofizovaných ekosystémů. Tato znalost může být zásadní v ochraně přírody, neboť se ukazuje, že dlouhodobý přísun i ne příliš velkých dávek dusíku atmosférickou depozicí může vést k výrazné změně ekosystémů.

V této práci se budu zabývat vlivem dlouhodobých i jednorázových přidání dusíku na společenství rostlin. A taktéž zda se bude lišit růst rostlin z hlediska vývoje v průběhu primární sukcese např. složením společenství, druhovou bohatostí, produkcí. Budu postupovat od vysvětlení pohybu dusíku v koloběhu půda - rostlina k jednotlivci, následně ke společenstvu a jeho vývoji v čase.

V praktické části uskutečním a popíši experiment s hnojením různě starých půd, které byly či nebyly dlouhodobě přihnojovány. Jako modelové organismy jsem si vybrala dusík fixující rostlinu štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus*) a dusík nefixující rostlinu kostřavu červenou (*Festuca rubra*), která je zároveň zástupce trav. Experiment bude zaměřen na rozdíl biomasy u rostlin, které jsem k testování zvolila. Hnojení by mělo podpořit růst rostlin. Avšak ve chvíli, kdy už není limitující naopak sledujeme procesy, kterými dusík omezuje přístupnost živin a proto jeho efekt může být negativní. Vliv hnojení by se měl lišit u testovaných rostlin i na základě toho, jestli je rostlina závislá na dusíku v půdě nebo jestli ho získává z atmosféry.

## 2. Dusík a koloběh dusíku

### 2.1 Dusík jako prvek

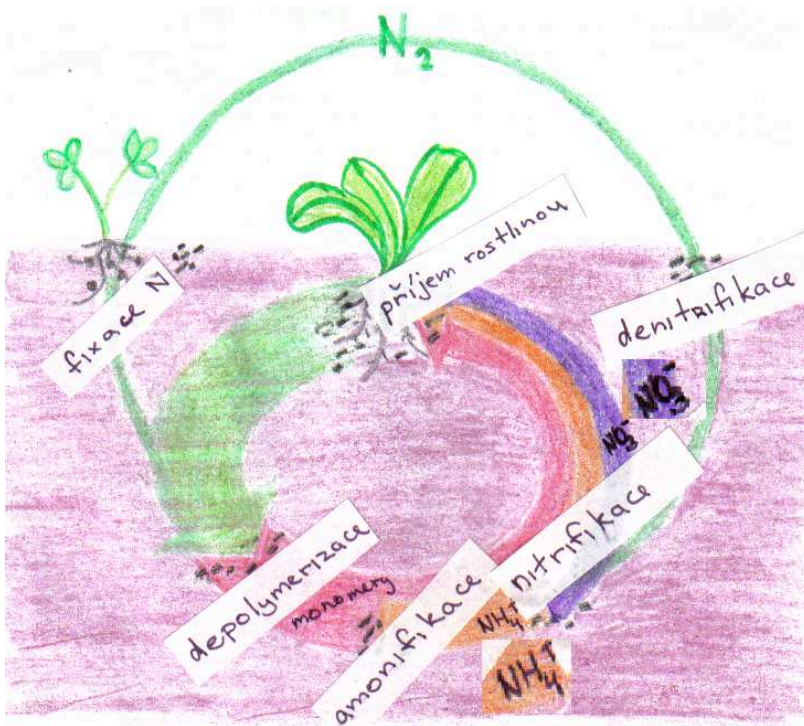
Dusík se vyskytuje ve dvou stabilních izotopech:  $^{15}\text{N}$  a  $^{14}\text{N}$  (Högberg, 1997). Dusík je čtvrtým nejčastějším prvkem v žijících organismech. V neživém prostředí tvoří 0,1% zemské kůry a 80% atmosféry. Podle propočtů Johnson a Goldblatt (2015) množství dusíku dohromady v zemské kůře i plášti (Bulk Silicate Earth)  $7 \pm 4$  krát převažuje nad současným množstvím v atmosféře, kde nacházíme  $4 \times 10^{18}$  kg, a to s hodnotou  $27 \pm 16 \times 10^{18}$  kg. Nejčastěji je vázán ve vyvřelinách, jejichž zvětrávání však poskytuje pouze zanedbatelné množství N (Buchanan et al, 2015).

### 2.2 Cyklus dusíku

Důsledkem toho, že v procesu zvětrávání se uvolňuje zanedbatelné množství dusíku, je, že většina N nacházejícího se v půdě se recykluje z odumřelých organismů a primárně pochází z atmosféry viz obr. 1.

V podstatě se nejedná o jeden cyklus, ale sledujeme dvě smyčky, chceme-li cykly: první, který zahrnuje i pobyt dusíku v atmosféře, a druhý, který probíhá v rámci prostředí půda – rostlina a proudí jím většina dusíku.

Dusík nacházející se v atmosféře v podobě  $\text{N}_2$  vstupuje do prostředí půdy v přirozeném ekosystému procesem fixace, při které se redukuje na  $\text{NH}_3$ . Fixace dusíku



Obrázek 1- cyklus dusíku

v malé míře probíhá v atmosféře za působení elektrických výbojů v objemu  $0,5-30 \times 10^{12}$  g N za rok (Rosswall, 1983, podle Miller a Cramer, 2004). Největší objem však představuje biologická fixace v rozsahu  $45-330 \times 10^{12}$  g N ročně. Biologickou fixaci provádějí prokaryota, zahrnující bakterie, aktinomycey a sinice. Jejím procesem se dusík dostává do živých organismů, ať už samotných fixátorů nebo jejich symbiontů. Při rozpadu těla jsou organické

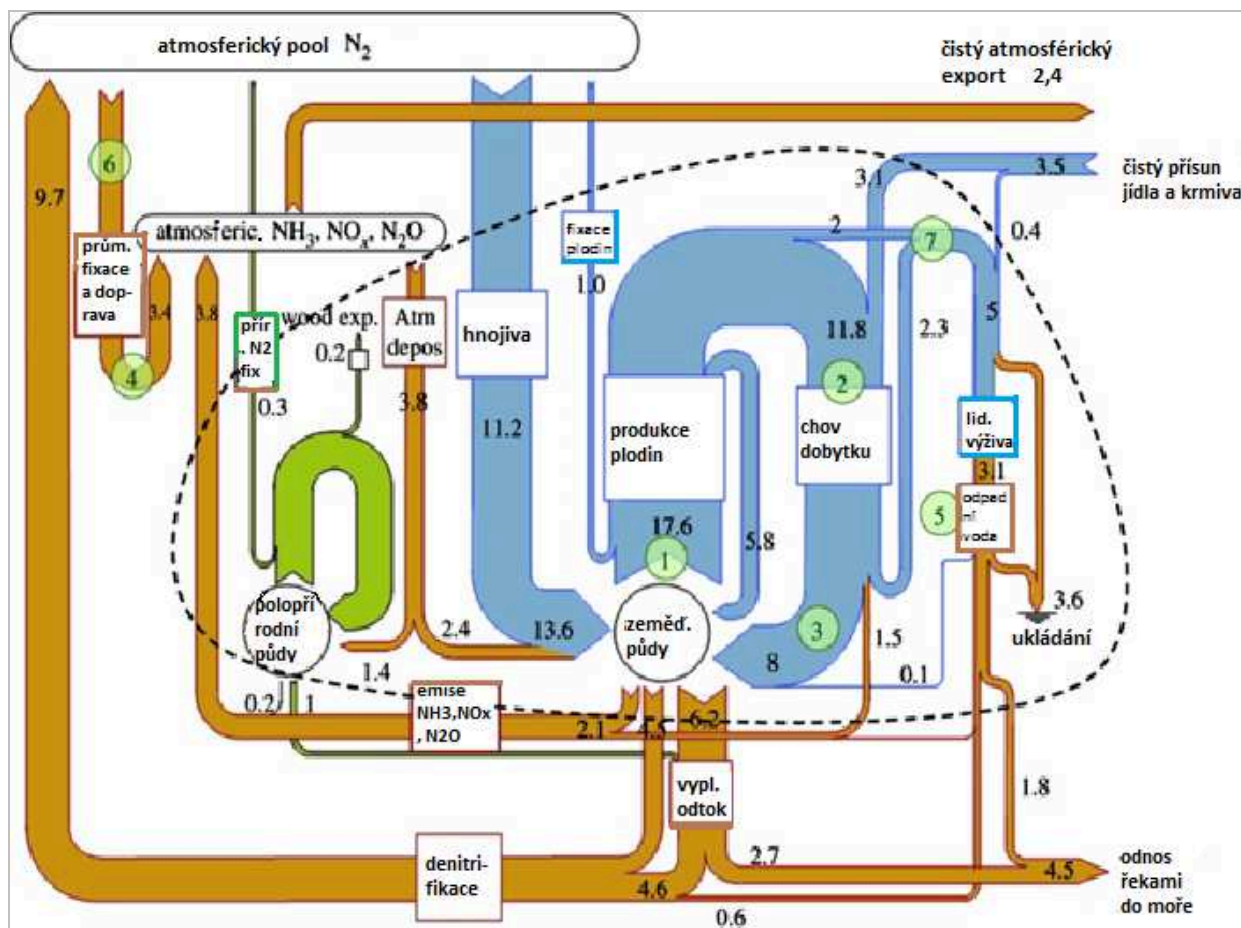
látky, nejčastěji aminokyseliny, deaminovány (depolymerizace a následná amonifikace) na amonné kationy. Ty jsou oxidovány na dusičné ionty přes ionty dusité procesem nitrifikace. (Buchanan et al, 2015)

Zpět do ovzduší se dusík dostává denitrifikací  $\text{NH}_4^+$ . V tomto procesu se dusík stává zdrojem elektronů pro denitrifikační bakterie v anaerobních podmínkách. Denitrifikací je přeměňován na plynné  $\text{N}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  a  $\text{NO}_x$ . Nebo může docházet k volatilizaci, tedy přeměně  $\text{NH}_4^+$  na  $\text{NH}_3$ , který jakožto plyn vytěká. Další ztrátou může být vyplavování nitrátů. (Buchanan et al, 2015)

Rostlina může využít jakožto zdroj dusíku všechny tři frakce v půdě se nacházejícího dusíku (organické látky, amonné ionty, dusičnany) a použít je pro svou stavbu. Při jejím rozkladu nebo rozkladu jejích částí se dostávají organické látky zpět do půdy, kde mohou znovu podlehnout deaminaci, nitrifikaci a stát se opět součástí rostliny. (Buchanan et al, 2015)

Novými vstupy dusíku do tohoto cyklu se v dnešní době stále podstatněji stávají zdroje produkované člověkem - hnojiva, spalování fosilních paliv a následná depozice. (Buchanan et al, 2015) Nárůst těchto vstupů dokazuje zvýšení z 155 na 345 Tg N rok<sup>-1</sup> mezi lety 1900 a 2000. V závislosti na vývoji událostí se předpokládá, že bude další nárůst na 408–510 Tg N rok<sup>-1</sup> do roku 2050. (Bouwman et al., 2013) Vitousek et al. (1997) dospěli k závěru, že lidské aktivity zdvojnásobily míru vstupu dusíku do terestrického cyklu. Jenom průmyslová hnojiva se začala vyrábět s exponenciálním vzrůstem z téměř nuly v roce 1940. Zatímco v roce 2010 se pohybovala spotřeba dusíkatých hnojiv kolem 105 Mt (milionů tun) (Bindraban et al., 2015).

Celosvětový přebytek vstupu N do půd (vstupy mínus odnětí rostlinami) se pohyboval v roce 2000 kolem 202 Tg N rok<sup>-1</sup>, přičemž vzrostl z hodnoty 118 Tg N rok<sup>-1</sup> v roce 1900. A pro další vývoj se počítá se zastavením nebo nárůstem na 275 Tg N rok<sup>-1</sup> do roku 2050. Produkce  $\text{N}_2$  procesem denitrifikace vzrostla z 52 na 96 Tg N rok<sup>-1</sup> mezi lety 1900 a 2000, a emise  $\text{N}_2\text{O}$  z 10 na 12 Tg N rok<sup>-1</sup>. Scénáře předpokládají další nárůst na 142 Tg  $\text{N}_2$  rok<sup>-1</sup> a 16 Tg  $\text{N}_2\text{O}$  rok<sup>-1</sup> do roku 2050. Vyluhování N do řek narostlo mezi lety 1900 a 2000 z 38 na 65 Tg N rok<sup>-1</sup> a předpoklad je hodnota 84 Tg N rok<sup>-1</sup> v roce 2050. Objem N v podzemních vodách vzrostla z 0 v roce 1900 na 10 v roce 2000, ale v roce 2050 by se měla pohybovat okolo 3-7 Tg N rok<sup>-1</sup>. (Bouwman et al., 2013) Celkový koloběh dusíku znázorňuje obrázek 2.



Obrázek 2 - globální cyklus dusíku v rámci EU-27 - přírodní tok zeleně (Tg N), úmyslný antropogenní tok modře a neúmyslný hnědě. Elipsou je ohraničena část probíhající na souši - dle Fowler et al. 2013

## 2.2.1 Fixace

Dusík, který je přístupný rostlinám v přírodních terestrických ekosystémech, je z 80-90 % tvořen dusíkem navázaným biologickou fixací. 80 % z tohoto množství je produkováno v symbiotických vazbách mezi rostlinami a mikroorganismy. (Buchanan et al, 2015)

Pro získání dusíku ze symbiózy musí rostlina vytvořit nody - specifické struktury, kde probíhá fixace. Toto uzpůsobení je nutné z toho důvodu, aby fixace dusíku nebyla ovlivněná přístupem kyslíku, který její průběh narušuje. Dusík fixující organismy proto vytvářejí mechanismy, aby vstupu kyslíku do reakce zabránili, ale i nadále měli jeho dostatek pro respiraci. (Buchanan et al, 2015)

Tvorbu symbiotických struktur ovlivňuje samotná rostlina. Např. leguminózní rostlina vyrůstající v přítomnosti NO<sub>3</sub><sup>-</sup> preferuje zdroj tohoto dusíku a nevytváří symbiotické nody nebo nedovolí invazi endosymbiotických bakterií, jako je Rhizobium. (Buchanan et al, 2015)

Leguminózní stromy v tropech mohou nodulovat jen sezónně nebo v některých pobřežních amazonských oblastech nenodulují vůbec. (Gutschick, 1981)

Kromě specifického prostředí zajišťují rostliny mikroorganismům také uhlíkaté sloučeniny, za něž výměnou dostávají sloučeniny dusíkaté. Při přepočtu poskytují 12-17 g uhlovodíků na 1g dusíku. (Buchanan et al, 2015)

### **Dusík fixující organismy vstupující do symbiózy s rostlinami**

Nacházíme tři hlavní skupiny dusíku fixujících prokaryot, které vstupují do symbiózy s rostlinami. První skupinou jsou zástupci cyanobakterií, z nichž jako příklad můžeme uvést rod *Anabaena*. Cyanobakterie interagují např. s cykasorosty, kaprad'orosty, játrovkami, mechy a jediným angiospermním druhem *Gunnera*. (Buchanan et al, 2015) V příznivých podmínkách fixace je dle Procházky et al. (1998) takto navázáno 60-90 kg ha<sup>-1</sup> rok<sup>-1</sup> dusíku.

Druhou skupinou jsou zástupci grampozitivních aktinomycet rodu *Frankia*, které jsou v symbióze s 20 druhy v osmi a více rodinách z větve Rosidů I, které řadíme pod dvouděložné rostliny. (Buchanan et al, 2015)

Třetí skupinou jsou gramnegativní bakterie rhizobia, které infikují řadu leguminózních rostlin (Fabaceae) a jedinou známou výjimku rod *Parasponia* (Ulmaceae) (Buchanan et al, 2015). Dle Procházky et al. (1998) je touto fixací navázáno 10 až několik set kg/ha za rok (louky).

### **2.2.2 Mineralizace N**

Mineralizace dusíku zahrnuje procesy amonifikace a nitrifikace. Tyto dva procesy probíhají za různých optimálních teplot. (Procházka, 1998) Mineralizace je dále závislá na místním půdním mikroklima, jehož vlastnosti zahrnují množství půdní vláhy, pH, obsah kyslíku a množství a druh organické hmoty (Burke, 1989).

Při procesu amonifikace je organicky vázaný dusík transformován na NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ionty. Na amonifikaci se podílejí aerobní bakterie, anaerobní bakterie, houby a aktinomycety. Za přístupu vzduchu se v první řadě uplatňují organismy nenáročné na množství dusíku, jako je rod *Pseudomonas*. Když se poměr uhlíku a dusíku sníží, přidávají se k procesu rod *Bacillus*, aktinomycety a houby. Při nepřístupu vzduchu je nejzastoupenější rod *Bacillus* konkrétně anaerobní *Baccillus sporogenes*. (Marediak, et al., 1987, podle Mrázová, 2007)

Nitrifikace probíhá jako mikrobiální oxidace amonných iontů na nitrit a nitrát. (Vitousek a Robertson, 1981) Na tomto procesu se podílejí aerobní bakterie ze skupiny Nitrobacteraceae, které skrze něj získávají energii. (Marediak, et al., 1987, podle Mrázová, 2007)

### 3. Dusík a růst rostlin

#### 3.1 Příjem rostlinou

##### 3.1.1 Formy dusíku

Dusík přítomný ve většině půd je z větší části ve formách, které jsou rostlinám nepřístupné (Högberg, 1997).

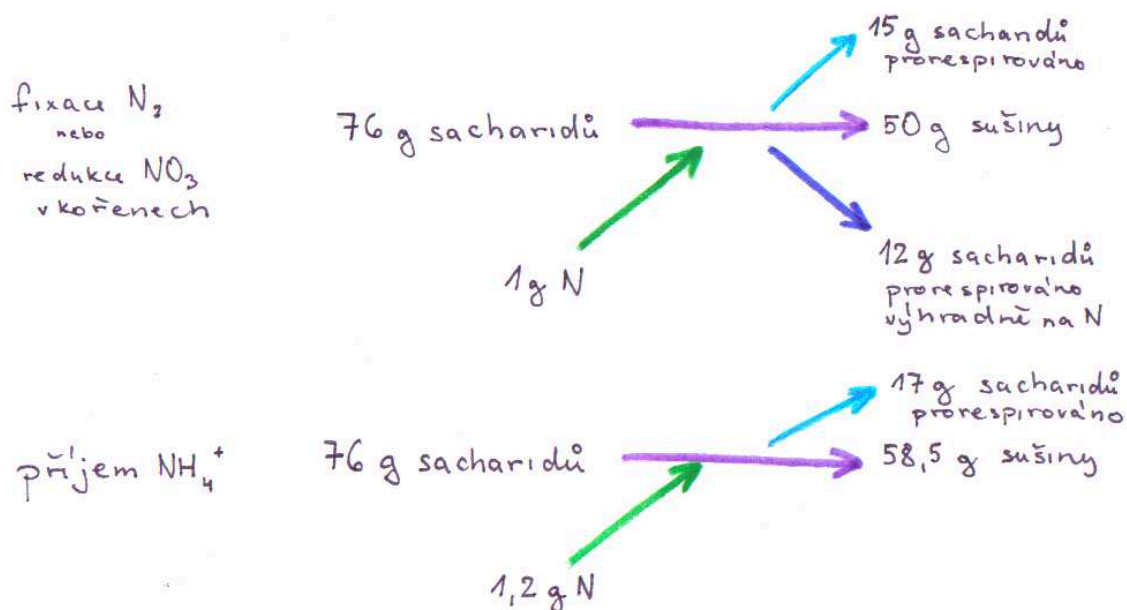
Rostlina přijímá N v podobě  $\text{NH}_4^+$  nebo  $\text{NO}_3^-$ , který dále redukuje na  $\text{NH}_4^+$ .  $\text{NH}_4^+$  je pak možné využít k zabudování do organických látek. Kromě anorganických forem přijímá N i v podobě organických látek, což je pro rostlinu výhodné v tom, že energie potřebná na transformaci do nových organických struktur není tak velká. (Gärdenäs et al., 2011)

Každá z těchto forem difunduje půdou různě rychle a to  $\text{NO}_3^-$  řádově jednou tak rychleji než  $\text{NH}_4^+$  a jednou až dvakrát rychleji než organické látky. (Gärdenäs et al., 2011)

Už relativně malé hodnoty  $\text{NH}_4^+$  mohou inhibovat příjem  $\text{NO}_3^-$ . (Gärdenäs et al., 2011)

Näsholm et al. (2009) zjistili, že všechny rostliny jsou schopné přijímat nějaké množství organických látek jako aminokyseliny, aminocukry a nízkomolekulární peptidy. V případě výběru mezi organickými či anorganickými formami se zdá, že přijímají zároveň obě formy. Vliv hraje nejspíš klima a hydrologické podmínky, protože organické látky jsou důležitější v chladných a mokřích prostředích než v teplých a suchých. (Gärdenäs et al., 2011) Näsholm et al. (2009) poukazují na to, že přestože je prokázán příjem organických látek, nepodařilo se jasně prokázat množství přijímaných látek a tedy jasně určit, zda bychom měli tento zdroj dusíku v širším měřítku zohledňovat.

Příjem  $\text{NO}_3^-$  oproti  $\text{NH}_4^+$  může být mnohonásobně energeticky náročnější (množství uhlíku potřebného na získání jedné molekuly). Konkrétně pro ječmen to bylo o více jak 60%. Ztráty energie graficky znázorňuje obrázek 3. Na druhou stranu u mnoha rostlin dochází k redukci a asimilaci  $\text{NO}_3^-$  ve stonku, kde je možné využít lokální přebytečnou energii. (Gärdenäs et al., 2011)



Obrázek 3 - znázornění výsledného zisku sušiny v závislosti na zdroji dusíku. Respirace je započítána výhradně na metabolismus dusíku a v obou případech zahrnuje 30% z výsledné sušiny - dle Gutschick 1981

Obsah jednotlivých forem dusíku v půdě se může značně lišit. Půdy lesů mírného pásma a tajgy (boreální les) vykazují v půdním výluhu organického horizontu<sup>1</sup> koncentraci NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 0,4 to 4 mmol/L, s průměrnou hodnotou 2 mmol/L. Což je rozdíl oproti zemědělským půdám, kde jsou vyšší koncentrace NH<sub>4</sub><sup>+</sup> pohybující se v rozmezí 2-20 mmol/L (Wolt 1994, podle Britto a Kronzucker, 2002) nebo také 20-200 μmol/L in dle Owen a Jones (2001, podle Miller a Cramer, 2004). Obsahy NO<sub>3</sub><sup>-</sup> v zemědělských půdách se pohybují mezi 1-5 mmol/L a koncentrace organických látek v rozsahu 1-100 μmol/L (Owen a Jones, 2001, podle Miller a Cramer, 2004)

Zdroj dusíku mohou zprostředkovat i symbiotické organismy, jak bylo popsáno v odstavci 2.2.1 Fixace výše. U nodulujících olší byl prokázán menší rozvoj kořenů oproti nenodulujícím rostlinám (nefixujícím dusík). Je to dáno tím, že dusík ve formě N<sub>2</sub>, kterou využívají fixátoři, půdou difunduje ještě rychleji než nitrát. (Binkley, 1986)

### 3.1.2 Toxicita NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

NH<sub>4</sub><sup>+</sup> působí toxicky na vyšší organismy a to nejen na živočichy a člověka, kde dochází k nervovým poruchám a poruchám insulinu, ale i na samotné rostliny. Příznaky toxicity NH<sub>4</sub><sup>+</sup> jsou široké. Patří sem zpomalení růstu a chloróza, což je fyziologický projev špatného stavu

<sup>1</sup> Nejsvrchnější vrstva organické půdy obsahující značné množství organických látek. Organické půdy vznikají z rostlinných zbytků, čímž se liší od půd minerálních. (Sprecher, 2001) „Které se formují především z hornin a materiálu přeneseného vodou, větrem, sesuvem nebo ledem“ (Sprecher, 2001).

rostliny projevující se blednutím listů. Pozorujeme je nejčastěji od koncentrací 0,1 až 0,5 mmol/L. (Britto a Kronzucker, 2002) V případě, že se nachází v prostředí příliš mnoho  $\text{NH}_4^+$ , ukládá ho rostlina do vakuol, aby tak zabránila jeho působení v buňkách (Buchanan et al, 2015).  $\text{NH}_4^+$  vzniká i redukcí dusičnanů a rostlina potřebuje vzniklé ionty co nejrychleji zpracovat, aby nedocházelo k narušení buňky. K redukcí dochází jak v kořenech tak stonku, kde se nacházejí i zásoby dusičnanů. (Buchanan et al, 2015)

### **3.1.3 Další faktory ovlivňující příjem N**

Kromě problematiky příjmu  $\text{NH}_4^+$  se rostlina též vypořádává s teplotou. Při vyšších teplotách přijímá více N. (S.A. Boczulak, B.J. Hawkins1 a R. Roy, 2014)

Další faktor ovlivňující příjem dusíku je kompetice o dusík s mikroorganismy. Tato skutečnost se týká dusíku organického i anorganického. V porovnání s mikroorganismy se zdá, že jsou kompetitivně slabší (Näsholm, Kiella, a Ganeteg, 2009). Většinou se uvádí, že do poměru 25/1 C:N je anorganický dusík pro rostliny imobilní, jelikož ho v první řadě odebírají mikroorganismy (Vitousek a Howarth, 1991).

## **3.2 Limitace dusíkem**

Dusík spolu s draslíkem představuje nejvíce zastoupenou popelovinu v tkáních rostlin. Přitom obsah dusíku v půdách je mnohem menší než v rostlinách. Získání dostatečného množství dusíku je tedy energeticky nákladné, rostliny musí buď budovat rozsáhlou síť kořenů (což stojí energii), nebo investovat značnou část asimilátů do podpory mykorhizních hub, které dusík opatřují z půdy, nebo investují asimiláty do bakteriálních symbiontů, které dusík fixují (Vitousek a Howarth, 1991). Část dusíku je využita přímo na uchování energie z fotosyntézy (Vitousek a Howarth, 1991). Redukce dusíku je spojená s Hillovou reakcí, tedy fotolýzou vody, při fotosyntéze (Britto a Kronzucker, 2002). Domnívám se, že to je ten důvod, proč množství dusíku vysoce koreluje s fotosyntetickou kapacitou terestrických rostlin (Vitousek a Howarth, 1991).

Důležitost dusíku jakožto limitujícího faktoru můžeme pozorovat na posunu poměru kořeny/nadzemní část rostliny ve prospěch nadzemní části po přidání dusíku (Li et al., 2015). Hlavním důvodem je, že rostlina přestává být limitovaná dusíkem a preferuje rozvoj kompetiční výhody pro příjem světla. (Procházka et al., 1998)

### 3.3 Význam dusíku v těle rostlin

Dusík se v těle rostlin využije na syntézu aminokyselin, nukleových kyselin, kofaktorů a jiných známých metabolitů. Je hlavní součástí chlorofylu, což se v případě jeho nedostatku projevuje chlorózou, kterou zaznamenáme blednutím listů. Několik rostlinných hormonů přímo obsahuje N nebo vznikají z dusíkatých prekurzorů. Mnoho sekundárních metabolitů patří též do dusíkatých sloučenin, do nichž patří např. alkaloidy. Flavonoidy<sup>2</sup>, přestože neobsahují N, jsou syntetizovány z fenylalaninu, což značí, že jejich syntéza je spojená s metabolismem aminokyselin. Vznik výše jmenovaných sloučenin je vázán na kondenzaci amonných iontů a glutamátu na formu glutaminu. Tuto reakci katalyzuje glutaminsynthetáza, kterou nacházíme u všech rostlin. (Buchanan et al., 2015)

## 4. Dusík a složení rostlinných společenstev

### 4.1 N limitující prvek, růstové strategie s N

Pro nakládání rostlin s dusíkem je zásadní, jsou-li z velké míry na dusíku nezávislé, což jsou rostliny fixující dusík, nebo závislé, mezi něž patří ostatní druhy. Nefixující rostliny nacházíme v celém rozmezí hospodárnosti nakládání s dusíkem. Druhy, které preferují konzervativní nakládání s dusíkem, jejichž optimální prostředí dlouhodobě zpřístupňuje jen malé množství dusíku, na jedné straně až k druhům nitrofilním, které jsou přizpůsobené prostředí v vysokém obsahu živin (Gilliam et al., 2016)

Leguminózní rostliny vyskytující se v oblastech mírného pásu jsou většinou bylinné a krátce žijící. Na nedisturbovaných loukách je nacházíme méně často. Leguminózní stromy jako např. akát, tvoří součást typického klimaxového lesa. Obecně rostliny, které tvoří symbiózu s aktinomycetami, jsou pionýrské druhy a během vývoje do stádia klimaxu mizí. (Gutschick, 1981)

Jelikož jsou dusík fixující rostliny na množství dusíku v prostředí méně závislé z důvodu příjmu ze symbiotických spojení z mikroorganismy (viz odstavec 2.1 Fixace), jsou naopak závislejší na množství fosforu v prostředí a na množství světla. (Vitousek a Field, 1999)

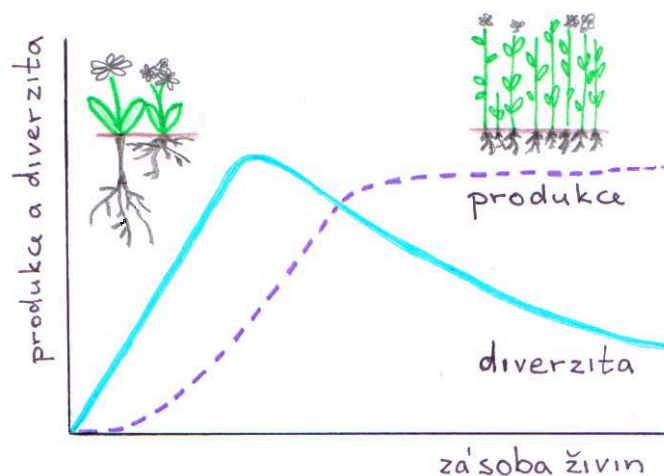
---

<sup>2</sup> sekundární metabolity, rostlinná barviva fenolického složení (Winkel-Shirley, 2001)

## 4.2 Rostlinné společenstvo na gradientu dusíku - produktivita, biomasa, druhová bohatost

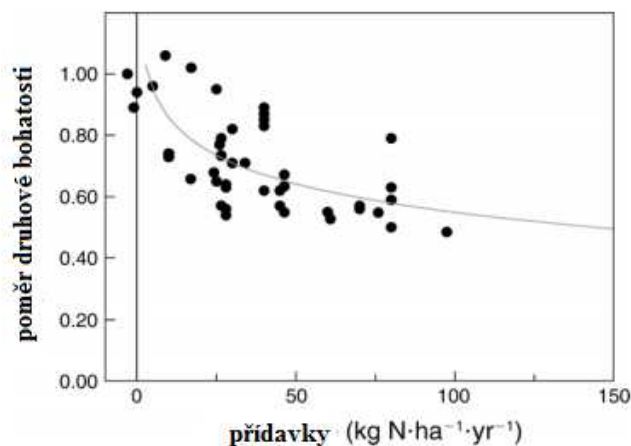
Už na výše zmíněných typech rostlin a jejich vztahu k dusíku si dovoluji usuzovat, že lokální zastoupení tohoto prvku má vliv na složení společenstva. Dusík fixující rostliny jsou oproti nefixujícím kompetičně zdatnější ve vysoce osvětleném prostředí s nízkým obsahem dusíku (Vitousek a Howarth, 1991), zatímco obecně je považujeme za slabé kompetitory. Je to dáno vysokou cenou za získávaný dusík. Jako výjimku můžeme uvést rostlinu kudzu (*Pueraria lobata*) a několik tropických leguminózních dřevin, které jsou schopné dobře konkurovat ostatním druhům. (Gutschick, 1981)

Dusík hraje nezastupitelnou roli, jelikož je primární limitující živina růstu rostlin mnoha přírodních a polopřírodních ekosystémů a to především oligotrofních a mezotrofních habitatů. K prostředí chudému na živiny je uzpůsobená většina rostlinných druhů a tyto druhy jsou kompetičně úspěšné jedině za nízkého obsahu N (Aerts a Chapin, 1999). Dodání dusíku proto vede ke změně druhového složení. V případě, že nezaznamenáme změnu v druhovém složení Phoenix et al. (2012) soudí, že se může jednat o limitaci N souběžně s jinými prvky.



Obrázek 4 – závislost produkce a diverzity na zásobách živin - dle Frouz a Moldan, 2015

S přidáváním dusíku pozorujeme, že se mění i produkce ekosystému viz obrázek 4, a kromě druhového složení bývá zasažena i druhová bohatost, viz obrázek 5. Vliv přídavku dusíku na druhovou bohatost je zprostředkován čistou primární produkcí (NPP), výslednou kompeticí o světlo (Borer et al., 2014) a náhodnými ztrátami vzácnějších druhů (Yang et al., 2015). A to z toho důvodu, že specializované druhy si vytvořily unikátní strategii pro přežití, která často souvisí se získáváním dusíku. V souvislosti s NPP je potřeba poznamenat, že povětšinou nacházíme inverzní korelaci mezi NPP a poměrem uhlík : dusík (Vitousek a Howarth, 1991).



Obrázek 5 – evropské experimenty s přidavky na suchých a mokřých loukách, mokřadech, subarktických alpských vegetacích a lesích mírného pásu ( $n = 44$  experimentů, přidavky během dvou a více let, lesy více než 4 roky,  $< 100 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ rok}^{-1}$ ) - dle Bobbink 2004

Metaanalýza programu ve Velké Británii sledující přidavky N s názvem UKREATE vyhodnotila pro šest z devíti ploch vyšší produktivitu. Všechny vřesoviště a bažiny vykazovaly vyšší produktivitu a to od přidavku  $7,7\text{--}10 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ rok}^{-1}$ . Taková hodnota depozice je typická pro neznečištěné regiony Evropy jako např. oblast centrálního Skotska nebo jižního Finska. (Phoenix et al., 2012)

V metaanalýze de Schrijver et al. (2011) biomasa luk a slanisek (salt marshes) signifikantně vzrostla s hnojením N, ale lesní přízemní vegetace, vřesoviště, sladkovodní mokřady a bažiny nevykazovaly signifikantní odpověď. Po přidání N vzrostla biomasa travin, mechorosty naopak ve smyslu množství biomasy signifikantně ubyly. Žádná signifikantní odpověď nebyla zaznamenána u keřů, bylinných druhů a lišejníků. Roční pravidelné hnojení signifikantně ovlivnilo biomasy luk a slanisek. Pro ostatní typy porostů nebylo dle zkoumaných ukazatelů prokázáno ovlivnění. Co se týče druhové bohatosti zkoumané de Schrijver et al. (2011), prokazatelně klesla pouze u luk a vřesovišť. Pokles v druhové bohatosti s kumulativním vstupem dusíku probíhal po negativní exponenciální křivce. Mizení druhů se nejvíce projevovalo při nižších dávkách vstupu dusíku nebo na začátku přidávání a pokračovalo pomalejšími ztrátami.

Veškeré zmiňované projevy dodání N na společenstvo potvrdili i experimenty (Verma et al., 2014), kdy po přidavcích dusíku (ve formě močoviny) došlo ke vzniku unikátního druhového složení. Největší průměrné počty druhů byly při mírném přihnojení ( $60 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ rok}^{-1}$ ). Diverzita rostlin klesla s vyšší mírou přihnojení ( $120 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ rok}^{-1}$ ),

kde došlo k nárůstu biomasy. Podle funkčních uzpůsobení (traits) můžeme hovořit o podpoření hnojením vysokých rostlin, jednoletých, vzpřímených, dusík nefixujících, trav (vs. keřů, bylin).

Clark et al. (2007) vyjadřují souvislost se ztrátami druhové bohatosti s výraznějším dopadem v oblastech s nižší půdní výměnnou kapacitou, chladnější místní teplotou a vyšší produkcí související s počáteční druhovou bohatostí, rostlinou produktivitou a relativním výskytem většiny funkční rostlinných skupin. Výše zmiňované ukazují na to, že citlivost k přidání dusíku je spoluutvářena přírodními podmínkami a reakcí produkce.

Soons et al. (2016) se zabývali vlivem interakce přidávání dusíku i fosforu. Po přidání N se v bylinných terestrických a mokřadních ekosystémech snížila druhová bohatost a dělo se tak i když se přidává kromě N také P. Rozdíl však nacházíme u produktivity, kde po přidání N i P nedošlo k žádné změně.

Dusík nemusí mít jen přímý dopad na danou generaci rostlin. S hnojením dusíkem se totiž ovlivňuje u většiny rostlin i přežívání do dospělosti. Na hnojených plochách nacházíme zvýšené množství přeživších než na nehnojených, a to i u rostlin časně sukcesních druhů, které vyrůstají za normálních podmínek v živinově chudém prostředí. K ovlivnění budoucích generací dochází skrze semennou banku. (Plassmann et al., 2008)

### **4.3 Antropogenní vstup N do ekosystému a jeho důsledky**

Aktuálním problémem je navýšení vstupů do cyklu dusíku. V přírodních ekosystémech se jedná o podobu depozic, se kterými souvisí procesy eutrofizace a acidifikace. Procesem eutrofizace rozumíme navýšení živin (především dusíku a fosforu) oproti dlouhodobému normálu. Acidifikace vzniká zvýšenou pohyblivostí nitrátu po dodání N. Ztráty nitrátu z půdy vedou dále ke ztrátě kationtů a zvyšují tak kyselost půdy a vody (Vitousek et al., 1997).

Kromě působení depozic přichází do popředí i problematika invazních N-fixujících rostlin, kde pozorujeme stejné související projevy. Areály hojně rozšiřují např. *Alnus*, *Hippophaë*, *Mroklca* a *Lupinus*, které byly introdukovány člověkem (Hiltbrunner et al., 2014).

#### **4.3.1 Depozice**

Atmosférickou depozici rozlišujeme na suchou a mokrou. Při suché se plyny a částice přemísťují z atmosféry turbulencí nebo difuzí, aniž by reagovaly se srážkami. Suchá depozice se vyskytuje, když turbulence či sedimentace přesune plyny či částice k laminární vrstvě přiléhající k plochám

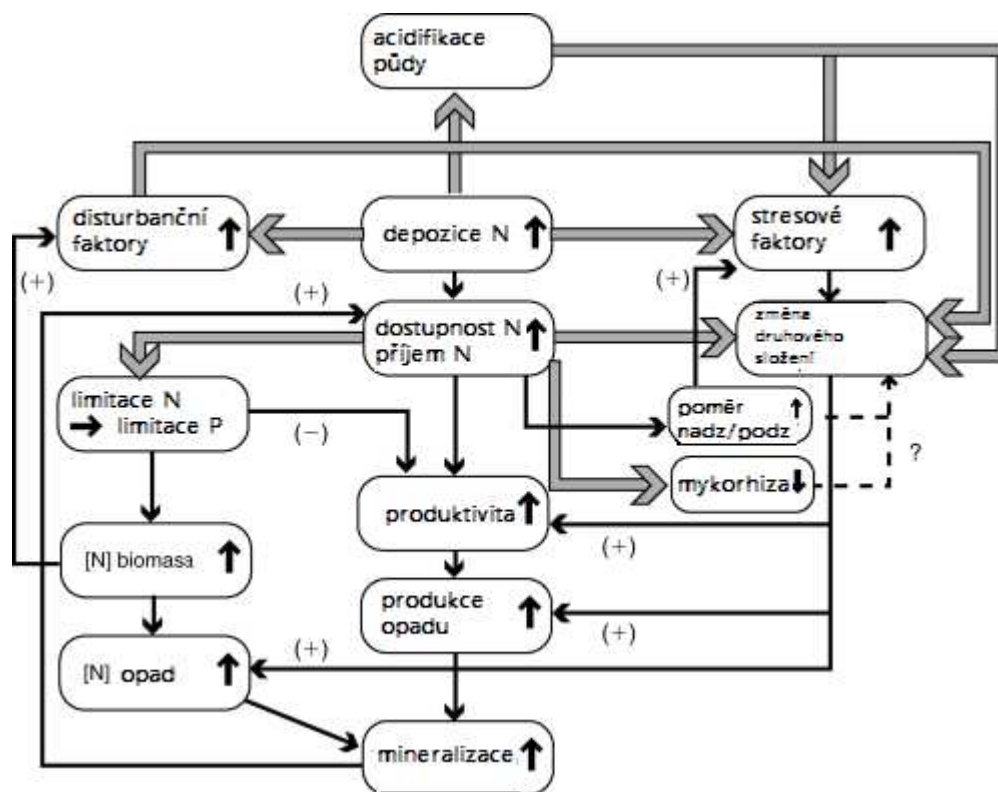
objektů. Během chemického nebo fyzikálního zachytávání povrchem jsou plyny a částice přemístěny skrze vrstvu konvekce, difuze, nebo vnitřními procesy. Mokrou depozicí jsou plynné a aerosolové částice odstraněny z ovzduší deštěm či sněhem během vypršení (tvorba srážek na jádrech polutantů) a vymytí (reakce částic s již existujícími srážkami). Srážky zahrnují veškeré formy - déšť, sníh, mlhu, oblačnost či jinovatku. Rozpuštěné ionty ze srážek mohou být přijímány přímo listy nebo nepřímo skrze kořeny z půdy. Velká část ze srážek a srážek spadlých z vegetace (throughfall) může být v půdě imobilizována mikroorganismy, a tedy z tohoto zdroje nepřechází do rostlin veškerý dusík. (Bytnerowicz a Fenn, 1996)

Při depozici dusíku padá N na rostliny v podobě kyseliny dusičné ( $\text{HNO}_3$ ), částic nitrátu ( $\text{NO}_3^-$ ) a amonných iontů ( $\text{NH}_4^+$ ). Dále i v podobě plynných částic: oxidu dusičitého, oxidu dusnatého,  $\text{HNO}_3$ , peroxyacetylnitrátů (PAN), amoniaku ( $\text{NH}_3$ ) a jiných. V blízkosti zdrojů fotochemického smogu převládají oxidované formy N ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{HNO}_3$ , PAN), v oblastech blízkých zemědělským aktivitám se zvyšuje důležitost redukovaných forem N ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{NH}_4^+$ ) (Bytnerowicz a Fenn, 1996).

V roce 1860 bylo celosvětově dle výpočtů vypuštěno a následně depozicí uloženo  $34 \text{ Tg N rok}^{-1}$ . V roce 1995 už se toto číslo zvýšilo na  $100 \text{ Tg N rok}^{-1}$  a dále (Galloway a Cowling, 2002) přepokládá zvýšení depozice na  $200 \text{ Tg N rok}^{-1}$  do roku 2050.

Vysokou depozici N nacházíme v oblastech střední a západní Evropy, východních Spojených státech amerických, východní Asii (od 90. let) (Galloway a Cowling, 2002)

Při depozici dusíku dochází ke změně bylinného společenstva a to především na základě zvýšené kompetice rostlin s rychlejším a větším vzrůstem, které zastíní rostliny s konzervativní strategií, a to na úrovni druhové kompetice i mezidruhové, kde jsou podpořeny nitrofilní druhy. Přízemní společenstvo se mění rychle, ve stromovém patře zaznamenáváme především fyziologickou odpověď (např. změny ve tkáních, alokaci), dále nárůst množství dusíku v listech a složení v jakém ho zde pozorujeme. Mění se složení i jiných živin jako např. bazických kationtů. Celkové dopady ilustruje obrázek 6. (Bobbink et al., 2010)



Obrázek 6 - vliv depozice N - dle Bobbink et al. 2010

#### 4.4 Kvalita opadu a dekompozice

Rostlinné zbytky jsou významným zdrojem živin pro růst nových rostlin či rozvoj stávajících. Opadu však předchází proces senescence<sup>3</sup>, při kterém dochází k znovuvyužití poloviny množství dusíku a fosforu a jen malého množství uhlíku z listů. V případě kořenů a stonků ještě méně. Tudíž vlastnosti živých rostlin korespondují s vlastnostmi opadu. Jelikož kvalita opadu je dána parametry živých listů, tak ve chvíli, kdy máme kvalitně zásobené listy, získáváme i kvalitní opad. Proto rostliny z produktivních společenstev (např. byliny, opadavé rostliny) mají rychleji se rozkládající opad než ty z méně produktivních společenstev (např. jehličnany). (Vitousek a Howarth, 1991)

Vlastnosti rostlinných tkání, které se výrazně podílejí na dekompozici jsou obsahy špatně rozložitelných částí, jako je např. lignin, množství N a poměr C/N (Li et al., 2010). Čím je v opadu více dusíku, tím je ho více mineralizováno. Jelikož jsou bakterie limitovány pro svůj růst poměrem uhlík dusík 25:1, záleží i na přístupnosti uhlíku. Kde je opad tvořen vyšším procentem labilnějších uhlíkatých látek než např. ligninem, je mineralizován rychleji. (Vitousek a Howarth, 1991) Příliš velký přírůstek N (změny pozorovány při 80 kg ha<sup>-1</sup> rok<sup>-1</sup> oproti 40 kg) způsobuje

<sup>3</sup> Aktivní proces vedoucí k programované buněčné smrti, který je završením vývoje listu (Gan a Amasino, 1995).

znásobení opadu, který obsahuje špatně přístupný C – např. ve sklerofylizovaných tkáních - a jehož koncentrace N způsobují nižší poměr C/N a poměr lignin/N (Dias et al., 2013).

Ovlivnění dekompozice opadu celkově ovlivňuje dynamiku organické hmoty a v návaznosti na to dostupnost živin a růst rostlin (Li et al., 2010). V případě přídatků dusíku se tedy jedná nejprve o urychlení dekompozice ale při vyšších dávkách o její zpomalení.

## 5. Vývoj půd a dusík

### 5.1 Primární a sekundární sukcese

Procesem sukcese rozumíme vývoj ekosystému od obsazení holého podloží / disturbance k stabilnímu společenstvu. Rozlišujeme sukcese primární a sekundární - primární probíhá od úplného počátku, kdy se vytváří substrát vhodný pro růst vyšších rostlin, zatímco v sekundární sukcese probíhá děj od méně rozsáhlé disturbance. Najdeme zde již vyvinutý substrát, který může obsahovat již značné množství dusíku. (Rastetter et al., 2001) Jako příklad uvádím data Robertson a Vitousek (1981):

Tabulka 1 - charakteristické vlastnosti půd, A - primární sukcese, B - sekundární sukcese - dle Robertson a Vitousek 1981

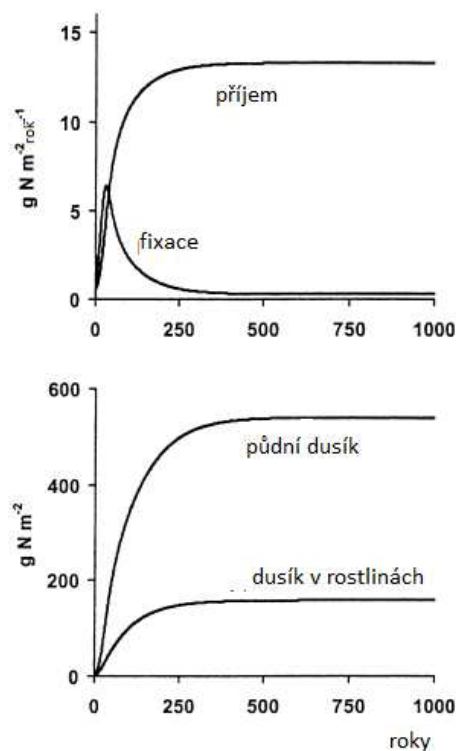
	kg/ha									
	NO <sub>3</sub> -N	NH <sub>4</sub> -N	PO <sub>4</sub> -P	Ca	K	Mg	pH	% organic C	% celkový N	C:N
<b>A. primární s.</b>										
písek	0.01 (0) <sup>a</sup>	1.12 (0.08) <sup>a</sup>	2.85 <sup>a</sup>	287 (4) <sup>a</sup>	45.4 (12.1) <sup>a</sup>	67.1 (0.5) <sup>a</sup>	8.1 (0.1) <sup>a</sup>	0.06 (0.006) <sup>a</sup>	0.002 (0.0005) <sup>a</sup>	31.8 (10.5)
tráva	0.01 (0) <sup>a</sup>	0.57 (0.08) <sup>b</sup>	3.10 <sup>a</sup>	323 (10) <sup>ab</sup>	64.1 (11.3) <sup>b</sup>	69.1 (1.5) <sup>a</sup>	7.8 (0.1) <sup>a</sup>	0.13 (0.01) <sup>b</sup>	0.008 (0.0006) <sup>b</sup>	29.4 (6.7)
tráva + keře	0.07 (0.04) <sup>b</sup>	0.97 (0.17) <sup>a</sup>	2.52 <sup>a</sup>	403 (16) <sup>bc</sup>	34.0 (6.6) <sup>a</sup>	71.6 (5.3) <sup>a</sup>	7.7 (0.2) <sup>a</sup>	0.17 (0.006) <sup>c</sup>	0.005 (0.002) <sup>b</sup>	21.0 (1.3)
borovice	0.01 (0) <sup>a</sup>	2.09 (0.35) <sup>c</sup>	2.76 <sup>a</sup>	571 (80) <sup>c</sup>	77.4 (12.1) <sup>bc</sup>	95.4 (3.3) <sup>b</sup>	6.5 (0.1) <sup>b</sup>	0.77 (0.15) <sup>d</sup>	0.041 (0.001) <sup>c</sup>	18.6 (3.8)
dub (1)	0.04 (0.03) <sup>ab</sup>	4.78 (1.43) <sup>d</sup>	31.5 <sup>b</sup>	629 (126) <sup>c</sup>	88.4 (21.1) <sup>c</sup>	124.0 (5.7) <sup>c</sup>	5.9 (0.4) <sup>c</sup>	1.55 (0.15) <sup>e</sup>	0.112 (0.023) <sup>d</sup>	14.8 (2.5)
dub (2)	0.11 (0.04) <sup>c</sup>	3.26 (0.34) <sup>d</sup>	14.0 <sup>c</sup>	208 (10) <sup>d</sup>	94.6 (5.5) <sup>c</sup>	31.5 (1.0) <sup>d</sup>	4.2 (0.1) <sup>d</sup>	2.03 (0.19) <sup>f</sup>	0.110 (0.023) <sup>d</sup>	11.8 (5.1)
<b>B. sekundární s.</b>										
jednoleté r.	2.24 (0.17) <sup>a</sup>	2.61 (0.53) <sup>a</sup>	95.0 <sup>a</sup>	966 (26) <sup>a</sup>	225 (15) <sup>a</sup>	126.4 (2.4) <sup>a</sup>	5.0 (0.02) <sup>a</sup>	1.28 (0.08) <sup>a</sup>	0.118 (0.005) <sup>a</sup>	11.0 (1.1)
víceleté r.	0.87 (0.15) <sup>b</sup>	2.37 (0.28) <sup>a</sup>	61.4 <sup>b</sup>	934 (40) <sup>a</sup>	165 (12) <sup>b</sup>	134.9 (7.3) <sup>a</sup>	4.9 (0.07) <sup>a</sup>	1.36 (0.02) <sup>a</sup>	0.128 (0.010) <sup>ab</sup>	10.7 (0.8)
keře	1.63 (0.04) <sup>c</sup>	2.75 (0.17) <sup>a</sup>	106.0 <sup>a</sup>	754 (66) <sup>b</sup>	239 (3) <sup>a</sup>	97.2 (11.2) <sup>b</sup>	4.9 (0.02) <sup>a</sup>	1.66 (0.19) <sup>a</sup>	0.137 (0.005) <sup>b</sup>	12.1 (1.4)
les	2.33 (0.27) <sup>a</sup>	3.56 (0.18) <sup>b</sup>	35.7 <sup>c</sup>	325 (40) <sup>c</sup>	154 (9) <sup>b</sup>	29.2 (3.0) <sup>c</sup>	4.4 (0.06) <sup>b</sup>	3.22 (0.91) <sup>b</sup>	0.164 (0.005) <sup>c</sup>	19.7 (5.7)

Na příkladu Glacier Bay (Alaska), kterou zkoumal Chapin et al. (1994), je možné ukázat jak primární sukcese probíhá. Během prvních 200 let došlo k desetinásobnému nárůstu půdní organické hmoty ve vrchní minerální vrstvě půdy. Současně s tím k nárůstu půdní vlhkosti a celkového dusíku. Došlo ke snížení objemové hmotnosti, pH a celkového fosforu. Růst rostlin byl v iniciálním stádiu limitován zároveň dusíkem i fosforem, ve starších půdách už jen fosforem. Během sukcese se snižovala i dostupnost světla pro sazeničky.

V počátečních stádiích sukcese je nejdůležitější fixace dusíku, jelikož poměr dusík fosfor je nízký a to z toho důvodu, že dusík se v horninovém podloží vyskytuje v zanedbatelných množstvích viz obrázek 8 (Rastetter et al., 2001). Dusík fixující rostliny jsou proto nutné pro navýšení vstupů N (Chapin, 2003). Celkově je kolonizace limitována malým množstvím živin, které limitují růst rostlin.

V průběhu sukcese dochází k obohacování dusíkem N fixujícími rostlinami, zároveň ale roste kompetice rostlin, které N nefixují a tek během sukcese až často až v klimaxových stádiích dochází k vyloučení či omezení niky pro dusík fixující rostliny (Gutschick, 1981).

Kromě vyloučení dusík fixujících rostlin pozorujeme i vyloučení rostlin s nízkým C/N poměrem, vysokou specifickou listovou plochou (SLA), nízkou listovou sušinou a vysokým obsahem N v listech a jejich nahrazení rostlinami opačných vlastností (Cortez et al., 2007). Tento vývoj je dán rozložitelností jejich listů viz předchozí kapitola.

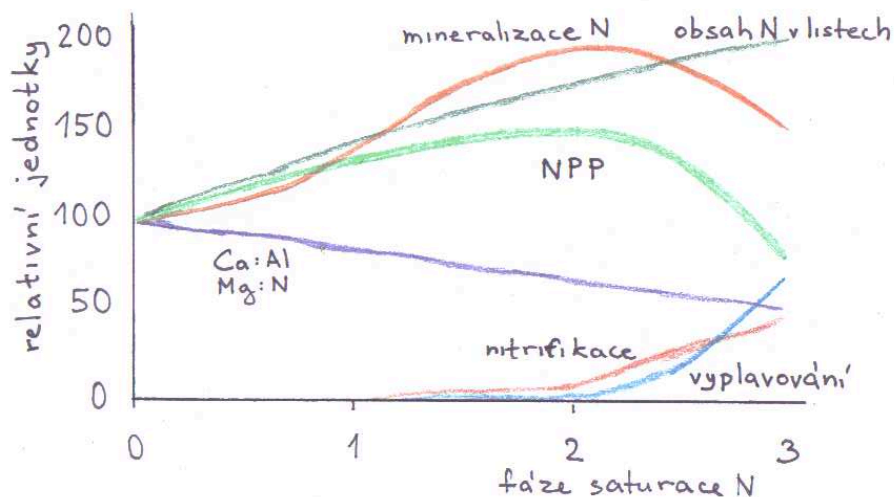


Obrázek 7 - A - poměr zdrojů dusíku pro rostliny, B - hromadění dusíku v ekosystému - dle Rastetter 2001

## 5.2 Faktory ovlivňující změny N během sukcese

### 5.2.1 Množství organické hmoty a vyplavování

Při odumření velkého množství rostlinných těl narůstá amonifikace. Nárůst amonifikace způsobuje větší dostupnost  $\text{NH}_4^+$  ve svrchní části půdy, čímž přestanou být limitovány nitrifikační bakterie a zrychlí se nitrifikace. Nárůst nitrifikace snižuje pohyblivost  $\text{NH}_4^+$  do spodních vrstev. Ale jelikož se nitrifikací zvyšuje čistá dostupnost  $\text{NO}_3^-$ , tak se N může stále pohybovat v této formě, která má vyšší difuzní rychlost než  $\text{NH}_4^+$ . Což v důsledku znamená snadnější vyplavení N. (Nave et al., 2014) Na obrázku 7 je vidět zvýšená mineralizace a nastupující nitrifikace spojená s vyplavováním.



Obrázek 8 - odpověď lesa mírného pásu na dlouhodobý chronický přírůstek N - dle Aber et al. 1995

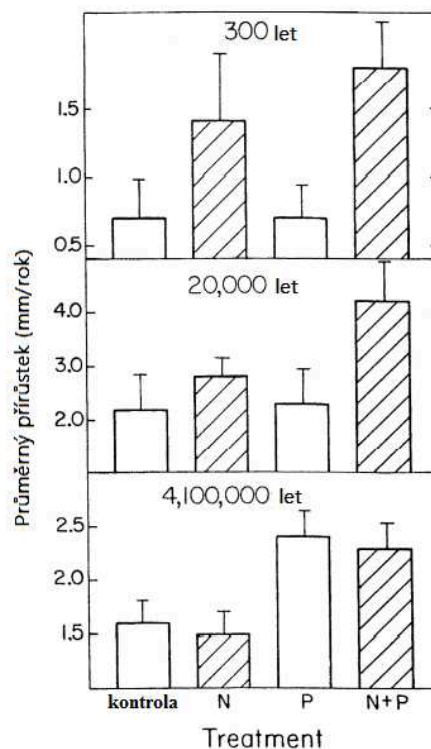
### 5.2.2 Vývoj dostupnosti N ve vztahu k ostatním limitujícím faktorům

#### Fosfor

Během primární sukcese se mění poměr dusík fosfor, který je zpočátku nízký a postupně se zvětšuje. Vývoj fosforu popisuje Walker a Syersův model, který byl potvrzen i pro semiaridní oblasti (Selmants a Hart, 2010). Jak v průběhu pedogeneze fosfor ubývá, narůstá limitace tímto prvkem, jak potvrzuje experiment Vitouska a Farringtona (1997) s přírůstkem *Metrosideros polymorpha* viz obrázek 9.

#### Ostatní

Molybden, železo a síra či jiné prvky mohou limitovat fixaci dusíku. U molybdenu není jeho limitace tak jednoznačná, jelikož je esenciální pro většinu fixátorů, avšak nepotřebují ho organismy jejichž jediným zdrojem dusíku jsou amonné ionty. Nízké pH, které často nacházíme v lesních půdách, může způsobovat absorpci molybdenu a tím jeho přístupnost může být nízká. (Vitousek a Howarth, 1991)



Obrázek 9 - průměrné přírůstky *Metrosideros polymorpha* na různě starých půdách po přihnojení dusíkem fosforem a jejich kombinací - dle Vitousek a Farrington 1997

## 6. Shrnutí

Dusík je významným limitujícím prvkem terestrických ekosystémů. Půda se během sukcese tímto prvkem obohacuje, jelikož ho primárně neobsahuje v dostatečné míře ve formě přístupné pro rostliny. Pro přesun dusíku z atmosféry do půdy je v přírodních ekosystémech třeba dusík fixujících organismů. Ty ovšem na získání dostatku N spotřebovávají velké množství energie, proto, když je ekosystém už dostatečně obohacen, přestává být pro ně schopnost získat dusík výhodou. Vliv přísadků dusíku na primární sukcesi proto spočívá ve změně společenství, které je způsobeno kromě upřednostnění dusík nefixujících rostlin i preferencí dalších růstových vlastností jako jsou růst do výšky a jednoletý životní cyklus. Přídavek se projevuje i dlouhodobě, jelikož dochází k ovlivnění kvetení a tvorby semen. Dostupnost dusíku vede k převaze trav, pro něž není  $\text{NH}_4^+$  tolik toxické, a nitrofilních druhů, které eutrofizované lokality vyhledávají. Narůstá primární produkce. Nárůst probíhá do té doby, kdy celkově nepřevládne několik málo významných druhů a nevyloučí ostatní druhy, které jsou většinou přizpůsobené dlouhodobému konzervativnímu nakládání s dusíkem.

## 7. Praktická část

### 7.1 Popis ploch a odběr půd

Půdy pro tento pokus byly odebrány z dlouhodobě sledované chronosequence sukcesních ploch na Sokolovsku postupně zarůstajících spontánní sukcesí (50.2434725N, 12.6765061E). Plochy se nachází v nadmořské výšce 650 m n. m., s průměrnými ročními srážkami 650 mm a průměrnou roční teplotou 6,8 °C (Baldrian et al., 2008). Substrát výsypky na sledovaných plochách je tvořen třetihorními jíly Cyprisového souvrství s alkalickým pH 8-9 a je tvořen hlavně jílovými minerály kaolinitem, ílitem a montmorillonitem, obohacenými křemenem, kalcitem a sideritem s příměsí fosilní organické hmoty kerogenu (Urbanová et al., 2014).

K pokusu byla použita půda z výsypkové plochy II a výsypkové plochy E. Plocha II byla nasypána v roce 1987 a plocha E v roce 2002. Od nasypání nebyly na těchto plochách prováděny žádné zásahy a plochy zarůstali spontánně vegetací. Plocha E byla řídko porostlá travinami a bylinami dominovanými třtinou křovištní *Calamagrostis epigeios* a podbělem *Taraxacum officinalis*, na ploše II dominovala vrba jíva *Salix caprea*. Pro pokus bylo využito již dříve založeného hnojícího pokusu, během něhož byly na plochách E a II ve čtyřech předchozích letech pokusné plošky hnojené dávkou  $50 \text{ kg N ha}^{-1}$  vždy na jaře formou granulí dusičnanu

amonného. Půda pro předemtný pokus byla odebrána z plošek hnojených dusíkem a z plošek kontrolních z hloubky 10 cm. Z půdy byly ručně vybrány rostliny a kořeny.

## 7.2 Postup práce a zpracování výsledků

Půdu jsem zhomogenizovala prosetím přes síto 5 mm a umístila do plastových květníků velikosti 7 X 7 cm. Polovina byla tvořená půdou z výsypky E, a druhá polovina z výsypky II. Polovina z odebíraných půd byla přihnojována. Do poloviny květníků jsem přidala 0,16 g na prášek rozetřeného  $\text{CaNO}_3$ . Do poloviny z nich jsem umístila šestnáct semen *Lotus corniculatus* a do druhé poloviny 16 semen *Festuca rubra*. Tím vzniklo 2x2x2 možných skupin po čtyřech opakováních. Květníky jsem umístila do fóliovníku nacházejícího se v Genetické zahradě na Albertově od začátku června do začátku září 2016. Po tuto dobu (9 týdnů) jsem rostliny zalévala povětšinou dvakrát až třikrát do týdne vzhledem k teplotnímu režimu. Po ukončení experimentu jsem rostliny nechala dva dny vyschnout. Po opatrném vyjmutí z květníku s maximálním množstvím kořenů jsem oddělila nadzemní části a podzemní části rostlin. Určila jsem počet rostlin a jednotlivě zvažila nadzemní a podzemní biomasu. Nadzemní biomasu jsem po vysušení v sušárně po dobu 8 hod v 60° C otestovala na přítomnost C, N na přístroji EA 1108 od firmy Carlo Erba Instruments.

Na základě výsledků provedené trojcestné statistické analýzy ANOVA s faktory: lokalita, dlouhodobé hnojení a jednorázové hnojení, jsem pro výzkum zvolila jednocestnou analýzu ANOVA. Trojcestnou analýzu jsem nepoužila, protože se projevil interakce těchto faktorů.

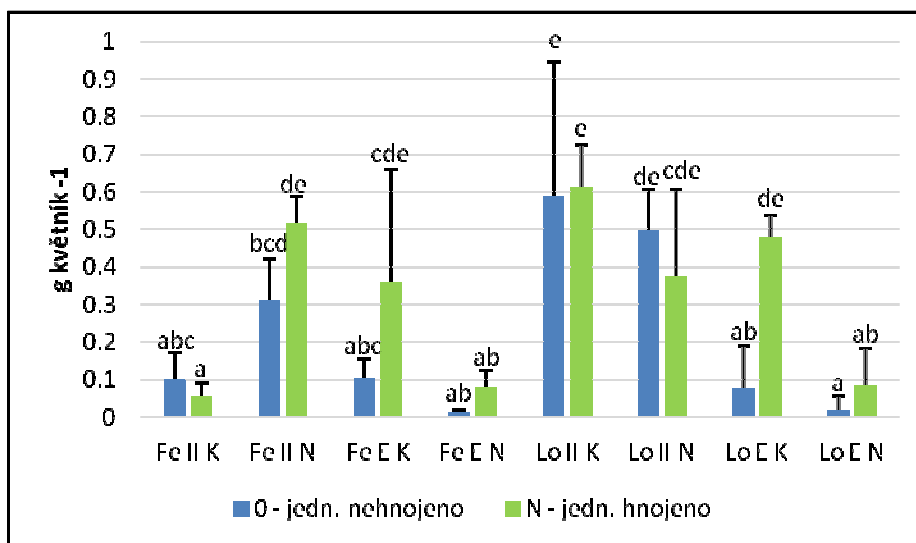
## 7.3 Výsledky

V porovnání trávy *Festuca rubra* (kostřavy červené) a dusík fixujícího *Lotus corniculatus* (štírovníku růžkatého) pozorujeme rozdíly jak v růstu nadzemní, tak podzemní části.

Jednorázové hnojení se projevuje pozitivně u všech pěstovaných skupin. Jedinou výjimkou je *Festuca rubra* na starší dlouhodobě nehnojené půdě (Fe II K), jak ukazuje obrázek 1, avšak většina těchto rozdílů není statisticky významná. Nejvýraznější rozdíly v růstu kontroly a rostlin po jednorázovém přidání nacházíme u mladší půdy, která nebyla dlouhodobě hnojená jak pro *Festuca rubra* tak *Lotus corniculatus* (Fe E K, Lo E K). V případě *Lotus corniculatus* (Lo E K) je rozdíl statisticky prokazatelný.

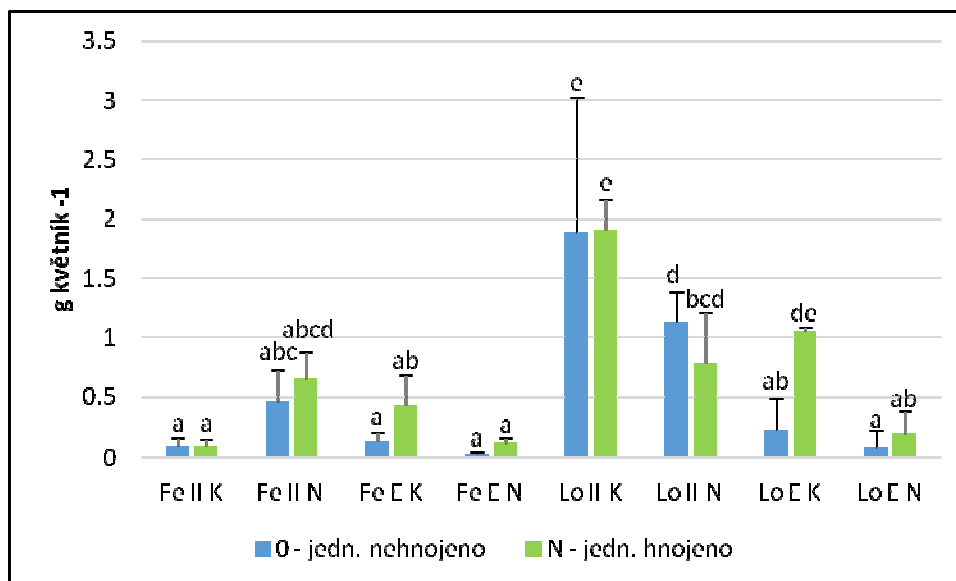
Při sledování vlivu dlouhodobého hnojení zjišťujeme, že má hnojení negativní vliv na růst *Lotus corniculatus*, respektive že Lo prospívá statisticky významně větší biomasou na dlouhodobě nehnojeném sukcesně starším substrátu bez ohledu na jednorázové přidání N u mladší půdy je

trend podobný ale roydíl je statisticky významný jen pro jednorázově přihnojené plochy. U *Festuci rubra* je vliv pozitivní a to nejzřetelněji na sukcesně starší půdě, kde je také tento vliv statisticky významný jak pro jednorázově hnojené tak pro jednorázově nehnojené plochy (Obr).



Obrázek 10 - Nadzemní biomasa *Festuca rubra* (Fe) a *Lotus corniculatus* (Lo) na sukcesně mladší (E) a starší (II) půdě, které byly dlouhodobě buď hnojeny (N) nebo nehnojeny dusíkem (N). Půdy byly navíc přihnojovány N během pokusu, jak je zde vyznačeno barevně. Sloupečky značí průměr, úsečka SD, statisticky homogenní skupiny jsou vyznačeny stejnými písmeny.

V porovnání kořenů jednorázového hnojení a kontroly, v obojím případě hnojení podpořilo růst jak *Lotus corniculatus* tak *Festuca rubra*. Tento výsledek nenastal jedině pro *Lotus corniculatus* na starší půdě (Lo II N). Nicméně tento trend většinou není statisticky významný. Prokazatelný vliv mělo jednorázové přihnojení na kořeny *Lotus corniculatus* v půdě E, která byla dlouhodobě nehnojená (Lo E K) (Obr 11).



Obrázek 11- Podzemní biomasa *Festuca rubra* (Fe) a *Lotus corniculatus* (Lo) na sukcesně mladší (E) a starší (II) půdě, které byly dlouhodobě buď hnojeny (N) nebo nehnojeny dusíkem (K). Půdy byly navíc přihnojovány N během pokusu, jak je vyznačeno barevně. Sloupečky značí průměr, úsečka SD, statisticky homogenní skupiny jsou vyznačeny stejnými písmeny.

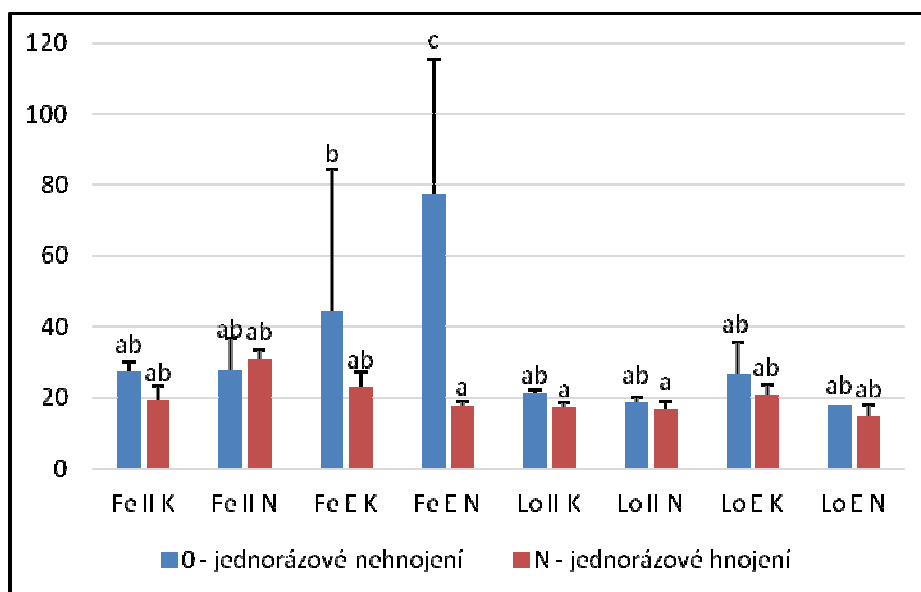
*Festuca rubra* má na starší půdě nezávisle na jednorázovém přidání N při dlouhodobém hnojení (Fe II) větší kořenový systém než na mladší půdě, kde je kořenový systém menší za situace dlouhodobého nehnojení. Oproti tomu *Lotus corniculatus* ve všech případech, tedy nezávisle na jednorázovém přidání dusíku či stáří půdy, vykazuje větší podzemní biomasu při dlouhodobém nehnojení.

Celkový přehled vlivů hnojení je znázorněn v tabulce 2.

Tabulka 2 - Přehled výsledků hnojení na růst rostlin *Festuca rubra* (Fe) a *Lotus corniculatus* (Lo) na starší půdě (II) a mladší půdě (E).

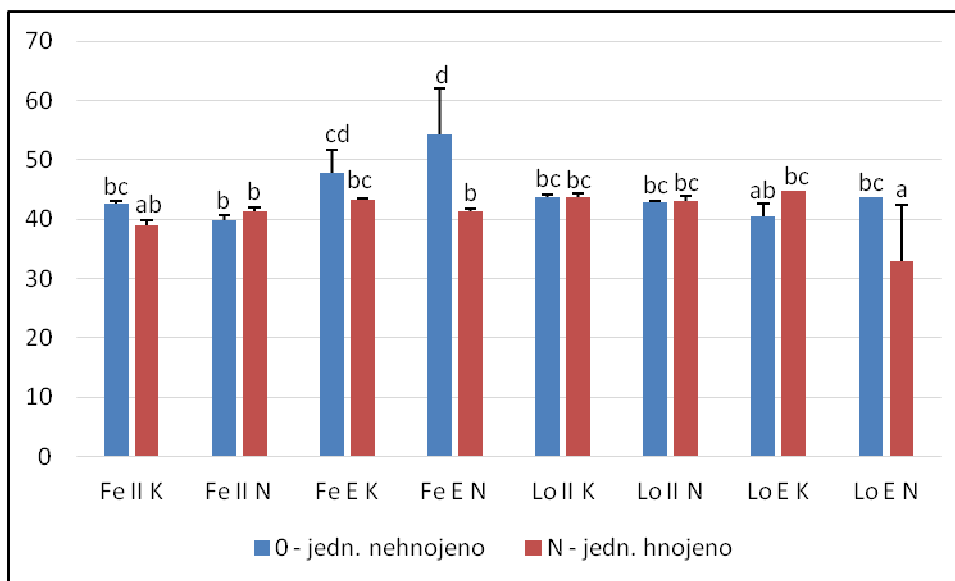
			+	-
nadzemní biomasa	jednorázové hnojení	obecný trend	vše kromě →	FeIIK
		prokazatelný	Lo E K	
	dlouhodobé hnojení	obecný trend	Fe	Lo
		prokazatelný	Fe II N	Lo E N
kořeny	jednorázové hnojení	obecný trend	vše kromě →	Lo II N
		prokazatelný	Lo E K	
	dlouhodobé hnojení	obecný trend	Fe II	vše kromě ←
		prokazatelný		Lo II, Lo E N

Jak rostlina ovlivní svým rozkladem složení půdy zjistíme z obsahu C a N. Poměry C/N v nadzemní části rostlin nacházíme u většiny skupin podobné viz obrázek 12. Ze souboru vybočuje pouze *Festuca rubra* na mladší jednorázově nehnojené půdě (Fe E N), která obsahuje



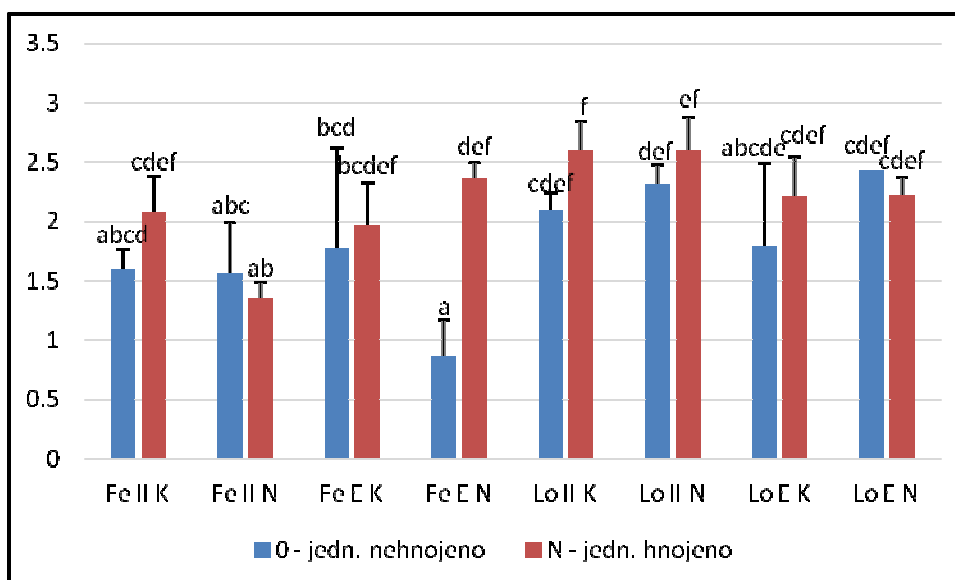
Obrázek 12 - Poměr C/N *Festuca rubra* (Fe) a *Lotus corniculatus* (Lo) na sukcesně mladší (E) a starší (II) půdě, které byly dlouhodobě buď hnojeny (N) nebo nehnojeny dusíkem (K). Půdy byly navíc přihnojovány N během pokusu, jak je vyznačeno barevně. Sloupečky značí průměr, úsečka SD, statisticky homogenní skupiny jsou vyznačeny stejnými písmeny.

procentuálně větší množství C viz obrázek 13.



Obrázek 13 - Obsah C (%) v nadzemní části *Festuca rubra* (Fe) a *Lotus corniculatus* (Lo) na sukcesně mladší (E) a starší (II) půdě, které byly dlouhodobě buď hnojeny (N) nebo nehnojeny dusíkem (K). Půdy byly navíc přihnojovány N během pokusu, jak je vyznačeno barevně. Sloupečky značí průměr, úsečka SD, statisticky homogenní skupiny jsou vyznačeny stejnými písmeny.

Nejmenší množství N nacházíme v nadzemní biomase *Festuca rubra* na jednorázově nehnojené, avšak dlouhodobě hnojené mladší půdě (Fe E N 0) a signifikantně se tyto hodnoty liší od jednorázového hnojení (Fe E N N) viz obrázek 5.



Obrázek 14 - Obsah N (%) v nadzemní části *Festuca rubra* (Fe) a *Lotus corniculatus* (Lo) na sukcesně mladší (E) a starší (II) půdě, které byly dlouhodobě buď hnojeny (N) nebo nehnojeny dusíkem (K). Půdy byly navíc přihnojovány N během pokusu, jak je vyznačeno barevně. Sloupečky značí průměr, úsečka SD, statisticky homogenní skupiny jsou vyznačeny stejnými písmeny.

## 7.4 Diskuze

Hnojení dusíkem podporuje růst rostlin (Dias et al., 2013, Chapin et al., 1994, Vitousek and Farrington, 1997, Lebauer and Treseder, 2008). To souhlasí s mými výsledky, které ukazují malý nárůst nadzemní biomasy ve všech skupinách. Nárůst biomasy se zobrazuje pouze na mladší půdě, která nebyla dlouhodobě hnojená. Můžeme si to vysvětlit tím, že v této fázi je množství naakumulovaného dusíku nízké, zatímco s postupující sukcesí se dusík hromadí a tím je i méně limitující, což podporuje práce Šourkové et al. (2005).

Dlouhodobé hnojení podporuje pouze růst druhu *Festuca rubra* na starší půdě. U ostatních skupin nacházíme negativní dopad, který neumíme dobře vysvětlit. Je možné, že dlouhodobé přídavky ze začátku zpomalují dekompozici (Mo et al., 2008) a to může ovlivnit přísun nejen N ale i ostatních živin. Přídavkem dusíku se může též nejprve vysytit mikrobiální biomasa a na rostliny pak N nezbyvá. Navíc nárůst mikrobiální biomasy může omezit dostupnost dalších živin. Navíc je zajímavé, že na mladší půdě sice nenarůstá signifikantně biomasa s jednorázovým hnojením, ale signifikantně klesá C/N, které je u *Festuca rubra* na nehnojených mladých plochách signifikantně větší než jinde. To by naznačovalo, že se rostlina nejprve optimálně zásobí N a teprve potom začne zvětšovat svoji biomasu, a zde byl přídavek N postačující jen k prvnímu kroku. Další důvod který se může podílet na této skutečnosti je, že mladší půda je málo vyvinutá. Dochází zde k postupnému rozpadu hlušiny na jíl a organické horizonty půd zde ještě nenacházíme (Kuráž et al., 2012). Kromě nedostatku dusíku, který je rychle doplněn přidáním, se zde uplatňuje řada dalších limitujících faktorů. Nevyvinuté půdy hůře zadržují vodu (Kuráž et al., 2012) a některé substráty na Sokolovsku mohou být fyto toxické (Tesnerová et al., 2017, Frouz et al., 2014). I když cyprisové jíly nepatří mezi typicky fyto toxické substráty, dochází při jejich zvětrávání k uvolňování solí, které mohou zhoršovat růst rostlin (Frouz et al., 2014). Přídavek dusíku může podpořit nárůst mikrobiální aktivity a tím zvětrávání a uvolňování solí. Všechny tyto ostatní limitující faktory (nedostatek vody, nárůst koncentrace solí, větší kompetice s mikrobiální biomasou) mohou přispět k tomu, že na mladší půdě nepodporuje dlouhodobé hnojení N růst rostlin.

Důvod, proč jeteloviny rostou hůře na mladší ploše, může být způsobeno tím, že je zde velmi alkalické pH a to zhoršuje dostupnost fosforu a železa, které jsou potřebné pro fixaci dusíku. (Vitousek a Field, 1999)

### 7.4.1 Možné limity experimentu

Skutečnost, že byl experiment proveden v laboratorních podmínkách my umožnila dobře studovat a experimentálně „oddělit“ vliv jednotlivých faktorů. Avšak tento přístup má za následek, že se výsledky mohou lišit, od toho co bychom dostali v polních podmínkách. Jelikož v jednom květníku byl pouze jeden druh rostliny, nemohlo docházet k mezidruhovým interakcím. Umělé zavlažování bylo oproti přirozeným podmínkám pravidelné a v relativně velkých množstvích, což mohlo způsobit nárazové vyplavování dusíku. Půda byla rozdělena v malých květinících, které rychle vysychaly oproti kompaktnímu půdnímu celku, který si zachovává své pufrční vlastnosti při zásobení vodou. Ve foliovníku bylo specifické prostředí bez přímého světla a s relativně vyššími hodnotami teploty oproti venkovnímu okolí.

## 8. Závěr

Rešeršní část práce popisuje vliv fixace dusíku jakožto základního vstupu v procesu růstu rostlin, který se projevuje i na dalších úrovních (rostlina, společenství, primární sukcese). Dlouhodobě přístupné jsou hlavně anorganické formy, jejichž příjem se liší (přístupnosti, energetické náročnosti, toxicitě). Dusík tvoří významnou součást rostlinného těla a limituje jeho rozvoj. V případě přihnojování dusíkem se projevuje např. změnou poměru kořeny/nadzemní biomasa. Na úrovni společenství rostlin sledujeme při dlouhodobém hnojení ovlivnění celkové biomasy, druhové bohatosti a produkce. Skrze ovlivnění semenné banky a složení půdy, které probíhá na základě ovlivnění dekompozice a organické hmoty, dochází k vývoji v čase (primární sukcese). Rostliny fixující dusík jsou v jeho průběhu vytlačeny a nahrazeny.

Experimentální část práce ukázala, že vlivy hnojení dlouhodobého a jednorázového se lišily, avšak při růstu rostlin se uplatnily ve společném působení.

Jednorázový vstup dusíku způsobil ve většině případů testování rostlin nárůst biomasy. Zatímco dlouhodobé hnojení vykazovalo pro *Festuca rubra* pozitivní vliv množství biomasy a pro *Lotus* negativní.

Vliv jednorázového hnojení nebyl signifikantní s výjimkou rostliny *Lotus corniculatus*. Tato rostlina pěstovaná na sukcesně mladší půdě, která nebyla dlouhodobě hnojená, měla prokazatelný rozdíl v nadzemní biomase. Zde se jak v případě kořenů, tak v případě nadzemní části rostlin projevuje nárůst biomasy při hnojení.

Při dlouhodobém hnojení se projevíly signifikantní rozdíly jen v případě hnojení *Festuca rubra* na přihnojené starší půdě. Zde se prokázalo, že hnojení růst výrazně podpořilo. Zatímco na rostlině *Lotus corniculatus* na mladší přihnojené půdě mělo dlouhodobé hnojení prokazatelný záporný efekt.

Jednorázové přidání dusíku podpořilo růst kořenů všech skupin.

Na kořeny rostliny *Lotus corniculatus* mělo dlouhodobé hnojení negativní dopad. Na *Festuca rubra* na starší půdě vliv pozitivní.

Další testování je možné provést na větším vzorku rostlin. Stálo by také za úvahu rozdělit testování do vnitřních (např. foliovníky) či venkovních prostor, kde se výsledky mohou lišit. Též bych zvažila možnost rozdílného způsobu zavlažování dle daných prostor a podmínek, ve kterých by se rostliny dále testovaly.

## 9. Seznam literatury

- Aber, J.D., Magill, A., McNulty, S.G., Boone, R.D., Nadelhoffer, K.J., Downs, M., Hallett, R., 1995. Forest biogeochemistry and primary production altered by nitrogen saturation. *Water, Air, & Soil Pollution* 85, 1665–1670. doi:10.1007/BF00477219
- Aerts, R., Chapin, F.S., 1999. The Mineral Nutrition of Wild Plants Revisited: A Re-evaluation of Processes and Patterns. *Advances in Ecological Research* 30, 1–67. doi:10.1016/S0065-2504(08)60016-1
- Baldrian, P., Trögl, J., Frouz, J., Šnajdr, J., Valášková, V., Merhautová, V., Cajthaml, T., Herinková, J., 2008. Enzyme activities and microbial biomass in topsoil layer during spontaneous succession in spoil heaps after brown coal mining. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2107–2115. doi:10.1016/j.soilbio.2008.02.019
- Bindraban, P.S., Dimkpa, C., Nagarajan, L., Roy, A., Rabbinge, R., 2015. Revisiting fertilisers and fertilisation strategies for improved nutrient uptake by plants. *Biology and Fertility of Soils* 51, 897–911. doi:10.1007/s00374-015-1039-7
- Binkley, D., 1986. *Forest nutrition management*. John Wiley & Sons.
- Bobbink, R., Hicks, K., Galloway, J., Spranger, T., Alkemade, R., Ashmore, M., Cinderby, S., Davidson, E., Dentener, F., Emmett, B., Erisman, J., Fenn, M., Nordin, A., Pardo, L., Vries, W. De, Hicks, K., Galloway, J., Bobbink, R., Davidson, E., Dentener, F., Cinderby, S., Spranger, T., Bustamante, M., 2010. Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity. *Ecological Applications* 20, 30–59. doi:10.1890/08-1140.1
- Bouwman, A.F., Beusen, A.H.W., Griffioen, J., Van Groenigen, J.W., Hefting, M.M., Oenema, O., Van Puijenbroek, P.J.T.M., Seitzinger, S., Slomp, C.P., Stehfest, E., 2013. Global trends and uncertainties in terrestrial denitrification and N<sub>2</sub>O emissions. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 368, 20130112. doi:10.1098/rstb.2013.0112
- Britto, D.T., Kronzucker, H.J., 2002. NH<sub>4</sub><sup>+</sup> toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of Plant Physiology* 159, 567–584. doi:http://dx.doi.org/10.1078/0176-1617-0774
- Burke, I.C., 1989. Control of nitrogen mineralization a sagebrush steppe landscape. *Ecology* 70, 1115–1126.
- Buchanan, B. B., Gruissem, W., Jones., R. L. *Biochemistry and molecular biology of plants*. John Wiley & Sons, 2015.
- Bytnerowicz, A., Fenn, M.E., 1996. N I T R O G E N DEPOSITION IN CALIFORNIA FORESTS : A REVIEW. *Environmental Pollution* 92, 127–146.
- Clark, C.M., Cleland, E.E., Collins, S.L., Fargione, J.E., Gough, L., Gross, K.L., Pennings, S.C., Suding, K.N., Grace, J.B., 2007. Environmental and plant community determinants of species loss following nitrogen enrichment. *Ecology Letters* 10, 596–607. doi:10.1111/j.1461-0248.2007.01053.x

- Cortez, J., Garnier, E., Pérez-Harguindeguy, N., Debussche, M., Gillon, D., 2007. Plant traits, litter quality and decomposition in a Mediterranean old-field succession. *Plant and Soil* 296, 19–34. doi:10.1007/s11104-007-9285-6
- de Schrijver, A., de Frenne, P., Ampoorter, E., van Nevel, L., Demey, A., Wuyts, K., Verheyen, K., 2011. Cumulative nitrogen input drives species loss in terrestrial ecosystems. *Global Ecology and Biogeography* 20, 803–816. doi:10.1111/j.1466-8238.2011.00652.x
- Dias, T., Oakley, S., Alarcón-Gutiérrez, E., Ziarelli, F., Trindade, H., Martins--Loução, M.A., Sheppard, L., Ostle, N., Cruz, C., 2013. N-driven changes in a plant community affect leaf-litter traits and may delay organic matter decomposition in a Mediterranean maquis. *Soil Biology and Biochemistry* 58, 163–171. doi:10.1016/j.soilbio.2012.10.027
- Frouz, J., Zadinová, R., Mihaljevič, M., Rojčík, P., M., Ř., 2014. Effect of accelerated weathering and leaching on the chemistry and phytotoxicity of coal-mine overburden 4, 106–111.
- Galloway, J.N., Cowling, E.B., 2002. Reactive nitrogen and the world: 200 years of change. *Ambio* 31, 64–71. doi:10.1579/0044-7447-31.2.64
- Gan, S., Amasino, R.M., 1995. Inhibition of Leaf Senescence by Autoregulated Production of Cytokinin. *Science* 270, 1986–1988.
- Gärdenäs, A.I., Ågren, G.I., Bird, J.A., Clarholm, M., Hallin, S., Ineson, P., Kätterer, T., Knicker, H., Nilsson, S.I., Näsholm, T., Ogle, S., Paustian, K., Persson, T., Stendahl, J., 2011. Knowledge gaps in soil carbon and nitrogen interactions - From molecular to global scale. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 702–717. doi:10.1016/j.soilbio.2010.04.006
- Gilliam, F.S., Welch, N.T., Phillips, A.H., Billmyer, J.H., Peterjohn, W.T., Fowler, Z.K., Walter, C.A., Burnham, M.B., May, J.D., Adams, M.B., 2016. Twenty-five-year response of the herbaceous layer of a temperate hardwood forest to elevated nitrogen deposition. *Ecosphere* 7, 1–16. doi:10.1002/ecs2.1250
- Gutschick, V.P., 1981. Evolved Strategies in Nitrogen Acquisition by Plants. *The American Naturalist* 118, 607–637.
- Hiltbrunner, E., Aerts, R., Bühlmann, T., Huss-Danell, K., Magnusson, B., Myrold, D.D., Reed, S.C., Sigurdsson, B.D., Körner, C., 2014. Ecological consequences of the expansion of N<sub>2</sub>-fixing plants in cold biomes. *Oecologia* 176, 11–24. doi:10.1007/s00442-014-2991-x
- Högberg, P., 1997. Tansley Review No. 95. 15N Natural Abundance in Soil-Plant Systems. *The New Phytologist* 137, 179–203.
- Chapin, F.S., 2003. Effects of plant traits on ecosystem and regional processes: A conceptual framework for predicting the consequences of global change. *Annals of Botany* 91, 455–463. doi:10.1093/aob/mcg041
- Chapin, F.S., Walker, L.R., Fastie, C.L., Lewis, C., Fastie, C.L., Sharman, L.C., 1994. Mechanisms of Primary Succession Following Deglaciation at Glacier Bay , Alaska. *Ecological Monographs* 64, 149–175.

- Johnson, B., Goldblatt, C., 2015. The nitrogen budget of Earth. *Earth-Science Reviews* 148, 150–173. doi:10.1016/j.earscirev.2015.05.006
- Kuráž, V., Frouz, J., Kuráž, M., Mako, A., Shustr, V., Cejpek, J., Romanov, O. V., Abakumov, E. V., 2012. Changes in some physical properties of soils in the chronosequence of self-overgrown dumps of the Sokolov quarry-dump complex, Czechia. *Eurasian Soil Science* 45, 266–272. doi:10.1134/S1064229312030076
- Lebauer, D.S., Treseder, K.K., 2008. Nitrogen Limitation of Net Primary Productivity in Terrestrial Ecosystems Is Globally Distributed. *Ecological Society of America* 89, 371–379. doi:Doi 10.1890/06-2057.1
- Li, W., Jin, C., Guan, D., Wang, Q., Wang, A., Yuan, F., Wu, J., 2015. The effects of simulated nitrogen deposition on plant root traits: A meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry* 82, 112–118. doi:10.1016/j.soilbio.2015.01.001
- Li, W.J., Li, J.H., Lu, J.F., Zhang, R.Y., Wang, G., 2010. Legume-grass species influence plant productivity and soil nitrogen during grassland succession in the eastern Tibet Plateau. *Applied Soil Ecology* 44, 164–169. doi:10.1016/j.apsoil.2009.12.001
- Maređiak, D., Kopčanová, L., Leitgeb, 1987. *Polnohospodárska mikrobiologia*. Bratislava: Príroda
- Frouz, J., Moldan, B., (eds.), 2015. *Příležitosti a výzvy environmentálního výzkumu*. Univerzita Karlova v Praze Nakladatelství Karolinum, Praha 2015.
- Miller, A.J., Cramer, M.D., 2004. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant and Soil* 274, 1–36. doi:10.1007/s11104-004-0965-1
- Mo, J., Fang, H., Zhu, W., Zhou, G., Lu, X., Fang, Y., 2008. Decomposition responses of pine (*Pinus massoniana*) needles with two different nutrient-status to N deposition in a tropical pine plantation in southern China. *Annals of Forest Science* 65, 405–405. doi:10.1051/forest:2008017
- Mrázová, K., 2007. *Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně Agronomická fakulta Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin Vliv klimatických výkyvů na dostupnost dusíku pro rostliny Diplomová práce Vedoucí práce: Ing. Jaroslav Záhora. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně Agronomická fakulta.*
- Näsholm, T., Kielland, K., Ganeteg, U., 2009. Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytologist* 182, 31–48. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02751.x
- Nave, L.E., Sparks, J.P., Le Moine, J., Hardiman, B.S., Nadelhoffer, K.J., Tallant, J.M., Vogel, C.S., Strahm, B.D., Curtis, P.S., 2014. Changes in soil nitrogen cycling in a northern temperate forest ecosystem during succession. *Biogeochemistry* 121, 471–488. doi:10.1007/s10533-014-0013-z
- Owen, A.G., Jones, D.L., 2001. Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. *Soil Biol. Biochem.* 651–657.

- Phoenix, G.K., Emmett, B.A., Britton, A.J., Caporn, S.J.M., Dise, N.B., Helliwell, R., Jones, L., Leake, J.R., Leith, I.D., Sheppard, L.J., Sowerby, A., Pilkington, M.G., Rowe, E.C., Ashmore, M.R., Power, S.A., 2012. Impacts of atmospheric nitrogen deposition: Responses of multiple plant and soil parameters across contrasting ecosystems in long-term field experiments. *Global Change Biology* 18, 1197–1215. doi:10.1111/j.1365-2486.2011.02590.x
- Plassmann, K., Brown, N., Jones, M.L.M., Edwards-Jones, G., 2008. Can atmospheric input of nitrogen affect seed bank dynamics in habitats of conservation interest? The case of dune slacks. *Applied Vegetation Science* 11, 413–420. doi:10.3170/2008-7-18498
- Procházka, S., 1998. *Fyziologie rostlin*. Academia.
- Rastetter, E.B., Vitousek, P.M., Field, C., Shaver, G.R., Herbert, D., Gren, G.I., 2001. Resource optimization and symbiotic nitrogen fixation. *Ecosystems* 4, 369–388. doi:10.1007/s10021-001-0018-z
- Robertson, G.P., Vitousek, P.M., 1981. Nitrification Potentials in Primary and Secondary Succession. *Ecology* 62, 376–386. doi:10.2307/1936712
- Rosswall T., 1983. C, N, P, and S Cycles: Major Reservoirs and Fluxes – The Nitrogen Cycle. *The Major Biogeochemical Cycles and Their Interactions*. Eds. B Bolin and R B Cook. Scientific Committee on Problems of the Environment (SCOPE)
- Selmants, P.C., Hart, S.C., 2010. Phosphorus and soil development: Does the Walker and Syers model apply to semiarid ecosystems ? *Ecology* 91, 474–484.
- Soons, M.B., Hefting, M.M., Dorland, E., Lamers, L.P.M., Versteeg, C., Bobbink, R., 2016. Nitrogen effects on plant species richness in herbaceous communities are more widespread and stronger than those of phosphorus. *Biological Conservation*. doi:10.1016/j.biocon.2016.12.006
- Sprecher, S.W., 2001. Basic concepts of soil science. *Wetland Soils. Genesis, Hydrology, Landscapes, and Classification*, 3-18.
- Šourková, M., Frouz, J., Šantrůčková, H., 2005. Accumulation of carbon, nitrogen and phosphorus during soil formation on alder spoil heaps after brown-coal mining, near Sokolov (Czech Republic). *Geoderma* 124, 203–214. doi:10.1016/j.geoderma.2004.05.001
- Štýs, S., 1981. *Rekultivace území postižených těžbou nerostných surovin*. Nakl. techn. lit..
- Tesnerová, C., Zadinová, R., Píkl, M., Zemek, F., Kadochová, Š., Matějčík, L., Mihaljevič, M., Frouz, J., 2017. Predicting the toxicity of post-mining substrates, a case study based on laboratory tests, substrate chemistry, geographic information systems and remote sensing. *Ecological Engineering* 100, 56–62. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.12.014
- Urbanová, M., Šnajdr, J., Brabcová, V., Merhautová, V., Dobiášová, P., Cajthaml, T., Vaněk, D., Frouz, J., Šantrůčková, H., Baldrian, P., 2014. Litter decomposition along a primary post-mining chronosequence. *Biology and Fertility of Soils* 50, 827–837. doi:10.1007/s00374-014-0905-z

- Verma, P., Sagar, R., Verma, H., Verma, P., Singh, D.K., 2014. Changes in species composition, diversity and biomass of herbaceous plant traits due to N amendment in a dry tropical environment of India. *Journal of Plant Ecology* 8, 321–332. doi:10.1093/jpe/rtu018
- Vitousek, G.P., Robertson, P.M., 1981. Nitrification Potentials in Primary and Secondary Succession. *Ecology* 62, 376–386.
- Vitousek, P.M., Aber, J.D., Howarth, R.W., Likens, G.E., A, M.P., Schindler, D.W., Schlesinger, W.H., Tilman, D.G., 1997. Technical Report: Human Alteration of the Global Nitrogen Cycle: Sources and Consequences. *Ecological Applications* 7, 737–750.
- Vitousek, P.M., Farrington, H., 1997. Nutrient limitation and soil development: experimental test of a biogeochemical theory. *Biogeochemistry* 37, 63–75. doi:10.1023/A:1005757218475
- Vitousek, P.M., Field, C.B., 1999. Ecosystem constraints to symbiotic nitrogen fixers: A simple model and its implications. *Biogeochemistry* 46, 179–202. doi:10.1007/BF01007579
- Vitousek, P.M., Howarth, R.W., 1991. Nitrogen Limitation on Land and in the Sea : How Can It Occur ? Springer 13, 87–115.
- Wolt, J., 1994 *Soil solution Chemistry: Applications to Environmental Science and Agriculture*. John Wiley & Sons, New York
- Winkel-Shirley, B., 2001. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. *Plant Physiology* 126, 485–493. doi:10.1104/pp.126.2.485
- Yang, Z., Hautier, Y., Borer, E.T., Zhang, C., Du, G., 2015. Abundance- and functional-based mechanisms of plant diversity loss with fertilization in the presence and absence of herbivores. *Oecologia* 179, 261–270. doi:10.1007/s00442-015-3313-7