

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Ústav pro životní prostředí

Studijní program: Ekologie a ochrana životního prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Interpretace stabilních izotopů uhlíku v archivech jezerních sedimentů

Interpretation of carbon stable isotope data from lake sediment archives

Zuzana Lánová

Vedoucí práce: RNDr. Jolana Tátošová, Ph.D.

Květen 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 10. 5. 2022

.....

Poděkování

Děkuji především své školitelce RNDr. Jolaně Tátošové, Ph.D. za ochotu, vstřícnost a trpělivost při psaní této bakalářské práce. Zároveň děkuji své rodině za podporu během psaní této práce i během celého studia.

Abstrakt

Jezerní sedimenty jsou tvořeny směsí terestrického rostlinného materiálu, primární produkcí jezerního planktonu a mikrobiální biomasy jezera. Všechny tyto skupiny organismů diskriminují během fixace C-substrátu a/nebo jeho následné asimilace v určité míře těžší a stabilnější ^{13}C uhlík, což se odráží v obsahu ^{13}C v jejich biomase a následně i v sedimentech. Důvodem diskriminace v těchto enzymaticky řízených biochemických reakcích je kinetická frakcionace kontrolovaná vazebnou energií chemických látek. Izotopový podpis obsažený v organické hmotě jezerních sedimentů může ovlivnit intenzita fotosyntézy, vznik anoxické zóny umožňující aktivitu metanogenních a metanotrofních bakterií, úživnost jezera nebo také hydrologická izolace (dlouhé období sucha).

Klíčová slova: Paleolimnologie, izotopy uhlíku, diskriminační procesy, jezerní sedimenty

Abstract

Lake sediments consist of terrestrial plant matter, lacustrine plankton primary production and microbial lake biomass. All of these organism groups discriminate during C-substrate fixation and/or its further assimilation heavier and more stable ^{13}C carbon at a certain ratio, which is reflected by ^{13}C concentration in their biomass and consequently in sediments. The reason of discrimination at these enzymatically controlled biochemical reactions lies at kinetic fractionation controlled by binding energies of chemical substances. Isotopic signature contained in organic matter of lake sediments can be influenced by photosynthesis intensity, formation of anoxic zone allowing methanogenic and methanotrophic bacteria activity, lake trophic state or hydrologic isolation (long periods of drought).

Keywords: Paleolimnology, carbon isotopes, discrimination processes, lake sediments

Obsah

1. Úvod.....	2
2. Obecná charakteristika izotopů.....	3
2.1 Izotopový poměr.....	5
2.2 Izotopové standardy.....	6
2.2.1 Standardy pro stanovení $\delta^{13}\text{C}$	7
3. Frakcionace.....	8
3.1 Frakcionace a směšování, izotopový efekt (α).....	8
3.2 Hlavní mechanismy frakcionace.....	9
4. Procesy diskriminace ^{13}C	10
4.1 Fotosyntéza.....	10
4.1.1 Mechanismy fixace CO_2 terestrických rostlin.....	11
4.1.2 Fixace CO_2 akvatickými rostlinami.....	14
4.1.3 Primární produkce fytoplanktonu.....	14
4.2 Mikrobiální procesy diskriminující ^{13}C	16
4.2.1 Aerobní organotrofní organismy.....	16
4.2.2 Metanogeneze.....	18
4.2.3 Aerobní metanotrofie.....	19
4.2.4 Anaerobní oxidace metanu.....	22
5. Jezerní sedimenty.....	23
5.1 Proces sedimentace organické hmoty v jezeře.....	23
5.2 C: N poměr.....	25
5.3 Interpretace $\delta^{13}\text{C}$ jezerních sedimentů.....	26
5.4 Další sedimentární proxy vhodné pro doplnění interpretace $\delta^{13}\text{C}$	31
6. Závěr.....	32
7. Použitá literatura.....	34

1. Úvod

Uhlík tvoří v přírodě několik stabilních izotopů, ze kterých jsou především stabilní izotopy ^{12}C a ^{13}C ideální pro paleoenvironmentální rekonstrukce založené na analýzách jezerních sedimentů. Tyto izotopy se liší v atomové hmotnosti, což způsobuje rozdílné fyzikální a chemické vlastnosti, které vedou k diskriminaci často těžšího, méně reaktivního uhlíku ^{13}C zejména během biochemických reakcí.

Procesy jako například fotosyntéza, respirace, metanogeneze a další vedou k variabilitě výskytu izotopů uhlíku, která je sice v řádech maximálně jednoho procenta, přesto nám může mnoho napovědět o procesech, ke kterým v biosféře dochází a docházelo v minulosti. Protože se jezero chová jako sink, kam se ukládá organická hmota z mnoha zdrojů uvnitř i vně jezera, je interpretace izotopového složení organického materiálu v sedimentech velmi složitá. Alochtonní zdroj organické hmoty v jezerních sedimentech představuje přísun organického materiálu zejména terestrického rostlinného původu. Abychom uměli říct, jaký izotopový signál tato organická hmota do sedimentů přináší, musíme znát mechanismus hlavního biochemického procesu tvorby rostlinné biomasy – tzn. mechanismus diskriminace izotopů uhlíku během fotosyntézy. Autochtonní organická hmota, tvořená uvnitř jezera, pochází jednak z biomasy primárních producentů (fytoplankton) a na ně navázaných trofických úrovní, a jednak z biomasy bakteriálních společenstev. Jaké izotopové složení uhlíku vzniká při tvorbě planktonní a bakteriální biomasy je tedy další klíčovou otázkou pro správnou interpretaci obsahu $\delta^{13}\text{C}$ v organické hmotě jezerních sedimentů. Mezi bakteriální skupiny, které se mohou významným způsobem podílet na tvorbě sedimentů, patří především aerobní organotrofní bakterie, metanogenní a s nimi spojené metanotrofní bakterie.

V mé bakalářské práci jsem se zaměřila na popis mechanismů diskriminačních procesů izotopů uhlíku, ke kterým dochází v nejvýznamnějších rostlinných a bakteriálních skupinách, jež se podílejí svou biomasou na tvorbě organického uhlíku ukládaného do archivů jezerních sedimentů. Zároveň se věnuji faktorům, které mohou ovlivnit množství celkového uloženého uhlíku, C/N poměr, a zejména samotný izotopový poměr $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ analyzované organické hmoty s cílem naučit se pomocí těchto proxy dat správně interpretovat historické změny, ke kterým během evoluce jezera mohlo docházet.

2. Obecná charakteristika izotopů

Jako izotopy označujeme atomy stejného prvku, jejichž jádra mají stejný počet protonů, ale rozdílný počet neutronů. Počet elektronů v elektronovém obalu atomů se neliší, izotopy prvků mají tedy stejné atomové číslo a z toho důvodu i téměř identické chemické vlastnosti. Rozdílný počet neutronů v jádře ale znamená, že se od sebe atomy liší hmotnostním číslem, tedy i atomovou hmotností, a proto se liší z hlediska fyzikálních vlastností jako je hmotnost, hustota a především stálost. Izotopy lze podle stability atomového jádra rozdělit na stabilní (stálé) a nestabilní (podléhající radioaktivnímu rozpadu). Na kladně nabitě protony působí elektrostatické odpuzivé síly, společně s neutrony je ale v jádře drží pohromadě velmi silné jaderné síly. Přestože jsou tisíckrát silnější než síly elektrostatické, mají jen velmi malý dosah, takže působí jen na nukleony v bezprostřední blízkosti. Slabší odpuzivé elektromagnetické síly mají větší dosah a působí tak i na protony, které se v jádře nacházejí ve větší vzdálenosti, a proto zde mohou převládat. Elektrostatické odpuzování vzdálených, kladně nabitých protonů vyrovnává přebytek neutronů, které na tyto protony působí přitažlivými jadernými silami. Příliš mnoho přidaných neutronů ale znamená, že budou obsazovat vyšší energetické hladiny, kde jsou ale vazebné síly slabší a celé jádro se tak stane nestabilním. Čím vyšší energetickou hladinu protony a neutrony obsadí, tím je pravděpodobnější že se jádro přemění na konfiguraci s nižší energií. O tom, zda bude jádro nestabilní, tedy rozhoduje poměr počtu protonů a neutronů a celkový počet nukleonů.

Jádra nestabilních atomů emitují radioaktivní záření a dochází pak zpravidla k přeměně na jiný prvek. Radioaktivitu rozlišujeme na přirozenou, tj. samovolný rozpad nestabilních jader na stabilní, a na umělou, kdy je rozpad jádra vyvolán umělým přidáním energie (α částic, nebo neutronů), čímž se jádro stane nestabilním (Šantrůček et al., 2014).

Záření α

Záření alfa je proud částic helia (alfa částic), které je tvořeno dvěma protony a dvěma neutrony a má kladný náboj $+2e$. K emisi alfa částic dochází během rozpadu velmi těžkých prvků jako je uran, radon nebo radium a uvolněná energie odpovídá úbytku hmotnosti systému. Nuklid, který emituje alfa záření, se na periodické tabulce prvků posune o dvě místa vlevo, jeho protonové číslo klesne o 2 a nukleové číslo klesne o 4. V procesu vypuzení částice se nuklid dostává do excitovaného stavu. Při přechodu zpět na svoji

základní energetickou hladinu emituje záření gama. Záření alfa je silně ionizující ale má malou pronikavost a lze jej odstínit například papírem.

Záření β

Záření beta je vyzařování elektronů nebo pozitronů. Jde o přirozené izobarické rozpadání jader, během kterého se nemění počet nukleonů. Záření β má sice oproti α záření větší pronikavost, ale je mnohem méně ionizující a lze jej odstínit hliníkovou fólií. K rozpadu β dochází, pokud má atom nadbytek kladně nebo záporně nabitých částic. Podle toho rozlišujeme dva možné scénáře rozpadu:

β^- - nadbytečný neutron se přemění na proton za vzniku elektronu a antineutrína. Při tomto procesu se protonové číslo zvyšuje o jedno a nukleové číslo se nemění. Oproti původnímu stavu se tedy atom posune v PSP o jedno místo vpravo.

β^+ - nadbytečný proton se mění na neutron za vzniku pozitronu a neutrína. Protonové číslo se snižuje o jedno a nukleové se nemění. Oproti původnímu stavu atomu dochází k posunu v PSP o jedno místo vlevo.

Poločas přeměny

Radioaktivní nuklid, který emituje alfa nebo beta záření podléhá přeměně na stabilnější nuklid (prvek). Tato přeměna se dá definovat pomocí poločasu přeměny $T_{1/2}$. Poločas rozpadu je doba, za kterou dojde k poklesu aktivity na polovinu, tedy dojde k přeměně poloviny všech atomárních jader v pozorovaném vzorku. Tato doba je velmi variabilní a pohybuje se řádově od sekund po miliony let. Často se setkáme s termínem poločas rozpadu. Tento pojem ale není tak přesný, protože ne všechny přeměny jader jsou nutně spojeny s rozpadem, například vyzáření fotonu z excitovaného jádra doprovázeného gama zářením (www-1).

Radioizotopové datování

Přirozené náchylnosti některých prvků k rozpadu se dá dobře využít k přesnému radioizotopovému datování. Pokud známe počáteční množství původních (mateřských) nuklidů daného prvku, a jsme schopni změřit množství přeměněných (dceřiných) izotopů, můžeme s pomocí jejich poměru a znalosti poločasu rozpadu $T_{1/2}$ určit stáří zkoumaného vzorku. Radiouhlíkové datování je jedna z nejznámějších metod, která využívá izotop uhlíku, tzv. **radiouhlík** ^{14}C , jehož poločas rozpadu $T_{1/2}$ je 5730 roků. Díky možnosti

porovnat zastoupení ^{14}C se stabilními izotopy uhlíku v biologických materiálech je toto datování dobře využitelné například v archeologii a antropologii a využívá se pro datování relativně nedávné historie a látek biologického původu. Při datování anorganických látek jako jsou horniny nebo minerály, kdy je třeba datovat v horizontu milionů let, lze využít například znalost rozpadových řad pro **izotop uranu ^{238}U** ($T_{1/2}=4,51 \cdot 10^9$ roků) nebo **izotop uranu ^{235}U** ($T_{1/2} = 7,1 \cdot 10^8$ roků).

V přírodě se také přirozeně vyskytují stabilní izotopy prvků (především C, O, N), které nepodléhají přeměně a nedají se tedy k radioizotopovému datování využívat. Nicméně právě stabilita izotopových poměrů zmíněných prvků je v paleolimnologii dobře využitelná pro identifikaci zdrojů organické hmoty jezerních sedimentů či rekonstrukci klimatických podmínek v minulosti. Výhradně těmto stabilním izotopům a jejich využití v paleoekologických studiích se v této práci budu nadále věnovat (www-2).

2.1 Izotopový poměr

U všech prvků platí, že jsou poměry jejich izotopů v přírodě nerovnoměrné a zejména u biogenních prvků můžeme pozorovat, že jejich těžší izotopy se vyskytují ve výrazně menším zastoupení než lehké izotopy.

Rozdíly v zastoupení různých izotopů téhož prvku popisujeme pomocí izotopového poměru. Jde o poměr mezi minoritním (většinou těžším) a majoritním izotopem a tento poměr je označován jako R:

$$R = \frac{\text{četnost minoritního izotopu}}{\text{četnost majoritního izotopu}}$$

Veličina R je bezrozměrná a četnosti jednotlivých izotopů můžeme dosadit v jakýchkoliv vhodných jednotkách (hmotnost, látkové množství, počet částic, aj.). Toto vyjádření výskytu izotopů v přírodě ale není z praktického hlediska příliš vhodné, protože se minoritní izotopy vyskytují ve velmi nízkém zastoupení: u biogenních prvků to zpravidla není více než 1 %. Z tohoto důvodu bylo zavedeno relativní vyjádření izotopového poměru. Poměr se zde vztahuje ke standardu, a ne k majoritnímu prvku. Je značen jako δ a je vyjádřen:

$$\frac{R_{\text{vz}} - R_s}{R_s} \cdot 1000 [\text{‰}],$$

kdy R_{vz} představuje izotopový poměr (R) vzorku a R_s izotopový poměr (R) standardu. Tento vztah nám ukazuje, jak se liší izotopový poměr zkoumané látky vůči izotopovému poměru některého mezinárodně uznávaného standardu. Výpočtem můžeme získat tři odlišné výsledky: $\delta > 0$ nám říká, že je pozorovaný vzorek vůči standardu o daný izotop obohacen, $\delta < 0$ že je pozorovaný vzorek oproti standardu ochuzen a $\delta = 0$ že pozorovaný vzorek i standard mají přesně stejné izotopové zastoupení (Šantrůček et al., 2014).

2.2 Izotopové standardy

Izotopové standardy jsou referenční materiály, které mají přesně definované izotopové složení a jsou používány pro udržení přesnosti v hmotnostních spektrometrických měřeních izotopových poměrů. Vzhledem k jejich důležitosti jsou standardy vytvářeny, udržovány a distribuovány několika mezinárodně uznávanými institucemi: Mezinárodní agenturou pro atomovou energii (IAEA), Národním institutem pro standardy a technologie (NIST), geologickým průzkumem USA (USGS) a Ústavem pro referenční materiály a měření (IRMM). Dále pak vysokými školami a vědeckými dodavatelskými společnostmi (Clark and Fritz, 1997).

Referenční materiály se začaly používat v polovině dvacátého století, kdy vzešly z několika laboratoří zaměřujících se především na geologické vědy. Postupně byly tyto materiály distribuovány na další výzkumná pracoviště s cílem zajistit srovnatelnost výsledků izotopových měření. Typickým případem je PDB (Peedee belemnite), standard pro izotopy kyslíku a uhlíku, který byl odebrán během exkurze v Jižní Karolíně Heinzem Lowenstamem a Haroldem Ureyem. Analýzou uhličitanu vápenatého fosilních schránek hlavonožců Urey et al. (1951) zjistili, že je tento materiál relativně izotopově jednotný a tato uniformita je přesně to, co je třeba pro izotopové referenční materiály. PDB je proto léta uznáván jako standard izotopů kyslíku a uhlíku (Brand et al., 2014).

V současnosti jsou používány čtyři hlavní mezinárodní standardy pro izotopové složení pro pět základních prvků využívaných v biologickém výzkumu (Tab. 1). Jako standardy byly vybrány přírodní, izotopově homogenní materiály, které jsou stabilní a nepodléhají změnám. Problém těchto látek je, že byly kvůli rozvíjejícímu se výzkumu masově těženy. Týká se to zejména křídových usazenin vápenatých schránek vodních měkkýšů Belemnoidea (belemnitů), používané pro poměr $^{12}\text{C}:^{13}\text{C}$ a $^{18}\text{O}:^{16}\text{O}$. Proto byly stanoveny nové standardy, které izotopicky odpovídají těm původním. Tyto nově

stanovené standardy byly vytvořeny ve spolupráci s IAEI a mají před názvem přiřazeno písmeno „V“ podle města Vienna, kde organizace sídlí a kde probíhají konzultační meetingy s cílem přezkoumat a srovnat kvalitu stávajících interkalibračních materiálů a posoudit případné nové materiály (IAEI, 1995).

Tab. 1 - Zastoupení izotopů podle mezinárodních referenčních standardů (Fry, 2006; upraveno)

	Ratio, H/L	Value, H/L	% H	% L
Standard Mean Ocean Water (SMOW)	$^2\text{H}/^1\text{H}$	0,00015576	0,015574	99,984426
	$^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$	0,0003799	0,03790	99,76206
	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	0,0020052	0,20004	99,76206
PeeDee Belemnite (PDB) Vienna-PDB (VPDB)	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	0,011180	1,1056	98,8944
	$^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$	0,0003859	0,0385	99,7553
	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	0,0020672	0,2062	99,7553
Air (AIR)	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	0,0036765	0,36630	99,63370

Poznámka: H – heavy (těžký izotop); L– light (lehký izotop)

2.2.1 Standardy pro stanovení $\delta^{13}\text{C}$

PDB je standard původně vyráběný z fosilních schránek mořského hlavonožce *Belemnitella americana*, což byl s největší pravděpodobností předchůdce dnešních sépií vyskytující se na území dnešní Jižní Karolíny (USA) v období svrchní křídly. Fosilie tohoto druhu byly nalézány především podél toku řeky PeeDee. Hlavonožci mají schránku redukovanou na destičku (rostrum), která je většinou tvořena uhličitánem vápenatým (Craig, 1957). PDB standard byl připraven tak, že vzorky uhličitánu vápenatého odebraného z PeeDee formací, byly vystaveny 100% kyselině fosforečné při 25 °C a uvolněný oxid uhličitý byl použit pro stanovení izotopového poměru kyslíku $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ i uhlíku $^{14}\text{C}/^{13}\text{C}$. Z důvodů širokého rozšíření a možnosti využití PDB pro měření kyslíkových i uhlíkových izotopů se těžitelná ložiska omezila na minimum a v dnešní době už je považován tento původní standard za vyčerpaný, navíc panovaly pochybnosti o jeho stabilitě, neboť se ukázalo, že po vytěžení podléhalo izotopové složení tohoto materiálu změnám. Nový standart NBS-20, který pocházel ze snadno dostupného Solnhofenského vápence, však také vykazoval nestabilitu, a byl nahrazen dalším standardem NBS-19: mramorem čili metamorfovaným karbonátovým materiálem neznámého geologického původu. S ohledem na vyčerpatelnost tohoto materiálu musel být nutně stanoven nově definovaný Vienna PDB (VPDB), který ale stejně jako Vienna SMOW nepochází z jednoho konkrétního existujícího přírodního materiálu, ale byl vytvořen tak, aby jeho složení odpovídalo NBS-19, NBS-20 a původních PDB. Při analýzách se dnes nejčastěji používají dva referenční materiály: NBS-19, který je oproti VPDB obohacené uhlíkem ^{13}C

o +1,95‰ a LSVEC, který je oproti VPDB o tento uhlík ochuzen o - 46,6‰. Použití těchto materiálů je výhodné, protože v přírodě může docházet k oběma jevům, ochuzení i obohacování (IAEI, 1995).

3. Frakcionace

3.1 Frakcionace a směšování, izotopový efekt (α)

Stavební prvky (C, O, N), a tudíž i jejich izotopy, podléhají neustálé frakcionaci, neboť vstupují do biochemických (zejména metabolických) procesů, kde k této frakcionaci dochází. Po odumření organismu, nebo během respirace se tyto prvky vrací zpět do původních zdrojů a tím dochází ke směšování. Frakcionace a směšování jsou tedy dva neoddelitelné procesy, které se navzájem doplňují a zajišťují recyklaci a distribuci izotopů skrz přírodní procesy. Ve světě izotopů může mít jeden či dva neutrony v jádře atomu prvku navíc velký vliv na to, jak bude reakce s tímto prvkem probíhat. Kinetika chemických reakcí je ovlivněna tak, že probíhají většinou rychleji, účastní-li se jich lehčí izotop prvku, protože pro lehčí izotopy je snadnější překonat energetickou bariéru nutnou k provedení reakce. Na druhou stranu v pevnějších a stabilnějších vazbách se koncentrují těžší prvky. Důvodem je méně pevná chemická vazba u lehkých oproti těžkým izotopům (Fry, 2006).

Abychom mohli určit, zda během biochemických reakcí dochází k frakcionaci a tím i rozdílu v izotopovém složení produktu, musíme porozumět *izotopového efektu* (α). Ten v podstatě vyjadřuje poměr lehkého a těžkého izotopu reaktantu (R_r) vůči poměru lehkého a těžkého izotopu produktu (R_p)

$$\alpha = \frac{R_r}{R_p}$$

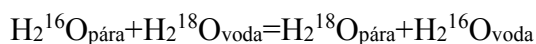
Podstatou této rovnice je jev, kdy produkt na konci reakce má jiné izotopové složení než materiál, který do této reakce vstupuje. Důvodem je, že rychlost chemické reakce závisí mimo teploty nebo koncentrace i na hmotnosti jader, a proto izotopy s rozdílnou hmotností ovlivňují rychlost, jakou chemická reakce proběhne. Pro snazší pochopení a interpretaci izotopového efektu (α) byla zavedena *izotopová diskriminace* (Δ), jejíž hodnoty vycházejí jako desetinné číslo blízké 1 a touto úpravou jsou proto výsledky více názorné:

$$\Delta = (\alpha - 1) \cdot 1000[\text{‰}]$$

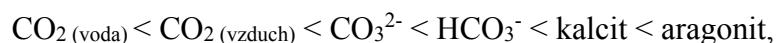
Izotopová diskriminace (Δ) nám pomáhá zjistit, zda docházelo k obohacení či ochuzení izotopu v průběhu reakce (Šantrůček et al., 2014).

3.2 Hlavní mechanismy frakcionace

Všechny frakcionační procesy vedou k diskriminaci, kdy výsledný produkt bude o konkrétní izotop ochuzen. Hlavní mechanismy frakcionace jsou (i) rovnovážné (termodynamické) výměnné reakce (rovnovážná frakcionace) a (ii) kinetika spojená s nevratnými fyzikálními či chemickými reakcemi (kinetická frakcionace). Rovnovážné výměnné reakce jsou závislé na teplotě tak, že rostoucí teplota snižuje rozsah frakcionace. Příkladem takové rovnovážné frakcionace je výpar/kondenzace vody, kde:



Pokud však páru odstraníme a zabráníme kondenzaci, začne se uplatňovat kinetická frakcionace (Peters et al., 2005). Např. při výparu z oceánů se snadněji uvolňuje lehký izotop ^{16}O a tato lehká pára je strhávána vzdušnými proudy dál na kontinent. Kondenzační jádra se však snadněji tvoří kolem těžších izotopů, proto se při následném vypršení atmosféra ochuzuje o těžké izotopy (proto je například déšť izotopicky nejtěžší u pobřeží a jak se zvětšuje vzdálenost od oceánu je izotopicky lehčí). Rovnovážných chemických reakcí se také účastní izotopy uhlíku, jde o reakce mezi různými druhy uhlíku v atmosféře (CO_2), hydrosféře (rozpuštěný CO_2 , HCO_3^- , CO_3^{2-}) a minerálech (CaCO_3). Při frakcionaci mezi těmito druhy uhlíku dochází k obohacení o ^{13}C v relativním pořadí (Zhang et al., 1995):



kdy frakcionace mezi v přírodních vodách rozpuštěným hydrogen uhličitánem a karbonátovými minerály je velmi malá, zato významná je frakcionace způsobující na teplotě závislé obohacení ^{13}C v hydrogenuhlíčitanech v porovnání s atmosférickým CO_2 . Tuto teplotně závislou frakcionaci popsal již v roce 1967 Deuser (1967): frakcionace izotopu uhlíku mezi plynným CO_2 a rozpuštěným HCO_3^- klesá z $\delta^{13}\text{C}$ 9,2 na 6,8‰ s tím, jak roste teplota od 0 do 30°C. Při experimentech však bylo zjištěno, že k frakcionaci nedochází při průchodu CO_2 přes rozhraní vzduch-voda, ale až při hydrataci CO_2 vodou (Deuser and Degens, 1967).

Kinetika chemických reakcí se ve frakcionaci uplatňuje zejména v biochemických procesech: fotosyntéze a bakteriálním rozkladu organické hmoty. Tento způsob frakcionace kontroluje vazebná energie chemických látek: molekuly obsahující lehký izotop mají větší rychlost a menší vazebnou energii, a proto reagují rychleji než molekuly s těžkým izotopem. Důležitou roli hraje také pevnost chemických vazeb: těžké izotopy v pevných chemických vazbách se méně ochotně účastní reakce. Proto u biogenních prvků v zásadě platí, že minoritní je v produktu reakce vždy těžší izotop pozorovaného prvku. Frakcionace vycházející z kinetických izotopových efektů obecně převyšují frakcionace vyplývající z rovnovážných procesů (Peters et al., 2005).

4. Procesy diskriminace ^{13}C

4.1 Fotosyntéza

Jezerní sedimenty jsou v různé míře spolutvořeny terestrickým rostlinným materiálem a pro správnou interpretaci sedimentárního izotopového složení musíme chápat, jaký izotopový signál tento terestrický materiál do sedimentů přináší – musíme chápat princip izotopové diskriminace uhlíku v procesu fotosyntézy. Rostliny jsou primární producenti a energii získanou ze slunečního záření převádějí na energii chemických vazeb sacharidů. Ty jsou pak využívány jako stavební materiál a jako zdroj energie pro růst a udržení homeostázy. Fotosyntézu tvoří dvě hlavní fáze – světelná a temnostní. Světelná (primární) fáze přeměňuje světelnou energii na chemickou a probíhá v thylakoidech (strukturách chloroplastů), kde se světelné záření zachycuje. Během této fáze dochází za pomoci energie získané ze slunečního záření k rozkladu vody na kyslík a vodíkové ionty za uvolnění elektronů, které slouží k tvorbě energetizovaných molekul jako je NADPH a ATP, sloučenin nezbytných pro redukci oxidu uhličitého v temnostní fázi fotosyntézy. Kyslík je odpadní produkt reakce ve světelné fázi. Během temnostní fáze rostlina využije energetizované molekuly na rozklad CO_2 a H_2O a dochází k tvorbě sacharidů (Lawlor, 1993).

Během 30. let 20. stolní, když se začal využívat poměrový hmotový spektrometr, Ehlinger et al. (1993) zjistili, že v každé rostlině dochází k diskriminaci ^{13}C na úkor ^{12}C oproti izotopovému poměru uhlíku v okolní atmosféře. Primární zdroj uhlíku pro všechny následné biologické procesy se do potravní sítě dostává právě z atmosférického CO_2 (již ten je oproti VPBD ochuzen o ^{13}C $\delta = -7,0 \text{ ‰}$) díky procesu fotosyntézy, a právě v jejím

průběhu dochází k nejvýznamnější diskriminaci ^{13}C . V průběhu dalších potravně-detritových interakcí už se jeho zastoupení tak výrazně nemění. Proto živočichové, kteří se rostlinami živí a živočichové na dalších úrovních potravního řetězce, budou mít ve svých tělech izotopovou stopu převzatou z těchto rostlin (Šantrůček et al., 2014). Výsledná hodnota diskriminace ^{13}C je závislá na souhrnu všech metabolických jevů, ke kterým v rostlině dojde a je proto velmi komplexní a složitá. Každá z hlavních skupin rostlin (C3, C4 a CAM) má vlastní metabolickou cestu fixace CO_2 z atmosféry a diskriminuje ^{13}C odlišně. Navíc je tato variabilita patrná i uvnitř skupin mezi jednotlivými druhy. Rozdílná diskriminace ^{13}C napříč rostlinným světem je však pro konkrétní skupiny charakteristická, a proto ji lze využít k přesnější identifikaci rostlin a přispívá k lepšímu pochopení toho, jak jednotlivé skupiny rostliny pracují (O'Leary, 1981). Prvním krokem ve fixaci vzdušného CO_2 do biomasy je difúze po koncentračním gradientu z okolí přes mezní vrstvu a rostlinné průduchy do fotosyntetických reakčních center. Difuzivita $^{13}\text{CO}_2$ je v atmosféře průměrně o 4 ‰ menší než difuzivita molekuly $^{12}\text{CO}_2$, což je způsobeno větší molekulovou hmotností molekuly obsahující uhlík ^{13}C . Frakcionace při difúzi může být výrazně ovlivněna okolní atmosférou a typem proudění vzduchu okolo listu. Například při převažujícím laminárním proudění v okolí listu je hodnota diskriminace při difúzi pouze 2,9 ‰. Obecně lze ale říci, že vyšší molekulová hmotnost molekuly $^{13}\text{CO}_2$ má za následek menší ochotu této molekuly k difúzi do listu a dochází k první diskriminaci ^{13}C při pohybu přes průduchovou šterbinu listu (~4,4 ‰). V dalším kroku je CO_2 enzymaticky asimilováno jako karboxylová skupina v organické kyselině. V jakém rozsahu dojde k frakcionaci při tomto kroku, závisí především na mechanismu, jakým je CO_2 asimilován (Ehlinger et al, 1993).

4.1.1 Mechanismy fixace CO_2 terestrických rostlin

Calvinův cyklus C3 rostlin je mechanismus, který způsobuje největší diskriminaci proti ^{13}C a tato skupina rostlin je tedy ve výsledku o těžší izotop nejvíce ochuzena. C3 rostliny využívají ke karboxylaci CO_2 enzym ribulosa-1,6-bisfosfát-karboxylázu (RuBisCo): 3 molekuly CO_2 reagují se 3 molekulami 1,5-bisfosfátu za vzniku 6 molekul 3-fosfoglycerátu. Během tohoto procesu dochází k nejvýraznější diskriminaci ^{13}C a hodnota $\delta^{13}\text{C}$ rostlinné biomasy se tak pohybuje v rozmezí -27 až -30 ‰ (Obrázek 1). ^{13}C je díky své vyšší molekulové hmotnosti méně reaktivní, a proto i méně ochotně reaguje s enzymem Rubisca. Na výslednou hodnotu diskriminace (Δ) ale může mít vliv řada

faktorů okolí, jako například teplota, pH a vodní bilance. Podle některých studií je při vyšší teplotě výsledná $\Delta^{13}\text{C}$ rostlin s metabolismem C3 i C4 vyšší o $\sim 2\%$. Skupiny rostlin mají však rozdílnou anatomickou strukturu, která se vyvinula jako adaptace na klima, ve kterém žijí. Tyto adaptace je zároveň předurčují k rozdílným mechanismům fixace CO_2 . Zatímco fotosyntéza rostlin C3 probíhá celá v chloroplastu (světelná fáze v thylakoidech, Calvinův cyklus v prostorech mezi thylakoidy), tak rostliny C4 se přizpůsobily subtropickému podnebí, které je charakteristické vyšší teplotou a kde je fyziologie C3 rostlin neefektivní. V souvislosti s těmito adaptacemi ukládají do své biomasy C4 rostliny znatelně více těžkého izotopu uhlíku ^{13}C (Farquhar et al., 1989).

U C4 rostlin je difundující CO_2 po průchodu skrz stomata do mezofyly rozpuštěn ve vodním prostředí buňky za vzniku hydrogenuhličitanu HCO_3^- . Jak již víme, frakcionace při hydrataci CO_2 na H_2CO_3 , jež okamžitě disociuje na HCO_3^- vede k obohacení ^{13}C o 6,8 až 9,2‰ v závislosti na teplotě (Deuser, 1967). Když tedy dojde v buňce k chemické rovnováze mezi HCO_3^- a plynným CO_2 , je většina těžšího izotopu uhlíku navázaná v hydrogenuhličitanu $\text{H}^{13}\text{CO}_3^-$ ($\delta^{13}\text{C} = +9\%$), a prostředí buňky je v tuto chvíli oproti atmosféře obohaceno o těžší izotop. Uvnitř buněk mezenchymu dochází k prvotní karboxylaci pomocí enzymu PEP karboxylázy, při které diskriminace $\Delta^{13}\text{C}$ činí 2‰. Vzniká primární produkt ve formě organických kyselin – oxalacetát, který je posléze přeměněn na malát (bez zisku energie pro rostlinu). Celý proces $\text{CO}_2 - \text{HCO}_3^- - \text{malát}$ tak vede k výsledné diskriminaci $\Delta^{13}\text{C} \sim -5,7\%$. Vzniklý malát je transportován do buněk pochev cévních svazků (které jsou pro CO_2 nepropustné), kde dojde k dekarboxylaci a uvolnění CO_2 . Během tohoto procesu nedochází téměř k žádné frakcionaci a izotopové složení uhlíku se tedy nemění. Uvolněné CO_2 vstupuje do Calvinova cyklu za katalýzy Rubiscem. Hatchův-Slackův cyklus C4 rostlin umožňuje velmi účinně dodávat CO_2 k enzymu RuBisCO a udržovat vysoké koncentrace CO_2 v buňkách svazkových pochev (Farquhar et al., 1989).

Karboxylace CO_2 Rubiscem na rozdíl od C3 rostlin probíhá právě v buňkách pochev cévních svazků a je tak fyzicky oddělena od buněk mezenchymu, místa produkce kyslíku. To je důležité, neboť Rubisco katalyzuje jak karboxylaci CO_2 , tak ale i zároveň reakci ribulosa-1,5-bifosfátu s molekulou kyslíku (tzv. fotorespirace). Při této reakci vzniká nestabilní pěti uhlíkatý meziprodukt, který se okamžitě rozpadá na tři uhlíkatý 3-fosfoglycerát (vstupuje do Calvinova cyklu) a dvou uhlíkatý 2-fosfoglykolát, jež je dál

metabolizován a většinou rozložen až na CO₂ a při respiraci opouští rostlinu. Fotorespirací tedy dochází ke ztrátám cenného substrátu pro vznik organických látek. Míra fotorespirace je ovlivněna jednak koncentrací CO₂ (u C₃ rostlin probíhá karboxylace/oxidace Rubiscem v poměru 4:1, při nízkých koncentracích CO₂ a vysokých koncentrací kyslíku může ale fotorespirace převládnout), teplotě a intenzitě osvětlení (oboje zvyšuje fotorespiraci). Oproti C₃ rostlinám mají C₄ sice jen třetinu Rubisca, ale díky tomu, že je enzym uzavřen v buňkách cévních svazků a nedochází tak k fotorespiraci, je jeho účinnost vyšší než u C₃ rostlin. Proto je Rubisco C₄ rostlin schopno asimilovat téměř všechny dodaný CO₂. Díky této fyziologické adaptaci si C₄ rostliny zajistily vysokou účinnost fotosyntézy v podmínkách vysokých teplot (Farquhar et al., 1983).

Buňky pochev cévních svazků jsou pro CO₂ nepropustné, přesto část HCO₃⁻ a CO₂ z nich uniká zpět do buněk mezofylu, kde se mísí s CO₂ difundovaným skrz stomata. Protože objem uniklého CO₂ byl již dříve vystaven pozitivní diskriminaci (viz výše proces CO₂ – malát), obsahuje proto větší množství těžšího izotopu ¹³C, a při smísení s čerstvým CO₂ se tvoří směs CO₂, která je oproti atmosférickému CO₂ obohacena o ¹³C. Velikost úniku CO₂ se liší v závislosti na mnoha faktorech, jako je věk rostliny nebo podtyp C₄ mechanismu. Čím menší je únik zpět do mezofylu, tím více je izotopické složení podobné C₃ rostlinám. Celý tento jev společně s kombinací pozitivní diskriminace na začátku fixace CO₂ a negativní diskriminace Rubiscem má za následek vyšší hodnoty ¹³C v biomase C₄ rostlin: δ¹³C= -12 až -16‰ (Farquhar et al., 1989) (Obrázek 1).

CAM cyklus využívají rostliny, které se vyskytují v pouštním prostředí a jsou adaptovány na velké teplotní rozdíly. V těchto oblastech je hlavní problém nedostatek vody a na to jsou rostliny adaptovány, mimo jiné, tím, že fixují CO₂ z atmosféry primárně v noci, kdy teplota klesne a nedochází k takovým ztrátám vody. Ráno, když teplota začne stoupat, svoje průduchy uzavřou a zpracovávají oxid uhličitý, který přes noc nasbíraly, v takřka uzavřeném prostředí. Difundovaný CO₂ je podobně jako u C₄ rostlin rozpuštěn ve vodním prostředí buňky za vzniku hydrogenuhličitanu HCO₃⁻, který je během noci tedy fixován do oxalacetátu s využitím enzymu PEP-karboxylázy. Tento primární produkt je následně přeměněn na malát, který je uchovávan ve vakuolách pro pozdější použití během doby, kdy se rostlina izoluje od okolí uvařením průduchů. Uhlík z malátu je pak uvolněn a znovu navázán na Rubisco. Tento systém připomíná způsob, jakým operují C₄ rostliny a také izotopový popis CAM rostlin má blíže k C₄ systému. Ovšem pokud se zmenšují zásoby hydrogenuhličitanu už během dne, začne rostlina přijímat nový CO₂ z atmosféry a

ke slovu se dostává přímo Rubisco. V takovém případě byla zjištěná hodnota $\delta^{13}\text{C}$ biomasy rostliny -21‰ , což se blíží právě C3 rostlinám. Pokud však rostlina hospodařila se zcela uzavřenými průduchy, tvořila rostlina biomasu $\delta^{13}\text{C} = \sim -3\text{‰}$ (v laboratorních podmínkách mohla pozorovaná rostlina vázat CO_2 pouze v noci). Na to, jak se rostlina posouvá na spektru mezi C3 a C4 systémem má vliv mnoho faktorů jako je teplota a aktuální dostupnost vody. CAM rostliny jsou tedy díky své adaptibilitě na okolní prostředí na škále diskriminace ^{13}C někde mezi C3 a C4 systémem (Farquhar et al., 1989).

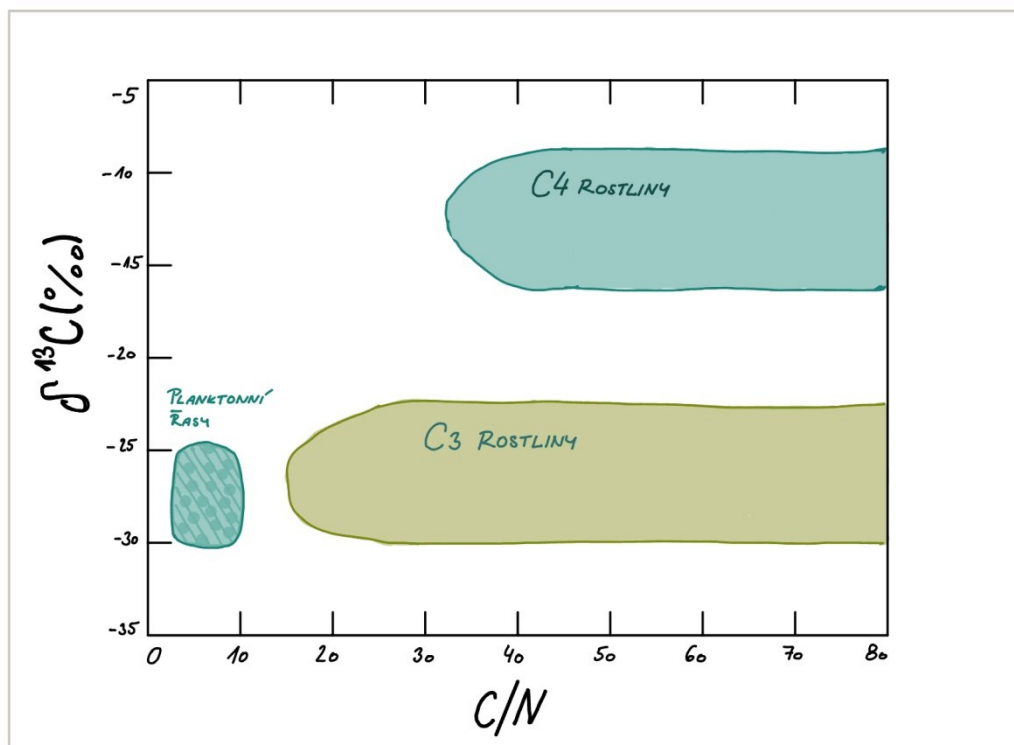
4.1.2 Fixace CO_2 akvatickými rostlinami

Ve vodním prostředí převažují rostliny s C3 metabolismem, nicméně zjištěné hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ jejich biomasy se pohybují v rozmezí od -11‰ až do -39‰ , což odpovídá rozsahu obou hlavních skupin rostlin, C3 i C4. Během difúze CO_2 ve vodě dochází jen k malé diskriminaci $\Delta^{13}\text{C} = 0,7\text{‰}$. Je potřeba si ale uvědomit, že vodní rostliny nevyužívají uhlík pouze ve formě rozpuštěného CO_2 , ale také jako hydrogenuhličitan, který je součástí uhličitanového systému nádrže. Hydrogenuhličitanu jsou však v důsledku hydratace CO_2 pozitivně obohaceny $\delta^{13}\text{C}$ v závislosti na teplotě o $+9,2$ až $+6,8\text{‰}$. V případě, že vodní rostlina využívá jako zdroj C pro fotosyntézu hydrogenuhličitan, bude její biomasa méně ochuzena o těžký ^{13}C než u terestrických rostlin (Clark and Fritz, 1997).

4.1.3 Primární produkce fytoplanktonu

Fytoplankton je rozmanitá skupina mikroorganismů, sestávající především z řas, sinic a některých druhů bakterií. Jsou schopni fotosyntézy a jejich činností je tvořena podstatná část primární produkce jezera. Hodnota $\delta^{13}\text{C}$ fytoplanktonní biomasy se pohybuje průměrně v rozmezí -30‰ až -25‰ (Obrázek 1). Při vhodných podmínkách, např. dostatečné množství živin, světla, rozpuštěného CO_2 atd. se bude výsledná hodnota $\delta^{13}\text{C}$ biomasy fytoplanktonu pohybovat v uvedeném rozmezí, naopak při horší dostupnosti živin, nebo malém množství rozpuštěného CO_2 , bude vznikající biomasa o ^{13}C obohacenější (Mayers, 1997). Při nedostatku CO_2 během intenzivní fotosyntézy bude totiž fytoplankton nucen využívat i $^{13}\text{CO}_2$ případně i HCO_3^- a tím pádem bude tvořit biomasu obohacenou o těžký ^{13}C (Leng and Marshall, 2004). Výsledná hodnota $\delta^{13}\text{C}$ OM pocházející z primární produkce může ale někdy dosahovat až -47‰ . Může k tomu dojít v období, kdy docházelo v povodí jezera k intenzivní respiraci, například z důvodu velkého zalesnění. Ve vodě je rozpouštěn izotopicky lehký CO_2 , vznikající respirací jak v jezeru, tak jeho povodí a který po asimilaci fytoplanktonem může tvořit o $\delta^{13}\text{C}$ silně ochuzenou biomasu (Mayers and Vallier-Vergès, 1999).

Nedílnou součástí fytoplanktonu jsou také sinice. Na membráně thylakoidů, kde probíhá fotosyntéza, je přichycena bílkovinná struktura fykobilizom, díky které je sinice schopna se přizpůsobit i špatným světelným podmínkám, které by jinak pro průběh fotosyntézy nebyly dostatečné. Tím získávají konkurenční výhodu oproti ostatním zástupcům fytoplanktonu. Diskriminace RuBisCem během asimilace uhlíku se u sinic v porovnání s ostatními planktonními řasami liší. RuBisCo sinic diskriminuje proti ^{13}C méně než RuBisCO planktonních řas, a proto bude biomasa sinic vykazovat vyšší $\delta^{13}\text{C}$ (~8‰) (Leng and Marshall, 2004). Pokud tedy jsme schopni v sedimentu rozlišit organickou hmotu pocházející z planktonu od terestrické (viz C:N poměr), můžeme z vyššího $\delta^{13}\text{C}$ usuzovat na intenzivní fotosyntézu z důvodu vysoké primární produkce nebo na dominanci sinic.



Obrázek 1 – Poměrné zastoupení $\delta^{13}\text{C}$ a C:N v hlavních skupinách tvořících rostlinnou biomasu (převzato z Mayers, 1997, upraveno)

4.2 Mikrobiální procesy diskriminující ^{13}C

4.2.1 Aerobní organotrofní organismy

Na diskriminaci ^{13}C mají vliv i mikrobiální procesy a různé skupiny mikroorganismů diskriminují izotopy uhlíku v různé míře. Mikroorganismy jsou obrovskou skupinou, která má přímý vliv na koloběh uhlíku jak v terestrických, tak v akvatických ekosystémech. Heterotrofní mikroorganismy, které se podílejí především na rozkladu odumřelé organické hmoty, uvolňují uhlík dříve vázaný autotrofními organismy. Uvolněný organický uhlík je následně mikroorganismy zabudován do jejich těl anebo je uvolněn do okolí (respirací jako CO_2 nebo jako různé produkty metabolismu) a tím se stává dostupným pro další organismy. Stejně jako u rostlin, existuje i u mikroorganismů mnoho faktorů, které determinují, v jaké míře bude diskriminace těžšího izotopu uhlíku při jeho spotřebě probíhat. Největší vliv mají pravděpodobně teplota a dostupnost uhlíku, přičemž oba faktory ovlivňují diskriminaci ^{13}C nezávisle. Během začleňování uhlíku do biomasy mikroorganismů platí, že čím je teplota nebo dostupnost uhlíku menší, tím větší bude diskriminace ^{13}C . Mikrobiální efektivita využití uhlíku (CUE – microbial C use efficiency) je dána specifickou růstovou rychlostí a specifickou rychlostí respirace mikroorganismu a je vyjádřena v jednotkách nově zabudovaného uhlíku na mikrobiální C-biomasu za jednotku času. Růst teploty výrazně snižuje CUE, a za kontrolovaných experimentálních podmínek, kdy byla specifická rychlost růstu bakteriální kultury při různých teplotách neměnná a dostupnost C vysoká, bylo prokázáno, že za pokles v efektivitě využívání C je zodpovědná právě zvýšená specifická respirační rychlost SRR (Min et al., 2016). Při vyšší teplotě totiž dochází k tomu, že větší část přijatého uhlíku je přeměrována do respiračních drah (namísto zabudování do biomasy), kde dochází k několikanásobné a pravděpodobně i souběžné enzymatické diskriminaci ^{13}C . Samotná enzymatická diskriminace spojená s vyšším tokem uhlíku přes respirační dráhy při vyšších teplotách způsobuje o cca 4,4‰ větší $\delta^{13}\text{C}$ ve vyrespirovaném CO_2 ve srovnání s $\delta^{13}\text{C}$ mikrobiální biomasy. K frakcionaci však dochází už mezi mikrobiální biomasou a substrátem a děje se z velké části v důsledku upřednostnění ^{12}C proti ^{13}C během příjmu substrátu – bakterie spíše přijímá ze substrátu lehčí uhlík. Odumřelá rostlinná hmota jako největší zdroj uhlíku pro mikroorganismy vykazuje $\delta^{13}\text{C}$ průměrně kolem -25‰. V důsledku diskriminace při příjmu C pak mohou aerobní organotrofní bakterie tvořit biomasu s $\delta^{13}\text{C}$ od cca -35‰ až do cca -30‰, právě v závislosti na teplotě. V teplotním rozmezí 13°C - 16°C tvoří nejvíce ochuzenou biomasu cca -35‰ při 13°C a méně ochuzenou cca -30‰ při 16°C. Stejně je tomu i v rozmezí

teplot 18°C - 24°C: biomasu nejvíce ochuzenou o ^{13}C tvoří mikroorganismy při 18°C (~ -35‰) a méně ochuzenou při 24°C (~ -30‰). Mikrobiální biomasa aerobních bakterií tak může mít o 5,5 až 10,5‰ více negativní $\delta^{13}\text{C}$ než substrát, který využívají. Pokud by šlo o fyzikální diskriminaci na základě snadnější difúze lehčího izotopu ze substrátu k centřům příjmu uhlíku v membráně bakteriálních buněk, pak by se tato daná diskriminace spojitě měnila s teplotou. Rozdíly v $\delta^{13}\text{C}$ mezi substrátem a biomasou se však mění během teplotního gradientu skokově, nespojitě, a to naznačuje, že diskriminace při příjmu C-substrátu je daná enzymaticky, kdy se náhle podle změny teploty reorganizují enzymy zodpovědné za příjem uhlíku (Lehmeier et al., 2016).

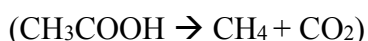
Podobně se mění diskriminace proti ^{13}C při nedostatku C-substrátu. Když se dostupnost C sníží, mikroorganismy mohou upravit svou schopnost přijímat C, a to tak, že při nízké dostupnosti uhlíku budou mít vyšší afinitu k příjmu C, a naopak při vysoké dostupnosti C budou mít nízkou afinitu k příjmu C (Ferenci, 1999). Afinita k příjmu C (uptake affinity), se často definuje jako poměr maximální rychlosti příjmu C a poloviční saturační koncentrace C, a odráží citlivost reakce příjmu na změnu dostupnosti C při nízkých absolutních koncentracích. Vysoká afinita k příjmu uhlíku při relativně nízké dostupnosti C je však pro mikroorganismy energeticky náročnější než strategie nízké afinity při dostatku C. Změna afinity k příjmu C mění i míru diskriminace ^{13}C během procesu příjmu uhlíku a následně tak ovlivňuje $\delta^{13}\text{C}$ mikrobiální biomasy. Částečně to lze vysvětlit tím, že se při rozdílné afinitě příjmu uhlíku uplatňují rozdílné transportní dráhy, které mohou vykazovat různý stupeň izotopové frakcionace C (Hen and Chapela, 2000). I kdyby však metabolické dráhy příjmu uhlíků obou systémů (vysoké a nízké afinitě příjmu C) měly stejný účinek na frakcionaci, přesto bude výsledná hodnota $\delta^{13}\text{C}$ biomasy mikroorganismů s vysokou afinitou větší než $\delta^{13}\text{C}$ biomasy mikroorganismů s nízkou afinitou. Tím, že se systém posune z nízké afinity do vysoké, zvýší se i rychlost příjmu uhlíku a tím i jeho průtok mikrobiálním systémem. Příjem uhlíku je, jak je již psáno výše, enzymaticky řízený proces, který vede k diskriminaci ^{13}C . Proto, čím intenzivnější (rychlejší) bude příjem uhlíku, tím větší diskriminace nastane, a mikrobiální biomasa bude vykazovat o to více negativní $\delta^{13}\text{C}$. Při využití substrátu rostlinného původu s hodnotou $\delta^{13}\text{C}$ -25‰ tvoří mikroorganismy s vyšší afinitou k příjmu C biomasu v rozpětí $\delta^{13}\text{C}$ cca -34 až -37‰ v závislosti na teplotě (více negativní hodnoty při nízké teplotě), kdežto mikroorganismy s nižší afinitou (dostatkem C-substrátu) tvoří biomasu s hodnotou $\delta^{13}\text{C}$

okolo -31‰ (s výjimkou nízkých teplot, kdy $\delta^{13}\text{C}$ biomasy může být až -37‰) (Min et al., 2016).

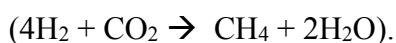
4.2.2 Metanogeneze

Metanogeneze představuje poslední krok rozkladu organické hmoty. Na počátku dekompozice organické hmoty jsou využity všechny dostupné akceptory elektronů od kyslíku až po nitráty nebo sulfáty a v prostředí se akumuluje H_2 a CO_2 jako produkty dekompozice. V další fázi rozkladu organických látek však již může dojít k vyčerpání všech elektronových akceptorů s výjimkou CO_2 . Za takových podmínek již probíhá anaerobní rozklad – fermentace, která umožňuje rozklad složitých organických látek na jednodušší, jako jsou alkoholy, masné kyseliny nebo kyselina octová. Tyto meziproducty rozkladu umí efektivně využít metanogenní bakterie: biochemicky jde vlastně o anaerobní respiraci, kde na konci elektron-transportního systému nestojí jako akceptor elektronu kyslík, ale CO_2 (Thauer, 1998). Pro vznik biogenního metanu je tedy nezbytné anaerobní prostředí a dostatek organického C-substrátu bez výskytu dalších elektronových akceptorů jako je NO_3^- nebo SO_4^{2-} . Takové podmínky můžeme nejčastěji nalézt v mokřadech, bažinách a sedimentech. Mikroorganismy využívají k produkci metanu dvě hlavní cesty, během nichž se uplatňuje soustava koenzymů a katalyzátorů (F420, koenzym M, koenzym B, methofuran) (Thauer, 1998):

- acetotrofní cesta redukce acetátu (nebo metylovaných substrátů):



- hydrotrofní cesta redukce vodíku a oxidu uhličitého:



Množství produkovaného metanu pak závisí na typu výchozího C-substrátu. V případě, kdy byl substrátem pro vznik metanu CO_2 (hydrotrofní cesta), byl pozorován silný izotopový separační efekt (rozdíl mezi $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$ a $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$) $\epsilon_C 75 \pm 15$, který vedl ke vzniku metanu s $\delta^{13}\text{C}$ až -110‰, protože metanogenní bakterie využívají přednostně ^{12}C (Clark and Fritz, 1997, Whiticar, 1999). Naproti tomu separační efekt během acetotrofní cesty vzniku metanu byl nižší, mezi $\epsilon_C 40$ až 60 , a hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ v produkovaném metanu se pohybovaly mezi -50‰ až -60‰. Maximální množství H_2 v poměru k acetátu, které může během degradace organických látek vzniknout, jsou 4 mol H_2 a 2 mol acetátu na mol glukózy, tzn. H_2 a acetáty jsou během rozkladu organických látek tvořeny v poměru 2:1.

Na tvorbu jedné molekuly CH₄ je zapotřebí 4 molekul H₂ ale jen jedna molekula acetátu, proto může hydrotrofickou cestou vznikat pouze 33% metanu (Conrad, 1999, Conrad et al., 2007). Tyto hodnoty se mohou lišit podle konkrétního jezera, jak ukázal například výzkum dvou jezer v Amazonii, kde byla zjištěna jako dominantní cesta vzniku metanu redukce CO₂ (až 63%). Je proto vhodné zjistit pro každé jezero hodnoty δ¹³C vzniklého metanu samostatně, vypočítat přesný frakcionační faktor a určit převládající metagenetickou cestu (Conrad et al., 2010). Hlavní diskriminace uhlíku u metanogenních bakterií probíhá při respiraci metanu, který je výrazně ochuzen o ¹³C oproti substrátu, což znamená, že při zabudování C do biomasy metanogenů k výrazné diskriminaci nedochází. Pokud by byla populace metanogenních bakterií výraznou složkou sedimentů, izotopový signál jejich biomasy by nebyl rozlišitelný. Nicméně jimi produkováný metan, který je extrémně ochuzen o těžký izotop ¹³C, je zdrojem uhlíku pro metanotrofní bakterie, a to se odrazí v izotopovém signálu jejich biomasy.

4.2.3 Aerobní metanotrofie

Metanotrofní bakterie jsou aerobní mikroorganismy, které mají schopnost zpracovat a využít metan jako svůj jediný zdroj uhlíku a energie. Sedimenty vodních ekosystémů produkují metan v hlubších vrstvách, kde panuje anaerobní prostředí, ebuluje k povrchu, kde je na rozhraní voda-sediment nebo ve vodním sloupci oxidován metanotrofními bakteriemi. Biogenní metan se tak stává důležitým zdrojem energie pro metanotrofní bakterioplankton a následně pro celý potravní řetězec, neboť metanotrofní organismy slouží jako důležitý zdroj potravy pro zooplankton a larvy hmyzu (Conrad, 2009). Jde o rozsáhlou skupinu organismů, které můžeme najít po celé planetě a hojně se vyskytují, kromě stojatých vod, například v řekách, bažinách či rýžových polích. Podskupinou metanotrofních bakterií jsou metylotrófní mikroorganismy, jak aerobní, tak anaerobní, které jako substrát uhlíku využívají metanol a jiné metylované skupiny (Lidstrom, 2006). Základní charakteristikou metanotrofních je přítomnost enzymu metan-monooxygenázy (MMO), který katalyzuje oxidaci metanu na metanol během procesu získávání energie. Existují dva typy tohoto enzymu: (i) membránová (particulate) MMO (pMMO) navázaná na membránu, je produkována všemi metanotrofními bakteriemi, pokud mají dostatek mědi (Cu), a (ii) cytoplazmatická (soluble) MMO (sMMO), která se nachází v cytoplazmě buněk a některé metanotrofní bakterie jsou schopny ji produkovat při nízkém obsahu Cu (Lidstrom, 2006, Cook et al., 1996). Takto vzniklý metanol (CH₃OH) je buď pomocí enzymu metanol-dehydrogenázy přeměněn na formaldehyd (CH₂O, resp. HCHO), který je

následně různými způsoby asimilován pro tvorbu biomasy, nebo je využit katabolicky (produkce CO₂). Metanotrofní bakterie se dělí na tři hlavní skupiny: **Typ I, typ II a typ X**, které se liší fyziologií (uspořádáním specifického membránového systému, v němž se pMMO nachází), a právě metabolickou cestou asimilace formaldehydu. **Typ I a X** mají membránový systém uspořádán do svazků diskovitých váčků po celé buňce a využívají k asimilaci uhlíku z formaldehydu primárně cyklus ribulósa-monofosfát (RuMP). Typ X je schopen v omezené míře asimilovat i CO₂ s využitím enzymu RuBisCo v Calvinově cyklu. **Typ II** má membránový systém uspořádán kolem stěn buňky a fixace uhlíku z formaldehydu probíhá dvěma cestami: 50 až 70% bakteriální biomasy je tvořeno uhlíkem asimilovaným primárně v serinovém cyklu, zbytek z CO₂ fixovaného pomocí PEPc (Hanson and Hanson, 1996). Metanotrofní bakterie typu I se převážně nachází ve vodním prostředí a jsou nejlépe přizpůsobeny růstu při nízké koncentraci metanu, zatímco metanotrofy typu II nalezneme v půdách, kde jsou přizpůsobeny vysoké koncentraci metanu a nízké hladině kyslíku a mědi (Singh et al., 2007, Hanson and Hanson, 1996). Co ale stojí za izotopovou frakcionací uhlíku u metanotrofů, je to způsob asimilace uhlíku, typ MMO nebo hustota buněk?

Templeton et al., (2006) prováděli řadu experimentů na čistých (konkrétní druh bakterie typu I a konkrétní druh bakterie typu II) i směsných kulturách (směs bakterií typu II) metanotrofních bakterií v laboratorním prostředí s kontinuálním přítokem CH₄ s $\delta^{13}\text{C}$ -22‰. Pokusy ukázaly, že významnou roli při frakcionaci hraje hustota buněk, resp. podíl celkového CH₄ oxidovaného za jednotku času, který právě s hustotou buněk bakteriálních kultur silně koreluje. Při hustotě buněk nižší než 0,1g/l byl zaznamenán frakcionační faktor $\alpha_{\text{CH}_4\text{-CH}_3\text{OH}}$ vyšší než 1,03, avšak při hustotě buněk vyšší než 0,5g/l se snížil až na hodnotu 1,002. Při nízkých hustotách buněk omezuje množství oxidovaného CH₄ nízká koncentrace MMO, zatímco při vyšších hustotách buněk se celková rychlost oxidace CH₄ zvyšuje natolik, že o rychlosti oxidace pravděpodobně rozhoduje fyzikální jev: difúze CH₄ z plynného do rozpuštěného stavu a do buněk. Při nízkých hustotách buněk, kdy byla na začátku oxidována pouze malá část celkového CH₄, mohou bakterie stále preferenčně využívat ¹²CH₄ a do té doby nevyužitý zbytkový CH₄ je nadále frakcionován. Při vysokých hustotách buněk, kdy bylo již na začátku využito až 40% dodaného CH₄, je poté oxidován jak ¹²CH₄ tak ¹³CH₄ a frakcionace je proto nižší. Je tedy zjevné, že velikost frakcionace je z velké části způsobena prvním krokem oxidace substrátu katalyzovaným metan-monooxygenázou (MMO) avšak nezávisle na typu MMO. Naměřené hodnoty $\alpha_{\text{CH}_4\text{-CH}_3\text{OH}}$

byly totiž stejné pro metanotrofy typu I i typu II s expresí jak pMMO tak sMMO. Během pokusu však byly zjištěny velké rozdíly v hodnotách $\delta^{13}\text{C}$ biomasy kultur typu I a II. Rozdíl mezi $\delta^{13}\text{C}$ biomasy a $\delta^{13}\text{C}$ respirovaného CO_2 byly u směsné i čisté kultury typu II kolem 15‰, zatímco u čisté kultury bakterií typu I byl rozdíl mezi $\delta^{13}\text{C}$ biomasy a $\delta^{13}\text{C}$ respirovaného CO_2 mnohem menší, asi 6‰. Hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ v respirovaném CO_2 byly u všech třech kultur velmi podobné, rozdílný tvořil izotopový signál biomasy. Tento rozdíl 15‰, resp. 6‰, byl konstantní během celého průběhu experimentu, tj. navzdory rostoucí hustotě buněk. Vzhledem k tomu, že hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ v respirovaném CO_2 byly u všech třech kultur velmi podobné a rozdílný byl izotopový signál biomasy, lze se domnívat, že respirační cesty jsou u obou typů metanotrofů identické a rozdíl v izotopech uhlíku v biomase je primárně způsoben rozdíly ve frakcionačním účinku asimilačních cest, které se u typu I a II liší. K podobným výsledkům dospěli už dříve Summons et al. (1994), kteří u metanotrofních bakterií typu I zjistili nízký frakcionační faktor: $\alpha_{\text{biomasa-CO}_2} = \sim 1,006$, zatímco u bakterií typu II byl tento faktor vyšší: $\alpha_{\text{biomasa-CO}_2} = \sim 1,015$. Ve své studii také poukazují na význam dostupnosti substrátu, tedy CH_4 . Pokud byl metan v nadbytku, dosahoval frakcionační faktor svého maxima: $\alpha_{\text{biomasa CO}_2} = \sim 1,035$. Podobný efekt by měl patrně i nedostatek kyslíku například ve špatně propustných, zavodněných půdách. Tyto hodnoty můžeme očekávat pro bažiny, podmáčené půdy nebo jezerní sedimenty. Naopak v půdách s dostatečným zásobením kyslíkem mohou dobře vyvinuté kolonie metanotrofních bakterií zpracovat téměř veškerý dostupný metan, a proto lze očekávat malý frakcionační faktor $\alpha_{\text{CH}_4\text{-CH}_3\text{OH}} = \sim 1,005$.

Z uvedených pokusů vyplývá, že při využití metanu s $\delta^{13}\text{C} \sim -20\text{‰}$ tvoří metanotrofní bakterie biomasu s $\delta^{13}\text{C}$ v rozsahu od cca - 50‰ při nízkých počtech buněk až do - 9‰ při vysokých počtech buněk, v závislosti na typu (typ I nebo II), koncentraci substrátu (metanu) a rychlosti oxidace metanu, která však právě s hustotou buněk bakteriální populace koreluje. Biomasa bakterií typu II může být při vysoké hustotě buněk obohacena oproti substrátu až o 13‰, zatímco pomalu rostoucí bakterie typu I tvoří i při vysoké hustotě buněk biomasu s nižším $\delta^{13}\text{C}$, než má substrát. Jak je již zmíněno výše, biogenní metan tvořený metanogenními bakteriemi je velmi ochuzen i $\delta^{13}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{C}$ -40‰ až -110‰), a pokud metanotrofní bakterie tento velmi lehký biogenní metan budou oxidovat a asimilovat, bude jejich $\delta^{13}\text{C}$ biomasy mnohem nižší než ve zmíněných pokusech. Jestliže tedy v organické hmotě jezerních sedimentů získáme hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ významně nižší, než jaké má plankton (jako autochtonní zdroj organické hmoty), nebo suchozemské rostliny

(allochtonní zdroj organické hmoty), čili $\delta^{13}\text{C}$ - 25 až -27‰, jediným možným vysvětlením je produkce biogenního metanu a přítomnost metanotrofních bakterií, ve vodním prostředí zejména typu I.

4.2.4 Anaerobní oxidace metanu

Anaerobní oxidace metanu (AOM) je proces, při němž je využit jiný akceptor elektronů než kyslík, v mořském prostředí především sírany, ve sladkovodním pak dusitany a dusičnany (Smeno and Yavitt, 2011). Při AOM může docházet k silné diskriminaci proti ^{13}C během příjmu metanu, což vede k tomu, že nevyužitý metan je naopak o těžký izotop obohacován. Stěžejní roli hraje dostupnost metanu. Je-li dostupnost dostatečná, dochází k diskriminaci během příjmu metanu jen málo. Klesnou-li však jeho koncentrace na 0,4mM, je diskriminace ^{13}C při příjmu CH_4 značná a nevyužitý metan je obohacován o ^{13}C až o 20‰. Při poklesu koncentrace metanu pod 0,2mM příjem CH_4 metanotrofními organismy ustává, pravděpodobně v důsledku zachycení molekul metanu na pórech sedimentu nebo jejich sorpce na minerální částice. V anaerobních sedimentech bohatých na produkci metanu, který je při svém vzniku výrazně ochuzen o ^{13}C , bude při příjmu metanu docházet jen k malé diskriminaci a hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ reziduálního metanu tak mohou zůstat -70 až -80‰. Shubert et al. (2011) interpretovali hodnoty $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ v sedimentech alpského meromiktického jezera podobně. V hloubce sedimentu do 5cm naměřili $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ více obohacené o ^{13}C (až -42,6‰), což ukazuje na silnou oxidaci metanu. Naproti tomu v hloubce 5-30cm hodnota $\delta^{13}\text{C}$ metanu rostla a zůstávala relativně konstantní kolem -71,8‰. Ve vodním sloupci může být hraniční hodnota koncentrace metanu mnohem nižší než v sedimentech, protože ve vodním sloupci je více dostupného kyslíku a probíhá zde aerobní oxidace, během které je využití dostupného metanu mnohem efektivnější (Whiticar and Faber, 1986). Lze tedy říci, že čím intenzivnější bude metanogeneze, tím více metanu bude produkováno a tím pádem i dostupného pro oxidaci a $\delta^{13}\text{C}$ metanu jako substrátu pro metanotrofní bakterie bude trvale velmi nízké. Metanotrofní bakterie budou proto produkovat biomasu silně ochuzenou o ^{13}C , což se odrazí v izotopovém signálu sedimentu, jehož organická hmota představuje směs různých zdrojů organických látek s různým izotopovým signálem.

5. Jezerní sedimenty

5.1 Proces sedimentace organické hmoty v jezeře

Organická hmota, která v konečném důsledku přispívá k tvorbě sedimentu, se do jezera může dostávat z alochtonního zdroje, tedy z terestrických ekosystémů, například opadem listů stromů v těsné blízkosti jezera, splachem půdních částic, nebo i z větší vzdálenosti spolu s vodou přítoku. Vliv může mít také vítr, který může přinášet další organické částice, které se sice nebudou významně podepisovat na izotopickém složení ^{13}C sedimentu, ale například částice pylu jsou významné pro palynologický výzkum. Druhým zdrojem organické hmoty v sedimentech je tvorba organického materiálu přímo v jezeře (autochtonní původ). Na tvorbě primární produkce uvnitř jezera má za běžných podmínek největší podíl fytoplanktonní biomasa. Hlavní složky organické hmoty v sedimentech tedy tvoří rostlinná, planktonní a v neposlední řadě také mikrobiální biomasa, zvířata jako makrozoobentos tvoří jen minoritní podíl. Díky znalostem diskriminačních procesů odlišných pro různé rostlinné a mikrobiální procesy, kterými jsme se zabývali výše, je možné nastínit, jaké procesy v jezeře i v jeho okolí probíhaly a jaká byla hlavní skupina organismů, přispívajících k tvorbě sedimentu konkrétního jezera (Mayers and Vallier-Vergès, 1999).

Nejméně 90% veškeré organické hmoty, která v jezeře vznikne a následně odumře, se ve vodním sloupci recykluje dřív, než dosáhne dna. Ta část, která nakonec zesedimentuje, je mineralizována mikroorganismy a vrácena zpět k využití organismy, a jen velmi malá část zůstane uložena v sedimentech. Množství deponované organické hmoty se ještě navíc liší podle období, kdy k uložení došlo a také podle trofie jezera. Eutrofní jezera díky velkému množství produkované biomasy tvoří sedimenty bohaté na organický materiál, naopak jezera oligotrofní tvoří sedimentů celkově méně a je mnohem chudší na množství organické hmoty (Mayers, 1997). Navíc pokud dochází k sedimentaci za anaerobních podmínek, bude množství organické hmoty uložené do sedimentu větší, než v aerobním prostředí, protože účinnost mikrobiálního rozkladu je v aerobním prostředí mnohem vyšší, a organické látky mohou být snadněji během sedimentace rozloženy (Leng and Marshall, 2004).

Nově uložená vrstva sedimentu podléhá bioturbanci, což je promíchávání horní, nejmladší, vrstvy sedimentu v důsledku činnosti mikroorganismů i zoobentosu. Tento jev také přispívá k delšímu vystavení organické hmoty oxidaci a dalším procesům, které způsobují její rozklad, a to způsobuje další ochuzování ukládaného materiálu jak o živiny, tak i o jeho celkový objem (Petránek et al., 2016). K bioturbanci dochází přibližně do hloubky deseti centimetrů sedimentu a odhaduje se, že z už tak ochuzené organické hmoty, která klesne na povrch sedimentu, se ztratí bioturbancí asi dalších 75%. V intenzitě bioturbance hraje nejzásadnější velikost a hloubka jezera (čím větší jezero, tím intenzivněji proces probíhá), a vznik anoxické zóny u dna, která činnost organismů závislých na dostatečném prokysličení rozhraní voda-sediment z velké části inhibuje. U jezer, která se sezonně promíchávají a stratifikují, je pak v sedimentu dobře rozpoznatelný větší objem uložené hmoty v období stratifikace a/nebo vzniku anoxické zóny u dna. Když je materiál překryt novými vrstvami sedimentovaného materiálu a dostane se do hlubší části sedimentu, pod úroveň bioturbance, podléhá působení bakterií, které pokračují v degradačním procesu, především snadno rozložitelných a nestabilních látek. Ve většině jezer jde o procesy spojené se vznikem metanu, neboť v hlubších vrstvách sedimentů panují striktně anaerobní podmínky. Organická hmota, která se do jezera dostává z terestrických ekosystémů, je obecně stabilnější než ta tvořená autochtonními procesy v jezeře. Terestrické cévnaté rostliny například obsahují celulózu, která se velmi špatně rozkládá. Proto se v sedimentech zůstávají jen ty nejvíce stabilní složky terestrické organické hmoty, které odolají intenzivním rozkladným procesům během sedimentace vodním sloupcem. Při analýze sedimentárního jádra je tedy třeba přihlížet i k faktu, že organická hmota uložená v sedimentu je jen velmi malou frakcí původní živé biomasy a že prošla mnoha procesy, které pozměnily její složení (Mayers and Ishiwatari, 1993). Ve chvíli, kdy se organická hmota dostane do dostatečné hloubky mimo působení biologických činitelů, podléhá procesu diagenese. Ten začíná navázáním materiálu na již uložený sediment, kdy se již neúčastní žádného cyklu a stává se imobilním. S postupem času jak dochází k jeho překrývání mladšími vrstvami, tak se působením tlaku, pH, teploty aj., zpevňuje a stmeluje (Petránek et al., 2016).

5.2 C: N poměr

Poměr organického uhlíku a dusíku v analyzovaném vzorku sedimentu nám může mnohé říci o původu organické hmoty a jejím vývoji v čase. Terestrické cévnaté rostliny tvoří biomasu s poměrem C:N > 20 (Obrázek 1), neboť vytváří opěrná pletiva (celulózu, lignin) s vysokým obsahem uhlíku. Během rozkladu terestrické rostlinné biomasy v půdách v okolí jezera dochází k využití zejména dusíku, a residuální organické látky, které z povodí odtékají do jezera (zejména huminové látky), tak mohou nabývat i vyššího C:N poměru (45:1 až 50:1) a stávají se odolnými vůči dalšímu rozkladu. Naproti tomu autochtonní organická hmota, tvořená především fytoplanktonem, má průměrné C:N pouze 4-10:1 a obsahuje více proteinů, které se snadněji rozkládají a ochuzují odumřelou organickou hmotu nejen o dusík, ale také o uhlík. Pokud bychom například provedli analýzu sedimentů pouze na základě množství ^{13}C , mohlo by snadno dojít k chybné interpretaci původu organické hmoty, neboť biomasa jezerního fytoplanktonu i terestriálních C3 rostlin mají téměř identické $\delta^{13}\text{C}$. V čem se ale velmi liší, je právě poměr C:N (Mayers, 1994, Wetzel, 2001).

Během procesu diagenese může ještě docházet k selektivnímu rozkladu rostlinných zbytků, což může ovlivnit výsledné C:N sedimentu. Na jezeru Michigan (USA) bylo například pozorováno, že průměrné C:N nejmladší sedimentární vrstvy bylo ~9, zatímco materiál uložený hlouběji v sedimentu měl C:N ~8. Z toho lze usuzovat, že dochází k diagenetickému rozkladu a ztrátám organické hmoty uhlíku, ale změny jsou tak malé, že to s největší pravděpodobností neovlivní určení původu organické hmoty. Podobné změny byly pozorovány i v půdě, kde dochází v hlubších profilech k imobilizaci N a mineralizaci C. Lze tedy říct, že přestože dochází ke změnám složení v hlubších vrstvách sedimentu, jde stále o důvěryhodný zdroj informací, který dobře zachovává informace o minulých poměrech v jezeru a jeho okolí (Mayers and Ishiwatari, 1993).

Sedimenty oligotrofních a velkých jezer jsou tvořeny organickou hmotou zejména terestriálního původu, stejně jako jezera s velkým přítokem. Pokud jsou v profilu sedimentu takových jezer zjištěny výkyvy v množství uložené OM (organic matter), jde pravděpodobně o snížení objemu alochtonní OM, například v období sucha, nebo naopak o zvýšení objemu alochtonní OM, například v období záplav nebo dešťů. Množství autochtonní OM zůstává víceméně konstantní. Analýzu může komplikovat i fakt, že u ústí přítoku se ukládá mnohonásobně více alochtonní hmoty než na vzdáleném konci jezera,

kde může naopak dominovat autochtonní materiál (Fuentes et al., 2013). Přestože se období s vydatnými srážkovými úhrny mnohdy v sedimentech odrazí jako nárůst procenta organické hmoty i C:N poměru v důsledku přísunu terestrické organické hmoty splachem, může tomu být i jinak. Díky přísunu živin v důsledku intenzivního odtoku z okolních půd může dojít k nárůstu biomasy fytoplanktonu, který se naopak v sedimentu odrazí jako pokles C:N (Mayers and Vallier-Vergès, 1999).

5.3 Interpretace $\delta^{13}\text{C}$ jezerních sedimentů

Jezerní sedimenty jsou archivem obsahujícím záznamy o dřívějších environmentálních podmínkách a biogeochemických procesech uvnitř i vně jezera. Pomocí analýzy izotopů uhlíku můžeme rozpoznat původ uložené organické hmoty, odhadnout dřívější úživnost jezera a intenzitu činnosti mikrobiálních společenstev u dna (Torres et al., 2012). Interpretace jezerního sedimentu vyžaduje detailní znalosti o procesech, které v jezerním i terestriálním ekosystému probíhají a stejně tak je nutná znalost konkrétní lokality, jelikož jde vždy o unikátní systém, který má svá specifika, jako je morfologie dna, stratifikace, teplota, geografická poloha a klima, skladba rostlinného společenstva nebo trofie jezera (Leng and Marshall, 2004). Jak se v průběhu času vyvíjejí půdy a mění složení rostlinného společenstva v okolí jezera, stejně jako se mění podmínky v samotném jezeře, mění se i informace uložené v sedimentu jezera. Přestože během rozkladu, sedimentace i diagenese dochází ke ztrátám organické hmoty, je sedimentární záznam považován za velmi spolehlivý v uchovávání informací o historii jezera a jeho okolí (Mayers, 1994). Vždy je třeba pamatovat na to, že organická hmota, v níž ^{13}C sledujeme, je směsí organických látek různého původu, které prošly různými procesy, během nichž mohlo dojít k různému posunu v izotopovém složení. To činí interpretaci hodnot $\delta^{13}\text{C}$ v sedimentech jezer velmi složitou, ne však nemožnou, pokud ji můžeme podepřít jinými proxy, jako jsou geochemická data odhalující erozi, pylové analýzy, rekonstrukce celkového fosforu pomocí rozsivek, aj.

Autochtonní organická hmota má $\delta^{13}\text{C}$ v rozmezí -25 až -30‰ (Mayers, 1997). Pokud sediment vykazuje méně záporné hodnoty, může to mít několik příčin. Na výslednou hodnotu autochtonní biomasy má vliv především to, jakou formu C-substrátu organismy využívají. Pokud je primární zdroj pro fotosyntézu HCO_3^- , bude hodnota ^{13}C výsledné organické hmoty oproti OM vzniklé s využitím CO_2 nabohacená asi o 8‰.

K takové situaci může dojít tehdy, stane-li se jezero *hypertrofním*. Dochází v něm k prudkému nárůstu primární produkce, rychle se vyčerpá izotopicky lehčí rozpuštěný CO₂ a organismy musí využívat izotopicky těžší HCO₃⁻ což vede k celkovému obohacování výsledné biomasy o ¹³C. V jezeře, kde je dostatečné množství rozpuštěného CO₂ budeme tedy očekávat izotopicky lehčí biomasu, protože je k dispozici dostatek ¹²C-substrátu. Stejný efekt bude mít *hydrologická izolace jezera*: při omezení přítoku alochtonní biomasy z povodí dochází k nabořování celého systému o ¹³C v důsledku evaporace. Pokud je v systému řídicím procesem primární autochtonní produkce (v sedimentech se odrazí jako trvale nízký C:N poměr), dojde nejdříve k uložení dostupného lehčího izotopu do biomasy, a po jejím odumření k její sedimentaci nebo úniku ve formě uvolněného CO₂ zpět do atmosféry. Poté musí primární producenti v jezeře využít zbývající těžký ¹³C, což vede k jeho postupnému obohacování v celkové biomase (Torres et al., 2012). Příčinou obohacení sedimentů o ¹³C může být ale také *vlhčí klima*. V období, kdy dochází k dostatečným srážkám, se do jezera dostává velké množství nutrietů ze splachu půdy v povodí. Z toho důvodu stoupá trofie jezera, a to vede k nárůstu biomasy planktonních řas. V sedimentech pak můžeme sledovat postupný pokles C:N, růst akumulace organické hmoty, a méně negativní hodnoty δ¹³C, protože rychle rostoucí populace primárních producentů postupně spotřebuje dostupný ¹²C a je nucena přijímat i ¹³C (Mayers and Vallier-Vergès, 1999). Dále je také třeba mít na paměti, že není autochtonní hmota tvořena z tak stabilního materiálu jako jsou terestriální rostliny (lignin a celulóza) dochází u nich k tzv. selektivní degradaci, kdy se rozkládají dříve a snadněji než alochtonní OM. Z toho důvodu je ve většině jezer v sedimentu uložena dominantně alochtonní organická hmota (Mayers, 1994).

Alochtonní organická hmota se obecně vyznačuje více negativní hodnotou δ¹³C, z důvodu diskriminačních procesů terestriálních společenstev popsaných výše. Organická hmota pocházející z terestrických C₃ rostlin má obvykle hodnoty δ¹³C mezi -27 a -29‰. Zejména v oligotrofních jezerech tvoří většinou hlavní podíl uložené organické hmoty v sedimentu, protože obsahuje těžce rozložitelné látky jako je celulóza a lignin, zatímco snadno rozložitelná autochtonní hmota je za aerobních podmínek velmi rychle mineralizována (Mayers and Vallier-Vergès, 1999). Proto u těchto jezer můžeme v jejich sedimentech interpretovat postupný pokles hodnot δ¹³C jako důsledek zvýšeného přísunu alochtonní OM (Torres et al., 2012). Izotopová analýzy sedimentované OM mohou také rozlišit C₃ a C₄ rostlin a zjistit, jaká skupina v povodí jezera dominovala. U více

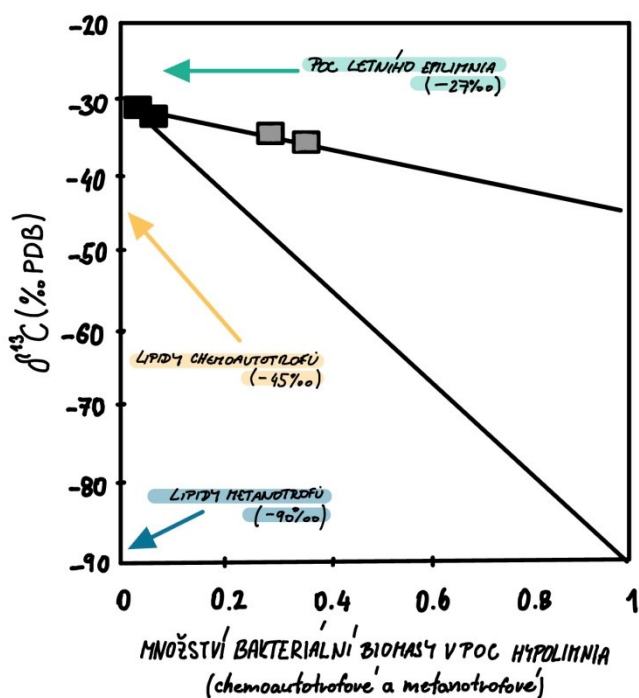
negativních hodnot terestriální organické hmoty usuzujeme na C3 rostliny, což nám dává například představu o lesním porostu, chladnějším a vlhčím klimatu, zatímco u převahy C4 rostlinné OM usuzujeme spíše na travnatý porost a teplejší sušší časovou periodu (Mayers, 1994).

Výrazné ochuzení o ^{13}C OM v sedimentu s hodnotou $\delta^{13}\text{C}$ -32‰ a více (zápornější hodnota než co by se dalo vysvětlit pouze převahou terestriální OM), indikuje významnou **mikrobiální** činnost u dna, neboť bakterie pro tvorbu své biomasy využívají organické látky již předchozími procesy ochuzené o ^{13}C (fytoplanktonní i rostlinná OM). V případě výrazného ochuzení o ^{13}C v organické hmotě můžeme tedy dojít k závěru, že v jezeře pravděpodobně došlo k tvorbě anoxické zóny, ve které se rozvíjela populace chemoautotrofů a podle pravidelných výkyvů v hodnotách $\delta^{13}\text{C}$ sedimentu můžeme také určit, zda docházelo k pravidelné stratifikaci a jak často (Teranes and Bernasconi 2005).

Výsledná hodnota uložené organické hmoty sedimentu je, mimo jiné, výsledkem činnosti fotoautotrofní biomasy epilimnia a různého poměru činnosti chemoautotrofů a metanotrofů v hypolimniu. Průměrná $\delta^{13}\text{C}$ fytoplanktonu se pohybuje kolem -27‰ , chemoautotrofové diskriminují proti $\delta^{13}\text{C}$ asi -45‰ a metanotrofové diskriminují již ochuzený C-substrát vzniklý rozkladem biomasy epilimnia znovu kolem -16‰ a -30‰ , z toho důvodu je možné pozorovat v biomase metanotrofních bakterií hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ až -90‰ (Hollander a Smith, 2001). Autoři představili tři modely různě eutrofizovaných jezer, které popisují převládající procesy, které vedou k ukládání ^{13}C uhlíku do sedimentů. První model pracuje s **mírnou eutrofizací**, kdy po vzniku letní stratifikace dojde k ustálení epilimnia a anoxického hypolimnia. V epilimniu se rozvíjí primární produkce fototautotrofního planktonu, která přináší do spodních vrstev jezera o ^{13}C ochuzený uhlík ($\sim -27\text{‰}$). Ten slouží jako substrát pro anaerobní oxidaci v hypolimniu, během které je produkován ochuzený CO_2 , který je asimilován chemoautotrofy (např. sírné bakterie). V anaerobních sedimentech probíhá metanogenze a proto během léta dochází v hypolimniu také k velkému rozvoji metanotrofních organismů, prostřednictvím jejichž biomasy se opět ukládá o $\delta^{13}\text{C}$ ochuzená OM. Na podzim, kdy dochází k promíchávání celého vodního sloupce, se izotopicky lehčí uhlík, přes léto uložený u dna, rozptýlí do jezera a výsledná homogenní hodnota v celém jezeře bude více negativní $\delta^{13}\text{C}$. Metanotrofní bakterie mají na ochuzování jezera o celkový $^{13}\text{C}_{\text{org}}$ dlouhodobý vliv proto, že produkují stále více ochuzený CO_2 . S každým dalším cyklem jezera bude systém o těžký izotop více ochuzený a to lze pozorovat v sedimentech jako trend progresivního ochuzování organického uhlíku

o $\delta^{13}\text{C}$ v mladších vrstvách sedimentu oproti těm starším. Lze tedy říci, že v takovém systému bude řídit výslednou hodnotu $\delta^{13}\text{C}$ sedimentovaného uhlíku právě biomasa anoxického hypolimnia. Další model popisuje **středně eutrofizované** jezero, u kterého je o ^{13}C ochuzený CO_2 ukládán již do biomasy fotoautotrofních organismů (první model ukazuje systém, kde se ochuzování $\delta^{13}\text{C}$ odehrává pouze v biomase anoxického hypolimnia), čímž dochází k dalšímu ochuzování. U silnější eutrofizace můžeme oproti prvnímu modelu pozorovat posun anoxického rozhraní blíže k hladině, čímž se zvětší objem anoxického hypolimnia, v němž probíhá silná oxidace biogenního metanu, která představuje řídicí proces v distribuci uhlíku. Oxidací biogenního metanu vzniká o ^{13}C ochuzený CO_2 , ze kterého primární producenti tvoří svou více ochuzenou biomasu a po odumření tedy přináší více negativní $\delta^{13}\text{C}$ hodnoty do sedimentu. Výsledkem je stejně jako u prvního modelu progresivní ochuzování jezerního systému o $\delta^{13}\text{C}$. V jezeře se **silnou eutrofií** je dominující vliv fotoautotrofní biomasy naopak obohacené o $\delta^{13}\text{C}$. Důvodem je postupné vyčerpání dostupného $^{12}\text{CO}_2$ a při neustálém rozvoji primární produkce následné snížení diskriminace vůči ^{13}C a tvorba biomasy obohacené o těžký izotop uhlíku. Přestože v jezeře neustále probíhají mikrobiální procesy a s nimi tvorba produktů chudých na $\delta^{13}\text{C}$, jde oproti masivnímu rozvoji fytoplanktonu o velmi malý podíl OM, který neovlivní intenzivní obohacování $\delta^{13}\text{C}$ výsledného jezerního sedimentu (Hollander and Smith, 2001). Tyto tři modely nám ukazují, jaká skupina mikroorganismů bude dominantně kontrolovat tok uhlíku v systému jezera – při mírné eutrofizaci přináší do sedimentů uhlík zejména biomasa chemoautotrofů a metanotrofů z hypolimnia, u středně silné eutrofizace dominuje uhlík z biomasy metanotrofů a přidává se podíl biomasy fotoautotrofů epilimnia ovlivněné CO_2 z intenzivní respirace a u silně eutrofizovaného jezera bude dominantní příspěvek uhlíku v sedimentech tvořit biomasa fotoautotrofů z epilimnia a vliv biomasy mikroorganismů hypolimnia bude minoritní.

Hollander and Smith (2001) také publikovali **lineární mixing model** $\delta^{13}\text{C}$ **hypolimnetického POC** (Obrázek 2). Vzhledem k tomu, že metanotrofní bakterie mohou frakcionovat až -30‰ a jako substrát využívají metan s předpokládanou hodnotou $\delta^{13}\text{C}$ -65 až -50‰ (Whiticar and Faber, 1986), lze odhadnout hodnotu nejvíce o ^{13}C ochuzené metanotrofní biomasy přibližně na -90‰ . Freeman et al., 1990 uvádí hodnotu ^{13}C chemoautotrofní biomasy přibližně -45‰ , zatímco průměrná hodnota ^{13}C POC epilimnia v letním období (-27‰) poskytuje odhad ^{13}C pro fytoplanktonní eukaryotickou biomasu (fytoplankton v létě v epilimniu dominuje). Na základě takto vymezených hodnot lze využít hmotnostní bilanci pro odhad, jakým dílem se v hypolimniu vyskytovaly chemoautotrofní bakterie, a jakým dílem metanotrofní bakterie, a jak moc hypolimnetické POC přispívalo k tvorbě organické hmoty v sedimentech.



Obrázek 2 – Odhad hmotnostní bilance metanotrofní a chemoautotrofní biomasy v hypolimniu během léta v jezeře Mendota (převzato z Hollander and Smith, 2001, upraveno). Černé čtverce představují hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ změřené v epilimnetickém POC, šedé čtverce hodnoty změřené v hypolimnetickém POC. Podle toho lineárního mixing modelu byl v létě hypolimnetický POC tvořen buď z 35 % chemoautotrofní biomasou, nebo z 10 % metanotrofní biomasou. Ve skutečnosti hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ POC v hypolimniu během léta pravděpodobně představují směs fotoautotrofní biomasy z epilimnia s proměnlivým příspěvkem izotopicky ochuzené mikrobiální biomasy.

5.4 Další sedimentární proxy vhodné pro doplnění interpretace $\delta^{13}\text{C}$

K přesnější interpretaci jezerních sedimentů se využívá mnoho metod, které doplňují analýzu $\delta^{13}\text{C}$ a C:N a pomáhají nám lépe pochopit komplexní procesy, ke kterým v průběhu času docházelo. Jednou z těchto metod je **organická petrografie**, což je vizuální mikroskopická analýza uložených částic organické hmoty, která nám může mnoho říci o procesu degradace OM, procesu a délce transportu OM, stejně jako o podmínkách v povodí nebo původu konkrétní částice. Například pokud jsou částice tvořené ligninem a celulózou a jsou dobře zachované tak, že v nich lze rozpoznat rostlinné struktury, šlo pravděpodobně o rychlý transport alochtonní OM z povodí a následné rychlé uložení bez velkého vlivu degradace. Naopak pokud identifikujeme alochtonní částice a ty jsou bez dobře zachovaných vnitřních struktur a mají gelovitou konzistenci a/nebo hnědou barvu lze usuzovat na částice degradované například v rašeliništích nebo podmáčených půdách. Pokud se v sedimentech nalézá hodně částic alochtonní OM spolu s velkým množstvím houbových spor, šlo pravděpodobně o splach z půdy. Pozorujeme-li částice, které jsou oxidované, jde pravděpodobně o organickou hmotu, jejíž transport do jezera byl poměrně dlouhý a/nebo byla dlouho vystavená kontaktu se vzduchem a podobné vlastnosti bude mít i půda pocházející z eroze hlubokých půdních horizontů. Pokud v sedimentu nalezneme zuhelnatělé částice, může to indikovat požár, nebo velmi suché klima. Autochtonní OM se pak většinou projevuje jako amorfní, homogenní seskupení organické hmoty a pokud je systém dominován alochtonní OM tak bude jejich zastoupení v sedimentu minimální, protože podléhá selektivní degradaci (viz výše), ovšem s pomocí elektronového mikroskopu je někdy možné určit zbytkové buněčné struktury nebo lze izolovat frustule rozsivek, které mohou sloužit k rekonstrukci celkového fosforu dostupného ve vodě během jejich života. Dále jsou významné **palynologické metody**, tedy analýza pylu uložená v jezerním sedimentu, která nám může pomoci přesněji odhadnout skladbu rostlinného společenstva v regionálním měřítku, u hydrologicky izolovaných jezer jde pouze o lokální informaci (Mayers and Vallier-Vergès, 1999). K přesnějšímu datování se využívají například **tefry**, což jsou uložené částice pyroklastického materiálu, které vznikly během vulkanické aktivity. Vulkanické částice mají velký rozptyl až na kontinentální nebo globální úrovni a jsou uloženy v mnoha různých jezerech. Díky jejich pozorování a datování na mnoha lokalitách se dají využít jako záchytné body na časové ose vývoje jezera (Mayer and Schwark, 1999).

6. Závěr

- Hlavní podíl na vzniku organické hmotě uložené do sedimentu mají **terestriální rostliny, planktonní řasy a mikrobiální biomasa**.
- Naprostá většina organické hmoty se po odumření mineralizuje a látky z ní se recyklují zpět do systému, zatímco **jen velmi malé množství v porovnání s původní biomasou se uloží do archivu jezerního sedimentu**.
- Největší množství uložené organické hmoty tvoří většinou terestriální **C3 rostliny** ($\delta^{13}\text{C} = -27$ až -30‰), neboť obsahují odolné lignino-celulózové struktury, zatímco organická hmota **primární produkce jezera** ($\delta^{13}\text{C} = -25$ až -30‰), snadno podléhá rozkladným procesům.
- Z důvodu **nerozlišitelnosti izotopových podpisů C3 rostlin a planktonních řas** je pro jejich identifikaci využíváno **C:N poměru**. Jde o poměr uhlíku a dusíku v organické hmotě. U C3 rostlin se C:N poměr pohybuje > 20 , zatímco u planktonních řas pouze < 10 . To nám umožňuje tyto dvě skupiny lépe rozlišovat.
- Hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ planktonní biomasy nicméně ovlivňuje **intenzita fotosyntézy**. V hypertrofních jezerech s vysokou intenzitou fotosyntézy jsou primární producenti nuceni místo preferenčního $^{12}\text{CO}_2$ asimilovat také $^{13}\text{CO}_2$ a později i těžší HCO_3^- a budou proto tvořit biomasu asi o **8% obohacenou o ^{13}C** , což se odrazí v sedimentu jako nárůst množství těžkého izotopu uhlíku. Podobný efekt může mít také **hydrologická izolace** jezera, bude docházet k obohacování rozpuštěného anorganického uhlíku o ^{13}C z důvodu evaporace. Pokud v takovém systému dlouhodobě dominuje autochtonní primární produkce, projeví se efekt hydrologické izolace v sedimentu jako nízké C:N, spolu s progresivním **nárůstem hodnot $\delta^{13}\text{C}$** .
- **Bakteriální biomasa** zásadně ovlivňuje hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ sedimentů jezera, protože mikroorganismy asimilují organický materiál, který již prošel nějakým diskriminačním procesem, je jejich vlastní biomasa je proto **silně ochuzena o $\delta^{13}\text{C}$** . Hodnota sedimentární organické hmoty $\delta^{13}\text{C} < -32\text{‰}$ ukazují právě na intenzivní mikrobiální činnost.

- **Aerobní organotrofní bakterie** tvoří biomasu v rozsahu $\delta^{13}\text{C}$ mezi **-37‰ až -30‰**. Čím nižší je teplota a dostupnost C-substrátu, tím víc budou bakterie diskriminovat ^{13}C , protože vysoká afinita k příjmu uhlíku při nízkých koncentracích způsobí vyšší rychlost příjmu a tím i průtoku uhlíku mikrobiálním systémem.
- **Metanogenní bakterie**, které žijí v anaerobních sedimentech, nevytváří biomasu odlišitelnou od jiných bakterií (asimilační cesty jsou podobné), nicméně produkují **metan** ochuzený o ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$ **-40 až -110‰**). Tento metan slouží jako substrát uhlíku pro **metanotrofní bakterie** a tvoří tak biomasu s hodnotou $\delta^{13}\text{C}$ **až -90‰**.
- **Množství celkové deponované organické hmoty** ovlivňuje **trofie jezera** a období kdy k uložení došlo. Během jarní a letní období bude množství uložené biomasy větší. **Eutrofní jezera** obsahují velké množství organické hmoty a tím pádem i velké množství sedimentů, zatímco **oligotrofní jezera** jsou na organickou hmotu chudá a tedy i přírůstek sedimentů bude pomalý.
- Za **anaerobních podmínek** bude množství uložené biomasy větší, protože za **aerobních** podmínek dochází k účinnější oxidaci organického materiálu již během sedimentace.
- **Míra úživnosti** určuje, které procesy budou v ukládání organického uhlíku do sedimentů převládat a tím zároveň **ovlivňovat hodnoty $\delta^{13}\text{C}$** sedimentární organické hmoty:
 - U jezer s **mírnou a středně silnou eutrofizací** můžeme pozorovat postupném **ochuzování sedimentu o ^{13}C** a řídicím faktorem bude především aktivita mikrobiální biomasy u dna.
 - Při **silné eutrofizaci** pozorujeme naopak progresivní **obohacování sedimentu o ^{13}C** a řídicím faktorem bude aktivita biomasy primárních producentů jezera.
 - **Oligotrofní jezera** mají hlavní přísun organické hmoty z terestriálních ekosystémů, což se projeví jako pokles $\delta^{13}\text{C}$ k více negativním hodnotám a zvyšování C:N poměru.

7. Použitá literatura

Brand, A. W., Coplen, B. T., Vogl, J., Rosner, M., Prohaska, T. (2014): Assessment of international reference materials for isotope-ratio analysis (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* **86**(3), 425-467.

Clark, I., Fritz, P. (1997): Environmental Isotopes in Hydrogeology. 1. edition, CRC Press, 342p.

Conrad, R. (1999): Anaerobic conversion of carbon dioxide to methane, acetate and propionate on washed rice roots. *FEMS Microbiology Ecology*, **30**(2), 147-155.

Conrad, R., Chan, O., Claus, P., Casper, P. (2007): Characterization of methanogenic Archaea and stable isotope fractionation during methane production in the profundal sediment of an oligotrophic lake (Lake Stechlin, Germany). *Limnology and Oceanography*, **52**(4), 1393-1406.

Conrad, R. (2009): The global methane cycle: recent advances in understanding the microbial processes involved. *Environmental Microbiology Reports*, **1**(5), 285-292.

Conrad, R., Klose, M., Claus, P., Enrich-Prast, A. (2010): Methanogenic pathway, ¹³C isotope fractionation, and archaeal community composition in the sediment of two clear-water lakes of Amazoni. *Limnology and Oceanography*, **55**(2), 689-702.

Cook, A. S., Shiemke, K. A. (1996): Evidence that copper is a required cofactor for the membrane-bound form of methane monooxygenase. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **63**(4), 273-284.

Craig, H. (1957): Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **12**(1-2), 133-149.

Deuser, G. W., Degens, T. E. (1967): Carbon Isotope Fractionation in the System CO₂ (gas)—CO₂ (aqueous)—HCO₃⁻(aqueous). *Nature*, **215**(5105), 1033-1035.

Ehleringer, J, Farquhar, G., Hall, A. (1993): Stable isotopes and plant carbon-water relations. 1edition (555). San Diego: San Diego: Academic Press, 555p.

Farquhar, G. (1983): On the Nature of Carbon Isotope Discrimination in C₄ Species. *Functional Plant Biology*, **10**(2), 205-226.

Farquhar, G., Ehleringer, J., Hubick, K. (1989): Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual review of plant physiology*, **40**, 503-537.

Ferenci, T. (1999): Growth of bacterial cultures' 50 years on: towards an uncertainty principle instead of constants in bacterial growth kinetics. *Research in Microbiology*, **150**(7), 431-438.

Freeman, K., Hayes, J., Trendel, J. M. (1990): Evidence from carbon isotope measurements for diverse origins of sedimentary hydrocarbons. *Nature*, **343**, 254-256.

Fry, B. (2006): Stable isotope ecology, 1. edition. Springer, 308p.

Fuentes, N., Güde, H., Wessels, M., Straile, D. (2013): Allochthonous contribution to seasonal and spatial variability of organic matter sedimentation in a deep oligotrophic lake (Lake Constance). *Limnologica*, **43**(2), 122-130.

- Gu, B., Schelske C. L., Brenner A. M. (1996):** Relationship Between Sediment And Plankton Isotope Ratios ($\Delta^{13}\text{C}$ And $\Delta^{15}\text{N}$) And Primary Productivity In Florida Lakes. *Canadian Journal Of Fisheries And Aquatic Sciences*, **53**(4), 875-883.
- Hanson, R., Hanson, T. (1996):** Methanotrophic Bacteria. *Microbiological reviews*, **40**(2), 439-471.
- Henn, R. M., Chapela, I. H. (2000):** Differential C Isotope Discrimination by Fungi during Decomposition of C₃ - and C₄ -Derived Sucrose. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**(10), 4180-4186.
- Hollander, D. J., Smith, M. A.: (2001):** Microbially mediated carbon cycling as a control on the $\delta^{13}\text{C}$ of sedimentary carbon in eutrophic Lake Mendota (USA): New models for interpreting isotopic excursions in the sedimentary record. *Geochim. Cosmochim*, **65**, 4321–4337.
- IAEA (1995):** Reference and intercomparison material for stable isotope of light elements. Report no. IAEA-TECDOC-825, IAEA, Vienna. ISSN 1011-4289.
- Lawlor, W. D. (1993):** Photosynthesis: molecular, physiological and environmental process. 2nd ed, Longman Scientific & Technical Harlow Essex, 318p.
- Lehmeier, A. Ch., Ballantyne F. Iv, Min K., Billings, A. S. (2016):** Temperature-Mediated Changes In Microbial Carbon Use Efficiency And ^{13}C Discrimination. *Biogeosciences*, **13**(11), 3319-3329.
- Leng, J. M., Marshall, D. J. (2004):** Palaeoclimate interpretation of stable isotope data from lake sediment archives. *Quaternary Science Reviews*, **23**(7-8), 811-831.
- Lidstrom, E. M. (2006):** Aerobic Methylophilic Prokaryotes. In Dworkin, Martin, Stanley Falkow, Eugene Rosenberg, Karl-Heinz Schleifer, Erko Stackebrandt. *The Prokaryotes*, Springer New York, 618-634.
- Meyers, A. P., Ishiwatari, R. (1993):** Lacustrine organic geochemistry—an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. *Organic Geochemistry*, **20**(7), 867-900.
- Meyers, A. P. (1994):** Preservation of elemental and isotopic source identification of sedimentary organic matter. *Chemical Geology*, **114**(3-4), 289-302.
- Meyers, A. P. (1997):** Organic geochemical proxies of paleoceanographic, paleolimnologic, and paleoclimatic processes. *Organic Geochemistry*, **27**(5-6), 213-250.
- Meyers, A. P., Lallier-Vergés, E. (1999):** Lacustrine sedimentary organic matter records of Late Quaternary paleoclimates. *Journal of Paleolimnology*, **21**(3), 345-372.
- Mayer, B., Schwark, L. (1999):** A 15,000-year stable isotope record from sediments of Lake Steisslingen, Southwest Germany. *Chemical Geology*, **161**(1-3), 315-337.
- Min, K., Lehmeier, Ch., Ballantyne F. IV, Billings, A. S. (2016):** Carbon Availability Modifies Temperature Responses of Heterotrophic Microbial Respiration, Carbon Uptake Affinity, and Stable Carbon Isotope Discrimination. *Frontiers in Microbiology*, **7**, 2083.
- O’leary, M. (1981):** Carbon isotope fractionation in plant. *Phytochemistry*, **20**(4), 553-567.
- Peters, K., Walters, C., Moldowan, M. (2005):** The Biomarker Guide: Biomarkers and Isotopes in the Environment and Human History. 2. edition, Cambridge university press, 492p.

Petránek, J., Březina, J., Břízová, E., Cháb, J., Loun, J., Zelenka, P. (2016): Encyklopedie geologie. Praha: Česká geologická služba, 352p.

Schubert, J. C., Vazquez, F., Lösekann-Behrens, T., Knittel, K., Tonolla, M., Boetius, A. (2011): Evidence for anaerobic oxidation of methane in sediments of a freshwater system (Lago di Cadagno). *FEMS Microbiology Ecology*, **76**(1), 26-38.

Singh, K. B., Tate, R. K., Kolipaka, G., Hedley, B. C., Macdonald, A. C., Millard P., Murrell, C. J. (2007): Effect of Afforestation and Reforestation of Pastures on the Activity and Population Dynamics of Methanotrophic Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **73**(16), 5153-5161.

Smemo, K. A., Yavitt, J. B. (2011): Anaerobic oxidation of methane: an underappreciated aspect of methane cycling in peatland ecosystems. *Biogeosciences*, **8**(3), 779-793.

Summons, E. R., Jahnke, L. L., Roksandic, Z. (1994) Carbon isotopic fractionation in lipids from methanotrophic bacteria: Relevance for interpretation of the geochemical record of biomarkers. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **58**(13), 2853-2863.

Šantrůček, J., Šantrůčková H. a kolektiv, (2014): Stabilní izotopy a jejich použití v biologii a ekologii. České Budějovice: Jihočeská universita a Českých Budějovicích, 176p.

Templeton, S. A., Chu, K., Alvarez-Cohen, L., Conrad, E. M. (2006): Variable carbon isotope fractionation expressed by aerobic CH₄-oxidizing bacteria. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **70**(7), 1739-1752.

Teranes, L. J., Bernasconi, M. S. (2005): Factors controlling $\delta^{13}\text{C}$ values of sedimentary carbon in hypertrophic Baldeggersee, Switzerland, and implications for interpreting isotope excursions in lake sedimentary records. *Limnology and Oceanography*, **50**(3), 914-922.

Thauer, K. R. (1998): Biochemistry of methanogenesis: a tribute to Marjory Stephenson. *Microbiology*, **144**(9), 2377-2406.

Torres, C. I., Inglett, W. P., Brenner, M., Kenney, F. W., Reedy, K. R. (2012): Stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) values of sediment organic matter in subtropical lakes of different trophic status. *Journal of Paleolimnology*, **47**(4), 693-706.

Wetzel, G. R. (2001): Limnology: lake and river ecosystems. 3rd ed. San Diego: Academic Press, 1006p.

Whiticar, J. M. (1999): Carbon and hydrogen isotope systematics of bacterial formation and oxidation of methane. *Chemical Geology*, **161**(1-3), 291-314.

Whiticar, J. M., Faber, E. (1986): Methane oxidation in sediment and water column environments—Isotope evidence. *Organic Geochemistry*, **10**(4-6), 759-768.

Zhang, J., Quay, P.D., Wilbur, D.O. (1995): Carbon isotope fractionation during gas-water exchange and dissolution of CO₂. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **59**(1), 107-114.

Internetové zdroje

www-1: [https://www.wikiskripta.eu/w/Radioaktivita_\(2._LF_UK\)#Zdroje](https://www.wikiskripta.eu/w/Radioaktivita_(2._LF_UK)#Zdroje)

www-2: <https://astronuklfyzika.cz/JadRadFyzika4.html>