

Frakční složení fosforu v profilu podzolové půdy v SPR Trojmezná hora (Národní park Šumava)

Fractional composition of phosphorus in the podzol profile of mountain spruce forest in Trojmezná hora (Bohemian Forest)

František Novák¹, Jiří Kalčík¹ & Richard Hrabal²

¹Ústav půdní biologie AV ČR, Na sádkách 7, CZ-370 05 České Budějovice, Česká republika

²VŠCHT Praha, Technická 1905, CZ-166 28 Praha 6 – Dejvice, Česká republika

Abstract

The phosphorus forms were determined in the samples of individual soil horizons in Trojmezná hora preserve, near Plechý Mt. (1378 m a. s. l.), in the area of autochthonous spruce forests (National Park Šumava, Bohemian Forest, Czech Republic 48°46'25"N, 13°51'04"E). Geological base consists of coarse-grained two-micaeous granite of moldanubian pluton. The altitude of the site is 1350 m, exposition NNE, slope 5°. Soil type is a ferro-humic podzol, the soil is sandy-skeletal and relatively fleet, with a thick humus horizon (0.12 m). Mean annual air temperature is 3.5°C, mean annual precipitation 1200 mm. The vegetative cover is spruce forest association *Athyrio alpestris-Piceetum* Hartmann 1959, aged more than 200 years. No dolomitic limestone was applied to this stand up to the present.

Fresh soil samples were air-dried and sieved. The humic and fulvic acids (HA, FA) were extracted using the 0.1 M NaOH after soil decalcification by 0.1 M HCl. FA were isolated using a standard Malcolm's method from mother liquor after HA precipitation. The sodium humate and fulvate were converted into H⁺ form, and freeze-dried. The total phosphorus (P_t) was determined after mineralization of samples (soil, HA, FA) in 72 % HClO₄, or in the 1:1 mixture of HClO₄ and 96 % H₂SO₄ (bitumens). Phosphorus converted to orthophosphate was determined spectrophotometrically at 660 nm as the phosphomolybdate blue. The organic (P_{org}) and extractable (P_e) phosphorus forms were determined in 2 g of soil by the Bowmann's extraction method. Water soluble soil phosphorus P_w was determined as orthophosphate after 2 hours of shaking a sample with distilled water, available phosphorus (P_a) as orthophosphate after 2 hours of shaking a sample with a suspension of cation exchange resin in distilled water. The phosphorus extractable by 1 % citric acid (P_{cit}) was determined after double 1 hour shaking of the soil – citric acid solution (1:10) mixture, interrupted by 24 hour standing at laboratory temperature. Extracted P was determined as orthophosphate in the filtrate after mineralization by HClO₄. The ³¹P NMR spectrum was recorded on Bruker DRX 500 spectrometer operating at frequency of 202.45 MHz using the following parameters: recycle delay of 5 s, number of scans 10000; broad-band decoupling. The FID was processed with line broadening of 50 Hz. The chemical shifts were measured relative to an external standard (85% H₃PO₄), spectra interpretation was based on literature assignment. Quantitative analysis was achieved by instrumental integration of NMR peaks.

The content of P_t increased in organic horizons with depth from 1.0 to 1.5 g.kg⁻¹ and reached the maximum in the horizon A, where the majority of soil organic matter is humified and P_{org} is bound in humus (mainly in humic acids). Similar maximum of P_t, caused by accumulation of P_{org}, was observed in the horizon B_h. The content of P_{org} decreases rapidly below the horizon B_h and the increase of P_t is given by an accumulation of inorganic orthophosphates in these horizons. With the exception of the eluvial (E_p) horizon, 78-99 % of P_t was extracted from the soil samples using the Bowmann method. The low content of all phosphorus forms was found in E_p horizon. Accumulation of inorganic P (orthophosphate) in horizons B_{oh}, and namely B_s, by complexation with Al³⁺ and Fe³⁺ cations markedly reduces P leaching from an ecosystem. Hereby accumulated P can take up deep rooting species or it may become available after trees uprooting in primeval forests. The maximum P content of all soil organic matter fractions was found in HA (1.5-6.1 g.kg⁻¹). FA contained essentially less P (0.5 g.kg⁻¹), the P content in bitumens decreased with depth from 1.3 to 0.5 g.kg⁻¹. To characterize

the P species of HA isolated from the O₁₁ horizon, we used ³¹P NMR spectrum. Major P species in HA were orthophosphate diesters (35.6 % of HA phosphorus), inorganic orthophosphate (31.3 %), which can be partly a product of orthophosphate esters partial hydrolysis, and orthophosphate monoesters (18.8 %). Traces of phosphonates and polyphosphates (2.8 and 1.0 %, respectively) were also detected. Phosphate diesters are regarded as relatively available pool of P_{org} that is associated with high precipitation, and generally decrease or entirely disappear with disturbance or soil cultivation. We can conclude, that the differentiation of soil horizons in the ferro-humic podzol is markedly displayed by the distribution of individual P forms in the soil profile, which demonstrate the phosphorus retention mechanism in the ecosystem. Interesting results will be gained from the comparison of P distribution and availability in soils of mountain spruce forests subjected to different nitrogen deposition and acidification stress.

Key words: ³¹P NMR, humic acids, phosphorus forms, *Picea abies*, podzol

Úvod

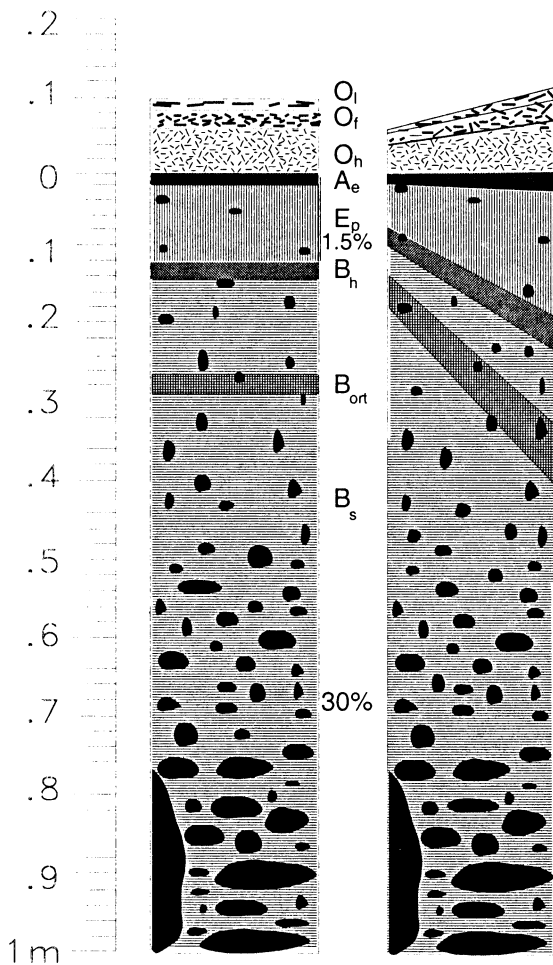
Fosfor je vedle dusíku druhou nejvýznamnější živinou, limitující produkci lesa. Jako živina je charakteristický tím, že zůstává v lesním ekosystému zachován. WOOD & al. (1984) ukázali, že v severském jehličnatém porostu v New Hampshire se plných 88 % fosforu přijatého rostlinami vrací do půdy v opadu, podkorunních srážkách a v kořenových exudátech převážně v organické formě. Organický P tvoří 70 % celkového P v hrabance a 34 % v minerální půdě uvedeného stanoviště (YANAI 1992). Na celkovém ročním odběru P porostem se podílí dekompozice P biologických a organických forem jsou těsně propojeny v cyklu fosforu. Přestože biologické (převážně organické) a pedologické (převážně anorganické) transformace P jsou prostudovány poměrně detailně, mechanismy organických transformací P jsou známy méně a většina dostupných údajů byla získána nepřímými postupy. Protože výsledky těchto jinak poměrně cenných nepřímých postupů je velmi obtížné interpretovat jednoznačně (DAI & al. 1996), prosazuje se přímé studium různých frakcí P v půdě pomocí nukleární magnetické rezonance ³¹P NMR.

V souvislosti s depozicí dusíku do lesních ekosystémů jsou studovány i přeměny fosforu v půdě. GUNDERSEN (1998) ukázal, že kriticky nízký obsah fosforu v jehlicích smrku (0,6–1 mg.g⁻¹) může být důsledkem kombinovaného vlivu sucha a dusíkatého stresu na kořeny a mykorrhizy. Vyplavování dusičnanů ze smrkových porostů může být důsledkem nedostatku P a K, které limitují příjem N u starších porostů (HARRISON & al. 1995). CLARHORN & ROSENGRENBRICK (1995) upozornili, že vysoká depozice N může vést k nedostatku P v půdě smrkového porostu a popsali zpětnou vazbu mezi nízkým obsahem P v jehlicích a vzrůstající aktivitou fosfatázy v humusu. Zatímco pozorování PERSSONA (PERSSON & al. 1995) dokládají, že dlouhodobá roční depozice dusíku 20 kg ha⁻¹ neovlivnila růst smrku ztepilého na úživných stanovištích v jihozápadním Švédsku, BRAEKKE (1996) předpokládá, že nedostatek fosforu se již projevuje nebo brzy projeví jako obecnější problém v 30–60 km široké pobřežní zóně táhnoucí se od nejjihnějšího Švédska k severu a dále západním směrem podél jižního pobřeží Norska, kde v lesích s mělkými půdami již došlo k saturaci ekosystému dusíkem. Cílem naší práce, vzniklé v rámci projektu „Vliv transformace dusíku na poškozování horských smrkových porostů vystavených různému imisnímu zatížení“ bylo stanovit jednotlivé formy fosforu v podzolové půdě horského smrkového lesa na Trojmeznné hoře, kde jsou depozice N nižší než v jiných našich horských smrkových porostech, a srovnat je s obsahem tzv. dostupného fosforu, stanoveným ve výluhu kyseliny citronové, a s formami organického P, vázaného v huminových kyselinách (HK). Získaná data budou sloužit k obsáhlejší analýze dostupnosti P v půdách horských smrkových porostů v oblastech s různou depozicí N.

Materiál a metodika

Lokalita

Trvalá výzkumná plocha Ústavu ekologie krajiny AV ČR České Budějovice se nachází ve smrkovém vegetačním stupni v oblasti autochtonních smrčín silně postižených žloutnutím jehlic asi 1 km od vrcholu Plechý (1378 m n. m.) ve státní přírodní rezervaci Trojmezná hora (od roku 1992 součást Národního parku Šumava). Podrobnější údaje byly publikovány (NOVÁK & al. 1999). Půdním typem je humuso-železitý podzol (FAO), půdy jsou hlinitopísčité, skeletovité, lehčí, s ostrůvky žulových monolitů. Schéma půdního profilu je na Obr. 1.



Obr. 1. – Půdní profil na TVP Trojmezná hora. Vlevo znázorněny průměrné mocnosti horizontů, vpravo jejich rozsah. Hodnoty v procentech uvádějí obsah hrubého skeletu (>30 mm).

Fig. 1. – The soil profile in Trojmezná hora stand. The content of coarse skeleton (>30 mm) is expressed in per cent.

Elementární analýza

CHN analýza byla provedena na zařízení Perkin-Elmer, obsah C_{ox} byl stanoven oxidací vzorku kyselinou chromovou a titrací nadbytku Cr^{VI} (KRÁLOVÁ & al. 1991). Hodnoty pH_{H_2O} a pH_{KCl} byly stanoveny potenciometricky za použití kombinované skleněné elektrody ve vodném a 1 M KCl půdním výluhu (1:5).

Izolace FK a HK

Vzorky půdy, odebrané v letech 1995–1996 z jednotlivých horizontů humuso-železitého podzolu, byly volně vysušeny na vzduchu a prosety na sítu 1 mm. Po dekalcinaci vzorku 0,1 M HCl byly 0,1 M roztokem NaOH extrahovány huminové kyseliny. Fulvokyseliny (FK, frakce 1+2 podle práce PONOMAREVOVÁ & PLOTNIKOVÁ 1975) byly izolovány standardní metodou (MALCOLM 1991) z matečného louhu po vysrážení a izolaci huminových kyselin (NOVÁK & al. 1999).

Stanovení celkového fosforu P_t

Obsah celkového fosforu byl stanoven spektrofotometricky po mineralizaci vzorku: 0,025 g na vzduchu vysušené jemnozemi, rozemletého opadu (<0,25mm), FK nebo HK bylo mineralizováno varem s kyselinou chloristou (72%) (SOMMERS & NELSON 1972). Vzorek bitumenu rozetřený v achátové misce byl mineralizován ve směsi kyseliny sírové (96%) a chloristé (72 %) v obj. poměru 1:1. Fosfor převedený mineralizací na *o*-fosforečnan byl po reakci s molybdenanem amonným a kyselinou askorbovou stanoven spektrofotometricky při 660 nm jako fosfomolybdenová modř (MURPHY & RILEY 1962, WATANABE & OLSEN 1965).

Stanovení organického fosforu P_{org}

Stanovení obsahu organického P v půdě se provádí dvoustupňovou extrakcí půdy (BOWMAN 1989). 2 g jemnozemi se nejprve extrahují 18 M H_2SO_4 (kyselý extrakt) a následně 0,5 M NaOH (zásaditý extrakt). Ve spojených extraktech se stanoví celkový extrahovatelný fosfor P_e po mineralizaci kyselinou chloristou a minerální P_2 postupem s molybdenanem amonným spektrofotometricky při 820 nm. Rozdíl obou hodnot je roven obsahu organického fosforu $P_{org} = P_e - P_2$.

Stanovení vodorozpuštěného fosforu P_w

1 g vysušené jemnozemi (<2 mm) nebo hrabanky se třepe 2 hodiny s destilovanou vodou (MACHÁČEK 1986). Po filtraci se ve filtrátu stanoví vodorozpuštěný fosfor spektrofotometricky (MURPHY & RILEY 1962, WATANABE & OLSEN 1965).

Stanovení přístupného fosforu P_a

1 g vysušené jemnozemi nebo hrabanky se třepe 2 hodiny s destilovanou vodou a katexem OSTION KS 0809 (MACHÁČEK 1986). Po filtraci se ve filtrátu stanoví přístupný fosfor spektrofotometricky.

Stanovení přístupného fosforu ve výluhu 1% kyselinou citronovou P_{citr}

1–5 g jemnozemi bylo po zalití 1% roztokem kyseliny citronové (poměr půda:roztok 1:10) 1 hodinu třepáno, poté ponecháno 24 hodin v klidu a opět 1 hodinu třepáno. Po filtraci bylo do mineralizační baňky pipetováno 1–5 ml filtrátu a po mineralizaci kyselinou chloristou byl P stanoven spektrofotometricky jako fosfomolybdenová modř.

^{31}P NMR spektrum

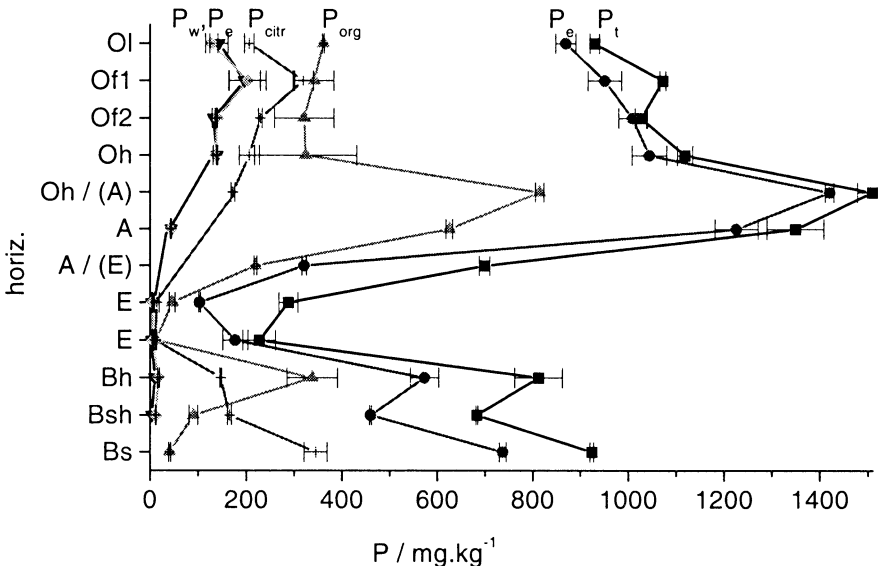
^{31}P NMR spektrum huminové kyseliny bylo měřeno v 3 % roztoku NaOD v D_2O na přístroji Bruker DRX 500 v kyteti 5 mm při pracovní frekvenci 202,45 MHz. Spektrum bylo získáno za použití těchto parametrů: relaxační čas 5 s, širokopásmový dekaplink, počet akumulací 10 000, vzorkování 32 kB, line broadening 50 Hz. Ze spekter bylo vypočteno zastoupení jednotlivých typů atomu fosforu, přiřazených podle D_{AI} & al. (1996).

Výsledky a diskuse

Formy fosforu

Výsledky elementární analýzy půdy, HK a FK jsou uvedeny v Tabulce 1. Půda je velmi kyselá, pH v jednotlivých horizontech ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{pH}_{\text{KCl}}$) bylo 3,4/2,7 (F), 3,41/2,7 (H), 3,5/3,0 (A), 3,6/3,0 (E), 3,9/3,5 (B_h). Obsah celkového P se v organických horizontech zvyšuje s hloubkou z 1,0 na 1,5 g.kg^{-1} , maxima dosahuje v horizontu A. Na výrazném zvýšení obsahu celkového P v A horizontu se podílí především nárůst organického P. Při extrakci podle Bowmana bylo z jednotlivých horizontů extrahováno 78–99 % celkového P. Výjimkou je eluviální horizont, kde vzhledem k celkově nízkému obsahu P a vyšší prostorové heterogenitě dané zvláštním rozhraním humusového a eluviálního horizontu je chyba daná vyšším rozptylem měřených hodnot větší.

Obsah organického fosforu je významný především v nadložních horizontech O_p , O_r , O_h a v horizontu A (Obr. 2), přičemž maxima dosahuje v horizontech O_h a A (Tabulka 4 a 5). Postupný nárůst tohoto podílu v uvedených horizontech (Obr. 3) odpovídá vyššímu stupni



Obr. 2. – Obsah celkového P a jeho forem v jednotlivých horizontech podzolové půdy s vyznačenými chybovými sloupci.

Fig. 2. – The content of total phosphorus and its fractions in individual soil horizons. The error bars indicate the individual error at 95 %.

Tabulka 1. – Základní charakteristika jemnozeme I z půdních horizontů na TVP Trojmezná hora.
Table 1. – The basic soil characteristics in Trojmezná hora stand.

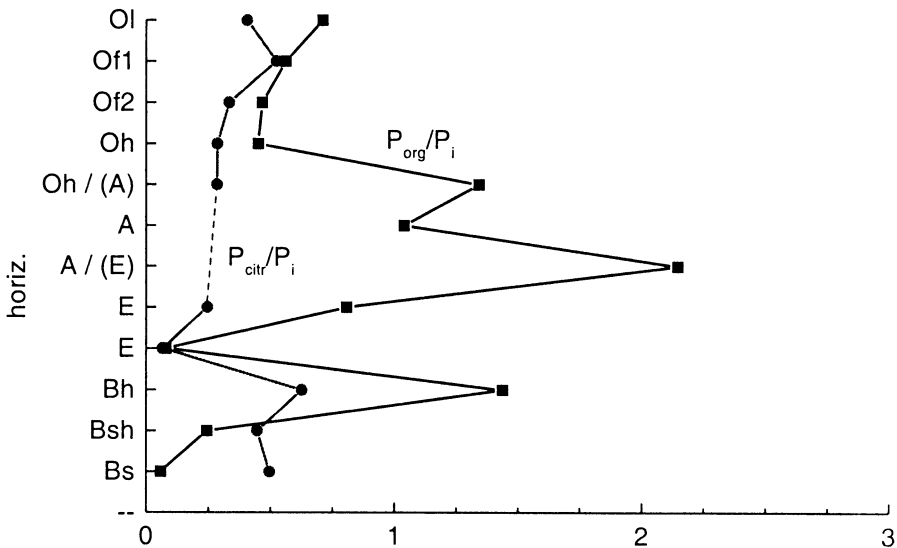
Horizont ¹	pH		C _{ox}	C	N	C/N
	H ₂ O	1 M KCl				
O ₁	4.35	3.14	39.4±1.1	49.7	1.96	25.4
O _{f1}	3.74	2.74	39.9±0.4	49.0	1.80	26.6
O _{r2}	3.74	2.74	35.6±1.3	46.0	1.89	24.3
O _h	3.41	2.75	32.4±1.1	26.6	1.49	17.9
A _s	3.38	2.96	17.4±1.3	-	-	-
E _p	3.76	3.01	0.53±0.03	0.7	0.13	5.8
B _h	3.88	3.45	1.69±0.24	2.4	0.49	4.9
B _h /B _s	4.14	3.90	1.38±0.02	-	-	-
B _s	4.39	4.12	1.15±0.03	-	-	-

¹ Horizon

humifikace opadu. Zatímco v nadložních humusových horizontech je převažuje P_{org} vázaný v nerozložené organické hmotě, je většina organické hmoty v horizontu A humifikována, P_{org} je zde vázaný v humusu (především v huminových kyselinách) a tvoří největší frakci P_t ze všech horizontů. V horizontu E se obsah P_{org} prudce snižuje a v B horizontech je nízký, s výjimkou horizontu B_h, kde je P_{org} výrazně akumulován a významně přispívá k lokálnímu maximu obsahu P_t. Pod horizontem B_h organického P rychle ubývá, naopak se zvyšuje obsah anorganického P. V horizontu B_{sh} je většina P_{org} vázána ve frakci 0–1 mm (122±12 mg.kg⁻¹); ve frakci 1–2 mm bylo zjištěno pouze 17±1 mg.kg⁻¹, přičemž průměrný obsah celkového fosforu byl ve frakci 0–1 mm 799 mg.kg⁻¹ a ve frakci 1–2 mm 317 mg.kg⁻¹.

V horizontech B_{sh} a zejména B_s dochází k výrazné akumulaci anorganického P (fosforečnanů) zejména v důsledku tvorby komplexů se sloučeninami Al³⁺ a Fe³⁺, čímž je výrazně omezeno vyplavování P z ekosystému. Tento P může být v přirozeném smrkovém lese dostupný po vývratech stromů, případně může být přijímán hlouběji kořenicími dřevinami.

Obsah vodorozpuštěného P_w a přístupného P_a je ve všech horizontech poměrně nízký a s hloubkou se výrazně snižuje, což dokládá zadržování P v půdě lesních ekosystémů. Nejvyšší obsah vodorozpuštěného fosforu byl zjištěn ve svrchních horizontech O₁, O_{f1} a O_{r2}, kde dosahoval 12–18 % P_t. V minerálních horizontech byl jeho obsah nízký (kolem 2 % P_t) a jeho další pokles směrem dolů až na 0,8 % P_t v horizontu B_s dokládá, že P je v lesním ekosystému zachovávan, jeho pohyb v minerálních horizontech půdního profilu je omezený a vyplavování zanedbatelné. Obsah dostupného P_a, stanoveného katexovou metodou, dosahuje rovněž nízkých hodnot, často srovnatelných s obsahem P_w (Tabulka 3). Obsah fosforu extrahovatelného 1 % kyselinou citronovou, který je někdy rovněž nazýván dostupným P, protože *pH extrakčního roztoku je srovnatelné s pH kořenových exudátů většiny rostlin, byl ve srovnání s metodou katexovou vyšší. Značně vysoký obsah P_{cit} v B horizontu ukazuje, že do extraktu 1 % kyselinou citronovou přechází ve vzorcích z minerálních horizontů větší část rostlinám nedostupného anorganického fosforu. Obsah dostupného P v A, B_h a B_s horizontech podzolové půdy (haplic podzol) smrkového lesa, stanovený pomocí aniontově výměnné membrány, uvádějí CLEGG & GOBRAN (1997). V A horizontu dosahoval 23 % celkového P, v B_h horizontu 9 % a v B_s 4 %. Tyto výsledky odpovídají citrátovému výluhu pouze v A horizontu (18 % celkového P), v B-horizontech poskytuje tradiční citrátová metoda hodnoty P_{cit} vyšší, katexová metoda hodnoty nižší (Tabulka 3). Podobný trend obsahu P_{cit} ve vybraných horizontech výrazného železitého podzolu TVP Pod Koulí v Krkonoších pozorovali PODRÁZ-*



Obř. 3. – Poměr P_{org}/P_i a P_{citr}/P_i v půdním profilu podzolové půdy na TVP Trojmeznná hora. (P_i = anorganický P).

Fig. 3. – The P_{org}/P_i and P_{citr}/P_i ratios in the profile of ferro-humic podzol in Trojmeznná hora stand. (P_i = inorganic P).

Tabulka 2. – Obsah fosforu ve vybraných frakcích půdní organické hmoty (průměr a směrodatná odchylka výběru).

Table 2. – Phosphorus content in individual fractions of soil organic matter (mean \pm individual standard deviation).

Horizont	Humin mg.kg ⁻¹	HK mg.kg ⁻¹	FK mg.kg ⁻¹	bitumeny mg.kg ⁻¹
O _i		2361 \pm 96		1283 \pm 31
O _{fi}	576 \pm 4	1549 \pm 6		1111 \pm 17
O _{f2}	635 \pm 1	2205 \pm 4		1037 \pm 6
O _h	731 \pm 10	1569 \pm 59		876 \pm 1
A _e	843 \pm 33	1721 \pm 59		717 \pm 10
E _p		1711 \pm 14		
B _{hs}		6118 \pm 179	533 \pm 3	509 \pm 20

SKÝ & VACEK (1994); jimi uváděné hodnoty jsou však patrně v důsledku odlišného postupu stanovení podstatně nižší (maximální 36,7 mg.kg⁻¹ P v O_{f+h} horizontu), což znemožňuje provést srovnání dostupnosti P na stanovištích.

Uvedené výsledky ukazují, že podobně jako severské mají i naše horské lesní ekosystémy vyvinuty účinné mechanismy proti ztrátám P z ekosystému. Diferenciace půdních horizontů humuso-železitého podzolu se výrazně projevuje v distribuci jednotlivých forem fosforu v půdním profilu, jež dokládá mechanismus retence P v ekosystému. Podrobné analýzy půdního systému ukázaly, že biologické a geochemické procesy, vrstevnatě rozložené v půdním profilu, regulují retenci P, takže i přes velké interní toky fosforu v ekosystému pouze

Tabulka 3. – Obsah frakcí půdního fosforu (průměr±individuální směrodatná odchylka výběru) v jemzemi I jednotlivých horizontů podzolu na TVP Trojmezna hora. Frakce fosforu: P_t – celkový P; P_{org} – organický P, P_e – extrahovatelný dle Bowmanna; P_w – vodorozpustný; P_a – dostupný; P_{citr} – extrahovatelný 1% kyselinou citronovou.

Table 3. – The content of phosphorus fractions in individual soil horizons in Trojmezna hora stand (mean±individual standard deviation). Phosphorus fractions: P_t – total P; P_{org} – organic P, P_e – P extractable by Bowmann's method; P_w – watersoluble P; P_a – available P; P_{citr} – P extractable by 1 % citric acid.

Horizont ¹	P_t	P_e	P_{org}	P_w	P_a	P_{citr}
	mg.kg ⁻¹					
O ₁₀	962±44					
O ₁	930±10	869±21	361±2	143±19	128±13	206±10
O _{fl}	1072±6	951±35	328±41	196±33	203±38	331±21
O _{pr}	1027±13	1015±29	321±62	132±3	139±1	229±4
O _h	1118±16	1044±36	324±107	139±1	136±5	206±21
O _h / (A)	1509±31	1420±9	814±9	-	-	172±4
A _e	1349±59	1226±45	625±7	44±1	43±1	-
A _e / (E _p)	699±11	321±5	219±3	-	-	-
E _p	288±20	103±2	46±6	4±0	5±1	14±5
E _p	227±34	177±26	13 ±1	4±0	5±1	11±3
B _h	812±50	573±30	338±53	10±0	18±2	147±2
B _{sh}	683±2	460±2	90±9	4±0	12±1	165±4
B _s	924±4	737±7	41±2	-	-	345±24

¹ horizon

0,007 kg.ha⁻¹ P ročně uniká v povrchových vodách při průměrné koncentraci fosforu ≤ 1 mg.l⁻¹ (WOOD & al. 1984). Hrabanka, obsahující vysoké počty bakterií a zejména houbových hyf a charakteristická hustým prokořeněním a minimálním obsahem volných iontů Fe³⁺ a Al³⁺, je vrstvou s intenzívními biologicky řízenými transformacemi P, avšak s minimálními možnostmi ovlivňovat koncentraci P v půdním roztoku geochemicky. Naproti tomu podložní horizonty B s vysokým obsahem volných iontů Al³⁺ a Fe³⁺ a minimálním prokořeněním i počty mikroorganismů udržují nízký obsah P ve vodném roztoku geochemicky, což má zvláštní význam po smýcení nebo poškození lesa, kdy je funkce nadložního humusu narušena a mineralizovaný fosfor (anorganické fosforečnany) migruje do B horizontu, kde je fixován geochemicky v minerálech obsahujících Al³⁺, Fe³⁺, popřípadě Ca²⁺, a na rozdíl od ostatních živin nebývá vyplavován (WOOD & al. 1984). V přirozených lesních ekosystémech se anorganický fosfor akumulovaný v B horizontu podzolové půdy dostává při vývratech k povrchu a může tak významným způsobem přispívat k výživě semenáčků z náletu. Retenci fosforu ve zralém lesním ekosystému na typickém podzolu (lithic haplorthod), vytvořeném na glaciálních jílech s dobře vyvinutým nadložním humusovým horizontem dokládá YANAI (1998). Porost s dominantními druhy *Picea rubens* Sarg, *Abies balsamea* Mill. a *Betula papyrifera* Marsh. poblíž experimentální stanice Hubbard Brook ve výšce 750 m n. m byl smýcen v době vegetačního klidu, přičemž bylo odebráno 50 kg P.ha⁻¹. Přestože export ostatních živin z ekosystému prudce vzrostl, ztráty P v odtoku a sedimentech zůstaly zanedbatelné. Vyplavování P z hrabanky do minerálních horizontů v prvních dvou letech po smýcení bylo sice vyšší než v nepoškozeném lese, nárůst vyplavování P však byl mnohem nižší (0,7 kg.ha⁻¹ rok⁻¹) než zjištěný pokles příjmu P vegetací z hrabanky (4,8 kg.ha⁻¹ rok⁻¹).

Husté prokořenění smrků v organických horizontech spolu s aktivními mykorrhizami na-

Tabulka 4. – Obsah frakcí půdního fosforu v jednotlivých horizontech podzolu na TVP Trojmezná hora vyjádřený jako zlomek celkového P. Označení frakcí viz v Tabulce 3.

Table 4. – The content of phosphorus fractions in individual soil horizons in Trojmezná hora stand (as a % of total P). For abbreviations, see Table 3.

Horizont ¹	P _e	P _{org}	P _w	P _a	P _{citř}
	%				
O ₁	-	-	15.4	13.8	22.2
O ₁₁	88.7	25.1	18.3	18.9	30.9
O ₁₂	98.7	31.2	12.9	13.5	22.3
O _h	93.4	28.9	12.3	12.2	18.4
O _h /A	91.1	52.2	-	-	11.1
A _e	90.9	46.3	3.3	3.2	-
A _e /(E _p)	45.9	31.3	-	-	-
E _p	35.8	16.0	1.4	1.7	4.9
E _n	78.0	5.7	1.8	2.2	4.8
B _h	70.6	41.6	1.2	2.2	18.1
B _{sh}	67.3	13.2	0.6	1.8	24.2
B _s	79.8	4.4	-	-	37.3

¹ horizon

pomáhá retenci značné části fosforu uvolněného při dekompozici opadu a jeho využití porostem. Určitá část mineralizovaného P je přijata mikroorganismy, významný podíl fosforu v horizontech O a A je před vyplavováním chráněn humifikací. Část humifikovaného P, vázaná v dobře rozpustných fulvokyselinách a ve frakci „lehčích“ huminových kyselin, postupuje půdním profilem a je zadržena v horizontu B_h. Fulvokyseliny sehrávají klíčovou úlohu při transportu fosforu a ostatních živin z horizontu E do hlubších horizontů (SCHOENAU & BETTANY 1987) a za určitých okolností pravděpodobně i do povrchových vod. Rozvrstvení biologických a geochemických procesů transformace P se promítá i do frakčního složení fosforu v jednotlivých horizontech. WILLIAMS (1996) zjistil, že v humusovém horizontu lesa s *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. se organický P podílí 65 % na P_e, používal však metodu založenou na kyselém extrakci a žihání vzorku při 550 °C, která zřejmě vede k nadhodnocení P_{org}. CLEGG & GOBRAN (1997) uvádějí, že v A, B_h a B_s horizontech smrkového lesa v JZ Švédsku tvoří organický fosfor 68, 58 a 57 % celkového fosforu v uvedených horizontech. Vyšší hodnota ve srovnání s našimi výsledky je dána odlišným postupem stanovení, při jehož použití může být jako organický P stanoven i P vázaný v organominerálních komplexech, jejichž část přechází do NaOH extraktu a v kyselém prostředí se sráží spolu s huminovými kyselinami. U horizontů nadložního humusu zůstává část organického fosforu vázána v nerozpustných huminech, které obsahují 0,576–0,731 g P v 1 kg sušiny (Tabulka 2), a v nerozloženém opadu (0,550–0,650 g P v 1 kg).

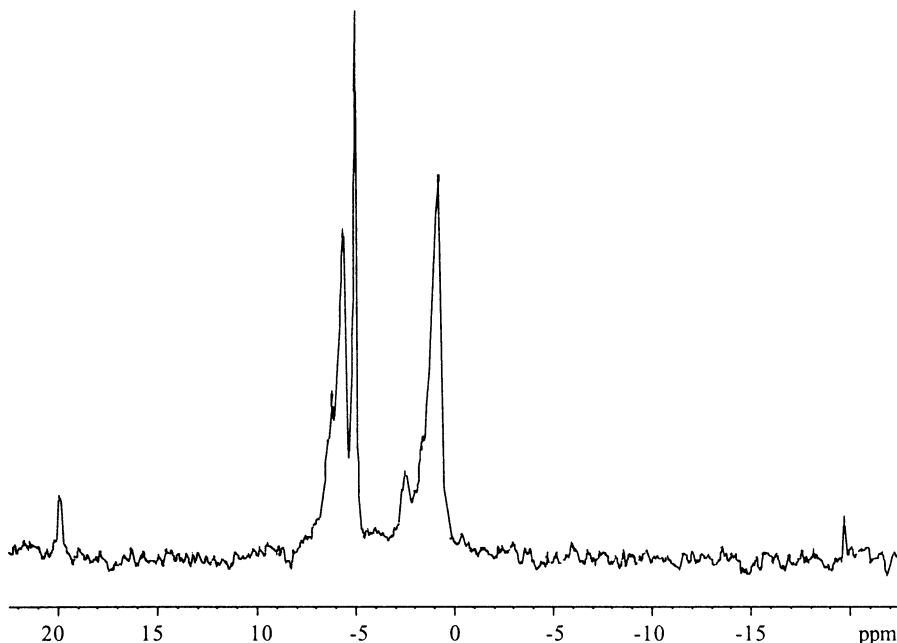
Nejvíce fosforu ze všech zkoumaných frakcí půdní organické hmoty obsahují huminové kyseliny (Tabulka 2). HK izolované z hrabanky obsahovaly 1,5–2,4 g.kg⁻¹ P, v horizontech O_h, A a E_p byl obsah P v HK 1,6–1,7 g.kg⁻¹. Extrémně vysoký obsah fosforu 6,1 g.kg⁻¹ má HK izolovaná z horizontu B_{hs}, která však obsahuje vyšší podíl organominerálních komplexů, jež fosfáty vážou. Naproti tomu fulvokyseliny jsou frakcí půdní organické hmoty s nejnižším obsahem fosforu – FK z horizontu B_{hs} obsahuje jen 0,5 g.kg⁻¹ P.

Zajímavý průběh má závislost obsahu P v bitumenech na hloubce jednotlivých horizontů. Ve svrchním O₁ horizontu dosahuje téměř 1,3 g.kg⁻¹ P a postupně se snižuje na hodnotu zjiš-

těnou u FK (Tabulka 2). Bitumeny, zejména ve svrchních půdních horizontech, obsahují pravděpodobně většinu P vázaného ve fosfolipidech a látkách příbuzných, což znamená, že obsah P v bitumenech může indikovat biologickou aktivitu daného horizontu. Obsah fosforu v huminech je poměrně nízký, s vyšším stupněm humifikace se zvyšuje až na maximum $0,84 \text{ g.kg}^{-1}$ v horizontu A. Ze vzorků z hlubších horizontů se nepodařilo humin separovat, s přihlédnutím k celkově nízkému obsahu uhlíku v těchto horizontech však zřejmě není podíl fosforu vázaného huminy v horizontech E a B významný. Obsah fosforu v části opadu z organických horizontů, zbylé po extrakci FK, HK a separaci huminů, je podobný obsahu P v huminech – v O_{f1} a O_{f2} horizontech bylo zjištěno $0,550 \pm 0,001$ a $0,648 \pm 0,004 \text{ g.kg}^{-1}$ P. Z uvedených výsledků je zřejmé, že nejvýznamnější frakcí půdní organické hmoty z hlediska vázaného fosforu jsou huminové kyseliny. Ke zjištění povahy fosforu vázaného v HK jsme u HK izolované z horizontu O_{f1} použili ^{31}P NMR spektroskopii.

^{31}P NMR spektrum huminové kyseliny

^{31}P NMR spektrum HK z O_{f1} horizontu je na Obr. 4, integrované intenzity pro jednotlivé signály uvádí Tabulka 5. Přiřazení signálů jsme provedli podle práce DAI & al. (1996) s výjimkou pásu 1,5–3 ppm, který autoři nepozorovali; jiné práce tento signál popisují, avšak identifikace tohoto typu atomů P nebyla dosud provedena. Hraniční hodnota signálu mezi touto frakcí a frakcí zahrnující monoestery fosforečnanů zřejmě závisí na pH roztoku a povaze huminové kyseliny. RANDALL & al. (1997) považují za hranici mezi signály těchto frakcí 2,5 ppm, CADE-MENUN & PRESTON (1996) a DAI & al. (1996) hodnotu 3,0, kterou jsme použili v této práci. Rozdíly plynoucí z odlišné analýzy spekter mohou komplikovat srovnání výsledků různých autorů.



Obr. 4. – ^{31}P NMR spektrum huminové kyseliny izolované z horizontu O_{f1} humuso-železitého podzolu na Trojmezne hoře.

Fig. 4. – The ^{31}P NMR spectrum of humic acid isolated from O_{f1} horizon of ferro-humic podzol in Trojmezna hora stand.

Pro stanovení jednotlivých frakcí půdního fosforu pomocí ^{31}P NMR spektroskopie se často používá extrakce v 0,5 M NaOH. Nevýhodou tohoto postupu je extrakce méně než 50 % celkového P u některých půd (CADE-MENUN 1995), možnost hydrolyzy extrahovaných huminových kyselin v silně alkalickém roztoku a podobně jako u některých jiných extrakčních činidel současná extrakce paramagnetických iontů, které snižují rozlišení NMR spekter. Pro kanadské podzolové půdy ve zralých lesních porostech s dominantním tisovcem *Tsuga heterophylla* (Raf.) Sarg. a zeravem *Thuja plicata* Don. uvádí CADE-MENUN (1995), že směs NaOH-EDTA extrahovala největší podíl půdního P a většinu druhů/forem P ve srovnání s 0,25 M NaOH, roztokem Chelexu i roztokem Chelexu v 0,25 M NaOH. Domnívá se rovněž, že použití směsi NaOH-EDTA snižuje stupeň hydrolyzy, vypočítaný z poměru obsahu diesterů a monoesterů. Nicméně rozlišení NMR spektra bylo horší než u jiných extraktantů. Extrakce vzorků lesních půd směsí Chelex + NaOH poskytovala velmi ostré signály, extrahovala však pouze 23–35 % P. Nejhůře rozlišené signály ^{31}P NMR spekter poskytují extrakce směsí 0,5 M NaOH + 0,1 M EDTA (1:1), při níž do extraktu přechází větší podíl Mn; toto činidlo však zároveň extrahuje nejvyšší podíl půdního P (71–90 %) včetně polyfosfátů. Srovnání ^{31}P NMR spekter různých půd a jejich interpretaci z hlediska koloběhu P je třeba provádět obezřetně, protože různé způsoby extrakce poskytují odlišné výsledky zastoupení jednotlivých forem fosforu (CADE-MENUN & PRESTON 1996). Pro stanovení jednotlivých frakcí organického fosforu v humuso-železitém podzolu jsme zvolili preparát huminové kyseliny, která byla z půdy extrahována za poměrně šetrných podmínek a při čištění byla zbavena paramagnetických iontů a jílových příměsí, jež by zhoršovaly rozlišení NMR spekter. V ^{31}P NMR spektru (Obr. 4.) lze rozlišit hlavní signály v oblastech okolo 0,8 ppm a 5–7 ppm, a minoritní signály při 20 a -20 ppm.

^{31}P NMR spektrum studované huminové kyseliny obsahuje s výjimkou signálu difosforečnanů všechny typy atomů fosforu, vyskytující se v půdní organické hmotě. Velmi dobré rozlišení signálů je dáno vysokým stupněm čistoty HK, která na rozdíl od půdních extraktů obsahuje jen malé množství látek, zhoršujících rozlišení spektra (ionty Mn^{2+} , Fe^{3+} apod.). HK obsahovala nejvíce fosforu vázaného v diesterech orthofosforečnanu (35,6 %). Vysoké zastoupení mají v HK atomy anorganického orthofosforečnanu, jejichž část může pocházet z částečné hydrolyzy esterů orthofosforečnanu, již nelze ani při šetrné izolaci HK z půdní organické hmoty vyloučit. Významný podíl tvoří monoestery orthofosforečnanu (18,8 %). Spo-

Tabulka 5. – Relativní intenzita a přiřazení ^{31}P NMR signálů.

Table 5. – Relative intensity and assignment of ^{31}P NMR signals.

Signál ¹ ppm	rel. intenzita ² %	přiřazení dle ³ DAI & al. (1996)
15-20	2,8	fosforitany ⁴
5,5-7	31,3	anorganický orthofosforečnan ⁵
3-5,5 ⁴	18,8	monoestery orthofosforečnanu (inositolfosfáty, fosforečné estery sacharidů, mononukleotidy) ⁶
1.5-3	10,6	neidentifikováno ⁷
1 - (-2)	35,6	diestery orthofosforečnanu (fosfolipidy, DNA a RNA) ⁸
-3.5 - (-5)	0,0	difosforečnan ⁹
-6 - (-23)	1,0	polyfosforečnany (ATP, ADP) ¹⁰

¹ signal; ² relative intensity; ³ assignment after; ⁴ phosphonates; ⁵ inorganic orthophosphate; ⁶ orthophosphate monoesters (inositol phosphates, sugar phosphates, mononucleotides); ⁷ non-identified; ⁸ orthophosphate diesters (phospholipids, DNA and RNA); ⁹ pyrophosphate; ¹⁰ polyphosphates.

lu s neidentifikovanými atomy P se podílejí uvedené tři formy 96,3 % na celkovém obsahu P v HK. Signály fosforitanů a polyfosforečnanů jsou minoritní, po získání většího souboru spekter však mohou sloužit jako významný pedogenetický indikátor, neboť se ve spektrech nevyskytují pravidelně.

DAI & al. (1996) našli pyrofosforečnany (5–19 % P_i) a polyfosforečnany (5–13 % P_i) převážně v extraktech z hrabanky s výjimkou jediného profilu, kde se pyrofosforečnany akumulovaly v horizontu B_{hs} . Stopy (~ 2%) fosforitanů zjistili pouze v O_a horizontu. Tyto výsledky ukazují, že pro distribuci různých frakcí (typů atomů) fosforu v podzolových půdách je rozhodující biologická aktivita, obsah extrahovatelného Fe, strukturní charakteristika sloučenin P a hodnota pH. Pro distribuci monoesterů a diesterů orthofosforečnanu v půdním profilu jsou významné procesy hydrolyzy, adsorpce a vyplavování. Například diestery orthofosforečnanu zpravidla podlehnou hydrolyze dříve, než dosáhnou horizontu B_{hs} , byly však zjištěny i výjimky, kdy naopak diestery orthofosforečnanu představovaly největší podíl P v B_{hs} horizontu. Diestery fosfátového iontu (se signálem okolo 0 ppm) jsou poměrně dostupnou frakcí půdního P, která bývá nacházena v neobdělávaných půdách oblastí s vyšším srážkovým úhrnem. V případě narušení ekosystému nebo při jeho kultivaci zpravidla mizí. Půdy přirozených ekosystémů mívají nižší zastoupení orthofosfátových signálů a vyšší diverzitu forem fosforu, zvláště tehdy, je-li dekompozice omezena chladem a vlhkem (PRESTON & TROFYMОВ 1998). Zastoupení jednotlivých typů atomů P, stanovené z ^{31}P NMR spekter huminových kyselin odráží vliv klimatu, mikrobiální aktivity a pravděpodobně rovněž porostu a zřejmě se v budoucnu uplatní jako významný bioindikátor v pedologii.

Závěry

1. Obsah celkového P se v organických horizontech humuso-železitého podzolu zvyšuje s hloubkou z 1,0 na 1,5 g.kg⁻¹, maxima dosahuje v horizontu A. Na výrazném zvýšení obsahu celkového P v A horizontu se podílí především nárůst organického P, což lze vysvětlit tím, že v tomto horizontu je většina organické hmoty humifikována a P_{org} je vázán v humusu (především v HK), nikoli v nerozložené organické hmotě, jako tomu bylo u nadložních humusových horizontů. Další podobné maximum obsahu P_i lze pozorovat v horizontu B_h , kde k němu významně přispívá akumulovaný P_{org} . Pod horizontem B_h organického P rychle ubývá a postupný nárůst obsahu celkového P je dán akumulací anorganických orthofosforečnanů.

2. Organický P je vázán zejména v humusových horizontech. Organické horizonty O_1 , O_2 , O_3 a humusový horizont A obsahují významný podíl P v organické formě; směrem do hloubky se obsah P_{org} snižuje, v horizontu B_h dochází k výrazné akumulaci organického P, která se promítá do nárůstu obsahu celkového P v tomto horizontu.

3. S výjimkou eluviálního horizontu, kde vzhledem k celkově nízkému obsahu P je chyba stanovení vyšší stejně jako prostorová heterogenita na rozhraní humusového a eluviálního horizontu, bylo při extrakci P dle Bowmana z jmenovaných jednotlivých horizontů extrahováno 78–99 % celkového P.

4. V eluviálním horizontu E byl zjištěn nejnižší obsah všech forem P z celého půdního profilu.

5. V horizontech B_{sh} a zejména B_s dochází k akumulaci anorganického P (fosforečnanů) při tvorbě sloučenin s ionty Al^{3+} a Fe^{3+} , čímž je výrazně omezeno vyplavování P z ekosystému. Tento P může být v přirozeném smrkovém lese dostupný po vývratech stromů, případně pro hlouběji kořenící dřeviny.

6. Nejvíce fosforu ze všech zkoumaných frakcí půdní organické hmoty obsahují huminové kyseliny. Obsah fosforu ve fulvokyselinách byl podstatně nižší, obsah fosforu v bitumenech se s hloubkou snižuje.

7. Huminové kyseliny poskytují ^{31}P -NMR spektra s vyšším rozlišením než přímé extrakty půd, zejména pro nízký obsah paramagnetických látek (ionty Mn^{2+} , Fe^{3+} apod.).

8. Huminová kyselina izolovaná z O_{f1} horizontu podzolové půdy smrkového lesa obsahovala nejvíce fosforu vázaného v diesterech orthofosforečnanu (35,6 %) a anorganických orthofosforečnanech, z nichž část může být produktem parciální hydrolyzy esterů orthofosforečnanu. Významný podíl (18,8 %) tvořily monoestery orthofosforečnanu. Signály fosforitanů a polyfosforečnanů byly minoritní.

9. Zastoupení jednotlivých typů atomu P, vypočítané z ^{31}P NMR spekter huminových kyselin, se může uplatnit v pedologii jako významný bioindikátor, neboť odráží vliv klimatu, mikrobiální aktivity a pravděpodobně rovněž porostu na humifikaci opadu a mineralizaci půdní organické hmoty.

10. Diferenciace půdních horizontů humuso-železitého podzolu se výrazně projevuje v distribuci jednotlivých forem fosforu v půdním profilu, jež dokládá mechanismus retence P v ekosystému. Zajímavé poznatky přinese studium tohoto mechanismu a srovnání dostupnosti P v půdách horských smrkových porostů vystavených různé depozici N.

Poděkování. Tato práce vznikla jako součást projektu č. 206/94/0832, podporovaného Grantovou agenturou České republiky.

Literatura

- BOWMAN R. A., 1989: A sequential extraction procedure with concentrated sulfuric acid and dilute base for soil organic phosphorus. *Soil Sci Soc Amer J.*, 53: 362–366.
- BRAEKKE F. H., 1996: Needle analyses and graphic vector analyses of Norway spruce and Scots pine stands. *Trees – Structure and Function*, 11: 23–33.
- CADE-MENUN B. J., 1995: Phosphorus forms of podzolic soils of northern Vancouver Island and their use by western red cedar. *Ph. D. thesis, University of British Columbia, Vancouver.*
- CADE-MENUN B. J. & PRESTON C.M., 1996: A comparison of soil extraction procedures for P– ^{31}P NMR spectroscopy. *Soil Science*, 161: 770–785.
- CLARHOLM M. & ROSENGRENBRINCK U., 1995: Phosphorus and nitrogen fertilization of a Norway spruce forest – effects on needle concentrations and acid phosphatase activity in the humus layer. *Plant Soil*, 175: 239–249.
- CLEGG S. & GOBRAN G.R., 1997: Rhizospheric P and K in forest soil manipulated with ammonium sulfate and water. *Canadian J. Soil Sci.*, 77: 525–533.
- DAI K. H., DAVID M. B., VANCE G. F. & KRZYSZOWSKA A. J., 1996: Characterization of phosphorus in a spruce-fir Spodosol by phosphorus–31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 60: 1943–1950.
- GUNDERSEN P., 1998: Effects of enhanced nitrogen deposition in a spruce forest at Klosterhede, Denmark, examined by moderate NH_4NO_3 addition. *Forest Ecol. Manage.*, 101: 251–268.
- HARRISON A.F., STEVENS P.A., DIGHTON J., QUARMBY C., DICKINSON A.L., JONES H.E. & HOWARD D.M., 1995: The critical load of nitrogen for Sitka spruce forests on stagnopodsols in Wales: Role of nutrient limitations. *Forest Ecol. Manage.*, 76: 139–148.
- KRÁLOVÁ M., DRAŽDÁK K., POSPÍŠIL F., HADACOVÁ V., KLOZOVÁ E., LUŠTINEC J., KUTÁČEK M. & SAHULKA, J., 1991: Vybrané metody chemické analýzy půd a rostlin. *Studie ČSAV, Academia Praha*, 12: 1–160.
- MACHÁČEK V., 1986: Ověření nové metody ke stanovení rychlosti uvolňování fosforu z půdy. *Rostlinná výroba*, 32: 473–480.
- MALCOLM R.L., 1991: Factors to be considered in the isolation and characterisation of aquatic humic substances. In: *Humic substances in the aquatic and terrestrial environment*, ALLARD B., BOREN H. & GRIMVALL A. (eds). *Proceedings of the International Symposium Linköping, Sweden, August 21–23, 1989. Lecture Notes in Earth Sciences, Springer Verlag, New York*, 33: 9–36.
- MURPHY J. & RILEY J.P., 1962: A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal Chim Acta*, 27: 31–36.
- NOVÁK F., KALOUSKOVÁ N., MACHOVIČ V. & BRUS J., 1999: Composition and structure of fulvic acids from B-horizon of Ferro-Humic Podzol in Trojmezí (Bohemian Forest Mts.). *J. Forest Sci.*, 45: 554–565.
- PERSSON O.A., ERIKSSON H. & JOHANSSON U., 1995: An attempt to predict long-term effects of atmospheric nitrogen deposition on the yield of Norway spruce stands (*Picea abies* (L.) Karst) in southwestern Sweden. *Plant Soil*, 168: 249–254.
- PODRÁŽSKÝ V. & VACEK S., 1994: Půdy ochranných lesů Krkonoš (Soil of protective forests in Krkonoše Mts.). *Opera Corcontica, KRMAP Vrchlabí*, 31: 5–21.

- PONOMAREVA V.V. & PLOTNIKOVA T.A., 1975: Oppredelenie gruppovogo i frakcionnogo sostava gumusa po scheme I.V. Tjurina v modifikaciji V.V. Ponomarevoj i T.A. Plotnikovej. In: *Agrochemičeskie metody issledovanija počv*, ALEXEJEVA D.M. & SOKOLOV A.V. (eds), Nauka, Moskva, pp. 47–55.
- PRESTON C.M. & TROFYMOV J.A., 1998: Chemical and P-31 NMR characterization of soil P in coastal forest chronosequences of southern Vancouver Island: Effects of climate and disturbance. In: *Northwest Science*, TROFYMOV J.A. & MACKINNON A. (eds.), Washington State Univ., Vol. 72: 46–47.
- RANDALL E.W., MAHIEU N. & IVANOVA G.I., 1997: NMR studies of soil, soil organic matter and nutrients: spectroscopy and imaging. *Geoderma*, 80: 307–325.
- SCHOENAU J.J. & BETTANY J.R., 1987: Organic matter leaching as a component of carbon, nitrogen, phosphorus and sulfur cycles in a forest, grassland and gleyed soil. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 51: 646–651.
- SOMMERS L.E. & NELSON D.W., 1972: Determination of total phosphorus in soils: A rapid perchloric acid digestion procedure. *Soil Sci Soc Am Proc.*, 36: 902–904.
- YANAI R.D., 1992: Phosphorus budget of a 70-year old northern hardwood forest. *Biogeochemistry*, 17: 1–22.
- YANAI R.D., 1998: The effect of whole-tree harvest on phosphorus cycling in a northern hardwood. *Forest Ecology Manage.*, 104: 281–295.
- WATANABE F.S. & OLSEN S.R., 1965: Test of ascorbic acid method for determining phosphates in water and sodium bicarbonate extract from soils. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 29: 677–680.
- WILLIAMS B.L., 1996: Total, organic and extractable-P in humus and soil beneath Sitka spruce planted in pure stands and in mixture with Scots pine. *Plant Soil*, 182: 177–183.
- WOOD T.E., BORMANN F.H. & VOIGT G.K., 1984: Phosphorus cycling in a northern hardwood forest: Biological and chemical control. *Science*, 223: 391–393.