Využití stabilního $\delta^{13}C$-CO_2 v determinaci zdrojů půdní respirace

USE OF δ13C-CO_2 IN DETERMINATION OF SOURCES OF SOIL RESPIRATION

Valerie Vranová, Klement Rejšek, Pavel Formánek – Mendelova univerzita v Brně

Odlišení zdrojů půdní respirace je důležitou součástí výzkumu biochemických procesů v půdě a koloběhu uhlíku v různých terestriálních ekosystémech. Zahrnuje jednak odlišení respirace kořenů v rámci celkové respirace půdy (1), a také odlišení respirace endogenní půdní organické hmoty od respirace exogenní (většinou aplikované nízkomolekulární látky) v případě, že pochází z rostlin s rozdílným typem metabolismu (C_3 versus C_4) (2). Zatímco pro odlišení respirace kořenů rostlin od respirace rozkladačů půdní organické hmoty byla testována řada metod (3), pro odlišení respirace endogenní versus exogenní je nejčastěji využíváno přirozeného výskytu izotopu ^{13}C (4), přičemž jako exogenní substráty jsou nejčastěji používány nízkomolekulární organické látky, které se přirozeně vyskytují v půdě (5–12), a to zejména glukosa a sukrosa, případně kořenové exsudáty rostlin (13, 14).

Princip měření na základě přirozeného výskytu stabilního izotopu ^{13}C pro odlišení zdrojů půdní respirace

Odlišení zdrojů půdní respirace s použitím stabilního izotopu ^{13}C je založeno na měření poměru $^{13/12}C$ vyjádřeného v promilích a označeného jako $\delta^{13}C$. Jednotka $\delta^{13}C$ (‰) = $1000\ (R_{vzorku} - R_{standardu})/R_{standardu}$, kde $R = {}^{13}C/{}^{12}C$ vyjadřuje poměr látky ve vztahu ke standardu PDB (Pee Dee Belemnite)(15), přičemž dosahuje negativních hodnot. Například, $\delta^{13}C$ okolní atmosféry se pohybuje kolem hodnoty 8 ‰, rostliny diskriminují příjem ^{13}C oproti ^{12}C v závislosti na typu rostlinného metabolismu (C_3 versus C_4 versus CAM)(16). Zatímco $\delta^{13}C$ rostlin C_3 metabolismu se pohybuje v rozmezí od –33 do –22 ‰, případě C_4 rostlin je toto rozmezí v rozsahu od –16 do –9 ‰ (17, 18). Frakcionace izotopů uhlíku probíhá i během syntézy rostlinných pletiv, přičemž nejméně ^{13}C je kumulováno ve sloučeninách, které jsou velice odolné vůči mikrobiální degradaci (19). Půdní mikroorganismy rovněž preferují ^{12}C během rozkladu půdní organické hmoty, jejíž $\delta^{13}C$ se mění během rozkladu a zpravidla se zvyšuje s hloubkou půdy o 2–3 ‰ (20, 21). Poměr $^{13}C/^{12}C$ roste se snižující se velikostí půdních částic z důvodu zvyšujícího se podílu starší organické hmoty (22); teplota ovlivňuje $\delta^{13}C$ respirovaného CO_2 (23, 24).

Použití tzv. „Keeling type“ plots

Pro odlišení zdrojů půdní respirace je využíváno kombinace měření, a to $\delta^{13}C$ respirovaného CO_2 a rychlostí respirace, kdy s lineárním vzrůstem koncentrace CO_2 v prostředí se nelineárně snižuje $\delta^{13}C$ (1); v případě, že změna $\delta^{13}C$-CO_2 v prostředí je

vyjádřena jako funkce inverzní hodnoty koncentrace CO_2, průsečík na ose Y reprezentuje $\delta^{13}C$ respirovaného CO_2 (obr. 1.). Ve směsi CO_2 je možno odlišit podíl respirace ze dvou zdrojů (C_3 and C_4) za předpokladu, že známe $\delta^{13}C$ každého z nich (25, 26).

Využití metod

Měření $\delta^{13}C$ respirovaného CO_2 v kombinaci s měřením koncentrace CO_2 bylo využito pro separaci respirace indukované přídavkem organické hmoty (glukosy, sukrosy) pocházející z C_4 rostlin od endogenní respirace půdní organické hmoty C_3 původu (2, 27). Nyberg et al. (28) naopak separovali respiraci rostlinného materiálu C_3 původu aplikovaného do půdy s dlouhodobou kultivací rostlin C_4 metabolismu. Podíl respirace exogenního substrátu f (%) v rámci celkové půdní respirace je kalkulován po dosazení do směsného modelu f = ($\delta^{13}C$-CO_2 z celkové respirace – $\delta^{13}C$-CO_2 respirace endogenního substrátu)/($\delta^{13}C$-C_4 přidaného exogenního substrátu – $\delta^{13}C$-CO_2 respirace endogenního substrátu). Daný metodický postup umožňuje i výpočet změny respirace endogenní půdní organické hmoty z důvodu přídavku exogenního substrátu, která je kalkulována jako odečet respirace endogenní půdní organické hmoty a respirace exogenního substrátu od celkové půdní respirace po přídavku exogenního substrátu ($C_{\Delta}C_{EN}CO_2 = C_{TOTAL}CO_2 - C_{EX}CO_2 - C_{EN}CO_2$).

Souhrn

Kombinovaná měření $\delta^{13}C$-CO_2 uvolňovaného z půdy a jeho koncentrace včetně kalkulace $\delta^{13}C$ na základě tzv. „Keeling type“ plots jsou hojně využívána pro separaci respirace endogenní půdní organické hmoty od respirace aplikovaného exogenního substrátu, v případě, že pocházejí z rostlinné biomasy s rozdílným typem metabolismu (C_3 versus C_4). Tato měření umožňují i odlišení tzv. změny respirace endogenní půdní organické hmoty vlivem přídavku exogenního substrátu na základě kalkulace ze směsného modelu. Využití daného metodického postupu pro determinaci respirace různých zdrojů zejména s ohledem na kořenové exsudáty různých rostlinných druhů a jejich složky (zejména enantiomery nízkomolekulárních organických látek) představuje trend současného výzkumu.

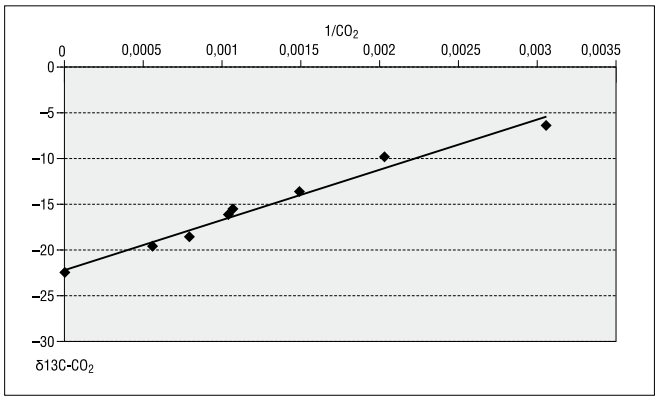
Klíčová slova: půda, respirace, $\delta^{13}C$-CO_2, kořenové exsudáty, půdní organická hmota.

Tato práce vznikla za podpory projektu TA02020867 „Využití nových organominerálních stimulačních přípravků a přirozených organických materiálů k obnově a revitalizaci abioticky i bioticky poškozovaných lesních porostů“ a projektu IGA 55/2013 „Studium zmírnění fytotoxity půd smrkových ekosystémů rozdílného způsobu obhospodařování a věku s důrazem na kořenové exsudáty, rozklad organické hmoty a zpřístupňování živin z jejich zdrojů“.

Literatura

1. Formánek, P.; Ambus, P.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 18, 2004, s. 897–902.
2. Högberg, P.; Ekblad, A.: *Soil Biol. Biochem.*, 28, 1996, s. 1131–1138.
3. Hanson, P. J. et al.: *Biogeochemistry,* 48, 2000, s. 115–146.
4. Yakir, D.; Sternberg, L. L.: *Oecologia,* 123, 2000, s. 297–311.
5. Formánek, P.; Klejdus, B.; Vranová, V.: *Amino Acids,* 28, 2005, s. 427–429.
6. Formánek, P. et al.: *Amino Acids,* 34, 2008, s. 301–306.
7. Lojková, L. et al.: *J. Agric. Food Chem.,* 54, 2006, s. 6130–6138.
8. Rejšek, K.; Formánek, P.; Pavelka, M.: *Amino Acids.,* 35, 2008, s. 411–417.
9. Vranová, V. et al.: *Eurasian Soil Sci.,* 42, 2009, s. 318–325.
10. Vranová, V. et al.: *Plant Soil,* 342, 2011, s. 31–48.
11. Vranová, V. et al.: *Plant Soil,* 354, 2012, s. 21–39.

Obr. 1. $\delta^{13}C$ respirovaného CO_2 určené průsečíkem na ose y (1)



12. Pospíšilová, L. et al.: *Acta Agr. Scand. B: Soil Plant Sci.,* 61, 2011, s. 661–669.
13. Formánek, P. et al.: *Amino Acids*, 37, 2009, s. 49.
14. Técher, D. et al.: *Sci. Total Environ.,* 20, 2011, s. 4489–4495.
15. Craig, H.: *Geochim. Cosmochim. Acta,* 12, 1957, s. 133–149.
16. Ehleringe, J. R.: In Coleman, D. C.; Fry, B. (Eds.). *Carbon Isotope Techniques.* New York: Academic Press, 1991, s. 187–200.
17. Deines, P.: In Fritz, P.; Fontes, J. Ch. (Eds.). *Handbook of Enviromental Isotope Geochemistry.* Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1980, s. 330–406.
18. Vranova, V. et al.: *J. Plant Nutr. Soil Sci.,* 176, 2013, s. 175–199.
19. Benner, R. et al.: *Nature,* 329, 1987, s. 708–710.
20. Buchmann, N.; Kao, W. Y.; Ehleringer, J.: *Oecologia*, 110, 1997, s. 109–119.
21. Ekblad, A.; Högberg, P.: *Plant Soil,* 219, 2000, s. 197–209.
22. Jastrow, J. D.; Boutton, T. W.; Miller, R. M.: *Soil Sci. Soc. Am. J.,* 60, 1996, s. 801–807.
23. Parada, C. B.; Long, A.; Davis, S. N.: *Isotope Geochem.*, 1, 1983, s. 219–236.
24. Andrews, J. A. et al.: *Soil Biol. Biochem.,* 32, 2000, s. 699–706.
25. Ludlow, M. M.; Troughton, J. H.; Jones, R. L.: *J. Agric. Sci.,* 87, 1976, s. 625–632.
26. Schönwitz, R.; Stichler, W.; Ziegler, H.: *Oecologia,* 69, 1986, s. 305–308.
27. Kielland, K. et al.: *Ecosystems,* 10, 2007, s. 360–368.
28. Nyberg, G. et al.: *Plant Soil,* 218, 2000, s. 83–89.

Vranová V., Rejšek K., Formánek P.: Use of $\delta^{13}C$-CO_2 in Determination of Sources of Soil Respiration

Combined measurements based on $\delta^{13}C$ of evolved CO_2 from soil and its concentration including the use of “Keeling type“ plots are used for separation of respiration of endogenous soil organic matter from respiration of added substrate, in case of different origin in terms of C_3 versus C_4 plants. Such measurements also enable calculation of the change of endogenous respiration after addition of exogenous substrate based on mixing model. The use of the method especially for determination of sources of soil respiration when root exudates of different plants, and especially their fractions (enantiomers of low molecular weight organic compounds) are added to soil, presents a trend of current research.

Key words: soil, respiration, $\delta^{13}C$-CO_2, root exudates, soil organic matter.

Kontaktní adresa – Contact address:

doc. Ing. Valerie Vranová, Ph. D., Mendelova univerzita v Brně, LDF, Zemědělská 3, 613 00 Brno, Česká republika, e-mail: vranova@mendelu.cz