

Dorota Pikula

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy
w Puławach*

WSKAŹNIKI OCENY MATERII ORGANICZNEJ I MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA ICH W PRAKTYCE ROLNICZEJ*

Słowa kluczowe: kwasy huminowe, kwasy fulowe, huminy, żyzność gleby, stosunek $C_{KH}:C_{KF}$, metody spektrometryczne

Wstęp

Zgodnie z definicją Bednarek i in. (2), materia organiczna (SOM) zbudowana jest z próchnicy glebowej, w skład której wchodzi humus zawierający kwasy humusowe (kwasy fulowe, kwasy huminowe, huminy i substancje nieswoiste) oraz niehumifikowane części organiczne. Obecnie badania światowe nad próchnicą prowadzone są w kontekście „Materia organiczna gleby w stresującym świecie” i mają dwa cele: lepsze zrozumienie i ilościowe określenie funkcji glebowej materii organicznej w systemach naturalnych, jak i zarządzanych przez człowieka oraz zrozumienie stresorów, które wpływają zarówno na jej stabilność, jak i zdolność do akumulacji w glebie (18). Dla XXI wieku charakterystyczne są drastyczne zmiany środowiskowe. Z powodu złego zarządzania i intensywnych konwencjonalnych metod uprawy zasoby węgla są tracone 10–40 razy szybciej niż można go naturalnie uzupełniać (28, 33, 42). Aktualnie z powodu niedostatków obornika rolę materii organicznej w kształtowaniu żyzności gleby przejęły nawozy mineralne jako główne źródło składników pokarmowych. Nie mają one jednak takiej funkcji w utrzymaniu zdrowia i żyzności gleby, jaką posiada materia organiczna (13). W efekcie ponad 40% gleb wykorzystywanych w rolnictwie na całym świecie jest klasyfikowanych jako zdegradowane lub poważnie zdegradowane. Niska zawartość glebowej materii organicznej potęguje niepokój w kręgach naukowych, ponieważ odgrywa ona kluczową rolę w utrzymaniu zdolności gleby do zatrzymywania wody oraz w obiegu składników pokarmowych (18, 23, 41, 42). W związku z powyższym znaczenie węgla organicznego w glebie

*Opracowanie wykonano w ramach zadania 1.1 pt. „Nawożenie użytków rolnych” z dotacji budżetowej przeznaczonej na realizację zadań MRiRW w 2021 r.

– w jaki sposób jest on tracony z gleby i jak można odwrócić ten trend – jest ciągle aktualnym przedmiotem badań naukowych (6, 7, 9, 11, 12, 15, 19, 21, 24, 26, 27, 33, 39). Według naukowców zawartość materii organicznej w glebie można skutecznie modyfikować za pomocą nawożenia organicznego, naturalnego i płodozmianu (6, 26, 30, 39). Lal (28, 29) dodatkowo nadmienia, że należy przy tym koncentrować się na wprowadzeniu do gleby materii organicznej (np. kompostów) (15, 1), która przekształca się w tzw. węgiel „stabilny” lokujący się w agregatach glebowych (32, 44), mogący przetrwać tysiące lat, a nie na węglu „aktywnym” znajdującym się w wierzchniej warstwie gleby oraz będącym w transformacji między mikroorganizmami a atmosferą (przyorywanie słomy).

W Polsce do oceny salda materii organicznej w glebie przyjęła się metoda bilansowania próchnicy z zastosowaniem tzw. współczynników reprodukcji lub degradacji materii organicznej (niem.: *Ersatz- und Bedarfskoeffizienten*) (25, 48). Współczynniki te zostały przyjęte w Kodeksie dobrej praktyki rolniczej opublikowanym przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi w 2004 r. (21). Za podstawową jednostkę w obliczeniach bilansu próchnicy przyjęto 1 kg Corg. w szumifikowanej masie organicznej, co oznacza, że w 1 kg próchnicy znajduje się 0,58 kg węgla, a więc 1 kg tego pierwiastka odpowiada 1,72 kg próchnicy. Wartości współczynników reprodukcji i degradacji dla różnych roślin i różnych rodzajów gleb odpowiadają zatem ilości s.m. materii organicznej w $t \cdot ha^{-1}$, o jaką gleba zostanie wzbogacona (+) lub zubożona (-) w wyniku jednorocznej uprawy danej rośliny lub wprowadzenia określonego nawozu naturalnego bądź organicznego (38, 48).

Obecnie bezsporne jest, że bilanse oparte na wartościach współczynników reprodukcji i degradacji materii organicznej nie odzwierciedlają faktycznej zawartości węgla organicznego w glebie (38, 39). Ponadto występuje brak spójności pomiędzy wynikami analiz dokonywanych różnymi metodami analitycznymi – badania porównawcze w profilach wzorcowych, modele zmian zawartości węgla w glebie – a bilansem węgla na podstawie współczynników reprodukcji/degradacji. Jedną z przyczyn wspomnianego zróżnicowania wyników ocen może być brak zaktualizowanych i zaadaptowanych do krajowych warunków współczynników bilansowania materii organicznej w glebie dla poszczególnych upraw, systemów produkcji i uprawy, typów zmianowania. W Polsce prowadzono i prowadzi się szereg badań nad dynamiką przemian i jakością materii organicznej, ale w większości mają one charakter analityczny (opisowy) i nie znalazły podsumowania w postaci normatywów, ponieważ jest to trudne ze względu na brak obiektów doświadczalnych zlokalizowanych na różnych typach gleb (39). Wadą tych współczynników jest również to, że odnosi się je do 1 ha uprawy danej rośliny bez względu na wielkość plonu i ilość wprowadzanych do gleby resztek poźniwnych i nie uwzględnia się puli węgla organicznego wnoszonego do gleby z masą korzeniową roślin uprawnych. W dodatku z badań naukowych wynika, że zwiększenie zawartości materii organicznej w glebie nie wystarcza, ponieważ o trwałości węgla w glebie decydują substancje humusowe, które są głównym stabilnym składnikiem materii organicznej (3, 46, 47). Obecnie badania naukowe koncentru-

ją się na zawartości w glebach bardziej stabilnych frakcji materii organicznej, a więc kwasów huminowych oraz humin (5, 7, 9, 43). Naukowcy potwierdzają, że stabilne frakcje próchnicy poprawiają nie tylko właściwości chemiczne gleb, ale również właściwości fizyczne i biologiczne, co ma podstawowe znaczenie dla rolnictwa i ochrony środowiska (9, 26, 39, 48). Bardzo cenną właściwością materii organicznej, dzięki zawartości w niej kwasów humusowych, jest zdolność do magazynowania dużych ilości wody (45). Zatem oprócz działań agrotechnicznych w kierunku zwiększania zawartości materii organicznej, szczególnie w glebach lekkich, konieczne jest badanie jej jakości i stabilności (43, 44). Substancje humusowe po wprowadzeniu do gleby pełnią określone funkcje, oddziałując na przykład na możliwości pochłaniania wody oraz immobilizacji zanieczyszczeń w środowisku glebowym (5, 16, 26). Jednym z istotnych wskaźników oceny jakościowej materii organicznej jest wartość stosunku $C_{KH}:C_{KF}$ (stosunek węgla kwasów huminowych do węgla kwasów fulwowych), czyli indeks humifikacji (2). Wartości C_{KH}/C_{KF} przekraczające 1 są uznawane za charakterystyczne dla gleb żyznych z przewagą stabilnych frakcji materii organicznej – humin i kwasów huminowych (3, 43). Stąd też w zaleceniach nawozowych powinno się rekomendować oznaczenia chemiczne w glebie nie tylko zawartości węgla organicznego (Corg.), ale całego składu frakcyjnego materii organicznej z wydzieleniem poszczególnych jej frakcji (węgla kwasów huminowych, węgla kwasów fulwowych i węgla humin). Indeksy humifikacji i przemiany materii organicznej – określające stosunek procentowej zawartości wyekstrahowanych związków humusowych do węgla ogółem, dostarczają bowiem precyzyjnych informacji o ilość trwałej, odporniej na mineralizację frakcji materii organicznej. Z punktu widzenia rolniczego i środowiskowego ważne jest także wydzielenie frakcji labilnych węgla organicznego (10, 16, 36). Celem niniejszego artykułu jest przybliżenie wiedzy na temat wskaźników charakteryzujących materię organiczną gleby oraz przedstawienie możliwości wykorzystania ich w praktyce rolniczej.

Substancje humusowe w glebie

Substancje humusowe powstają w wyniku procesu humifikacji, na który składają się chemiczne i mikrobiologiczne procesy rozkładu resztek roślinnych i zwierzęcych w glebie oraz przebudowa i synteza związków organicznych prowadząca do powstania nowych substancji humusowych – próchnicy (humusu) (5, 9, 26, 43, 47, 48). Proces humifikacji prowadzi do odtwarzania (zwiększania) ilości substancji humusowych w glebie. Jest on jednak ograniczany przez proces mineralizacji, czyli proces rozkładu połączony z wytworzeniem prostych związków mineralnych. Oba te procesy zachodzą równocześnie i są ze sobą ściśle powiązane, produkty procesu humifikacji są włączane do procesu mineralizacji i odwrotnie. Przyjmuje się, że od 3/4 do 4/5 materii organicznej corocznie wprowadzanej do gleby w postaci nawozów naturalnych oraz resztek roślinnych i zwierzęcych ulega mineralizacji, a tylko od 1/4 do 1/5 przekształca się w swoje substancje próchniczne (5, 47). Na ilość i jakość

substancji humusowych mają wpływ: typ, odczyn, temperatura i wilgotność gleby, rodzaj nawozów, liczba mikroorganizmów w glebie oraz masa i jakość materiału organicznego wprowadzanego do gleby (5, 9, 21, 34, 36, 43).

Substancje humusowe dzieli się przeważnie na trzy grupy: kwasy huminowe (C_{KH}), kwasy fulwowe (C_{KF}) oraz huminy (C_H) (46, 47). Powyższego podziału dokonano na podstawie analitycznych procedur frakcjonowania tych związków, opierając się na różnicach w ich rozpuszczalności w selektywnie działających rozpuszczalnikach (8). Kwasy huminowe (C_{KH}) to słabe alifatyczne i aromatyczne kwasy organiczne, rozpuszczają się tylko w roztworach zasadowych, są nierozpuszczalne w wodzie, w środowisku kwaśnym ulegają jedynie wytrąceniu. Zawierają około 58% węgla i charakteryzują się barwą od ciemnobrązowej do czarnej. Odgrywają szczególną rolę w kształtowaniu żyzności gleby, gdyż wpływają na tworzenie się agregatów glebowych, poprawiają wchłanianie składników pokarmowych przez mikroorganizmy (9, 17, 31, 32, 40), a także oddziałują na dynamikę N i P w glebie (16). Kwasy fulwowe (C_{KF}) są grupą związków zawierających mniej pierścieni aromatycznych, ale więcej tlenu niż kwasy huminowe, są rozpuszczalne w wodzie w całym zakresie pH, w kwasach i zasadach. Zawierają ok. 55% węgla i mają barwę od żółtej do żółtobrązowej. Ta frakcja kwasów humusowych odpowiedzialna jest za wymywanie zasadowych składników z gleby, w związku z tym nie jest korzystna dla jakości próchnicy. Huminy (C_H) to grupa związków o barwie czarnej, nierozpuszczalnych w wodzie w całym zakresie pH oraz rozcieńczonych roztworach mineralnych kwasów i zasad. Huminy stanowią najważniejszą frakcję substancji humusowych, są wskaźnikami stabilności próchnicy, poprawiają strukturę i pojemność wodną gleby oraz stanowią rezerwuar składników odżywczych dla roślin (7, 8, 43, 47).

Przegląd metod frakcjonowania materii organicznej

W badaniach naukowych do oceny składu i właściwości materii organicznej stosuje się szereg metod fizycznych, chemicznych i biologicznych ekstrakcji i frakcjonowania. Za pomocą tych metod można rozdzielić materię organiczną na frakcje kwasów huminowych, kwasów fulwowych i humin. Istnieją różne sposoby rozdzielania substancji humusowych na poszczególne frakcje, a każda technika ma swoje zalety i ograniczenia (8, 14, 16, 35, 37). Najpopularniejszą metodą jest zastosowanie NaOH do ekstrakcji kwasów huminowych z gleby (9, 44), zwłaszcza że kwasy huminowe ekstrahowane roztworami alkalicznymi charakteryzują się wysoką czystością niezbędną do dalszych analiz fizykochemicznych (np. UV-VIS, NMR i IR, VIS-NIR) (8). Fizyczne metody oznaczania zawartości różnych frakcji glebowej materii organicznej wykorzystują natomiast różnice w gęstości lub rozmiarze poszczególnych jej frakcji. Metodami tymi oznacza się frakcję lekką materii organicznej, która jest oddzielana od reszty SOM (ang. *Soil Organic Matter*) poprzez flotację. Dzięki tej metodzie można wyodrębnić dwie frakcje – makro- (>0,2 mm) i mikroagregatów (<0,2 mm) (37, 40) lub trzy frakcje agregatów: gruboziarnistą (0,1–2 mm), drobnoziar-

nistą (0,05–0,1 mm) i stabilną biologicznie (<0,05 mm) w wyniku przesiewania gleby na mokro przez sита o wymiarach oczek 0,1 i 0,05 mm, po wcześniejszym wytrząsaniu jej z wodą destylowaną (15, 30). Gregorich i in. (15) podają, że makroagregaty są to frakcje materii organicznej zasobne w młodą i łatwo rozkładającą się materię organiczną, natomiast w mikroagregatach znajduje się SOM trudno rozkładająca się, przy czym jest jej mniej niż w makroagregatach. Jeżeli chodzi o chemiczne metody wydzielenia frakcji SOM, to jeszcze kilkanaście lat temu badania nad jakością materii organicznej skupiały się na jej rozdzieleniu na kwasy huminowe, kwasy fulwowe i huminy, które oznaczane były z wykorzystaniem skomplikowanych i czasochłonnych metod Turina, Boratyńskiego i Wilka oraz Kononowej i Belczikowej (8). Obecnie w badaniach gleb lekkich podziału substancji humusowych na kwasy huminowe (C_{KH}), kwasy fulwowe (C_{KF}) oraz huminy (C_H) dokonuje się według znacznie prostszej metody Schnitzera, wykorzystującej rozpuszczalność tych związków w selektywnie działających rozpuszczalnikach (8, 44). Standardowo przed ekstrakcją z gleby określa się całkowity węgiel organiczny, według powszechnie przyjętej metody. Metody Schnitzera i Turyna oparte na ekstrakcji z wykorzystaniem NaOH są odpowiednie dla gleb bezwęglanowych. W związku z tym przed frakcjonowaniem konieczne jest oznaczenie węglanów w glebie (8, 44). W obu metodach stosowanie NaOH do ekstrakcji kwasów humusowych z gleb mineralnych, jak i organicznych jest wysoce skuteczne, po uprzedniej dekalcytacji próbek gleby 0,025 M HCl. Następnie kwasy humusowe i fulwowe przechodzą do roztworu podczas ekstrakcji alkalicznej. Wyzolowane kwasy huminowe to słabe alifatyczne i aromatyczne kwasy organiczne, nierozpuszczalne w wodzie ani w środowisku kwaśnym. Zazwyczaj oznacza się węgiel zawarty w jednej z frakcji próchnicy, a zawartość węgla pozostałych oblicza się jako różnicę pomiędzy całkowitą zawartością węgla organicznego a zawartością węgla oznaczonej frakcji (8, 44). Innym podejściem do oceny ilości i jakości próchnicy jest podział SOM na dwie frakcje – labilną i stabilną (37). Można je wyodrębnić metodami chemicznymi, fizycznymi i biologicznymi. Frakcja labilna to frakcja SOM szybko rozkładana przez mikroorganizmy, natomiast frakcja trwała charakteryzuje się dłuższym czasem rozkładu. Frakcję labilną definiuje się jako część materii organicznej, która jest zawieszona w roztworze o gęstości 1,6–2,0 g·m⁻³. Frakcja ta może zawierać około 8% całkowitego węgla organicznego i 5% całkowitego azotu (15). Według podziału zaproponowanego przez Haynes (16) labilną frakcję materii organicznej tworzą: biomasa mikroorganizmów oraz frakcje – lekka (LF, ang. *Light Fraction*) i łatwo rozpuszczalna (DOM, ang. *Dissolved Organic Matter*). W skład frakcji lekkiej wchodzi części roślin, zwierząt i mikroorganizmów o różnym stopniu rozkładu. Frakcja łatwo rozpuszczalna reprezentuje z kolei najbardziej ruchliwą i najszybciej rozkładającą się frakcję SOM, która stanowi pierwsze źródło energii dla mikroorganizmów znajdujących się w glebie. Trwałą materię organiczną tworzą ligniny i inne substancje, które są trudno rozkładane przez mikroorganizmy glebowe. Znaczenie wzrostu zawartości w glebach bardziej stabilnych frakcji materii organicznej takich jak kwasy huminowe oraz huminy potwierdzają badania naukowe. Stwierdzono, że

frakcje stabilne SOM poprawiają nie tylko właściwości chemiczne i fizyczne gleb, ale również ich właściwości biologiczne, co ma praktyczne znaczenie dla plonowania roślin uprawnych (17, 26, 33).

Metody chemiczne wydzielania frakcji labilnej SOM polegają na traktowaniu gleby mocnymi kwasami, nadmanganianem potasu (VII) lub na ekstrakcji za pomocą gorącej wody (34, 35, 43). Ilość węgla rozpuszczonego w gorącej wodzie wskazuje na stabilność glebowej materii organicznej. Stosując wymienione wyżej metody, zakłada się, że jeśli frakcja labilna jest łatwo rozkładana przez enzymy mikroorganizmów, to może ona być również rozkładana przez wymienione związki chemiczne (37). W metodzie z wykorzystaniem nadmanganianu potasu (VII), znając zawartość węgla frakcji labilnej, ulegającej utlenieniu pod wpływem KMnO_4 , oraz nielabilnej, czyli nieutleniającej, labilność można obliczyć jako iloraz tych dwóch frakcji (34). Węgiel labilny (L) jest też jednym z elementów potrzebnych do obliczenia tzw. wskaźnika zagospodarowania węgla CMI (ang. *Carbon Management Index*) (1). Przy wyznaczaniu tego wskaźnika uwzględnia się stosunek zasobów węgla w glebie badanej i porównawczej (CPI) oraz wskaźnik labilności (LI) obliczony jako stosunek zawartości węgla labilnego oznaczonego w badanej glebie do ilości węgla labilnego w próbie kontrolnej. CMI jest iloczynem CPI i LI wyrażonym w procentach (1). Wskaźnik ten jest przydatny i wykorzystywany m.in. do porównania zmian, które zachodzą w zawartości węgla labilnego i ogólnego na skutek stosowania różnych praktyk rolniczych.

Ekstrakcja węgla za pomocą gorącej i zimnej wody zaliczana jest także do chemicznych metod oznaczania labilnej frakcji materii organicznej. Zawartość węgla frakcji SOM ekstrahowanej gorącą wodą wskazuje na ilość w glebie materii organicznej, która ulega łatwemu rozkładowi (43). Suche powietrznie próbki miesza się w odpowiednim stosunku z gorącą wodą, a następnie w czystym ekstrakcie oznacza się węgiel. Ekstrakt ten zawiera biomasę mikroorganizmów glebowych oraz inne proste związki organiczne, na przykład cukry i aminokwasy. Zawartość węgla frakcji labilnej jest silnie skorelowana z zawartością materii organicznej i biomasą mikroorganizmów (43). Biomasę mikroorganizmów oraz związany z nią węgiel organiczny określa się metodami biologicznymi. Polegają one na wykorzystaniu mikroorganizmów do oddzielenia węgla labilnego od węgla trwałego, co odbywa się w warunkach kontrolowanych. Przyjmuje się, że mikroorganizmy najpierw rozkładają węgiel najbardziej labilny, który jest oznaczany przez pomiar wydzielanego CO_2 (37). Ilość węgla związanego z biomasą mikroorganizmów oznacza się m.in. metodą fumigacji-ekstrakcji. Za pomocą tej metody określa się również potencjalną zdolność do rozkładu dodawanych do gleby substancji organicznych oraz ich wpływ na naturalną populację mikroorganizmów. Biomasę mikroorganizmów w glebach określa się przez pomiar całkowitego, możliwego do wyekstrahowania materiału organicznego pochodzącego głównie ze świeżo obumarłych mikroorganizmów. Metodę fumigacji-ekstrakcji można także stosować do oceny zawartości azotu w biomasie drobnoustrojów i zawartości w glebie azotu pochodzenia drobnoustrojowego, reagującego z ninhydryną. Stosuje się ją do oceny gleb hydrogenicznych i semihydrogenicznych w całym zakresie pH (36,

37). Jako biomasę mikroorganizmów glebowych traktuje się masę nieuszkodzonych komórek mikroorganizmów w glebie. Parametr ten można oznaczać przez pomiar zawartości węgla lub azotu zawartego w tych komórkach lub przez pomiar ich zdolności do mineralizacji dodanej substancji będącej źródłem węgla lub azotu, natomiast jedynie nieuszkodzone komórki można wykryć przez pomiar oddychania. W wyniku fumigacji próbki gleby nieuszkodzone komórki drobnoustrojów glebowych ulegają lizie skutkującej uwalnianiem się zawartej w nich materii organicznej. Fumigacja nie oddziałuje znacząco na nieożywioną materię organiczną gleby. Próbki gleby są poddawane fumigacji przez 24 h przy użyciu chloroformu. Węgiel organiczny, ekstrahowany za pomocą 0,5 M siarczanu potasu, oznaczany jest w fumigowanych i niefumigowanych próbkach, a różnica zawartości wyekstrahowanego węgla organicznego jest wykorzystywana do oznaczania węgla biomasy mikroorganizmów. Jakość próchnicy można ocenić również, wykorzystując metodę Łoginowa i Wiśniewskiego (35), która odzwierciedla naturalne procesy oksydacyjne zachodzące w glebie. Polega ona na frakcjonowaniu próchnicy na podstawie jej podatności na utlenianie. Metoda ta w wyniku modyfikacji i standaryzacji znalazła praktyczne zastosowanie i umożliwiła wyznaczenie wskaźnika zagospodarowania węgla (CMI, ang. *Carbon Management Index*) (1). Zastosowanie metody frakcjonowania według propozycji Łoginowa i Wiśniewskiego oraz wyznaczonego na tej podstawie wskaźnika CMI umożliwia ocenę stanu i szybkości przemian glebowego węgla w systemach rolniczych i naturalnych. Metodą tą wydziela się cztery frakcje: FI – bardzo łatwo utlenianą, FII – łatwo utlenianą, FIII – trudno utlenianą, FIV – nieutlenianą przy danym stężeniu środka utleniającego. Warto podkreślić, że rozdział materii organicznej oparty na utlenianiu jest najbardziej zgodny z naturalnymi procesami jej mineralizacji w glebie. Analizy dokonane tym sposobem potwierdzają, że zabiegi agrotechniczne powodują nie tylko zmiany ilościowe w ogólnej zawartości węgla próchnicy, ale związane są również ze zmianą jej jakości (35).

Wykorzystanie spektroskopowych metod w badaniach substancji humusowych

Poza tradycyjnymi metodami chemicznymi pozwalającymi scharakteryzować jakość materii organicznej w ostatnich latach zaczęto wykorzystywać do tego celu nowoczesne lecz proste w wykonaniu i niedestrukcyjne metody optyczne (39). Jest to możliwe dzięki temu, że substancje humusowe wykazują silną absorbancję w zakresie promieniowania ultrafioletowego i widzialnego UV-VIS, tj. o dł fali od 190 do 800 nm. (24). Metoda spektrofotometrii UV-VIS jest jedną z najstarszych technik instrumentalnych wykorzystujących do celów analitycznych energetyczne przejścia spowodowane pochłanianiem promieniowania elektromagnetycznego w zakresach: nadfioletu (200–400 nm) i światła widzialnego (380–780 nm). Zastosowanie absorpcji elektronowej w zakresie UV-VIS pozwala na charakterystykę struktury chemicznej cząstek kwasów huminowych (5, 43, 46, 47). Za pomocą tej metody można oznaczać

zarówno substancje organiczne, jak i nieorganiczne, które są zdolne do absorpcji wymienionych już wyżej rodzajów promieniowania (5). Ilościową miarą wielkości absorpcji jest absorbancja. Pomiar właściwości optycznych (absorbancji i ilorazów absorbancji) w zakresie promieniowania ultrafioletowego i widzialnego (UV i VIS) pozwala określić i ocenić jakość substancji humusowych. W literaturze przedmiotu można znaleźć liczne interpretacje pasm absorpcyjnych, specyficzne dla każdego z nich struktury, grupy funkcyjne, czy też rodzaje wiązań chemicznych, które występują w budowie kwasów huminowych (3). Metoda UV-VIS pozwala ustalić także tzw. „wiek” kwasów huminowych, dzięki analizie ich chemicznej budowy i interpretacji właściwości optycznych. Zgodnie z charakterystyką właściwości optycznych substancji humusowych, „młode” kwasy huminowe charakteryzują się na ogół mniejszą gęstością optyczną w porównaniu z kwasami „dojrzałymi”, co wynika z mniejszej kondensacji jądra aromatycznego i przewagi łańcuchów bocznych (5, 24, 43). Ponadto charakteryzują się wyższymi wartościami współczynników absorbancji przy odpowiednich długościach fal w porównaniu z kwasami huminowymi o wysokim współczynniku humifikacji (5, 9). Metoda spektrofotometrii UV-VIS jest przydatnym narzędziem, które umożliwia śledzenie procesów rozkładu materii organicznej różnego pochodzenia w glebie (5, 43). Dla środowiska glebowego duże znaczenie ma część materii organicznej, która łatwo ulega rozkładowi z udziałem mikroorganizmów. W skład takiej próchnicy wchodzi polimeryzowane substancje próchniczne, czyli kwasy humusowe i huminy, jak również trudniej ulegające rozkładowi żywice, woski, ligniny – składniki resztek roślinnych i zwierzęcych (2, 13). Ekstrakcję kwasów huminowych często wykonuje się 0,5 M roztworem NaOH po uprzedniej dekalcytacji próbki gleby 0,01 M HCl. Następnie poprzez zakwaszenie roztworem HCl do pH = 2 wytrąca się z ekstraktu kwasy huminowe, które oczyszcza się mieszaniną HCl + HF, liofilizuje i uciera w moździerzu agatowym (8). Właściwości spektralne w zakresie UV-VIS oznacza się dla 0,02% roztworów kwasów huminowych w 0,1 mol·dm⁻³ NaOH – spektrometrem (8, 26, 43).

Spektroskopia w paśmie widzialnym i w bliskiej podczerwieni (VIS-NIR) jest narzędziem, które umożliwia analizę wielu składników chemicznych i fizycznych gleby w tym samym czasie. Jest ona tania, nieskomplikowana i nie wymaga stosowania dużej liczby odczynników chemicznych, z wyjątkiem próbek kalibracyjnych. Co więcej, VIS-NIR jest praktycznym narzędziem wykorzystywanym w rolnictwie precyzyjnym, które może wspomagać decyzje nawozowe prowadzące do zwiększenia dostępności składników odżywczych dla roślin. Znajomość zawartości węgla organicznego w glebie jest przydatna w zaleceniach agrotechnicznych związanych z nawożeniem; parametr ten jest jednym z najczęściej analizowanych właściwości gleb metodą VIS-NIRS (4). Wykonanie pomiarów spektralnych w zakresie światła widzialnego i bliskiej podczerwieni jest niezwykle przydatne do scharakteryzowania zmian zawartości węgla organicznego w czasie. Przeprowadzone analizy zawartości Corg. i substancji humusowych potwierdziły, że spektroskopia w zakresie VIS-NIR może być wykorzystywana do przewidywania wielu właściwości związanych

z żyznością gleby, m.in. zawartości węgla organicznego, jak i poszczególnych frakcji materii organicznej (4, 49). W skali gospodarstwa metoda VIS-NIR daje wyniki porównywalne do uzyskanych metodami klasycznymi. W skali regionalnej lub większej metoda ta nie jest tak precyzyjna jak metody laboratoryjne. Jednak biorąc pod uwagę fakt, że koszty jej zastosowania są nawet do 90% niższe od metod tradycyjnych, a czas analizy zmniejszony kilkukrotnie, można ją stosować na większą skalę, gdyż jest ona prawdopodobnie najlepszą alternatywą dla klasycznych metod mapowania tych właściwości i konieczności pobierania setek lub tysięcy próbek gleby. Metoda VIS-NIR jest techniką szybką, dokładną i bardziej ekonomiczną niż konwencjonalne metody analizy gleb, niewymagającą dużych ilości materiału glebowego. Ponadto jest ona niedestrukcyjna i w połączeniu z wielowymiarową kalibracją widm glebowych może być wykorzystana do szacowania zawartości węgla organicznego, jak i zawartości kwasów huminowych, kwasów fulwowych i humin (4, 49). Wysoka czułość w stosunku do organicznych i nieorganicznych składników gleby czyni z niej potencjalnie bardzo przydatne narzędzie do oceny i monitorowania właściwości gleby oraz jej jakości i funkcjonalności.

Wskaźniki określające stopień zaawansowania procesu humifikacji

Kwasy huminowe są mieszaniną związków o różnej budowie i dlatego na widmach UV-VIS nie przedstawiają maksimum absorpcji. Do oceny jakości próchnicy wykorzystuje się pomiary absorbancji ich roztworów przy długości fal: 280, 465 i 665 nm (5, 26), przy czym każda z długości fal odpowiada określonym związkom. Na podstawie pomiarów absorbancji przy długościach fal 280 nm (A 280), 400 nm (A 400), 465 nm (A 465), 665 nm (A 665) wylicza się dodatkowo wartości współczynników absorbancji A2/4, A2/6 i A4/6, na podstawie których można dokonać oceny stopnia zaawansowania procesu humifikacji materiału organicznego oraz interpretacji „wieku” powstałych kwasów huminowych (5, 26, 43). Wartość absorbancji przy długości fali 280 nm (A 280) związana jest z występowaniem struktur typu lignin, przy długości fali 465 nm (A 465) – substancji humusowych w początkowym stadium rozkładu, a przy długości fali 665 nm (A665) – substancji charakteryzujących się zaawansowanym stopniem humifikacji (5, 43). Wartości absorbancji przy wyżej wymienionych długościach fal są wykorzystywane następnie do obliczania wartości stosunków absorbancji. Iloraz barwy A4/A6 jest wskaźnikiem stopnia humifikacji (5, 43). Wartość A2/4 określa stosunek związków typu lignin do ilości substancji organicznej w początkowym stadium rozkładu. Wartość A 2/6 opisuje stosunek ilość związków typu lignin do substancji w zaawansowanym stopniu humifikacji. Wartość A4/6 określa stosunek substancji w początkowym stadium rozkładu do substancji będących w zaawansowanej humifikacji. Przyjmuje się, że wartość stosunku A4/6 jest odwrotnie proporcjonalna do stopnia kondensacji pierścieni aromatycznych w cząsteczkach substancji humusowych oraz/lub masy cząsteczkowej kwasów humusowych. O stopniu kondensacji pierścieni aromatycznych w strukturze kwasów hu-

musowych świadczy również intensywność wybarwienia tych związków. Porównując budowę chemiczną kwasów huminowych i ich właściwości optyczne, wykazano, że „młode” kwasy huminowe wykazują relatywnie niskie wartości absorbancji i wyższe wartości stosunku A4/6 w porównaniu z kwasami „dojrzałymi” (6, 44). Takie kwasy huminowe są charakterystyczne dla gleb ze świeżo wprowadzoną materią organiczną, np. w postaci wermikompostów, gleb nawożonych obornikiem, słomą oraz innymi resztkami roślin uprawnych. Gleby nawożone wyłącznie nawozami mineralnymi lub nie nawożone, nie wykazują natomiast właściwości tzw. „chemicznej młodości”, charakterystycznej dla gleb nawożonych m.in. obornikiem. Zależność tę potwierdziły badania Dębskiej (5). W widmach UV kwasów huminowych gleby nawożonej gnojowicą intensywność pasma przy 280 nm była wyższa niż w widmach kwasów huminowych gleby nawożonej wyłącznie NPK, a wraz ze zwiększeniem ilości materii organicznej wprowadzanej wraz z gnojowicą zmniejszał się stopień kondensacji jądra aromatycznego i malała masa cząsteczkowa kwasów huminowych. Świadczy to o obniżaniu stopnia humifikacji zarówno w wyniku bezpośredniego, jak i następczego działania gnojowicy. Literatura przedmiotu potwierdza także, że w widmach UV kwasów huminowych tzw. nowopowstałych, a więc „młodych”, może pojawić się również pasmo o maksimum przy około 280 nm, które zanika w miarę postępu procesu humifikacji. Kwasy huminowe wyizolowane z gleb inkubowanych razem z resztkami roślinnymi także charakteryzują się pojawieniem się pasma z maksimum przy około 280 nm, a wartości współczynników absorbancji A2/4 i A2/6 były wyższe w porównaniu ze współczynnikami kwasów huminowych wyizolowanych z gleb bez reszek roślinnych (7, 9).

Podsumowanie

Obecnie w badaniach nad glebową materią organiczną najważniejsze jest opracowanie normatywów, które będą mogły znaleźć zastosowania przy opracowywaniu programów zapobiegających zmniejszaniu się lub ochronie zawartości materii organicznej w glebach, z podkreśleniem trwałych form próchnicy. Z powodu zdewaluowania się współczynników reprodukcji i degradacji materii organicznej, wykorzystywanych do oceny skuteczności praktyk rolniczych, konieczne jest wprowadzenie nowych wskaźników pozwalających na ocenę nie tylko aktualnej zawartości węgla organicznego w glebie, ale i jakości materii organicznej mierzonej procentowym udziałem poszczególnych jej frakcji w całkowitej puli węgla organicznego. Do oceny zawartości węgla organicznego w glebie rekomenduje się wykorzystanie metody VIS-NIR, która jest techniką szybką, dokładną, niewymagającą dużych ilości materiału glebowego, nieinwazyjną i bardziej ekonomiczną niż konwencjonalne metody analizy gleb. Po analizie próbki glebowe mogą być wykorzystywane do innych celów. Technika VIS-NIRS może być także przydatnym narzędziem nie tylko do szacowania dynamiki zmian zawartości węgla organicznego, ale także do oceny poprawy jakości materii organicznej. Wskaźnikiem mogącym znaleźć praktyczne zastosowanie może być

indeks humifikacji próchnicy C_{KH}/C_{KF} , czyli stosunek węgla kwasów huminowych do węgla kwasów fulwowych oraz % udział frakcji kwasów huminowych, kwasów fulwowych i humin w całkowitej puli węgla organicznego, wyizolowanych według metody Schnitzera. Kolejną propozycją do wykorzystania w praktyce rolniczej jest oznaczanie labilnej frakcji materii organicznej za pomocą gorącej i zimnej wody. Zawartość węgla frakcji SOM ekstrahowanej gorącą wodą wskazuje na ilość w glebie materii organicznej, która ulega łatwemu rozkładowi. Zawartość węgla tej frakcji jest silnie skorelowana z zawartością materii organicznej i biomasą mikroorganizmów. Metodę fumigacji-ekstrakcji można wykorzystać do oceny gleb m.in. hydrogenicznych i semihydrogenicznych w całym zakresie pH. Za pomocą każdej z tych metod można zmierzyć nieco odmienne zasoby węgla frakcji labilnych materii organicznej, ponieważ w naturze labilność jest efektem działania różnych czynników, m.in. aktywności enzymatycznej mikroorganizmów czy obecnych w glebie substancji chemicznych. Z tego powodu do oceny jakości materii organicznej najlepiej używać różnych metod jej frakcjonowania.

Zastosowanie w praktyce rolniczej wyżej wymienionych narzędzi i wskaźników pozwoliłoby ustalić aktualne zależności między materią organiczną gleby – zarówno między zawartością węgla organicznego, jak i zawartością zdefiniowanych frakcji węgla organicznego: kwasów huminowych, kwasów fulwowych i humin – a właściwościami gleby w gospodarstwach rolniczych. W Polsce nie ma informacji o jakości materii organicznej gleb użytkowanych rolniczo oraz o stopniu ich humifikacji. Parametry te posłużyłyby ponadto do oceny ryzyka wymywania labilnych form próchnicy, oraz do oceny skutków środowiskowych nadmiaru lub zmniejszenia zawartości materii organicznej w glebie. Istotnym ograniczeniem klasycznych metod frakcjonowania, mających na celu kontrolowanie naturalnych procesów oksydacyjnych materii organicznej gleb, jest nieco dłuższy czas potrzebny na przygotowanie próbek i stosunkowo wyższe koszty oznaczeń w porównaniu z oznaczeniem tylko zawartości węgla organicznego w glebie. Wdrożenie powyższych analiz do praktyki rolniczej dostarczyłoby szerszej wiedzy na temat wpływu zabiegów agrotechnicznych na powstawanie stabilnych i mobilnych form materii organicznej w glebie.

Literatura

1. Blair G., Lefroy R., Whitbread A., Blair N., Daniel H.: The use of a Carbon Management Index (CMI) to monitor changes in soil carbon. Australian Society of Soil Science, 1998, www.natres.psu.ac.th/Link/SoilCongress/bdd/symp12/436-t.pdf.
2. Bednarek R., Dziadowiec H., Pokojska U., Prusinkiewicz Z.: Badania ekologiczno-gleboznawcze. Wydawnictwo PWN, Warszawa, cz. III. Materia organiczna, koloidy i roztwór glebowy jako przedmiot badań specjalistycznych, 2005, s. 113-173.
3. Cieścińska B.: Wykorzystanie wskaźników do oceny stanu materii organicznej gleb. Zeszyty Problemy Postępów Nauk Rolniczych, 2007, **520**: 587-592.
4. Debaene G., Pikula D., Niedźwiecki J.: Use of VIS-NIRS for land management classification with a support vector machine and prediction of soil organic carbon and other soil properties. Ciencia e Investigación Agraria, 2014, **41(1)**: 5-6.

5. Dęb ska B.: Właściwości substancji humusowych gleby nawożonej gnojowicą. Bydgoszcz, Rozprawy, 2004, **10**: 5-111.
6. Dęb ska B.: Rola resztek roślinnych w kształtowaniu żyzności gleb. W: Substancje humusowe w glebach i nawozach, Dęb ska B., Gonet S. (red.), PTSH Wrocław 2003, ss. 105-121.
7. Dziadowiec H.: Procesy przekształceń glebowej materii organicznej. W: Badania ekologiczno-gleboznawcze, Bednarek R., Dziadowiec H., Pokojska U., Prusinkiewicz Z. Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2004, ss. 141-148.
8. Dziadowiec H., Gonet S.S.: Przewodnik metodyczny do badań materii organicznej gleb. PTG Warszawa, 1999, s. 5-52.
9. Dziamski A.: Wpływ nawożenia organicznego na zawartość i jakość próchnicy gleb. W: Substancje humusowe w glebach i nawozach, Dęb ska B., Gonet S. (red.). PTSH, Wrocław 2003, ss. 127-140.
10. Ghani A., Dexter M., Perrott K.W.: Hot-water extractable carbon in soils: A sensitive measurement for determining impacts of fertilization, grazing and cultivation. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, **35**: 1231-1243.
11. Gonet S.S.: Ochrona zasobów materii organicznej. W: Rola materii organicznej w środowisku; Markiewicz M. (red.), PTSH, Wrocław 2007, ss. 7-29.
12. Gonet S.S.: Materia organiczna w tematycznej strategii ochrony gleb unii europejskiej. *Roczn. Gleboz.*, Warszawa 2007, T. LVIII, **3/4**: 15-26.
13. Gonet S., Smal H., Chojnicki J.: Właściwości chemiczne gleb. W: *Gleboznawstwo*, Polskie Wydawnictwo Naukowe, 2015, ss. 189-200.
14. González-Vila F.J., Almendros G., Madrid F.: Molecular alterations of organic fractions from urban waste in the course of composting and their further transformation in amended soil. *Science of The Total Environment*, 1999, **236(1-3)**: 215-229.
15. Gregorich E.G., Beare M.H., Stoklas U., St-Georges P.: Biodegradability of soluble organic matter in maize-cropped soils. *Geoderma*, 2003, **113**: 237-252.
16. Haynes R.J. Labile organic matter as an indicator of organic matter quality in arable and pastoral soils in New Zealand. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, **32**: 211-219.
17. Hernandez T., Garcia C., Pascual J.A., Moreno J.L.: Humic acids from various organic wastes and more traditional organic matter: Effect on plant growth and nutrient absorption, 2001, *Understanding and Managing Organic Matter in Soils, Sediments and Waters. Proceeding of the 9th International Conference of the International Humic Substances Society University of Adelaide, Adelaide, Australia, 21st-25th September 1998.* (Red.) R.S. Swift and K.M. Spark.
18. International Symposium on Soil Organic Matter, Hilton Adelaide, Adelaide, Australia, 06-11 Oct 2019.
19. Jamroz E., Drozd J., Licznar M., Weber J.: Wpływ nawożenia gleb kompostami z odpadów komunalnych (KOM) na wysokość i jakość plonu. W: *Komposty z odpadów komunalnych, produkcja, wykorzystanie i wpływ na środowisko*, J. Drozd (red.). Polskie Towarzystwo Substancji Humusowych, 2004, ss. 235-254.
20. Jamroz E., Kocowicz A.: Agricultural and ecological aspects of a sandy soil as affected by the application of municipal solid waste composts. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, **39**: 1294-1302.
21. Kleszczyński A., Łakomiec I.: Wpływ wieloletniego nawożenia na właściwości fizykochemiczne kwasów huminowych. *Roczniki Gleboznawcze*, 1966, **16**: 171-190.
22. Kodeks dobrej praktyki rolniczej: http://www.kzgw.gov.pl/files/file/Materialy_i_Informacje/Dyrektywy_Unijne/Azotowa/kodeks_2004.
23. Komunikat Komisji Europejskiej do Rady Europejskiej, Parlamentu Europejskiego, Komitetu Ekonomiczno-Społecznego oraz Komitetu Regionów – W kierunku tematycznej strategii ochrony gleb. COM (2002) 179 wersja końcowa. Komisja Wspólnot Europejskich, Bruksela, 2002.
24. Kondratowicz-Maciejewska K.: Wpływ nawożenia obornikiem i zmianowania na właściwości materii organicznej gleby. Praca doktorska, Bydgoszcz, 2004, ss. 6-106.
25. Kundler P., Eich D., Liste H.J., Rauhe K.: Mehr tun als nur ersetzen, *DBZ*, 1981, **36**: 8-9.

26. Kusińska A.: Zasoby i skład humusu glebowego pod niektórymi gatunkami roślin w dwóch systemach uprawy. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 1999, s. 465-319.
27. Kwiatkowska B., Maciejewska A.: Wpływ rodzajów substancji organicznej na właściwości fizykochemiczne gleby i zawartość węgla organicznego. Roczniki Gleboznawcze, Warszawa 2008, **LIX**, I: 28-133.
28. Lal R.: Węgiel glebowy i nasilenie efektu cieplarnianego. Rolnictwo polskie i ochrona jakości wody, 2000, Zesz. Eduk., 6: 22-36.
29. Lal R.: Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. Science, 2004, 304, **5677**: 1623-1627.
30. Lead J.R., Balnois E., Hosse M., Menghetti R., Wilkinson K.J.: Characterisation of Norwegian natural organic matter: size, diffusion coefficients and electrophoretic mobilities. Environment International, 1999, **25**: 245-258.
31. Li X.G., Li F.M., Ren G.L., Singh B., Wang Z.F.: Cultivation effects on temporal changes of organic carbon and aggregate stability in desert soils of Hexi Corridor region in China, Soil & Tillage Research, 2006, **91**: 22-29.
32. Li X.G., Wang Z.F., Ma Q.F., Li F.M.: Crop cultivation and intensive grazing affect organic C pools and aggregate stability in and grassland soil. Soil & Tillage Research, 2007, **95**: 172-181.
33. Liu X., Herbert S.J., Hashemi A.M., Zhang X., Ding G.: Effects of agricultural management on soil organic matter and carbon transformation – a review. Plant Soil and Environment, 2006, **52**: 531-543.
34. Łoginow W., Wiśniewski W.: Zmienność zawartości frakcji substancji organicznej gleby, oznaczonych metodą utleniania nadmanganianem potasu. Zeszyty Naukowe, ART Bydgoszcz, Rolnictwo 98, 1982, **14**: 39-48.
35. Łoginow W., Wiśniewski W.: Metoda jednoczesnego frakcjonowania węgla i azotu w zależności od ich podatności na procesy oksydacyjne. Zeszyty Naukowe ATR Bydgoszcz, Rolnictwo 12, 1981, **83**.
36. Martyniuk S., Pikuła D., Kozieł M.: Soil properties and productivity in two long-term crop rotations differing with respect to organic matter management on an Albic Luvisol. Scientific Reports, 2019, Article number: 1878, **9**: 1-9, doi: 10.1038/s41598-018-37087-4.
37. McLaughlin K.K., Hobbs S.E.: Comparison of labile soil organic matter fractionation techniques. Soil Science Society of America Journal, 2004, **68**: 1616-1625.
38. Pałosz T.: Rolnicze i środowiskowe znaczenie próchnicy glebowej i metodyka jej bilansu. Rocznik Ochrony Środowiska, 2009, **11(1)**: 329-338.
39. Pikuła D.: Wykorzystanie właściwości spektralnych kwasów huminowych do oceny właściwości próchnicy. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2018, **56(10)**: 99-109.
40. Puge P., Chen C., Angers D., Balesdent J.: Relation of soil aggregate dynamics to soil organic matter decomposition. 16. Congrès mondial de science du sol. Montpellier, 1998, www.natres.psu.ac.th/Link/SoilCongress/bdd/symp41/601-r.pdf
41. Reports of the Technical Working Groups established under the Thematic Strategy for Soil Protection., 2004, EUR 21319 EN/5, p. 1-79.
42. Rezolucja Parlamentu Europejskiego z dnia 13 listopada 2007 r. w sprawie strategii tematycznej w dziedzinie ochrony gleby (2006/2293(INI)).P6_TA(2007)0504.
43. Rutkowska A., Pikuła D.: Effect of crop rotation and nitrogen fertilization on the quality and quantity of soil organic matter. Soil Processes and Current Trends in Quality Assessment., 2013. ISBN 978-953-51-1029-3, Edited by Maria C. Hernandez Soriano, InTech: 249268
44. Schnitzer M.: Humic substances: chemistry and reactions. In: Soil organic matter, Schnitzer M., Khan S.U. (eds). Elsevier, Amsterdam, 1978, pp. 1-64.
45. Scott H.D., Wood L.S., Miley W.M.: Long-term effects of tillage on the retention and transport of soil water. Arkansas Water Resources Research Center, Fayetteville Publication Number 125, 1986, pp. 45.
46. Stevenson F.J.: Geochemistry of soil humic substances. John Willey&Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, 1985, p. 13-52.

47. Stevenson F.J.: Humus chemistry: genesis, composition, reactions. 2nd ed. New York, 1994, Chichester: John Wiley: p. 489-496. Humus Chemistry. Wiley, Chichester.
 48. Tan K. H. Humic matter in soil and environment. Principles and controversies. CRC Press Taylor & Francis Group, 2014, pp. 439.
 49. Ukalska-Jaruga A., Bejger R., Debaene G., Smreczak B.: Characterization of soil organic matter individual fractions (fulvic acids, humic acids, and humins) by spectroscopic and electrochemical techniques in agricultural soils. *Agronomy* 2021, 11, 1067. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061067>.
 50. VDLUFA. Körschens M. (red.): Humusbilanzierung. Methode zur Beurteilung und Bemessung der Humusversorgung von Ackerland. Standpunkt VDLUFA, Bonn, 2004. Humusbilanzierung Eine Methode zur Analyse und Bewertung der Humusversorgung von Ackerland, https://www.vdlufa.de/download/Humus/Standpunkt_Humusbilanzierung.pdf, Speyer, den 07. März 2014.
-

Adres do korespondencji:

*dr hab. inż. Dorota Pikula
Zakład Żywienia Roślin i Nawożenia
IUNG-PIB
ul. Czartoryskich 8
24-100 Puławy
tel. 81 47 86 837
e-mail: dpikula@iung.pulawy.pl*

AUTOR	ORCID
Dorota Piłula	0000-0003-4173-197X