INSTYTUT UPRAWY NAWOŻENIA I GLEBOZNAWSTWA
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY

STUDIA I RAPORTY
IUNG-PIB

54(8)

# JAKOŚĆ GLEB UŻYTKOWANYCH ROLNICZO I WSKAŹNIKI JEJ OCENY

PROGRAM WIELOLETNI
2016-2020

WSPIERANIE DZIAŁAŃ W ZAKRESIE OCHRONY
I RACJONALNEGO WYKORZYSTANIA
ROLNICZEJ PRZESTRZENI PRODUKCYJNEJ W POLSCE
ORAZ KSZTAŁTOWANIA JAKOŚCI SUROWCÓW ROŚLINNYCH

Puławy 2017

INSTYTUT UPRAWY NAWOŻENIA I GLEBOZNAWSTWA
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY

Dyrektor: *prof. dr hab. Wiesław Oleszek*

Redakcja naukowa:
*dr Anna Gałązka, dr Bożena Smreczak*

Autorzy:

*dr Karol Abramczyk, dr Adam Kleofas Berbeć, dr Guillaume Debaene, dr Anna Gałązka, mgr Karolina Gawryjołek, mgr Aleksandra Ukalska-Jaruga, mgr Monika Kozieł, dr Anna Kocoń, mgr Magdalena Łysiak, prof. dr hab. Stefan Martyniuk, dr Jacek Niedźwiecki, dr Paweł Radzikowski, mgr Sylwia Siebielec, dr Grzegorz Siebielec, dr Bożena Smreczak, mgr Danuta Sobich, mgr Joanna Strzelecka, dr hab. Beata Feledyn-Szewczyk, prof. nadzw.*

Recenzenci:

*prof. dr hab. Krystyna Cybulska, prof. dr hab. Jan Kuś, dr Małgorzata Majewska, prof. dr hab. Stefan Martyniuk, prof. dr hab. Janusz Podleśny, dr hab. Paweł Sowiński, dr hab. Justyna Starzyk, dr hab. Dorota Swędrzyńska, dr hab. Józef Tyburski, dr Łukasz Wlazło*

Opracowanie redakcyjne i techniczne: *mgr Ewa Decka-Cywińska*
Okładka: krajobraz okolic Rogowa (fot. *dr Anna Nieróbca*)

ISBN 978-83-7562-270-6

*Egzemplarz bezpłatny*

Nakład 300 egz., B5
Dział Upowszechniania i Wydawnictw IUNG-PIB w Puławach
tel. (81) 47 86 720; fax (81) 47 86 721
e-mail: iung@pulawy.pl; http://www.iung.pulawy.pl

STUDIA I RAPORTY IUNG-PIB

# JAKOŚĆ GLEB UŻYTKOWANYCH ROLNICZO I WSKAŹNIKI JEJ OCENY

ZESZYT 54(8) 2017

## SPIS TREŚCI

Wstęp ..... 7

1. B. Smreczak, A. Ukalska-Jaruga, M. Łysiak, J. Strzelecka, J. Niedźwiecki, D. Sobich − Funkcje, jakość i usługi ekosystemowe gleb..... 9

2. A. Ukalska-Jaruga, B. Smreczak, J. Strzelecka − Wpływ materii organicznej na jakość gleb użytkowanych rolniczo ..... 25

3. J. Niedźwiecki, G. Debaene, B. Smreczak, M. Łysiak, A. Ukalska-Jaruga − Wstępne badania nad wykorzystaniem metod spektralnych do klasyfikacji utworów organicznych na potrzeby Spektralnej Biblioteki Gleb Polski ..... 41

4. B. Feledyn-Szewczyk, A. K. Berbeć, P. Radzikowski − Rola dżdżownic w kształtowaniu jakości gleb oraz wpływ różnych zabiegów agrotechnicznych na ich występowanie ..... 57

5. K. Abramczyk, A. Gałązka − Pałeczki *Salmonella* i *Escherichia coli* jako realne zagrożenie zdrowia ludzi oraz jakości gleby ..... 73

6. M. Kozieł, A. Gałązka − Liczebność bakterii uruchamiających fosfor ze związków mineralnych w glebach uprawnych Polski ..... 83

7. A. Gałązka, K. Gawryjołek, A. Kocoń − Liczebność drobnoustrojów rozpuszczających fosforany i aktywność fosfataz w glebie w kontekście stosowania preparatów mikrobiologicznych ..... 95

8. M. Kozieł, S. Siebielec, G. Siebielec, S. Martyniuk − Ocena efektywności symbiotycznej szczepów bakterii z rodzaju *Rhizobium* wyizolowanych z brodawek korzeniowych bobiku (*Vicia faba* L. *Var. Minor*) i grochu (*Pisum sativum* L.) ..... 111

# Wstęp

Znacząca rola gleb w prawidłowym funkcjonowaniu ekosystemów oraz w życiu człowieka i innych organizmów żywych została dostrzeżona stosunkowo niedawno. W okresie ostatnich prawie pięćdziesięciu lat na świecie pojawiło się wiele inicjatyw akcentujących potrzebę ochrony gleb oraz ich zrównoważonego wykorzystania. Obecnie coraz więcej uwagi poświęca się jakości gleb, ich funkcjom oraz usługom ekosystemowym, które spełniają. Wskazuje się na podmiotowe traktowanie gleb oraz podkreśla się ich znaczenie w gospodarce człowieka, szczególnie w takich dziedzinach jak rolnictwo czy leśnictwo.

Jakość gleb to ich zdolność do wypełniania wielu funkcji, które umożliwiają właściwy rozwój roślin i zwierząt oraz wpływają na zdrowie ludzi. Wysoką jakość gleb warunkują nie tylko czynniki naturalne związane z charakterem skały macierzystej wpływającej na gospodarkę wodną gleb i zawartość składników odżywczych dla roślin, ale również praktyki związane ze sposobem jej użytkowania i wykorzystania. Z punktu widzenia rolnictwa wskaźnikiem wysokiej jakości gleb jest wielkość i jakość plonu oraz jego stabilność i powtarzalność, dlatego właściwe praktyki rolnicze są postrzegane jako podstawowy warunek gwarantujący zdrowie i dobrobyt ludzi oraz bezpieczeństwo żywności.

Gleby są dynamicznym elementem środowiska przyrodniczego. Ich właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne mogą podlegać zmianom w czasie pod wpływem czynników biotycznych i abiotycznych, co w konsekwencji oddziałuje na ich funkcje oraz usługi ekosystemowe. Jakość gleb jest pewną koncepcją, ocenianą przy zastosowaniu wielu parametrów opisujących właściwości chemiczne, fizyczne i biologiczne gleb, dlatego coraz większego znaczenia nabierają zagadnienia dotyczące metod dokonywania tych ocen, wyboru wskaźników oraz ich realnego zastosowania w procesie podejmowania decyzji na różnych szczeblach z uwzględnieniem oddziaływania na politykę regionalną i międzynarodową.

W opracowaniu, które przedstawiamy zostały przybliżone zagadnienia dotyczące koncepcji jakości, funkcji i usług ekosystemowych gleb oraz wskaźniki stosowane do ich oceny, a także wpływ niektórych z tych koncepcji na politykę UE, w tym Wspólną Politykę Rolną. Prezentujemy zagadnienia dotyczące właściwości chemicznych gleb, z szerszym omówieniem wpływu materii organicznej na jakość gleb użytkowanych rolniczo oraz wyniki badań dotyczących wykorzystania metod spektralnych do oceny gleb organicznych. Znaczna część opracowania obejmuje przykłady wykorzystania różnych wskaźników biologicznych, które są coraz szerzej stosowane w ocenie jakości gleb użytkowanych rolniczo.

Kierownik zadania 1.4
*dr Anna Gałązka*

Kierownik zadania 1.3
*dr Bożena Smreczak*

**S T U D I A I R A P O R T Y IUNG-PIB**

**ZESZYT 54(8)**: 9-23 **2017**

**Bożena Smreczak, Aleksandra Ukalska-Jaruga, Magdalena Łysiak, Joanna Strzelecka, Jacek Niedźwiecki, Danuta Sobich**

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

# FUNKCJE, JAKOŚĆ I USŁUGI EKOSYSTEMOWE GLEB*

**Słowa kluczowe:** gleby, jakość gleb, właściwości gleb, funkcje gleb, usługi ekosystemów

## Wstęp

Gleby stanowią główny element ekosystemów lądowych, a ich znaczenie i kluczowa rola w życiu człowieka i innych organizmów żywych jest niezaprzeczalna. Gleby są powszechnie eksploatowane zgodnie z ekonomicznymi i społecznymi potrzebami, a ludzie często zmieniają jakość i funkcje gleb podejmując decyzje dotyczące ich przeznaczenia i użytkowania (2).

W latach siedemdziesiątych ubiegłego stulecia nastąpił wzrost zainteresowania problematyką gleb. W 1972 r. ukazała się Europejska Karta Gleby (14), która jako pierwszy dokument tego rodzaju uświadomiła społeczeństwu i decydentom znaczącą rolę środowiska glebowego (5). W tym czasie pracowano nad koncepcjami funkcji gleb, a naukowcy starali się je sklasyfikować i zbadać. W ośrodkach amerykańskich pojawiło się również inne podejście związane z wprowadzeniem terminu „jakość gleby" i jej oceną poprzez zastosowanie różnych parametrów, najczęściej opisujących właściwości gleb (10, 12, 31). Zaproponowano również nową terminologię „środowiskowe usługi", nazywane w późniejszym okresie usługami ekosystemów i podjęto próby ich wyceny (5). Zdaniem Baveye i in. (5) jedną z najważniejszych prac w tym zakresie była publikacja Constanz'y i in. (7), w której roczne usługi środowiska w skali globalnej oszacowano na ponad 33 miliardy USD (33). Bez względu na dokładność tych ocen podana suma była ogromna i wyraźnie wskazywała na skalę zagadnienia. Zarówno w pracy Constanzy i in. (7) jak i opublikowanym w 2005 r. raporcie ONZ pt. „Milenijna Ocena Ekosystemów", nie wskazano znaczącej roli gleby w korzyściach dla człowieka, dlatego w pracach naukowych zaczęło pojawiać się nowe określenie „usługi ekosystemowe gleb" (5). W wielu współczesnych opracowaniach, gleby i ich znaczenie dla człowieka, charakteryzuje się poprzez jakość

* Opracowanie wykonano w ramach zadania 1.3 w programie wieloletnim IUNG-PIB.

i ich funkcje oraz usługi ekosystemowe. Określenia te są często używane zamiennie chociaż mają różne znaczenie, dlatego celem pracy jest przedstawienie głównych założeń tych trzech koncepcji wraz z przykładami wskaźników służących do ich oceny.

## Funkcje gleb

Na arenie międzynarodowej rola gleb w funkcjonowaniu ekosystemów została doceniona stosunkowo niedawno (5). Na początku lat siedemdziesiątych ubiegłego stulecia pojawiła się koncepcja wielofunkcyjności gleb oraz pierwsze propozycje podziałów funkcji gleb. W kolejnych latach naukowcy starali się określić i skategoryzować te funkcje. Nie było to zagadnienie proste, ponieważ samo słowo „funkcje" było przedmiotem dyskusji uwzględniających niejednokrotnie również wątek filozoficzny. Jak podają Baveye i in. (5) doprecyzowania wymagała definicja funkcji gleb i co należy przez nią rozumieć tj.: 1) stan gleby zmieniający się w czasie, co jest odpowiednikiem procesu, 2) funkcjonowanie czyli pewien stan gleb i ogół procesów, które utrzymują system w równowadze, 3) specyficzną rolę poszczególnych komponentów systemu uczestniczących w różnych procesach, 4) usługę dla ludzi i innych organizmów żywych. Ważne było również określenie co to są naturalne lub właściwe funkcje gleb i czy funkcjonowanie nie powinno odnosić się tylko do organizmów żywych lub ich grup jako składowych tych funkcji. Zwrócono uwagę, że funkcje gleb są postrzegane głównie jako przynoszące korzyści, chociaż w rzeczywistości można mówić także o „dysfunkcjach" gleb kiedy mamy np. do czynienia z gromadzeniem się w glebach czynników chorobotwórczych dla roślin czy zwierząt. Zagadnienia związane z „dysfunkcjami" gleb są jeszcze słabo rozpoznane i w niewielkim zakresie akcentowane w literaturze naukowej (5).

Funkcje gleb to korzyści jakie gleby dostarczają ludziom i innym organizmom żywym. Ich podział przedstawiono w pracach autorów europejskich i amerykańskich, w tym np. Blum'a (6), Doran'a i Parkin'a (12). W literaturze naukowej istnieje wiele różnych podziałów funkcji gleb, ale w pracy przedstawiono tylko wybrane, które szerzej upowszechniły się na arenie międzynarodowej.

Koncepcja funkcji gleb Bluma'a została spopularyzowana w Europie, a jej pierwotna wersja z 1988 r. przechodziła różne transformacje. W artykule z 2005 r. Blum (6) podzielił funkcje gleb na dwie podstawowe kategorie: ekologiczne (środowiskowe) i nie ekologiczne (socjalne i ekonomiczne). Do funkcji ekologicznych gleb Blum (6) zaliczył: 1) produkcję biomasy i żywności; 2) ochronę ludzi i środowiska i 3) rezerwuar genów, natomiast do funkcji nie ekologicznych: 4) wykorzystanie gleb jako podstawy do działalności człowieka, w tym rozwoju budownictwa i infrastruktury; 5) źródło materiałów takich jak piasek, glina czy żwir oraz 6) dziedzictwo kulturowe. Podział funkcji gleb wypracowany przez zespoły amerykańskie (12, 31), łączony z jakością środowiska glebowego podkreśla, że gleby odpowiadają za: 1) obieg pierwiastków, 2) regulację stosunków wodnych, 3) zachowanie bioróżnorodności i tworzenie siedliska dla organizmów żywych, 4)

filtrowanie i właściwości buforowe uwzględniające degradację i unieczynnianie substancji szkodliwych , 5) stabilność dla korzeni roślin, podstawę dla budownictwa i ochronę dziedzictwa archeologicznego. Według Organizacji Narodów Zjednoczonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa (16) gleby pełnią jedenaście funkcji: 1) dostarczają żywności, włókna i paliwa, 2) umożliwiają sekwestrację węgla organicznego, 3) oczyszczają wodę i redukuję poziom zanieczyszczeń, 4) wpływają na klimat oraz 5) obieg pierwiastków, 6) stanowią siedlisko życia organizmów żywych, 7) zmniejszają zagrożenie powodzią, 8) są źródłem substancji leczniczych i zasobów genetycznych i 9) stanowią podstawę pod infrastrukturę, 10) dostarczają materiałów dla przemysłu, 11) stanowią dziedzictwo kulturowe (16). Należy podkreślić, że gleby jednocześnie pełnią wiele funkcji, dlatego wykorzystywanie jednej z nich np. funkcji produkcyjnej przez rolnictwo może doprowadzić do osłabienia czy degradacji innych funkcji, dlatego bardzo ważna jest kontrola tych zjawisk i zapobieganie niekorzystnym efektom.

Koncepcja funkcji gleb B1um'a (6) odegrała bardzo ważną rolę w polityce Unii Europejskiej, chociaż przyjęta w niej definicja gleby zasadniczo odbiegała od stosowanych w gleboznawstwie. Gleby zaczęto postrzegać nie tylko poprzez ich funkcję produkcyjną, ale zwrócono też uwagę na funkcje środowiskowe, gospodarcze, społeczne, ekologiczne i kulturowe. Koncepcja ta była podstawą do opracowania Strategii tematycznej w dziedzinie ochrony gleby (34), a następnie wypracowania propozycji Ramowej Dyrektywy Glebowej (27). Ostatni z tych dokumentów był w latach 2006-2014 przedmiotem negocjacji, ale nie został przyjęty ze względu na sprzeciw niektórych państw członkowskich UE (20).

Interesującym aspektem w Strategii (34) była ocena stanu gleb w Europie. W dokumencie tym podano, że na terenie UE ponad 115 milionów hektarów jest zagrożonych erozją wodną, 42 miniony hektarów są narażone na występowanie erozji wietrznej, a około 3,5 miliona miejsc jest potencjalnie zanieczyszczonych. Obliczono, że w ciągu pierwszych pięciu lat koszty ramowego programu ochrony gleb w UE-25 wyniosą około 290 mln EUR oraz 240 mln EUR rocznie w ciągu kolejnych dwudziestu lat (20). Bez względu na trafność tych oszacowań przewidywane nakłady na ochronę gleb oraz przywrócenie funkcji glebom zdegradowanym były znaczące.

Strategia tematyczna w dziedzinie ochrony gleby (34) spełniła bardzo ważną rolę w polityce europejskiej, ponieważ wyznaczyła kierunki przyszłych działań. W dokumencie tym bardzo silnie zaakcentowano zasadę, która nadal jest aktualna w polityce UE, iż zapobieganie niszczeniu pokrywy glebowej jest mniej kosztowne i czasochłonne niż przywracanie glebom ich funkcji. Wskazano również główne procesy degradujące środowisko glebowe na obszarze UE. Do nich zaliczono: erozję wodną i wietrzną, spadek zawartości materii organicznej, zasolenie, zagęszczenie, osuwanie się ziemi, zanieczyszczenie, zasklepianie powierzchni gleby, pustynnienie oraz utratę różnorodności biologicznej. Podkreślono negatywne skutki przekształceń gleb rolniczych na inne cele oraz związek tego zjawiska z bezpieczeństwem

żywnościowym UE. Zaakcentowano, że degradacja gleb bezpośrednio wpływa na inne obszary objęte prawodawstwem Wspólnoty np. wodę i powietrze, powodując zakłócenie zrównoważonego rozwoju i prawidłowego działania rynku wewnętrznego. Ponadto, dostrzeżono fakt transgranicznego wpływu procesów degradacji gleb i potrzebę odpowiedzialności poszczególnych krajów za te szkody (20, 28, 34).

Od 2006 r. ocena zagrożeń dla funkcji gleb stała się zagadnieniem priorytetowym w UE, dlatego opracowano ramowe założenia dla monitoringu gleb oraz zaproponowano wskaźniki oceny dla poszczególnych zagrożeń, co miało umożliwić wczesne wykrywanie i zapobieganie negatywnym skutkom procesów degradacji środowiska glebowego w krajach Wspólnoty. Propozycja wskaźników oceny zagrożeń dla funkcji gleb na terenie UE była efektem projektu ENVASSO (ang. *Environmental Assessment of Soil for Monitoring*); (19). W projekcie zaproponowano 27 głównych oraz 66 dodatkowych wskaźników, które miały wskazywać na polepszanie się lub postępującą degradację środowiska glebowego. Przy wyborze wskaźników kierowano się ich przydatnością przy ocenie zagrożeń dla funkcji gleb, łatwością stosowania, związkiem z celami polityki i kontekstem UE oraz możliwościami zastosowania w krajach członkowskich. Wskaźniki te miały dodatkowo umożliwić stwierdzenie przyczyn degradacji gleb, wskazywać na działalności człowieka, które negatywnie wpływają na funkcje gleb i powodują ich ograniczenie, dostarczyć danych do oceny stanu w jakim są gleby na terenie Europy i umożliwić wyznaczenie działań skierowanych na ich ochronę. Wskaźniki główne opracowane w projekcie ENVASSO (19) zastawiono w tabeli 1.

Tabela 1

Wskaźniki zaproponowane do oceny zagrożeń dla funkcji gleb w projekcie ENVASSO

| **Zagrożenie** | **Zagadnienia kluczowe** | **Wskaźnik** | **Jednostka** |
|---|---|---|---|
| Erozja | erozja wodna | oszacowana utrata gleby w wyniku np. zaistnienia poszczególnych procesów erozyjnych | $ha^{-1}$ $rok^{-1}$ |
| | erozja wietrzna | | |
| | erozja uprawowa | | |
| Spadek zawartości materii organicznej | zawartość materii organicznej w glebach | zawartość węgla organicznego w powierzchniowej warstwie gleby | % |
| | | zasoby węgla organicznego oznaczone w glebie | $t\ ha^{-1}$ |
| | | zasoby węgla w glebach organicznych | Mt |
| Zanieczyszczenie gleb | rozproszone zanieczyszczenie spowodowane związkami nieorganicznymi | zawartość metali ciężkich w glebach | % |
| | rozproszone zanieczyszczenie spowodowane związkami wywołującymi zakwaszenie gleb | zawartość w glebach siarki i azotu | % |
| | lokalne zanieczyszczenie gleb | postęp w zarządzaniu terenami zanieczyszczonymi | % |

Tabela 1 cd.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Zabudowa powierzchni gleby | powierzchnia zabudowana | ha lub % zabudowanej powierzchni gleby | ha $rok^{-1}$ lub ha $dzień^{-1}$ |
| | ilość gruntów przeznaczonych do zabudowy | grunty przeznaczone do zabudowy | % stanu początkowego lub ha |
| | przywrócenie do użytku terenów zdegradowanych | zabudowa na terenach poddanych rekultywacji | % |
| Zagęszczenie gleby | zagęszczenie i degradacja struktury | gęstość objętościowa | g $cm^{-3}$ lub t $m^{-3}$, % |
| | zagęszczenie i degradacja struktury | pory wypełnione powietrzem przy określonej sile ssącej | % |
| | przyczyny zagęszczenia gleb | oszacowana (np. na podstawie modeli)odporność gleby na zagęszczenie | klasy odporności |
| Spadek różnorodności biologicznej | różnorodność gatunków | różnorodność gatunków dżdżownic i ich świeża masa | ilość dżdżownic na $m^{-2}$; g świeżej masy na $m^{-2}$ |
| | różnorodność gatunków | skoczogonki w przypadku braku możliwości oznaczenia dżdżownic | ilość skoczogonków na $m^{-2}$; g świeżej masy na $m^{-2}$ |
| | funkcje biologiczne | oddychanie mikroorganizmów | g $CO_2$ $kg^{-1}$ gleby (suchej masy) |
| Zasolenie gleb | zasolenie gleby | zawartość łatwo rozpuszczalnych soli | całkowita zawartość soli(%); przewodność elektryczna ds. $m^{-1}$ |
| | zawartość sodu | zawartość sodu wymiennego | % |
| | potencjalne zasolenie gleb | występowanie potencjalnych źródeł zasolenia gleb oraz odporność gleb na zasolenie | zawartość łatwo rozpuszczalnych soli: mg $dm^{-3}$; wskaźnik adsorpcji sodu (SAR) |
| Osuwiska | aktywność osuwisk | występowanie aktywnych osuwisk | ha lub $km^2$ |
| | aktywność osuwisk | ilość przemieszczonego materiału | $m^3$; $km^3$ lub tony przemieszczonego materiału |
| | odporność na osuwiska | ocena ryzyka zagrożenia wystąpieniem osuwisk | wskaźnik służący do przewidywania prawdopodobieństwa wystąpienia zagrożenia; zawiera różne wskaźniki |
| Pustynnienie | pustynnienie | powierzchnia zagrożona pustynnieniem | $km^2$ |
| | pustynnienie | obszary leśnie i obszary nierolnicze wypalone przez pożary | $km^2$ $rok^{-1}$ |
| | pustynnienie | zawartość węgla organicznego w glebach narażonych na suszę | %; g $kg^{-1}$ |

Źródło: Kibblewhite i in., 2008 (19)

W odpowiedzi na działania UE w zakresie ochrony gleb, w naszym kraju przeprowadzono wiele analiz dotyczących zagrożeń dla funkcji gleb użytkowanych rolniczo. Część z tych opracowań wykonano w Zakładzie Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowego Instytutu Badawczego (IUNG-PIB). Prace te były częściowo przedmiotem realizacji zadań w Programie Wieloletnim (2011-2015) i tematów badawczych IUNG-PIB. Wyniki tych opracowań pozwoliły m.in. na ocenę zagrożenia gleb z terenów rolniczych erozją wodną (25), spadkiem zawartości materii organicznej (17), zanieczyszczeniem (29), zagęszczeniem (8), przekształceniami gleb z obszarów rolniczych na cele nie rolne (35) itp. Zaproponowano również wskaźniki do wyznaczenia terenów zagrożonych współwystępowaniem wielu procesów degradujących środowisko glebowe tzw. terenów ryzyka środowiskowego oraz podjęto próby opracowania zintegrowanego wskaźnika ryzyka dla terenów zanieczyszczonych (30, dane nie publikowane). Prace dotyczące oceny zagrożeń dla funkcji gleb z terenów rolniczych są kontynuowane w nowym Programie Wieloletnim (2016-2020) IUNG-PIB.

Gleby użytkowane rolniczo pokrywają znaczną część powierzchni UE, dlatego ochrona ich funkcji i zapobieganie degradacji ma zasadnicze znaczenie. Strategia w dziedzinie ochrony gleby (34), wywarła ważny wpływ na kształt zreformowanej Wspólnej Polityki Rolnej (WPR) wskazując znaczącą rolę gleb min. w sekwestracji węgla, ograniczeniu emisji gazów cieplarnianych czy ochronie bioróżnorodności, a rolnictwa we wdrażaniu trwałych praktyk zapobiegających degradacji gleb. WPR promuje wiele praktyk rolniczych oddziaływujących na funkcje gleb. Wysokość otrzymywanych przez rolników płatności bezpośrednich oraz płatności nie inwestycyjnych w ramach Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich uzależniona jest od spełniania zasady wzajemnej zgodności, na którą składają się normy dotyczące utrzymania gruntów wchodzących w skład gospodarstwa rolnego w dobrej kulturze rolnej zgodnej z ochroną środowiska (DKR) oraz podstawowe wymogi z zakresu zarządzania (SMR). Jak podkreślą Jones i in. (18) w przyszłości płatności WPR powinny być w mniejszym stopniu skierowane na wsparcie produkcji rolniczej, a muszą promować działania środowiskowe pozwalające na wspomaganie funkcji gleb, w tym m.in. zwiększenie sekwestracji węgla organicznego. Wprowadzenie tego typu rozwiązań wymaga dodatkowych działań i połączenia oceny skuteczności wdrażania WPR i analiz właściwości gleb charakteryzujących ich funkcje. Takie prace zostały podjęte w ramach zadania 1.3 „Monitorowanie różnych parametrów środowiska glebowego dla właściwej oceny WPR", realizowanego w ramach Programu Wieloletniego (2016-2020) IUNG-PIB.

W raporcie o stanie gleb Europy Jones i in. (18) wskazują, że główne zagrożenia dla gleb w UE nie zmieniły się zasadniczo w porównaniu z rokiem 2005, chociaż dodatkowo wśród procesów zagrażających prawidłowemu funkcjonowaniu środowiska glebowego wymienia się zakwaszenie. W podsumowaniu raportu stwierdzono, że założenia przedstawione w Strategii w dziedzinie ochrony gleby (34) nie we wszystkich państwach Wspólnoty przyniosły oczekiwane rezultaty,

a w niektórych z nich, sytuacja nawet ulega pogorszeniu. Jako główną przyczynę niekorzystnych trendów wymieniono brak aktów prawnych właściwie chroniących gleby i ich funkcje, ale też podkreślono niską świadomość społeczeństw w zrozumieniu roli jaką pełnią gleby.

## Jakość gleb

W Stanach Zjednoczonych Ameryki w większym zakresie niż funkcje gleb i rozpoznanie zagrożeń dla tych funkcji upowszechniła się koncepcja jakości i zdrowia gleb, które są często używane zamiennie (11). Definicja jakości gleb przez lata stanowiła wyzwanie dla naukowców ze względu na zróżnicowanie pokrywy glebowej, właściwości i funkcji jakie pełnią gleby. Jakość gleb jest definiowana jako zdolność żywej gleby do: 1) funkcjonowania w ramach naturalnych lub zarządzanych ekosystemów; 2) utrzymania produkcji roślinnej i zwierzęcej; 3) utrzymywania lub poprawy jakości wody i powietrza oraz 4) zapewniania zdrowotności roślin i zwierząt (22). Określenie „zdrowie gleby" bardziej uwypukla fakt, że jest to twór ożywiony i dynamiczny, którego funkcje są określane przez różnorodność organizmów żywych (10). Koncepcja jakości gleby jest ściśle związana z jej funkcjami i możliwością dostarczania przez gleby podstawowych usług ekosystemowych (22). Obieg składników odżywczych, filtrowanie wody czy sekwestracja węgla organicznego są normalnymi procesami zachodzącymi w glebach przynoszącymi korzyści nie tylko ich właścicielom, ale też poprawiającymi jakość życia całego społeczeństwa.

Jakość gleb jest pewną koncepcją, dlatego nie można jej bezpośrednio zmierzyć, ale można ją scharakteryzować poprzez mierzalne właściwości gleby. O jakości gleby stanowią jej cechy stałe i zmienne w czasie. Do stałych właściwości gleb zalicza się: uziarnienie, zawartość iłu koloidalnego, całkowitą pojemność wodą oraz pojemność wymiany kationów, natomiast do właściwości, które mogą ulec zmianie w ciągu stosunkowo krótkiego czasu należą np. pH, zawartość materii organicznej, struktura gleby, ilość składników odżywczych (31).

Od początku lat dziewięćdziesiątych w Stanach Zjednoczonych podejmowane są prace badawcze koncentrujące się na ustaleniu i wyborze parametrów ilościowych i jakościowych odpowiednich do oceny jakości i funkcji gleb w powiązaniu z systemem zarządzania gruntami (3, 31). Według Doran'a i Zeiss'a (10) parametry opisujące jakość gleb muszą uwzględniać ich właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne oraz być łatwe do interpretacji i dostępne dla wielu użytkowników, a także odzwierciedlać zmiany zachodzące w glebach pod wpływem np. zmian klimatu czy użytkowania gruntów wynikających z działalności człowieka (3). Dodatkowo powinny stanowić elementy już istniejących baz danych umożliwiając analizę zmian funkcji gleb w czasie. Wskaźniki oceny jakości gleb muszą również dostarczać odpowiedzi na pytania dlaczego dana gleba nie funkcjonuje właściwie, co umożliwi wdrożenie działań naprawczych.

O ile do oceny jakości powietrza i wody mogą służyć pojedyncze wskaźniki, to jakości gleb nie da się scharakteryzować w prosty sposób ze względu na zachodzące w niej liczne procesy. Wiele z wskaźników oceny jakości gleb zostało wybranych na podstawie badań rolniczych i obejmują one ocenę gleb w terenie oraz właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne, ekonomiczne analizy zmian sposobu użytkowania gruntów czy wyceny usług ekosystemowych. Jak podaje Martinez-Saldago i in. (23) wskaźniki jakości gleb analizowane w terenie obejmują m.in. barwę gleby oraz zmiany uziarnienia w profilu. Wskaźniki fizyczne są związane ze strukturą gleby, organizacją agregatów i wielkością porów glebowych. Odzwierciedlają one wpływ czynników glebowych, sposobu uprawy i zmianowania roślin na wzrost korzeni, infiltrację wody czy wymianę gazową i dotyczą oznaczeń gęstości objętościowej, porowatości, infiltracji, uziarnienia i in. Wskaźniki chemiczne to najczęściej analizy: pH, zasolenia, zawartości materii organicznej, dostępnych form fosforu, pojemności wymiany kationów, zawartości składników odżywczych dla roślin oraz zanieczyszczeń. Wskaźniki biologiczne to oznaczenia mikro- i makroorganizmów, ich populacji lub funkcji. Wśród ważnych parametrów oceny jakości gleb wymienia się populację dżdżownic, nicieni, mrówek, a także biomasę drobnoustrojów i grzybów oraz procesy metaboliczne takie jak oddychanie czy pomiar aktywności mikrobiologicznej związanej z rozkładem materii organicznej. Do oceny jakości gleb mogą być również stosowane specyficzne parametry takie jak aktywność enzymatyczna np. celulazy, arylosulfatazy czy fosfatazy kwaśnej i zasadowej, pomiary liczby nasion chwastów czy patogennych drobnoustrojów. Przykładowy zestaw potencjalnych wskaźników stosowanych do takich ocen w różnych skalach przestrzennych podano w tabeli 2.

Tabela 2

Potencjalne biologiczne, chemiczne i fizyczne wskaźniki jakości gleby do ocen w różnych skalach

| **Wskaźniki oceny jakości gleb** | | |
|---|---|---|
| biologiczne | chemiczne | fizyczne |
| **w skali pola** | | |
| biomasa mikroorganizmów | pH | stabilność agregatów |
| potencjał mineralizacji N | organiczny C i N | wielkość agregatów glebowych |
| cząsteczkowa materia organiczna | przyswajalne makroelementy | gęstość objętościowa |
| dżdżownice | przewodniość elektryczna | porowatość |
| populacja mikroorganizmów | mikroskładniki | opór penetracji gleby |
| enzymy glebowe | metale ciężkie | wielkość porów wypełnionych wodą |
| profil kwasów tłuszczowych | pojemność wymiany kationów | głębokość profilu glebowego |
| populacja grzybów mikoryzowych | rozmieszczenie Cs137 | zaskorupianie się gleby |
| oddychanie mikrobiologiczne | ksenobiotyki | infiltracja |

Tabela 2 cd.

| **w skali gospodarstwa rolnego** | | |
|---|---|---|
| plon | zmiany jakości materii organicznej | miąższość poziomu próchnicznego i barwa |
| występowanie chwastów | bilans składników pokarmowych | zagęszczenie lub łatwość uprawy gleby |
| nasilenie chorób roślin | akumulacja metali ciężkich | infiltracja |
| niedobory składników pokarmowych | zasolenie gleb | występowanie erozji żłobinowej i wąwozowej |
| wskaźniki wzrostu roślin | zmywy i wymywanie składników pokarmowych | pokrywa powierzchni gleby resztkami pożniwnymi |

Źródło: Soil Quality Indictors (31) za Karlen i in., 2001

Zdaniem Martinez-Saldago i in. (23) wyboru wskaźników jakości gleb dokonuje się z uwzględnieniem celu ocen i odbiorcy. I tak na przykład, jeżeli odbiorcami wyników mają być rolnicy, a gleby oceniane są ze względu na ich funkcję produkcyjną, autorzy proponują uwzględnić następujące analizy: zawartości materii organicznej w glebie, infiltrację, uziarnienie, pH, biomasę drobnoustrojów, formy azotu, gęstość objętościową, przewodnictwo elektryczne lub zasolenie oraz dostępne składniki odżywcze.

Pojedyncze wskaźniki jakości gleb są często bardzo trudne do interpretacji, dlatego stosuje się w praktyce różnego rodzaju indeksy łączące wiele właściwości gleb. Ich wyboru dokonuje się z wykorzystaniem metod eksperckich lub statystycznych np. analizy składowych głównych (ang. *Principal Component Analysis*) i przypisuje się im różne wagi.

W naszym kraju przykładem takich indeksów są syntetyczne wskaźniki produktywności i żyzności gleb, wyznaczone dla gleb użytkowanych rolniczo, obejmujące szeroki zakres parametrów szczegółowych (26). Należą do nich: wskaźnik waloryzacji rolniczej przestrzeni produkcyjnej, wskaźnik jakości fizycznej gleb, wskaźnik jakości biologicznej oraz syntetyczny wskaźnik żyzności agrochemicznej. Wskaźnik waloryzacji rolniczej przestrzeni produkcyjnej wyznaczono na podstawie zależności między plonem a jakością siedliska tj. glebą, wodą i urzeźbieniem terenu oraz klimatem, a warunki glebowo-przyrodnicze wyceniono z wykorzystaniem metod statystycznych (37). Wskaźnik jakości fizycznej S opracowany przez Dextera (9) jest związany z porowatością mikrostrukturalną, która wpływa na wiele fizycznych cech gleby. Jego wartość wyznaczana jako tangens kąta nachylenia krzywej retencji wodnej gleby w punkcie jej przecięcia, do osi potencjału wody glebowej wskazuje na warunki fizyczne gleb (9, 26). Mikrobiologiczny wskaźnik żyzności gleb Myśków i in (24) wyznaczyli na podstawie zawartości węgla organicznego, pojemności sorpcyjnej i aktywności mikrobiologicznej wyrażanej jako np. aktywność dehydrogenaz lub stosunek bakterii do grzybów, a Kucharski i Wyszkowska (21) opracowali wskaźnik BA stanowiący sumę aktywności siedmiu enzymów glebowych, tj. dehydrogenazy, ureazy, fosfatazy kwaśnej, fosfatazy zasadowej, arylosulfatazy, katalazy

i β-glukozydazy. Syntetyczny wskaźnik żyzności agrochemicznej gleb (SWZG) został zaproponowany przez Ochala (26), a syntetyczny wskaźnik żyzności gleby przez Filipiak (15). W pracy Ochala (26) wskaźnikami cząstkowymi były: pH KCl oraz zawartość przyswajalnych form P, K i Mg, natomiast w publikacji Filipiak (15) zawartość cząstek spławianych o średnicy <0,02 mm, zawartość próchnicy, pH KCl oraz przyswajalne formy P, K i Mg .

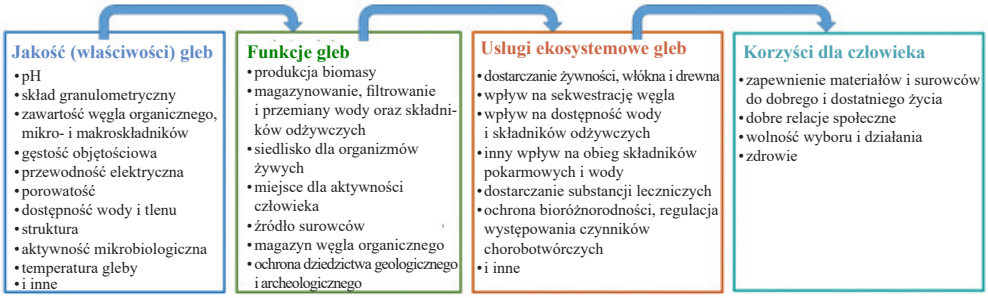
Koncepcja jakości gleb niesie za sobą również szereg problemów, ponieważ wielokrotnie podkreśla się, że jakość powinna być oceniana w stosunku do funkcji jaką obecnie pełni gleba. Problem w tym, że gleby jednocześnie pełnią wiele funkcji, a wysoka jakość gleb uwzgledniająca funkcję produkcyjną nie gwarantuje wysokiej jakości w zakresie funkcji siedliskowej czy retencyjnej, a bardzo często jedna funkcja wyklucza inną.

## Usługi ekosystemowe gleb

Ekosystem stanowi złożony i dynamiczny zespół roślin, zwierząt, mikroorganizmów i innych komponentów środowiska naturalnego, istniejących wspólnie jako całość i wzajemnie od siebie zależnych (36 ). W usługach ekosystemowych głównego znaczenia nabierają korzyści jakie środowisko dostarcza człowiekowi oraz ocena powiązań między społeczeństwem, przestrzenią i usługami (5).

Koncepcja usług ekosystemowych jest stosunkowo nowa i pochodzi z końca XX wieku, chociaż czerpie i odwołuje się do wcześniejszych opracowań, w których definiowano tzw. usługi środowiskowe jako związki między funkcjonowaniem ekosystemów, a korzyściami dla społeczeństwa (5). Usługi ekosystemów powinno rozumieć się bardzo szeroko tj. zarówno jako funkcje środowiska i zachodzące w nim procesy jak i produkty będące następstwem tych procesów. Usługi ekosystemowe, według jednych koncepcji, mogą stanowić „składniki przyrody", które są bezpośrednio konsumowane, odczuwane lub wykorzystywane do podniesienia jakości życia ludzi, czyli produkty końcowe funkcjonowania ekosystemu jak żywność, włókno, czysta woda itp., natomiast według innych teorii bazują na analizie wybranej części ekosystemu, która bezpośrednio odpowiada za produkcję i dostarczanie usług. W świetle tej koncepcji za obieg pierwiastków w glebie, który jest usługą dla człowieka odpowiedzialne są drobnoustroje (5, 36).

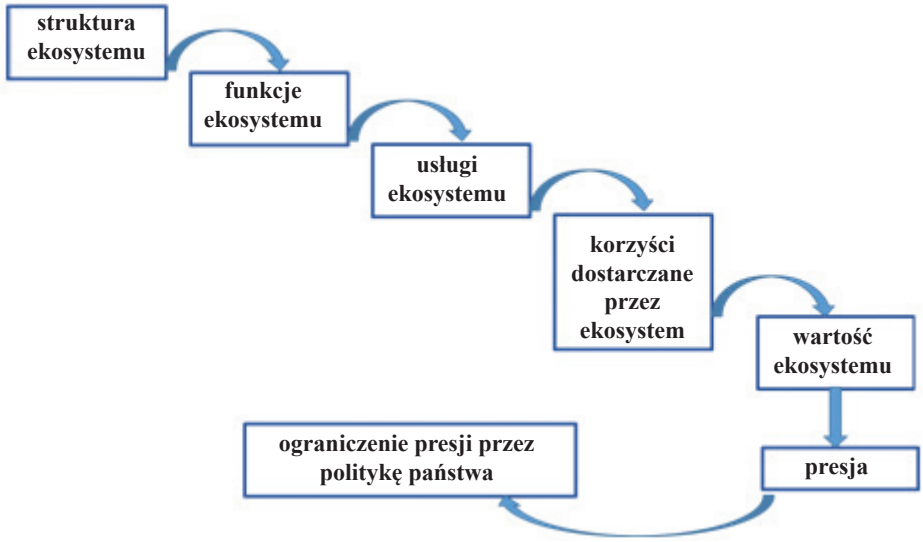
Zdaniem Adhikari i Hartemink (2) pomimo, że wiele prac poświecono samej koncepcji usług ekosystemowych to niewiele opracowań dotyczy roli gleb w tych usługach, chociaż gleba stanowi jeden z głównych naturalnych zasobów Ziemi. Często usługi ekosystemowe gleb są traktowane zamiennie z ich funkcjami czy jakością, co nie jest słuszne. Gleby charakteryzujące się określonymi właściwościami (jakością) mogą pełnić określone funkcje, dlatego mogą świadczyć wybrane usługi ekosystemowe i przynosić korzyści dla człowieka (Rys. 1).




Rys. 1. Schemat powiązań pomiędzy właściwościami, funkcjami i usługami ekosystemowymi gleb, a korzyściami dla człowieka
Źródło: opracowanie własne na podstawie (13)

W 2005 r. ONZ opublikowała raport pt. „Milenijna Ocena Ekosystemów", który jest podstawowym i oficjalnym dokumentem, definiującym cztery grupy usług ekosystemowych (36). Zalicza się do nich: 1) usługi zaopatrzeniowe; 2) usługi regulacyjne; 3) usługi wspomagające oraz 4) usługi kulturowe. Pomimo, że w opracowaniu tym pominięto rolę gleb, to bez wątpienia odgrywają one znaczącą rolę w funkcjonowaniu ekosystemów lądowych. W zakresie usług zaopatrzeniowych gleby dostarczają surowców dla różnych gałęzi gospodarki i stanowią zasoby naturalne krajów. Gleby uczestniczą w cyklu produkcji rolniczej i dzięki nim możliwe jest pozyskiwanie produktów żywnościowych, medycznych, biopaliw, włókna, drewna i innych. Usługi regulacyjne związane są z funkcjami środowiska, a rola gleb w tych usługach dotyczy m.in. sekwestracji węgla i modyfikacji składu atmosfery, przeciwdziałania zagrożeniom naturalnym np. występowaniu powodzi. W usługach wspomagających, gleby odgrywają ważną rolę, ponieważ są miejscem obiegu pierwiastków, zapewniają różnorodność biologiczną oraz krążenie wody. Usługi kulturowe nie wiążą się bezpośrednio z pozyskiwaniem dóbr materialnych, ale wskazują wartości środowiska. Gleby wpływają na walory estetyczne krajobrazu, stanowią zasoby o znaczeniu kulturowym, duchowym i naukowo-poznawczym (36).

Wykorzystanie gleb nierozerwalnie wiąże się z rolnictwem i jego udziałem w generowaniu usług ekosystemowych. Rolnictwo wytwarza wiele produktów, które mogą być łatwo wycenione przez rynek, ale wycena ta nie uwzględnia kosztów usług środowiskowych, w tym usług gleb, dlatego koszty te nie pozostają w kręgu zainteresowań producentów rolnych (38). Wdrożenie koncepcji usług ekosystemowych do polityki rolnej jest bardzo trudne, chociaż Wspólna Polityka Rolna obejmuje instrumenty stymulujące dostarczanie usług ekosystemowych przez gleby poprzez działania chroniące je np. przed erozją, zanieczyszczeniem czy utratą materii organicznej oraz różnorodności biologicznej.




Rys. 2. Kaskadowy model analizowana usług ekosystemowych
Źródło: Wieliczko, 2016 (38) za Primmer i in., 2015

Jedną z najważniejszych kwestii w ocenie usług ekosystemów jest analiza ich realnej wartości, która wymaga interdyscyplinarnego połączenia wiedzy z zakresu ekologii i ekonomii, a w przypadku usług ekosystemowych gleb również gleboznawstwa. Zdaniem Wieliczko (38) jedną z lepszych metod dla takich oszacowań jest model kaskadowy (Rys. 2), który zawiera analizę charakterystyki i struktury danego ekosystemu i w konsekwencji pozwala na wprowadzenie instrumentów polityki państwa, które mogą wspierać te usługi.

Zdaniem Baveye i in. (5) wycena usług ekosystemowych gleb i nadanie im określonej wartości pieniężnej nie jest jeszcze możliwe, ponieważ nie zostały rozpoznane wszystkie procesy zachodzące w glebach, a w przypadku usług kulturowych trudno w ogóle nadać im wartość. Pomimo sceptycznych głosów, podejmowane były próby wyceny usług ekosystemowych. Najprostsze z tych oszacowań dotyczą np. kosztów związanych z utratą warstwy ornej na skutek erozji wodnej. Almansa i in (4) zastosowali podejście, w którym obliczyli koszty ponownego nawiezienia każdego metra sześciennego gleby zmytego przez wodę, a Adhari i Nadella (1) spadek plonów lub w przypadku użytków zielonych zmniejszenie się liczby wypasanych zwierząt. Jak podaje Baveye i in. (5) nawet w tak prostych ocenach nie liczą się tylko koszty utraty korzyści, ale też inne koszty związane np. z zamulaniem rzek w wyniku erozji, tworzeniem się wąwozów, przenoszeniem warstw gleby i niszczeniem upraw na sąsiednich polach itp., które powinny być uwzględnione w całościowym rachunku ekonomicznym.

## Podsumowanie

Koncepcje jakości gleb, funkcji gleb oraz usług ekosystemowych odegrały bardzo ważną rolę w polityce światowej i były przedmiotem wielu opracowań naukowych. Szczególnie popularna obecnie teoria usług ekosystemowych ma na świecie wielu zwolenników, ale równie wiele osób odnosi się do niej bardzo sceptycznie. Omówione koncepcje mają nie tylko znaczenie praktyczne, ale też pozwalają uświadamiać społeczeństwu oraz decydentom zależności człowieka od przyrody, odpowiedzialności za nią i zasady zrównoważonego rozwoju (36). Wskazują na podmiotowe traktowanie gleb oraz podkreślają ich znaczenie w gospodarce człowieka, szczególnie w takich dziedzinach jak rolnictwo czy leśnictwo, ale też niosą ze sobą wiele bardzo poważnych pytań o metody dokonywania ocen, wybór wskaźników oraz realne ich zastosowanie w procesie podejmowania decyzji na różnych szczeblach i oddziaływanie na politykę regionalną i międzynarodową (5, 38).

Pomimo, że wiele gałęzi gospodarki ściśle zależy od usług ekosystemowych gleb, to działalność człowieka przyczynia się do degradacji środowiska glebowego nie tylko w poszczególnych regionach, ale również w skali globalnej. Nadmierna emisja gazów cieplarnianych i wywoływane przez nie zmiany klimatu dotykają wszystkie kraje. Przewidywany wzrost zaludnienia oraz zwiększone zapotrzebowanie na produkty żywnościowe będą powodować zwiększoną presję na gleby rolnicze oraz zwiększone ryzyko ich degradacji. Stan większości gleb na świecie oceniany jest jako słaby lub bardzo słaby ze względu na m.in. występowanie erozji czy zakwaszenie, a długoterminowe prognozy dotyczące polepszenia ich jakości nie są zadawalające (5). Cześć usług ekosystemowych dostarczanych przez gleby np. udział w krążeniu pierwiastków i wody czy podtrzymywanie różnorodności biologicznej nie mają realnych substytutów, dlatego potrzebny jest system monitorowania zmian i oceny skutków degradacji gleb z uwzględnieniem różnych grup interesariuszy, których będą dotyczyć korzyści, ale również koszty oceny i naprawy tych zmian. Pomimo licznych działań w celu ochrony środowiska glebowego, najbardziej istotne w tej kwestii będzie zwiększenie edukacji i wzrost świadomości społecznej w zakresie korzyści jakie czerpią ludzie z usług dostarczanych przez gleby.

## Literatura

1. Adhikari B., Nadella K.: Ecological economics of soil erosion: a review of the current state of knowledge. Ecol. Econ. Rev. 2010:1219, 134-152. Doi:10.1111/j.1749-6632.2010.05910.x
2. Adhikari K., Hertemink A.: Linking soils to ecosystem services – A global review. Geoderma, 2016, **262**:101-111.
3. Al-Kaisi M., Lal R., Olson K., Lowery B: Fundamentals and functions of soil environment. Soil Health and Intensification of Agroecosystems. 2014, Chapter 1, 1-23.doi http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-805317-1.00001-4.
4. Almansa C., Calatrava J., Martinez-Paz J.M.: Extending the framework of the economic evaluation of the erosion control actions in Mediterranean basins. Land Use Policy, 2012, 29:294-308. Doi:10.1016/jlandusepol.2011.06.013.

5. Baveye P.C, Baveye J., Gowdy J.: Soil "ecosystem" services and natural capital: critical appraisal of research on uncertain ground. Frontiers in Environmental Sciences; 2016, **4**: 1-49.doi:10.3389/fenvs.2016.00041.
6. Blum W.E.H.: Functions of soil for society and environment. Rev. Environ. Sci. Biotechnol.2005, 4: \75-79. doi: 10.1007/s11157-005-2236-x.
7. Constanza R. d'Arge R., de Groot R., Faber S., Grasso M., Hannon B. i in.: The value of the world's ecosystem services and natural capital. Nature, 1997, **387**: 253-260.
8. Czyż E. A. , Łopatka A., Dexter A. R. , Łysiak M., Stanek-Tarkowska J.: Podatność gleb na zagęszczenie. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2013, **35(9)**: 57-96.
9. Dexter A.R.: Soil physical quality Part III: Unsaturated hydraulic conductivity and genera conclusions about S-theory. Geoderma, 2004, **120**: 227-239.
10. Doran J.W, Zeiss M.R.: Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. Applied Soil Ecology, 2000, **15**: 3-11.
11. Doran J.W.: Soil health and global sustainability: translating science into practice: Agriculture Ecosystems & Environment, 2002, **88**: 119-127.
12. Doran, J.W., Parkin T.B.: Defining and assessing soil quality. In J.W. Doran, D. C. Coleman, D.F. Bezdicek and B.A. Stewart, eds. Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. 1994. SSSA, Inc., Madison, Wisconsin, USA.
13. Ecosystem services : http://ec.europa.eu/environment/pubs/pdf/factsheets/Eco-systems%20goods%20and%20Services/Ecosystem_PL.pdf.
14. Europejska Karta Gleby: https://pl.wikipedia.org/wiki/Europejska_Karta_Gleby; cytowanie z dn. 15.07.2017.
15. Filipiak K.: Syntetyczny wskaźnik żyzności gleby. Nawozy i Nawożenie- Fertilizers and Fertilization, 2010, **41**: 7-16.
16. Food and Agriculture Organization for the United Nations. Soil Functions: http://www.fao.org/resources/infographics/infographics-details/en/c/284478/, cytowanie z 15.07.2017.
17. Jończyk K., Jadczyszyn J., Filipiak K., Stuczyński T.: Przestrzenne zróżnicowanie zawartości materii organicznej w glebach Polski w kontekście ochrony gleb i ich rolniczego wykorzystania. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2008, **12**: 145-154.
18. Jones A., Panagos P., Barcelo S., Bouraoui F., Bosco C, Dewitte O., GardiC., Erhard M., Hervás J., Hiederer R., Jeffery S., Lükewille A., Marmo L., Montanarella L., Olazábal C., Petersen J.-E., Penizek V., Strassburger T., Tóth G., Van Den Eeckhaut M., Van Liedekerke M., Verheijen F., Viestova ., Yigini Y.: The state of soil in Europe, JRC Reference Reports, 2012, ss. 71.
19. Kibblewhite M.G., Jones R.J.A., Montanarella L., Baritz R., Huber S., Arrouays D., Micheli E., Stephens M. (eds).: Environmental assessment of soil for monitoring. Volume VI: Soil monitoring system for Europe. JRC Scientific and Technical Reports, 2008, EUR 23490 EN/6-2008, ss. 72.
20. Kostecki J., Fruzińska R.: Ochrona Gleb w świetle prawa krajowego i europejskiego. 2012, Inżynieria Środowiskowa, **26**: 5-14.
21. Kucharski J., Wyszkowska J.: Oddziaływanie rolnictwa na właściwości mikrobiologiczne gleb. W: Oddziaływanie rolnictwa na środowisko przyrodnicze w warunkach zmian klimatu. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2010, **19**: 37–53.
22. Legaz B.V, Maia De Souza D., Teixeira R.F.M., Antón A., Putman B., Sala S.: Soil quality, properties, and functions in life cycle assessment: an evaluation models. Journal of Cleaner Production, 2017, **140**: 502-515.
23. Martinez-Salgado M,M., Gutiérrez-Romero V., Jannsens, M., Ortega-Blu, R.: Biological soil quality indicators: a review. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, Mendez (eds), Formatex, 2010, 319-328.
24. Myśków W., Stachyra A., Zięba S., Masiak D.: Aktywność biologiczna gleb jako wskaźnik żyzności i urodzajności. Roczniki Gleboznawcze, 1996, **1/2**: 89-99.
25. Nowocień E., Wawer R: Ocena struktury zagrożeń gleb erozją wodną w Polsce. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2013, **35(9)**: 29-56.

26. Ochal P.: Wykorzystanie syntetycznego wskaźnika do oceny stanu agrochemicznego gleb w Polsce. Praca doktorska, IUNG-PIB w Puławach, 2011, ss.108.
27. Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council establishing a framework for the protection of soil and amending Directive 2004/35/EC, 2003/0086 (COD).
28. Rezolucja Parlamentu Europejskiego z dnia 13 listopada 2007 r. w sprawie strategii tematycznej w dziedzinie ochrony gleby (2006/2293 (INI)), P6_Ta(2007)0504.
29. Siebielec G., Stuczyński T., Terelak H., Filipiak K., Koza P., Korzeniowska-Pucułek R., Łopatka A., Jadczyszyn J.: Uwarunkowania produkcji rolniczej w regionach o dużym udziale gleb zanieczyszczonych metalami śladowym. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2008, **12**: 123-143.
30. Smreczak B.: Raport końcowy. Zadanie 1.2. Program Wieloletni IUNG-PIB, lata 2011-20105.
31. Soil Quality for the Environmental Health: http://soilquality.org/functions/function_lists.html cytowanie z 15.07.2017.
32. Soil Quality Indicators: A Review With Implications For Agricultural Ecosystems In Alberta: Indicators of Soil/Land Quality - Examples (http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/aesa8692. Table 2. cytowanie z 15.07.2017.
33. Solon J.: Koncepcja "Ekosystem services" i jej zastosowania w badaniach ekologiczno-krajobrazowych, http://paek.ukw.edu.pl/wydaw/vol21/3_Solon_Koncepcja_Ecosystem_Services.pdf cytowanie z 15.07.2017.
34. Strategia tematyczna w dziedzinie ochrony gleby. Komunikat Komisji do Rady, Parlamentu Europejskiego, Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-społecznego oraz Komitetu Regionów, Bruksela, dnia 22.9.2006, KOM(2006)231 wersja ostateczna.
35. Stuczyński T., Łopatka A.: Prognoza przekształceń gruntów rolnych na cele związane z urbanizacją w perspektywie 2030 r. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2013, **14**: 259-272.
36. Sudra P.: Usługi ekosystemowe na tle wybranych koncepcji ekologii miasta. Człowiek i Środowisko, 2015, **39 (1):** 61-73.
37. Witek T., Górski T.: Przyrodnicza bonitacja rolniczej przestrzeni produkcyjnej w Polsce. Wyd. Geologiczne, Warszawa, 1997.
38. Wieliczko B.: Wykorzystanie usług ekosystemów w zarzadzaniu zasobami naturalnymi w rolnictwie. Studia i Prace WNEiZ US, 2016, **46/2**: 135-141.

Adres do korespondencji:

*dr Bożena Smreczak*
*Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów*
*IUNG-PIB*
*ul. Krańcowa 8, 24-100 Puławy*
*tel. 81 47 86 918*
*e-mail: bozenas@iung.pulawy.pl*

**S T U D I A I R A P O R T Y IUNG-PIB**

**ZESZYT 54(8)**: 25-39 **2017**

**Aleksandra Ukalska-Jaruga, Bożena Smreczak, Joanna Strzelecka**

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

# WPŁYW MATERII ORGANICZNEJ NA JAKOŚĆ GLEB UŻYTKOWANYCH ROLNICZO*

**Słowa kluczowe:** materia organiczna, próchnica, gleba, jakość gleb, użytkowanie gruntów

## Wstęp

Koncepcja rolnictwa zrównoważonego zakłada realizację wielokierunkowych działań, które dla dobra przyszłych pokoleń łączą cele produkcyjne rolnictwa z wymaganiami na rzecz ochrony środowiska. Jednym z najważniejszych zagadnień w polityce UE jest ochrona gleb. Wpisując się w kierunki wyznaczone przez strategię tematyczną w dziedzinie ochrony gleby (KOM(2006) 231 wersja ostateczna), kraje członkowskie są zobowiązane do utrzymania prawidłowego funkcjonowania gleb oraz podjęcia niezbędnych kroków w celu określenia najważniejszych procesów degradujących środowisko glebowe, ich nasilenia oraz rejonów występowania. Zobowiązanie do tego typu działań zostało przedstawione m.in. w rezolucji Parlamentu Europejskiego (Rezolucja PE, 2007), który zwraca uwagę na potrzebę objęcia szczególną ochroną gleb użytkowanych rolniczo, dlatego zagadnienia te zostały włączone do Wspólnej Polityki Rolnej (WPR) oraz Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich (PROW).

Rezolucja Parlamentu Europejskiego (Rezolucja PE, 2007) wśród głównych zagrożeń dla prawidłowego funkcjonowania gleb wymienia spadek zawartości materii organicznej, ponieważ jej ubytek może powodować wiele niekorzystnych zjawisk związanych z zaburzeniem procesów chemicznych, fizycznych i biologicznych, które bezpośrednio wpływają na jakość gleb. Dlatego też, analizy dynamiki zmian budowy materii organicznej są niezbędne przy ocenie tempa jej mineralizacji i akumulacji oraz czynników, które wpływają na przebieg tych procesów, a monitorowane przy zastosowaniu różnych metod chemicznych i spektralnych dostarczają odpowiedzi o stabilności, jakości i ilości związków budujących MOG.

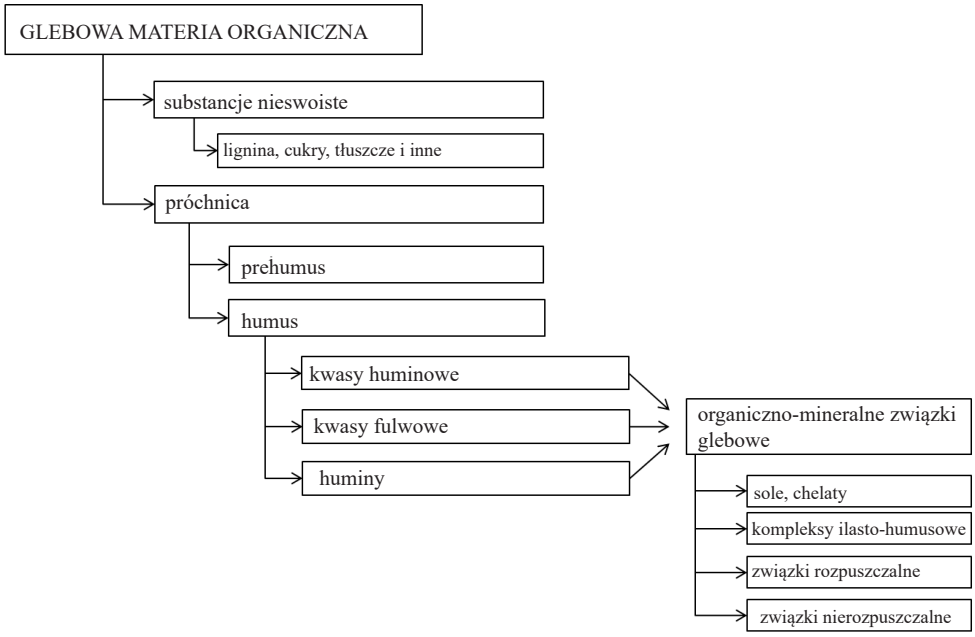
* Opracowanie wykonano w ramach zadania 1.3 w programie wieloletnim IUNG-PIB.

Celem opracowania jest przedstawienie zagadnień dotyczących znaczenia materii organicznej w ocenie fizycznej, chemicznej i biologicznej jakości gleb użytkowanych rolniczo, jej źródeł i budowy oraz metod chemicznych stosowanych w analizie MOG.

## Skład i budowa glebowej materii organicznej

Glebowa materia organiczna (MOG) obejmuje wszystkie występujące w glebie związki zawierające węgiel pochodzenia organicznego. Powstaje z obumarłych składników organicznych, które pozostają w glebach w różnych stadiach rozkładu i resyntezy (15,38). Zróżnicowane warunki glebowe decydują o intensywności oraz kierunku przebiegu procesów fizykochemicznych i biologicznych, które towarzyszą przemianom organicznego materiału wyjściowego. Struktura powstających substancji, ich budowa chemiczna oraz wzajemne proporcje pomiędzy poszczególnymi frakcjami ulegają nieustannym zmianom w czasie (5, 14, 15). Badania nad rozpoznaniem zróżnicowanego składu MOG doprowadziły do wydzielenia grup (frakcji) związków charakteryzujących się zbliżonymi właściwościami (5, 49). W literaturze naukowej można znaleźć liczne podziały ze względu na budowę, właściwości fizykochemiczne, pochodzenie czy trwałość. Według ogólnej definicji przedstawionej przez Bednarek i in., 2005 (5) w skład materii organicznej wchodzi próchnica glebowa oraz substancje nieswoiste – Rys. 1. Próchnicę stanowi prehumus, do którego zalicza się niecałkowicie zhumifikowane części organiczne oraz humus zawierający kwasy huminowe, kwasy fulwowe, i huminy tworzące z cząstkami mineralnymi kompleksy organiczno-mineralne (Rys.1). Związki nieswoiste to cukry, aminokwasy, lignina, tłuszcze i inne (5). Specyficzną grupę substancji nieswoistych stanowią bituminy występujące głównie w glebach torfowych. Składają się z mieszaniny lipidów, ketonów, alkanów, wosków i wyższych alkoholi oraz związków węglowodorowych (20).

Akumulacja materii organicznej jest ważnym czynnikiem tworzenia się gleb oraz zróżnicowania ich morfologii. Dlatego też, MOG stanowi podstawowy wskaźnik decydujący o fizycznych, chemicznych i biologicznych właściwościach gleby (3, 5, 14, 15, 49).



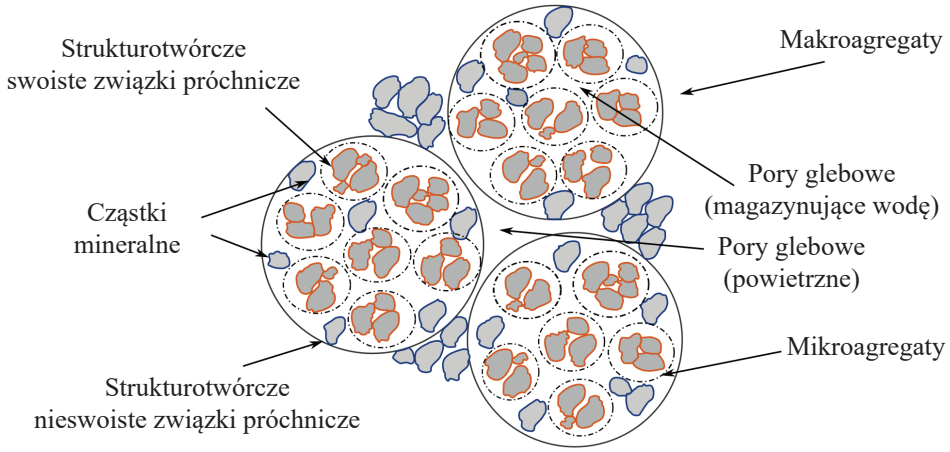

Rys. 1. Podział glebowej materii organicznej
Źródło: Bednarek i in., 2005 (5), zmodyfikowane

## Wpływ materii organicznej na fizyczne właściwości gleb

Korzystny wpływ MOG na właściwości fizyczne gleb związany jest z udziałem frakcji organicznej w tworzeniu agregatów glebowych oraz zachowaniu prawidłowych warunków wodno-powietrznych i termicznych. Niejednorodna materia organiczna łączy się z minerałami ilastymi, półtoratlenkami żelaza i glinu oraz węglowodanami cementując, wiążąc i stabilizując cząstki glebowe (26). Powstałe w ten sposób wielopostaciowe agregaty różnią się kształtem, wielkością oraz gęstością w zależności od typu gleby i zawartości związków próchnicznych (49). Struktura agregatowa wpływa na objętość, kształt i wielkość porów, które mają zasadnicze znaczenie w obiegu wody i powietrza w glebie (Rys. 2). W glebach ciężkich i drobnoziarnistych MOG zmniejsza zwięzłość gleb w przeciwieństwie do gleb lekkich, zapobiegając w nich wypłukiwaniu w głąb profilu drobnych cząstek mineralnych (3, 15). Jest to efekt szczególnie istotny w aspekcie rolniczego wykorzystania gleb, ponieważ stwarza dogodne środowisko dla swobodnego wzrostu korzeni roślin, ich oddychania oraz pobierania składników mineralnych (52). Uprawa roślin o wiązkowym systemie korzeniowym dodatkowo zwiększa stabilizację agregatów glebowych (52). Gęsta sieć drobnych korzeni wywiera nacisk, który ściska przylegające do nich cząstki gleby zawierające frakcje organiczne i powoduje jednoczesne ich odwodnienie, kurczenie oraz zlepianie i w konsekwencji powstawanie wielu drobnoporowatych makrocząsteczek glebowych zawierających drobne pory (26). Dodatkowo, nieswoiste związki próchniczne tj. polisacharydy, hemicelulozy czy uronidy, tworzą na

powierzchni przylegających mikroagregatów elastyczną powłokę strukturotwórczą pełniącą jednocześnie funkcję ochronną (49). Według Haynes (19) w celu utrzymania prawidłowej struktury gleby zawartość MOG powinna wynosić od 3,2% do 4%.

Wysoka zawartość MOG stabilizuje strukturę gleby oraz zmniejsza podatność na degradację w wyniku erozji wodnej i wietrznej. Wysoka pojemność wodna związków próchnicznych sprawia, że są one zdolne do zatrzymywania nawet 5-krotnie więcej wody w formie dostępnej dla roślin, w stosunku do swojej masy. Jest to właściwość, która ma szczególnie ważne znaczenie w glebach piaszczystych (15).




Rys. 2. Wpływ MOG na formowanie agregatów glebowych

Źródło: opracowanie własne

Dodatkowo, charakterystyczna ciemno-brązowa barwa substancji próchnicznych sprawia, że ich zawartość bezpośrednio wpływa na barwę gleby. Gleby zasobniejsze w MOG charakteryzują się ciemniejszą barwą, a co z tym związane wykazują wyższą zdolność do pochłaniania promieniowania słonecznego. Absorpcja promieniowania wspomaga nagrzewanie i wpływa na panujące warunki termiczne, co przyspiesza procesy mikrobiologiczne oraz wschody roślin (3, 5, 15).

## Wpływ MOG na chemiczne właściwości gleb

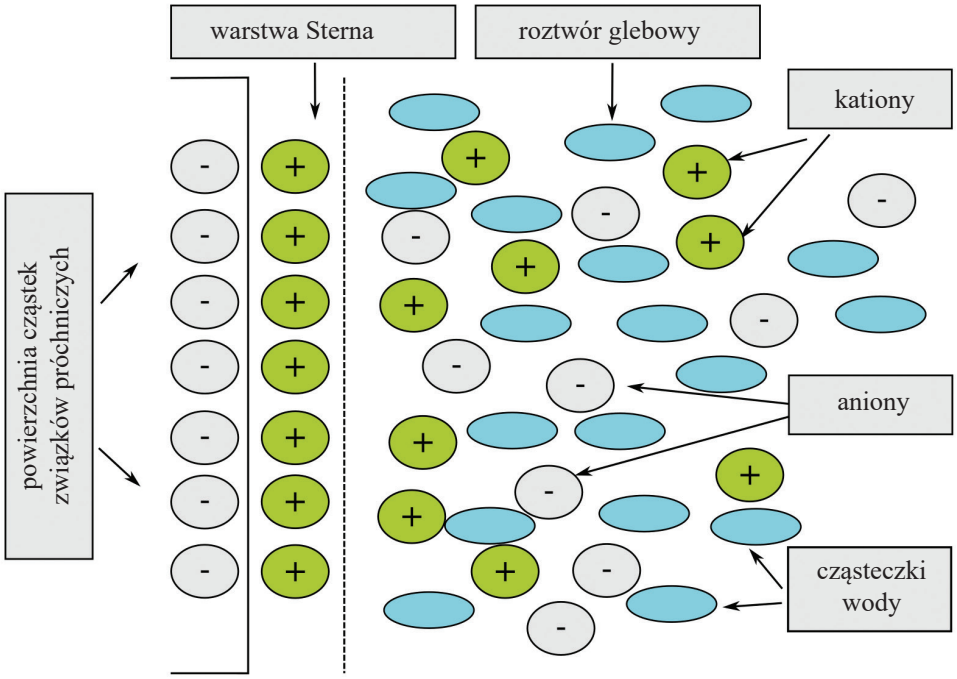
MOG ze względu na dużą niejednorodność składu wpływa pośrednio i bezpośrednio na właściwości chemiczne gleb. Jedną z najważniejszych frakcji MOG, która ma istotne znaczenie środowiskowe i rolnicze, jest próchnica. Związki próchnicowe przede wszystkim zwiększają zasobność gleb, w tym od 2-30 razy pojemność sorpcyjną oraz poprawiają właściwości buforowe. Stanowią znaczące źródło składników odżywczych dla roślin, pozytywnie wpływają na dostępność mikroskładników oraz są

czynnikiem chelatującym jony wielowartościowe (3, 5, 14, 49). Właściwości próchnicy kontrolowane są głównie przez biopolimerową strukturę chemiczną o zmiennym składzie pierwiastkowym. Głównymi składnikami są węgiel (40-60%), wodór (3-8%), tlen (30-50%), azot (1-5%), fosfor i siarka (0,1-4%), które tworzą struktury pierścieni aromatycznych (15). Procentowy udział poszczególnych pierwiastków w związkach próchnicowych jest determinowany genezą ich powstawania, warunkami środowiskowymi oraz stopniem przetworzenia wyjściowych składników organicznych. Przy pierścieniach aromatycznych oraz łańcuchach alifatycznych poszczególnych składników materii organicznej występują grupy funkcyjne (m.in. -COOH, -OH, =C=O) odpowiedzialne głównie za procesy sorpcyjne zachodzące w glebie z udziałem związków próchnicowych (38, 49). Reaktywność poszczególnych grup funkcyjnych zależy od odczynu gleby. Przy zmianie pH np. z 5 do 7 zachodzi dysocjacja protonów lub grup hydroksylowych i powstają ujemnie naładowane miejsca sorpcyjne wiązania kationów ($Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$, $K^{+}$, $NH_4^{+}$); (26, 14). Ogólna zdolność wymiany oraz jej pojemność różni się w zależności od frakcji próchnicy i wynosi od 300 do 1200 cmol(+) $kg^{-1}$ (49). Sorpcja kationów przez związki próchniczne zapobiega ich wymywaniu z gleby jednocześnie umożliwiając zachowanie dynamicznej równowagi z roztworem glebowym (5, 14).

Oddziaływanie powierzchni właściwej materii organicznej z kationami najdokładniej opisuje model tworzenia podwójnej warstwy elektrycznej Gouya i Sterna (3,5,49). Według opracowanego modelu (Rys.3) do ujemnie naładowanej powierzchni koloidów organicznych, które mogą stanowić kwasy huminowe i kwasy fulwowe oraz połączenia organiczno- mineralne, przylega ściśle warstwa zaadsorbowanych kationów (warstwa Sterna). Poza warstwą Sterna znajduje się warstwa dyfuzyjna, w której w miarę oddalania się od powierzchni koloidu przyciąganie kationów jest znacznie słabsze. Zaadsorbowane kationy mogą ulegać wymianie z kationami obecnymi w roztworze glebowym, a przebiegający proces zachodzi z zachowaniem zasady równoważności ładunków (5, 49). Dzięki zdolności sorpcyjnej substancje próchnicze regulują stężenie roztworów glebowych, pozwalając na utrzymanie względnie stałego odczynu gleby (3, 15).

Oprócz zdolności sorpcyjnych próchnica posiada wysokie zdolności kompleksujące. Najczęściej tworzy chelaty z mikro- i makroskładnikami, co ułatwia ich transport przez błony półprzepuszczalne do komórek roślinnych. Jednak w glebach poddanych antropopresji związki próchnicowe mogą ławo tworzyć kompleksy i sorbować zanieczyszczenia tj. pierwiastki śladowe, pestycydy, hydrofobowe zanieczyszczenia organiczne (31, 55, 51). Wysoka pojemność sorpcyjna materii organicznej wynosząca od 800 do 1000 $m^2$ $g^{-1}$ pozwala efektywnie zatrzymywać związki toksyczne obniżając ich biodostępność w glebie. Związki pomiędzy zawartością MOG a ilością hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych, tj. wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, polichlorowanych bifenyli, chloroorganicznych pestycydów, były wskazywane m.in. przez Maliszewską -Kordybach i in. (31)

i Zhang'a i in. (56), Smreczak i in. (47) oraz Nam'a i in. (35). Zdolność wiązania pierwiastków śladowych tj. Zn, Pb, Cu, Cd przez materię organiczną badali m. in. Quenea i in. (41), Fan i in. (11) Opfergelt i in. (36) oraz Kwiatkowska-Malina (27). Z badań tych autorów wynika, że najwyższe powinowactwo sorpcyjne do MOG wykazuje Zn, natomiast Pb, Cu, Cd są wiązane głównie przez frakcję mineralną.




Rys. 3. Rozmieszczenie jonów w podwójnej warstwie elektrycznej modelu Gouya i Sterna
Źródło: wg Bednarek i in., 2005 (5) oraz Tan, 2014 (49), zmodyfikowane.

## Wpływ MOG na biologiczne właściwości gleb

Gleby zasobne w MOG odznaczają się znaczną aktywnością biologiczną. W glebach zasobnych w substancje próchniczne populacje mikroorganizmów są liczniejsze, bardziej aktywne i wykazują ustabilizowany skład gatunkowy (9). Substancje próchnicze pozytywnie wpływają na przemiany azotu amonowego i związków azotowych w glebie oraz zmniejszają znacząco ich straty (1). Związki próchniczne mają również istotny wpływ na procesy fizjologiczne roślin. W ich skład wchodzi wiele tzw. substancji wzrostowych, które intensyfikują szereg ważnych procesów fizjologicznych roślin, takich jak gospodarka wodna, aktywność enzymatyczna, oddychanie czy fotosynteza roślin wyższych (1, 4).

Od zawartości próchnicy w glebie zależy także naturalna odporność gleb na rozwój czynników chorobotwórczych. Fitosanitarne działanie próchnicy polega na tworzeniu przez nią warunków sprzyjających masowemu namnażaniu się mikroorganizmów antagonistycznych wobec wielu gatunków grzybów i bakterii chorobotwórczych dla roślin uprawnych (1,9).

## Źródła i przemiany materii organicznej w glebie

Próchnica w glebie podlega nieustannym transformacjom biochemicznym i mikrobiologicznym, będącym rezultatem aktywności enzymatycznej mikroorganizmów w tym głównie bakterii i grzybów (3, 15, 37). Całokształt zachodzących przemian obejmuję procesy mineralizacji i humifikacji, które zachodzą jednocześnie i są ze sobą ściśle związane. Produkty humifikacji poddawane są mineralizacji i odwrotnie, jednak skutki obydwu przemian są odmienne (5, 14). Optymalny stan dla rolnictwa i środowiska jest osiągany poprzez utrzymanie względnej równowagi między stabilnymi i labilnymi formami próchnicy, jednak z pewną przewagą aktywnych frakcji próchnicy w okresie największego zapotrzebowania na składniki pokarmowe przez rośliny i z przewagą bardziej stabilnych jej form w okresie spoczynku wegetacyjnego (33). Ze względu na zróżnicowane właściwości oraz warunki glebowo-klimatyczne trudno jest zachować względny stan równowagi pomiędzy humifikacją (dopływem) a mineralizacją materii organicznej (37).

Proces humifikacji obejmuje złożone przemiany wyjściowych komponentów substancji organicznej i ich transformację do substancji amorficznych. Humifikacja jest wiązana z utlenianiem polisacharydów roślinnych oraz selektywnym wiązaniem trudno degradowalnych substancji organicznych tj. lignin czy związków fenolowych. Głównym produktem procesu humifikacji są frakcje związków o zbliżonych właściwościach tj. kwasów huminowych, kwasów fulwowych i humin. Humifikacja jest procesem, w wyniku którego tworzą się nowe produkty stanowiące uzupełnianie zasobów organicznych związków powstałych w procesie mineralizacji (5, 14, 15). Efektywność tworzenia związków próchnicznych zależy głównie od rodzaju substratu i wyrażana jest poprzez tzw. współczynnik humifikacji (ang. *humification index,* HI) (17). Według danych literaturowych (33, 37) najwyższy dodatni HI stwierdzono dla łubinu i seradeli uprawianych na zielony nawóz: 40% oraz obornika: 35%; dla słomy zbóż: 20-25%, dla resztek z kukurydzy: 15%, natomiast dla resztek pożniwnych z roślin okopowych jedynie: 8%.

W procesie mineralizacji następuje przekształcanie związków organicznych w proste związki mineralne. W przypadku procesów tlenowych powstają produkty takie jak $CO_2$, $H_2O$, jony $Ca^{2+}$, $K^+$, $SO_4^{2-}$, $PO_4^{3-}$, $NH_4^+$ i $NO_3^-$ , a w procesach beztlenowych: $CO_2$, $H_2O$, $H_2S$, $CH_4$ i skatol (5, 14, 15). Mineralizacja ma istotne znaczenie w obiegu pierwiastków zawartych w MOG ponieważ tylko mineralne związki rozpuszczone w roztworze glebowym mogą zostać pobrane przez rośliny (3, 17). Dlatego też, zachowanie ciągłości przemian MOG (mineralizacja i humifikacja) staje się niezwykle istotne w aspekcie rolniczego gospodarowania materią organiczną.

Długoterminowe utrzymanie wysokiej zasobności gleb w MOG jest możliwe poprzez systematyczne dostarczanie świeżej materii organicznej oraz wysoką aktywność biologiczną gleby (40). W gospodarstwie rolnym dopływ materii organicznej można regulować na wiele sposobów. Pozostawianie na polu roślinnych resztek pożniwnych, w tym np. słomy, stosowanie nawozów naturalnych i organicznych, uprawa poplonów i mieszanek trawiasto-motylkowatych oraz stosowanie konserwującej uprawy roli. Działania te, korzystnie wpływają zarówno na przyrost materii organicznej w glebie jak i retencję wody (40, 45). Zastosowanie tego typu zabiegów agrotechnicznych pozwala w znaczący sposób podnieść potencjał produkcyjny gleb. Według Mazura (33) najcenniejsze pod względem masy i zawartości węgla organicznego są resztki pożniwne rzepaku ozimego, bobu, lucerny w 3 i 4 roku uprawy tej rośliny, słonecznika oraz gorczycy. W zrównoważonej gospodarce materią organiczną, ważną rolę w odtwarzaniu zasobów próchnicy w glebie odgrywają liczne dodatki doglebowe, tj. egzogenna materia organiczna, w tym: odpady z przemysłu rolno-spożywczego czy pofermenty z biogazowni itp. (32, 53). Coraz częściej wśród tych dodatków wymienia się również biowęgiel oraz produkty na bazie biowęgla.

Utrzymanie zasobów materii organicznej jest ważne nie tylko ze względu na funkcję produkcyjną, siedliskową i retencyjną gleby, lecz również na rolę gleby w procesach sekwestracji węgla z atmosfery i redukcji skutków efektu cieplarnianego (6). Zabiegi uprawowe stosowane przez intensywne rolnictwo, zwłaszcza prowadzone w monokulturach, niszczą strukturę gleby, zwiększają jej aerację, powodując intensywną mineralizację próchnicy i uwalnianie dwutlenku węgla do atmosfery, zwiększając tym samym udział rolnictwa w całkowitym bilansie tego gazu ze wszystkich sektorów gospodarki (6).

## Zasobność gleb Polski w materię organiczną

Gleby mineralne naszego kraju ze względu na zawartość próchnicy dzieli się na słabo próchniczne (poniżej 1%), średnio próchniczne (1,01-2%), próchniczne (2,01-3%) i wysoko próchniczne (powyżej 3%). Zawartość i zasoby próchnicy w glebach użytkowanych rolniczo zależą od dwóch grup czynników: 1) siedliskowych, determinowanych przez klimat, ukształtowanie terenu, skałę macierzystą, typ gleby i stosunki wodne oraz 2) antropogenicznych, związanych przede wszystkim z agrotechniką roślin (3, 14). Najmniejsze ilości związków próchnicznych zawierają lekkie gleby brunatne, rdzawe i bielicowe oraz płowe wytworzone z piasków, a największe średnie i ciężkie rędziny czarnoziemne, czarnoziemy, czarne ziemie i mady czarnoziemne. Na ogół gleby użytków zielonych zawierają więcej materii organicznej w porównaniu do gruntów ornych, w których równowaga procesów mineralizacji i humifikacji zależy od rodzaju i ilości stosowanych nawozów, doboru gatunków roślin w zmianowaniu oraz sposobu agrotechniki (6).

Wyniki programu *Monitoring chemizmu gleb ornych w Polsce* uzyskane na podstawie badań przeprowadzonych w roku 2015 wskazują na duże zróżnicowanie zawartości próchnicy w wierzchniej warstwie (0-20 cm) gleb z terenów rolniczych. Przeciętna zawartość próchnicy (mediana) w 216 próbkach glebowych wynosiła 1,68 %, a zakres zawartości wahał się od 0,62 do 6,62%.Gleby o niskiej zawartości próchnicy (>1%) stanowiły około 4% zbioru danych, o średniej zawartości (1,01-2%) aż 63%. Były to głównie gleby lekkie i bardzo lekkie, w których następuje szybki rozkład materii organicznej, przy małych możliwościach jej akumulacji. Natomiast gleby zawierające powyżej >2% próchnicy stanowiły 33% zbioru wyników (42).

Analiza danych z programu *Monitoring chemizmu gleb ornych w Polsce* z 5 cykli badań przeprowadzonych w latach 1995-2015 wskazuje, że przeciętna zawartość próchnicy (wyrażona medianą) utrzymuje się na względnie stałym poziomie. Zawartość oznaczona w roku 2015 nie różni się istotnie od zawartości przeciętnych z lat ubiegłych tj. 2010 (mediana=1,70%), 2005 (mediana=1,67%), 2000 (mediana=1,80%) oraz 1995 (mediana=1,77%). Dla porównania, według Europejskiej Bazy Danych o Glebach (ESD) ok. 45% gleb Europy charakteryzuje się niską (Corg =1-2%) i bardzo niską (Corg <1%) zawartością węgla organicznego, a jedynie 5% wykazuje wysoką (Corg > 6%) zasobność tego składnika w glebach.

## Metody oznaczeń jakości materii organicznej w glebach

Wiele funkcji gleb użytkowanych rolniczo zależy od ich zasobności w materię organiczną, ale równie ważnym zagadnieniem jest jakość MOG. Podstawowym kryterium oceny jakości materii organicznej jest analiza składu frakcyjnego (14, 15). Stosowane w badaniach metody analizy składu frakcyjnego odpowiadające różnym klasyfikacjom MOG, ukazują dynamikę, zróżnicowanie stopnia rozkładu i przemian materii organicznej kontrolowaną przez warunki środowiskowe i jakość substratu. Pomimo, że struktura chemiczna materii organicznej nie została dostatecznie poznana, stwierdzono, że głównym jej komponentem jest węgiel organiczny pochodzący z obumarłych części organizmów roślinnych i zwierzęcych związany m.in. w fazie koloidalnej (próchnica, humus) lub rozpuszczony w roztworze glebowym (14, 34). Ze względu na zróżnicowane pochodzenie, tempo i kierunek przemian związków organicznych w glebach oraz zawiązany z tym skład, pojawia się problem pełnej i dokładnej charakterystyki MOG. Opracowanie odpowiednich metodyk umożliwiających rutynowe monitorowanie stanu środowiska glebowego w zakresie oznaczania zawartości MOG staje się wyzwaniem dla współczesnych badaczy. Istotny problem stanowi brak standardowych metod, które kompleksowo oraz z dużą dokładnością pozwolą określić ilość i jakość glebowej materii organicznej. W literaturze naukowej można znaleźć opis analiz różnorodnych procedur oceny zawartości frakcji glebowej materii organicznej i jej struktur, począwszy od metod termicznych tj. strata przy żarzeniu (zawartość całkowita) po metody chemiczne

tj. ekstrakcja sekwencyjna rozpuszczalnikami (zawartość rozpuszczalnych w kwasach i zasadach frakcji substancji humusowych) i coraz częściej stosowane metody spektralne. Różnorodność tych metod powoduje konieczność wyboru określonej procedury lub stosowania wielu z nich, w celu szerokiej charakterystyki materii organicznej. Obecnie niemożliwe jest zastosowanie jednej efektywnej techniki izolacji wszystkich składników MOG, w kilku prostych krokach analitycznych.

Za główny wskaźnik żyzności i produktywności gleb uznaje się substancje humusowe tj. kwasy fulwowe, kwasy huminowe i huminy, dlatego też dotychczasowe badania składu MOG skupiają się głównie na oznaczeniach tych frakcji. Do niedawna w celu wydzielenia poszczególnych związków humusowych stosowano metody: Tiurina, Boratyńskiego i Wilka, Ponomariewej i Płotnikowej, Kononowej i Bielczikowej, Schnitzera, Swifta (8). Zasada frakcjonowania za pomocą przytoczonych metod opiera się głównie na procesach analizy sekwencyjnej, w której używa się roztworów $Na_2P_4O_7$ i NaOH, NaOH i $Na_2CO_3$, NaOH, $H_2SO_4$, $Na_2SO_4$ o różnej sile ekstrakcji (2, 28, 38).

W większości współczesnych prac naukowo-badawczych dotyczących analizy związków humusowych stosowana jest metoda ekstrakcji opracowana przez Międzynarodowe Towarzystwo Substancji Humusowych IHSS (ang. *International Humic Substances Society*). Mniej poznana, ale porównywalna z procedurą według IHSS, znormalizowana metoda ISO 12782-4:2014 (21) przedstawia sposób izolacji związków humusowych z gleby. Podobny sposób ekstrakcji substancji humusowych z produktów nawozowych zaproponowali Lamar i in. (28). Wymienione metody opierają się na zastosowaniu selektywnie działających rozpuszczalników w połączeniu z rozdziałem związków próchnicowych na makroporowych syntetycznych żywicach polimerowych.

Aktualnie w pracach naukowych coraz więcej uwagi poświęca się również frakcji labilnej węgla w glebach oraz frakcji trwałej – silniej związanej z matrycą glebową (18, 12, 48). Stosowane metody ekstrakcji pozwalają wyizolować frakcje labilną poprzez ekstrakcje (wytrząsanie) gleby z wodą - gorącą lub zimną (16) oraz roztworami KCl (22), $CaCl_2$ lub $K_2SO_4$ (43). Przyjmuje się, że otrzymane ekstrakty pozwalają wnioskować o ilości węgla organicznego łatwo dostępnego dla organizmów glebowych fauny i flory glebowej (13).

Za jeden z ogólnych wskaźników jakości gleb oceniany na podstawie wyniku analiz chemicznych uznaje się stosunek zawartości węgla kwasów huminowych ($C_{kh}$) do węgla kwasów fulwowych ($C_{kf}$) wyrażony jako indeks humifikacji. Przyjmuje się, że HI >1 charakteryzuje gleby, w których dominują procesy humifikacji, przy czym im wyższe wartości tego parametru tym gleby są żyźniejsze (17). Parametr HI <1 wskazuje na nasilenie procesów mineralizacji materii organicznej i konieczność kompensowania jej zasobów. Ponadto, stosunki $C_{kh}$:$C_{kf}$ mogą być traktowane jako wyznacznik rozwoju poziomów organicznych gleby oraz zasobności i tempa akumulacji próchnicy (17).

Intensywność humifikacji materii organicznej może być określana również poprzez wskaźnik stopnia humifikacji DH (ang. *degree of humification*). DH jest miarą proporcji składników humusowych tworzących związki labilne o stosunkowo szybkim tempie przemian w glebie, łatwo wykorzystywanych jako substraty przez drobnoustroje glebowe. Wskazuje na ilość stabilnych substancji próchnicowych, tj. związków odpornych na działanie mikroorganizmów. Parametr ten jest wyrażany stosunkiem DH= $(C_{kf} + C_{kh})$: $C_{humin}$. Niski poziom DH może być związany z silną interakcją pomiędzy MOG a mineralną częścią gleby, co powoduje dużą stabilność MOG w bardziej trwałych frakcjach huminowych (17). Według Liu (29), wysoki wskaźnik DH wskazuje na stosunkowo żyzną glebę o dobrej zdolności do infiltracji wody, stabilności agregatów, aktywności drobnoustrojów i zasobności w składniki odżywcze (17, 29).

Metody stosowane do frakcjonowania materii organicznej dostarczają istotnych informacji o udziale poszczególnych form w ogólnej puli MOG oraz ich wzajemnych proporcjach ilościowych. Do szczegółowej charakterystyki poszczególnych frakcji oraz badań struktur molekularnych wydzielonych związków z wykorzystaniem metod chemicznego frakcjonowania wykorzystywane są w szerokim zakresie metody spektroskopowe m. in spektometria w zakresie światła widzialnego, bliskiej i dalekiej podczerwieni (NIR, IR) oraz metody rezonansu magnetycznego NMR (ang. *nuclear magnetic resonance*); (24, 39, 46, 50, 54).

## Podsumowanie

W ostatnich latach coraz więcej uwagi poświęca się ochronie zasobów materii organicznej co wynika z jej znaczącego udział w podwyższaniu potencjału produkcyjnego gleb. Z uwagi na rolę jaką pełni w glebie oraz specyficzne właściwości, MOG staje się kluczowym parametrem w ocenie jakości i prawidłowego funkcjonowania gleb, ze szczególnym uwzględnieniem gleb użytkowanych rolniczo.

Prowadzone w skali kraju oraz Europy badania wskazują na stosunkowo niską zawartość materii organicznej w glebach, wynikającą przede wszystkim z uwarunkowań glebowo-klimatycznych, które nie sprzyjają jej naturalnej akumulacji. Ponadto, nieracjonalna praktyka rolnicza związana ze zmniejszaniem się areału upraw roślin bobowatych drobnonasiennych z trawami i traw w uprawie polowej oraz ograniczenie stosowania nawozów naturalnych i organicznych skutecznie przyczynia się do redukcji zawartości MOG. W związku z tym, istnieje potrzeba podejmowania bezpośrednich działań mających na celu zwiększenie lub przynajmniej utrzymanie na stałym poziomie zawartości MOG w glebach, co zapewni uzyskiwanie plonów o satysfakcjonującej wielkości i jakości.

Aktualne przepisy dotyczące ochrony MOG są związane z zapobieganiem degradacji gleb, zachowaniem ich prawidłowych funkcji oraz przywróceniem wysokiej jakości. Brak odwołania w przepisach i normach do konkretnych wskaźników

ilościowych (np. zawartości Corg) i jakościowych (np. HI, DH, C:N, zawartość poszczególnych frakcji MOG), hamuje osiągnięcie wysokiego i skutecznego poziomu ochrony glebowej materii organicznej. Wydaje się więc niezbędne wprowadzenie w najbliższej przyszłości dodatkowych wytycznych uwzględniających wybrane parametry pozwalające na szczegółową charakterystykę materii organicznej (mineralizacja, humifikacja) wraz z uwzględnieniem kierunków jej przemian i wpływu warunków środowiskowych (klimat, użytkowanie, bioróżnorodność) na te zmiany. Skuteczne wsparcie w ramach PROW i zachęta rolników do ochrony zasobów MOG oraz stosowania praktyk służących jej gromadzeniu w glebach, z pewnością przyczynią się do efektywniejszego zarządzania tym cennym składnikiem gleby. Jednocześnie muszą zostać podjęte działania edukacyjne ukierunkowane na wzrost świadomości społecznej wskazujące na znaczenie materii organicznej w prawidłowym funkcjonowaniu gleb.

## Literatura


1. Anderson T.H.: Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality, Agriculture, Ecosystems and Environment, 2003, **98**: 285-293.
2. Baglieria A., Ioppoloa M., Ne`greb M., Gennari M.: Amethod for isolating soil organic matter after the extractionof humic and fulvic acids. Organic Geochemistry, 2007, **38:** 140-150.
3. Baldock J.A I Nelson P.N: Soil organic matter: [w:] Handbook of soil science, Sumner M.E. (ed.): Taylor and Francis Group, Boca Raton London New York, 1996, B. 25-71.
4. Bastida F., Moreno J.L., Hernández T., García C.: Microbiological activity in a soil 15 years after its devegetation. Soil Biol. Biochem., 2006, **38**: 2503-2507.
5. Bednarek R., Dziadowiec H., Pokojska U., Prusinkiewicz Z.: Badania ekologiczno-gleboznawcze. Warszawa, 2005.
6. Bieńkowski J., Jankowiak J.: Zawartość węgla organicznego w glebie i jego zmiany pod wpływem różnych systemów produkcji. Fragmenta Agronomica, 2006, **2:** 216-225.
7. Pikuła D.: Aspekty środowiskowe gospodarowania materią organiczną w rolnictwie. Studia ekonomiczne i regionalne, 2015, **8(2)**: 98-112.8.
8. Dziadowiec H., Gonet S.: Przewodnik metodyczny do badań materii organicznej gleb, Warszawa 1999, ISSN 0860-1313.
9. Eleftheriadis A., María-Belén T.: Soil microbiological properties affected by land use, management, and time since deforestations and crop establishment. European Journal of Soil Biology, 2014, **62**: 138-144
10. European Soil Database http://esdac.jrc.ec.europa.eu/resource-type/european-soil-database-soil-properties
11. Fan T., Wang Y., Li C., He J., Gao J., Zhou D., Friedman S., Sparks D.: 2016. Effect of Organic Matter on Sorption of Zn on Soil: Elucidation by Wien Effect Measurements and EXAFS Spectroscopy. Environmental Science and Technology, 2016, **50**: 2931–2937.
12. Figueiredo C., Resck D, Carneiro A. Labile and stabile fractions of soil organic matter management systems and native cerrado. Revista Brasileira de Ciência do Solo vol.34 no.3 Viçosa. 2010.
13. Ghani A, Dexter M, Perrot K.: Hot-water extractable carbon in soils; a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. Soil Biology and Biochemistry, **35**:1231-1243.
14. Gonet S.: Ochrona zasobów materii organicznej. [W:] Rola materii organicznej w środowisku. Gonet S.S., Markiewicz M. (red.). PTSH, Wrocław, 2007.

15. Gonet, S., Smal H., Chojnicki J.: Właściwości chemiczne gleb [w:] Gleboznawstwo, PWN, 2015: 189-200.
16. Guigue, J., Mathieu, O., Lévêque, J., Mounier, S., Laffont, R., Maron, P. A., Navarro, N., Chateau, C., Amiotte-Suchet, P. and Lucas, Y.: A comparison of extraction procedures for water-extractable organic matter in soils. European Journal of Soil Science, 2014, **65:** 520–530. doi:10.1111/ejss.12156
17. Guimaraes D., Silva Gonzaga M., da Silva T., da Silva Dias T., Silva Matias M.: Soil organic matter pools and carbon fractions in soil under different land uses. Soil and Tillage Research, 2013, **126**: 177-182.
18. Haynes R.: Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: Adv. Agron., 2005, **85**: 221-268.
19. Haynes R.: Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: an overview. Advances in Agronomy, 2005, **85**: 221-268.
20. Ilnicki P.: Torf: Torfowiska i torf. Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Poznaniu, 2002, 400-606.
21. ISO 12782-4:2012 Soil quality, Parameters for geochemical modelling of leaching and speciation of constituents in soils and materials, Part 4: Extraction of humic substances from solid samples.
22. Jones D., Willett V.: Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. Soil Biology and Biochemistry, 2006, **38:** 991-999.
23. Karavanova E.: Dissolved Organic Matter: Fractional composition and sorbability by the soil solid phase (Review of Literature). Eurasian Soil Science, 2013, **8**: 833–844.
24. Kiss K., Szalai Z., Jakab G., Madarász B., Zboray N.: Characterization of Soil Organic Substances by UV-Vis Spectrophotometry in Some Soils of Hungary [w:] Soil Carbon, Alfred E. Hartemink, Kevin McSweeney. 2014: 127-136.
25. Komunikat Komisji z dnia 22 września 2006 r. „Strategia tematyczna w dziedzinie ochrony gleby" COM (2006)231 wersja ostateczna.
26. Krull, E. S., Baldock, J. A., Skjemstad, J. O.: Importance of mechanisms and processes of the stabilization of soil organic matter for modelling carbon turnover. Functional Plant Biology **30:**207-222.
27. Kwiatkowska-Malina J.: Functions of organic matter in polluted soils: The effect of organic amendments on phytoavailability of heavy metals. Applied Soil Ecology, 2017, https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.06.021
28. Lehmann J., Kleber M.: Traditional approach to the study of soil organic matter. Nature, 2015, **528:** 60-68.
29. Liu, H.: Relationship between organic matter humification and bioavailability of sludge- borne copper and calcium during long-term sludge amendment to soil. Science of the Total Environment, 2016, **566-567**: 8-14.
30. Maliszewska-Kordybach B., Klimkowicz-Pawlas A., Smreczak B.: Relationship between the properties of mineral soils and the level of accumulation of persistent organic contaminants; example of polycyclic aromatic hydrocarbons. ss. 345-358. [w:] Physical, Chemical and Biological Process in Soils; ed.: Szajdak L.W., Karabanov A.K. 2010.
31. Maliszewska-Kordybach B.: Trwałość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w glebie. Rozprawa habilitacyjna. Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Puławy 1993.
32. Maly S., Siebielec G., Badania egzogennej materii organicznej w celu bezpiecznego stosowania do gleby. Raport z realizacji projektu „Zagrożenia i korzyści wynikające z wprowadzania do gleb egzogennej materii organicznej" (CZ.3.22/1.2.00/12.03445), 2015.
33. Mazur T.: Rolnicze i ekologiczne znaczenie glebowej substancji organicznej. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 1995, **422**: 9-19.
34. Moni C., Derrien D., Hatton P., Zeller B, Kleber M.: Density fractions versus size separates: does physical fractionation isolate functional soil compartments? Biogeosciences, 2012, **9:** 5181–5197.

35. Nam J., Gustafsson O., Kurt-Karakus P., Breivik K., Steinnes E., Jones K.: Relationships between organic matter, black carbon and persistent organic pollutants in European background soils: Implications for sources and environmental fate. Environmental Pollution, 2008, **156**: 809-817.
36. Opfergelt S., Cornélis JT., Houben D., Givron C., Burton KW., Mattielli N.: The influence of weathering and soil organic matter on Zn isotopes in soils. Chemical Geology, 2017, http://dx.doi.org/10.1016/j.chemgeo.2017.06.002
37. Pałosz T.: Rolnicze i środowiskowe znaczenie próchnicy glebowej i metodyka jej bilansu. Rocznik Ochrony Środowiska, 2009, **11(1)**: 329-338.
38. Pastuszko A.: Substancja organiczna w glebach: Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych, 2007, **30**: 83-98.
39. Peng Q., Shi T., Song A., Chen Y., Gao W.: Estimating Soil Organic Carbon Using VIS/NIR Spectroscopy with SVMR and SPA Methods. Remote Sensing, 2014, **6**: 2699-2717.
40. Pikuła D.: Aktualne trendy w gospodarowaniu glebową materią organiczną. Studia i Raporty IUNG-PIB. Problemy Gospodarki Nawozowej w Polsce, 2013, **34(8):**93-107.
41. Quenea K., Lamy I., Winterton P., Bermond A., Dumat C.:. Interactions between metals and soil organic matter in various particle size fractions of soil contaminated with waste water. Geoderma, 2009, **1**: 217-223.
42. Siebielec G., Smreczak B., Klimkowicz-Pawlas A., Kowalik M., Kaczyński R., Koza P., Ukalska- Jaruga A., Łysiak M., Wójtowicz U., Poręba L., Chabros E.: Raport z II Ietapu realizacji zamówienia „Monitoring Chjemizmu Gleb Ornych Polski w latach 2015-2017" Główny Inspektorat Ochrony Środowiska, IUNG-PIB,2017, pp. 194. http://www.gios.gov.pl/images/dokumenty/pms/monitoring_jakosci_gleb/Raport_MChG_etap3.pdf
43. Rennert T., Gockel K., Mansfeldt T.: Extraction of water-soluble organic matter from mineral horizons of forest soils. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2007, 170:514–521.
44. Rezolucja Parlamentu Europejskiego z dnia 13 listopada 2007 r. w sprawie strategii tematycznej w dziedzinie ochrony gleby (2006/2293(INI)).P6_TA(2007)0504.
45. 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. Edited by Maria C. Hernandez Soriano, Chapter 9, INTECH, 2012: 249-267.
46. Shiau Y., Chen J., Chung T., Tian G., Chiu C.: 13C NMR spectroscopy characterization of particle-size fractionated soil organic carbon in subalpine forest and grassland ecosystems. Botanical Studies, 2017, **58:** 23.
47. Smreczak B.: Ocena zawartości trwałych zanieczyszczeń chloroorganicznych w gruntach ornych Polski. Raport końcowy z realizacji tematu statutowego. IUNG-PIB, Puławy, 2011.
48. Strosser E.: Methods for determination of labile soil organic matter: An overview. Journal of Agrobiology, 2010, **27:** 49-60.
49. Tan K.H.: Humic matter in soil and environment. Principles and controversies, wyd. CRC Press, Taylor and Francis Group, 2014: 79-104.
50. Teong I., Felix N., Mohd S., Sulaeman A.: Characterization of Soil Organic Matter in Peat Soil with Different Humification Levels using FTIR. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2016, **136:** 012010, doi:10.1088/1757-899X/136/1/012010
51. Ukalska-Jaruga A., Smreczak B., Klimkowicz-Pwlas A., Maliszewska-Kordybach B.: Rola materii organicznej w procesach akumulacji trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO) w glebach. Polish Journal of Agronomy, 2015, **20**: 15–23.
52. Weil R., Magdoff F.: Significance of Soil Organic Matter to Soil Quality and Health [w:] Soil organic matter in sustainable agriculture, Magdoff F. and Weil R. wyd. CRC Press, 2004, p. 1-45.
53. Wiater J.: Wpływ nawożenia organiczno–mineralnego na bilans węgla organicznego. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Szczecinie 211, Agricultura, 2000, **84:** 515-520.
54. Xue S., Zhao Q., Wei L., Song Y., Tie M.: Fluorescence spectroscopic characterization of dissolved organic matter fractions in soils in soil aquifer treatment. Environmental Monitoring and Assessment, 2013, **185:**4591–4603.
55. Yang Y., Zhang N., Xue M., Tao S.: Impact of soil organic matter on the distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils. Environmental Pollution, 2010, **158**: 2170- 2174.

56. Zhang N., Yang Y., Tao S., Liu Y., Shi K.: Sequestration of organochlorine pesticides in soils of distinct organic carbon content. Environmental Pollution, 2011, **159**: 700-705.

Adres do korespondencji:

*mgr Aleksandra Ukalska-Jaruga*
*Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów*
*IUNG-PIB*
*ul. Krańcowa 8, 24-100 Puławy*
*tel. 81 47 86 915*
*e-mail: aukalska@iung.pulawy.pl*

**S T U D I A I R A P O R T Y IUNG-PIB**

**ZESZYT 54(8)**: 41-55 **2017**

**Jacek Niedźwiecki, Guillaume Debaene, Bożena Smreczak, Magdalena Łysiak, Aleksandra Ukalska-Jaruga**

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

# WSTĘPNE BADANIA NAD WYKORZYSTANIEM METOD SPEKTRALNYCH DO KLASYFIKACJI UTWORÓW ORGANICZNYCH NA POTRZEBY SPEKTRALNEJ BIBLIOTEKI GLEB POLSKI*

**Słowa kluczowe:** gleby organiczne, spektralna biblioteka gleb, chemometria, spektroskopia VIS-NIR

## Wstęp

Gleby organiczne wytworzone z torfów, mułów, gytii czy murszy, z uwagi na zgromadzone w nich zasoby węgla, a także zdolności do magazynowania wody, są ważnym elementem środowiska przyrodniczego. W ostatnich kilkudziesięciu latach wiele z tych gleb uległo znacznym przekształceniom w wyniku melioracji odwadniających oraz zmian rolniczego użytkowania z pastwisk i łąk trwałych na grunty orne. Obniżenie poziomu wód gruntowych powoduje nieodwracalne przeobrażenia utworów organicznych (3). Zanik warunków beztlenowych (anaerobowych) i wprowadzenie powietrza w głąb profilu glebowego sprzyja mineralizacji materii organicznej i jej szybkiemu ubytkowi, co prowadzi do powstawania nowych spolimeryzowanych kompleksów próchniczych (3). W wyniku tego procesu zanika typowa dla torfów struktura włóknista lub włóknisto-gąbczasta, a powstaje struktura agregatowa charakterystyczna dla murszy (23). Mursze przy nadmiernym odwodnieniu ulegają kolejnym przekształceniom między innymi: zmniejsza się ich pojemność wodna i wzrasta hydrofobowość (3). Przeobrażenia wywołane odwodnieniem powodują zmiany w utworach organicznych tym większe im bardziej są one zasobne w materię organiczną. Procesowi murszenia podlegają również wierzchnie warstwy utworów organiczno-mineralnych oraz próchniczych, które przekształcają się w utwory murszowate i murszaste (20).

* Opracowanie wykonano w ramach zadania 1.3 w programie wieloletnim IUNG-PIB.

Problemy związane z procesami degradacji gleb organicznych zostały dostrzeżone przez Bieńka i Łachacza (5), którzy stwierdzili między innymi, że proces ewolucji gleb brzeżnej strefy torfowisk pod wpływem trwałego odwodnienia prowadzi do mieszania warstw organicznych z utworami podglebia oraz stopniowego ubytku materii organicznej. W wyniku tych zmian zawartość materii organicznej zmniejsza się do ilości typowej dla gleb piaszczystych (ok. 1%), a jej zapas spada poniżej 100 $t \cdot ha^{-1}$. Autorzy (5) szacują, że przy obecnym tempie ubytku materii organicznej, powierzchnia gleb torfowych w Polsce może się zmniejszyć w ciągu 100 lat o połowę.

Tempo mineralizacji materii organicznej w glebach organicznych jest zróżnicowane w zależności od warunków klimatycznych i głębokości odwodnienia (17). Torfowiska niskie użytkowane jako ekstensywne łąki obniżają się średnio o 1 $cm \cdot rok^{-1}$. W przypadku łąk użytkowanych intensywnie wartość ta dochodzi nawet do 1,5 $cm \cdot rok^{-1}$ (17). Wielu autorów (17, 21, 22) podkreśla, że degradacja gleb organicznych powoduje zagrożenia dla ich funkcji, a w skrajnych przypadkach może prowadzić do całkowitej eliminacji tych gleb ze środowiska przyrodniczego. Zatem odwodnione i rolniczo użytkowane gleby torfowe będą ulegać niekorzystnym przekształceniom według schematu: gleby torfowe → gleby murszowo-torfowe → gleby mineralno-murszowe → gleby murszowate → gleby murszaste → gleby mineralne (21).

Spadek zawartości materii organicznej jest jednym z głównych zagrożeń dla funkcji gleb zdefiniowanych w Strategii tematycznej w dziedzinie ochrony gleby (25). Szczególna troska o gleby organiczne znajduje również odzwierciedlenie w Wspólnej Polityce Rolnej oraz polityce ochrony realizowanej na poziomie krajowym np. w Ustawie o ochronie gruntów rolnych i leśnych (Dz.U.1995 nr 16 poz. 78 z późniejszymi zmianami). W związku z koniecznością wyznaczenia w UE obszarów, na których zachodzą procesy degradacji gleb i monitorowania ich stanu rosną potrzeby w zakresie szczegółowości danych przestrzennych. Metody spektralne w połączeniu z metodami chemometrycznymi oferują możliwość znacznego uszczegółowienia danych i stanowią tańszą alternatywę dla tradycyjnych pomiarów laboratoryjnych. Ponieważ analiza spektralna ogranicza ilość wykonywanych analiz laboratoryjnych do niezbędnego minimum oraz dostarcza dodatkowych informacji o budowie materii organicznej wskazując na kierunki jej przemian. Techniki analityczne oparte o bezpośrednie pomiary spektralne mogą w znacznym stopniu ograniczać koszty związane z zakupem odczynników chemicznych oraz zmniejszają problem ich utylizacji, dlatego metody spektroskopowe spełniają wymagania stawiane metodom analitycznym przyjaznym środowisku tzw. „zielona chemia" (18).

Dane o właściwościach gleb gromadzone są przez naukowców oraz administrację poszczególnych krajów. Wykorzystanie tych danych do szerokiej, szczegółowej oceny, w znacznym stopniu ogranicza różnorodność definicji typów gleb, stosowanych w poszczególnych krajach metod analitycznych czy metod wykonywania map glebowych. Jednym z pomysłów na gromadzenie danych o właściwościach gleb w skali całego świata, z wykorzystaniem jednolitej metody

oznaczeń tych właściwości, tj. spektometrii w bliskiej podczerwieni oraz światła widzialnego, było utworzenie Globalnej Bazy Danych Spektralnych (ang. *Global Soil Spectral Library,* GSSL); (6, 8, 29). Baza ta zawiera informacje spektralne o glebach z ponad 90 krajów świata obejmujące cechy takie jak: zawartość materii organicznej, pojemność sorpcyjna, pH, uziarnienie i zawartość żelaza. Wykorzystanie spektralnej bazy danych w zakresie bliskiej podczerwieni oraz światła widzialnego (VIS-NIR) niewątpliwie przyczyniło się do rozwoju spektroskopii gleb i tworzeniu nowoczesnych narzędzi badawczych oraz algorytmów, wyznaczanych w oparciu o korelacje z wynikami oznaczeń chemicznych, służących modelowaniu, monitorowaniu i mapowaniu różnych właściwości gleb (11-13, 2, 28, 30).

Obszerna baza danych archiwalnych próbek glebowych wraz z ich współrzędnymi geograficznymi, która jest w posiadaniu IUNG-PIB, została wykorzystana przy tworzeniu Spektralnej Biblioteki Gleb Polski (SBGP); (19). Biblioteka ta jest stale zasilana nowymi danymi pochodzącymi z różnych prac badawczych realizowanych w IUNG-PIB. Dotychczasowe prace nad tworzeniem SBGP koncentrowały się głównie na glebach mineralnych i tylko w niewielkim stopniu obejmowały gleby organiczne i organiczno-mineralne. Od 2016 r. w ramach zadania 1.3 „Monitorowanie różnych parametrów środowiska glebowego dla właściwej oceny WPR" w Programie Wieloletnim IUNG-PIB realizowane są prace dotyczące oceny aktualnego stanu gleb bogatych w węgiel organiczny pod trwałymi użytkami zielonymi z uwzględnieniem różnych czynników wpływających na te zmiany. Próbki pobrane w trakcie tych prac zostały poddane analizom spektrofotometrycznym w zakresie bliskiej podczerwieni oraz światła widzialnego. Z uwagi na fakt, że w Polsce dotychczas nie prowadzono badań nad wykorzystaniem analiz spektralnych w ocenie gleb pochodzenia organicznego, badania te wydają się być szczególnie interesujące. Celem pracy jest charakterystyka techniki VIS-NIR oraz przedstawienie wstępnych wyników analiz spektralnych gleb pochodzenia organicznego z wykorzystaniem tej metody.

## Spektroskopia bliskiej podczerwieni

Spektroskopia bliskiej podczerwieni oraz światła widzialnego jest niedestrukcyjną analityczną techniką badania interakcji pomiędzy światłem odbitym bądź pochłoniętym przez materiał a powierzchnią materiału (19). Technika ta jest szeroko wykorzystywana w przemyśle dzięki łatwości zastosowania, szybkości i braku konieczności skomplikowanego przygotowania próbek. Spektrometria VIS-NIR została po raz pierwszy użyta ponad trzy dekady temu i wykorzystana do szybkiej analizy wilgotności zboża (1, 2). Chociaż badania gleb przy zastosowaniu techniki spektrometrii w zakresie bliskiej podczerwieni i światła widzialnego są stosowane od niedawna, to analizie zostały już poddane niektóre właściwości gleb takie jak: skład granulometryczny, wilgotność, zawartość węgla organicznego, przewodność elektryczna, pojemność wymienna kationowa, pH, zawartość mikro- i makroskładników np. N, P, S, Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn (7, 9, 11, 12, 14, 24, 26,

29). Również z dużym powodzeniem udało się wykorzystać technikę VIS-NIR do klasyfikowania poziomów diagnostycznych trzech różnych typologicznie gleb: Albic Luvisol, Gleyic Phaeozem, Brunic Arenosol (10). Podobne prace dla gleb australijskich wykonali Viscarra Rossel i in. (30). Szerokie możliwości zastosowań VIS-NIR w analizach gleby przedstawione zostały w pracach Viscarra Rossel i in (28) oraz w Cécillon i in (8). Kilkadziesiąt tysięcy próbek, szczególnie gleb piaszczystych o niskiej zawartości materii organicznej, wykorzystano do tworzenia Duńskiej Bazy Danych Spektralnych (13). Istniejące biblioteki spektralne mogą być również podstawą do rozwoju technologii – doskonalenia sensorów w nowych modelach urządzeń wykorzystujących technologię spektrometrii VIS-NIR np. do bardziej precyzyjnego określenia korekty wilgotnościowej w analizie spektralnej gleb (31).

## Analiza widm glebowych i analiza głównych składowych (PCA)

Ilość promieniowania w bliskiej podczerwieni absorbowana przez próbki glebowe, określona jest przez właściwości i ilość wiązań obecnych w badanym materiale. Dlatego widma w zakresie bliskiej podczerwieni zawierają szczegółowe informacje na temat składu chemicznego badanych substancji (1). Oprócz składu chemicznego materiału, na właściwości spektralne ma również wpływ jego fizyczna struktura (np. stopień rozkładu materiału organicznego), rozmiar i kształt cząstek czy puste przestrzenie pomiędzy cząstkami. Widma NIR-VIS są typowym przykładem danych wymagających podejścia chemometrycznego dla pełnego wykorzystania zawartej w nich informacji (15). W tym celu najczęściej wykorzystywane są specjalistyczne oprogramowania posługujące się zaawansowanymi metodami kompensacji danych (np. PCA), umożliwiające wydobycie szczegółowych informacji ze zbioru danych.

Niespecyficzność widm światła odbitego i rozproszonego spowodowana jest w dużej mierze zakłóceniami i szumami wynikającymi z nakładania się widm składników glebowych oraz tła wytwarzanego przez pracujące urządzenie. Wszystkie czynniki zakłócające, przy zastosowaniu metod matematycznych, muszą być oddzielone od widma, a po korekcie są korelowane z konkretną cechą gleby. Dlatego też analiza spektralna gleby w zakresie VIS-NIR wymaga dodatkowo stosowania technik chemometrycznych i kalibracji wielowymiarowych. Chemometria dotyczy stosowania technik matematycznych lub statystycznych w analizowaniu danych chemicznych. Podczas kalibracji wielowymiarowej, wykorzystuje się dane empiryczne do przewidywania nieznanej właściwości glebowej – y na podstawie wielu pomiarowych danych spektralnych x1, x2,. . . , XK. Procedury te zostały szczegółowo opisane przez Debaene i in., (11) i obejmują: 1) losowy wybór próbek kalibracyjnych, 2) wybór próbek według stężeń chemicznych, 3) wybór próbek według grupowania metodą k-średnich, 4) wybór próbek według analizy głównych składowych – PCA. Zdaniem autorów (11) najlepszą procedurą kalibracji okazał się wybór próbek metodą k-średnich. Dzięki tej procedurze, można uzyskać lepsze wyniki predykcji z zestawu danych walidacji. Takie postępowanie pozwala zmniejszyć ilość próbek kalibracyjnych do budowy modelu, a tym samym zmniejszyć koszty analiz laboratoryjnych.

## Regresja metodą częściowych najmniejszych kwadratów (PLS)

W analizie widm spektralnych gleb wykorzystuje się regresję metodą cząstkowych (częściowych) najmniejszych kwadratów (PLS). Metoda ta dotyczy dwóch macierzy danych X i Y analizowanych poprzez model liniowy wielowymiarowy i jest powszechnie stosowana w analizie odbicia danych spektralnych PLSR, ponieważ obrazuje rozkład obu zmiennych X i Y i znajduje nowe komponenty (punkty), zwane zmiennymi ukrytymi. W metodzie tej obliczana jest regresja pomiędzy otrzymanymi nowymi składnikami zmiennych X i Y, gdzie X jest odbiciem gleby, a Y mierzoną właściwością gleby. Oceny statystyk dokonuje się poprzez obliczenie współczynnika determinacji $r^2$ pomiędzy przewidywanymi, a mierzonymi wartościami oraz na podstawie obliczonego średniego błędu kwadratowego (RMSE) i RPD (ang. *ratio of performance to deviation*) według wzorów podanych poniżej:

$$R^2 = \frac{\left[\sum_{i=1}^{n} (\hat{y}_i - \bar{\hat{y}}_i)(y_i - \bar{y}_i)\right]^2}{\sum_{i=1}^{n} (\hat{y}_i - \bar{\hat{y}}_i)^2 \sum_{i=1}^{n} (y_i - \bar{y}_i)^2}$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} (\hat{y}_i - y_i)^2}$$

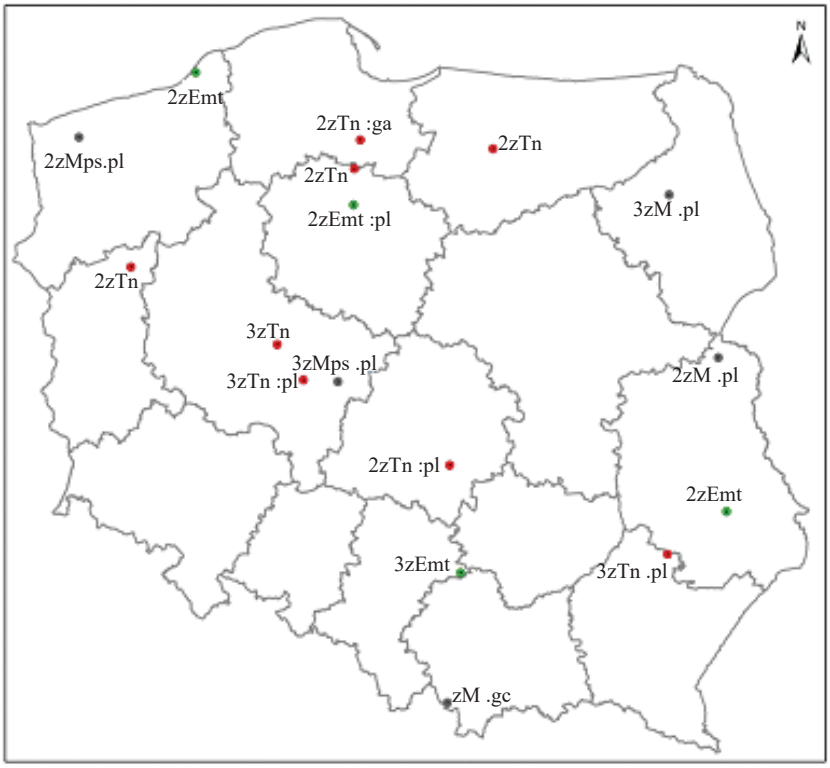
$$RPD = SD/RMSE$$

Gdzie $\hat{y}_i$ jest wartością przewidywaną i $y_i$ wartością zmierzoną; $\bar{y}i$ średnia z wartości zmierzonej; $\bar{\hat{y}}_i$ średnia z wartości przewidywanej i n ilością próbek.

## Badania aktualnego stanu gleb pochodzenia organicznego pod trwałymi użytkami zielonymi

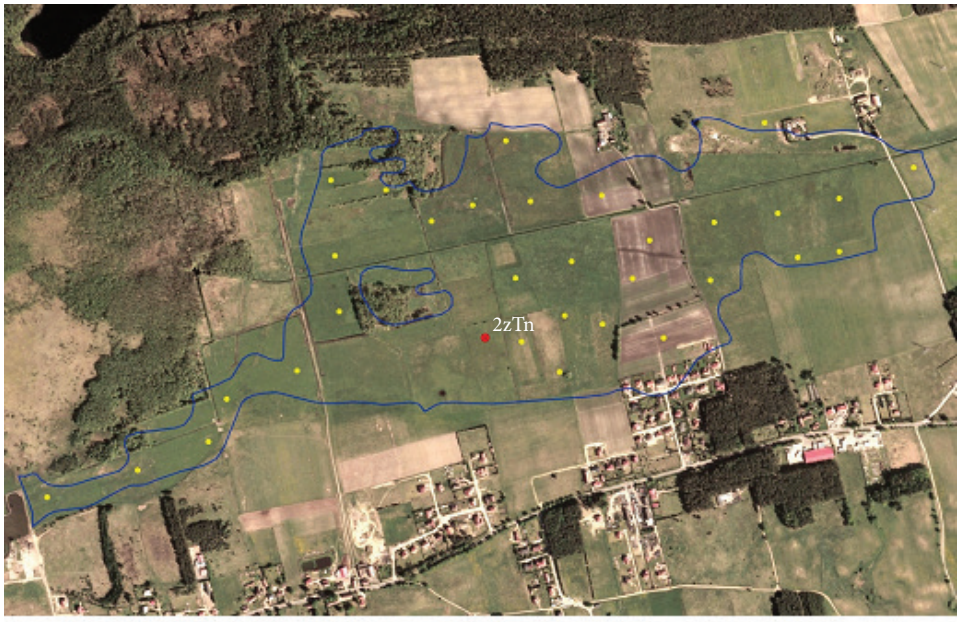
Głównym celem badań realizowanych w latach 2016-2017, w ramach zadania 1.3 w Programie Wieloletnim IUNG-PIB, była ocena aktualnego stanu gleb pochodzenia organicznego z uwzględnieniem czynników wpływających na te zmiany. Do gleb pochodzenia organicznego pod trwałymi użytkami zielonymi (TUZ) zaliczono gleby opisane na mapie glebowo-rolniczej w skali 1: 25 000 (MGR 25 000) symbolami: T – gleby torfowe, gleby torfowe na podłożu mineralnym, gleby murszowo-torfowe, M – gleby murszowe na podłożu mineralnym, murszowate, murszaste i torfiaste oraz E – gleby mułowo-torfowe i torfowo-mułowe. Dla potrzeb badań wytypowano 17 konturów glebowych (obszarów) reprezentujących kombinację kompleksu rolniczej przydatności gleb użytków zielonych (1z, 2z, 3z) i typu gleby, które w trakcie tworzenia mapy glebowo-rolniczej w skali 1: 25 000 były najliczniej reprezentowane. Przykładowe kombinacje obejmują: 2z Etm, 3z Etm, 2z M · pl, 3z M · pl, 2z Tn, 3z

Tn i 2z Tn : pl. Obszary te były zlokalizowane w różnych regionach Polski (Rys. 1). Przy wyznaczaniu każdego z tych obszarów dodatkową informację stanowiły tzw. profile wzorcowe, zawierające szczegółowy opis budowy profilu glebowego i wyniki analiz właściwości fizyko-chemicznych (16).




Rys. 1. Lokalizacja obszarów testowych wytypowanych do badania gleb pochodzenia organicznego. Źródło: opracowanie własne

Na każdym z wyznaczonych obszarów wykonano odkrywki glebowe w miejscu lokalizacji profilu wzorcowego oraz dodatkowo w ponad 10 punktach kontrolnych (Rys. 2).




Rys. 2. Przykład konturu opisanego symbolami 2z Tn występowania gleb organicznych. Żółtym oznaczono lokalizacje punktów, z których pobrano próbki do analiz spektralnych; czerwony punkt oznacza lokalizację profilu wzorcowego

Źródło: opracowanie własne

Dla każdego profilu glebowego został sporządzony opis budowy morfologicznej. Z warstw organicznych i mineralnych pobrano próbki do badań laboratoryjnych i analiz spektrometrycznych.

Dotychczas w wyniku przeprowadzonych prac pobrano ponad 500 próbek glebowych, które skanowano przy użyciu spektrofotometru działającego w zakresie widma elektromagnetycznego w bliskiej podczerwieni (NIR) oraz w paśmie widzialnym (VIS). W analizach spektralnych uwzględniono nie tylko próbki pobrane z warstwy powierzchniowej, ale też pochodzące z głębszych warstw, w tym również z podłoża mineralnego. Dotyczy to głównie gleb torfowych, torfowo-murszowych oraz murszastych. Takie działanie pozwoliło na przeprowadzenie analiz wpływu charakterystyki poziomów zróżnicowania profilu na właściwości spektralne gleb. Docelowo w ramach badań gleb pochodzenia organicznego zaplanowano zeskanowanie około 2000 próbek glebowych, których widma zasilą Spektralną Bibliotekę Gleb Polski (SBGP) tworzoną w IUNG-PIB.

## Analizy spektralne gleb pochodzenia organicznego z zastosowaniem techniki NIR-VIS

Analizę spektralną próbek pobranych z profili gleb pochodzenia organicznego przeprowadzono przy użyciu spektroradiometru PSR-3500® (Spectral Evolution, Lawrence, MA, USA) w zakresie długości fali od 350 do 2500 nm oraz oprogramowania

Unscrambler® X (CAMO Software); (Rys. 3). Rozdzielczość spektralna dla tych pomiarów wynosiła 2 nm. Skanowanie próbek było ułatwione dzięki zastosowaniu sond z wbudowanym źródłem światła 5 W. Każdą próbkę skanowano czterokrotnie obracając każdorazowo sondę o 90° pomiędzy poszczególnymi pomiarami w celu uzyskania średniej krzywej widmowej. Po zeskanowaniu każdej próbki spektrofotometr był kalibrowany przy pomocy dedykowanej do urządzenia białej płytki kalibracyjnej o wymiarach 5 cm x 5 cm.

Rys. 3. Skanowanie próbek gleb organicznych przy pomocy spektroradiometru PSR-3500® (Spectral Evolution, Lawrence, MA, USA)

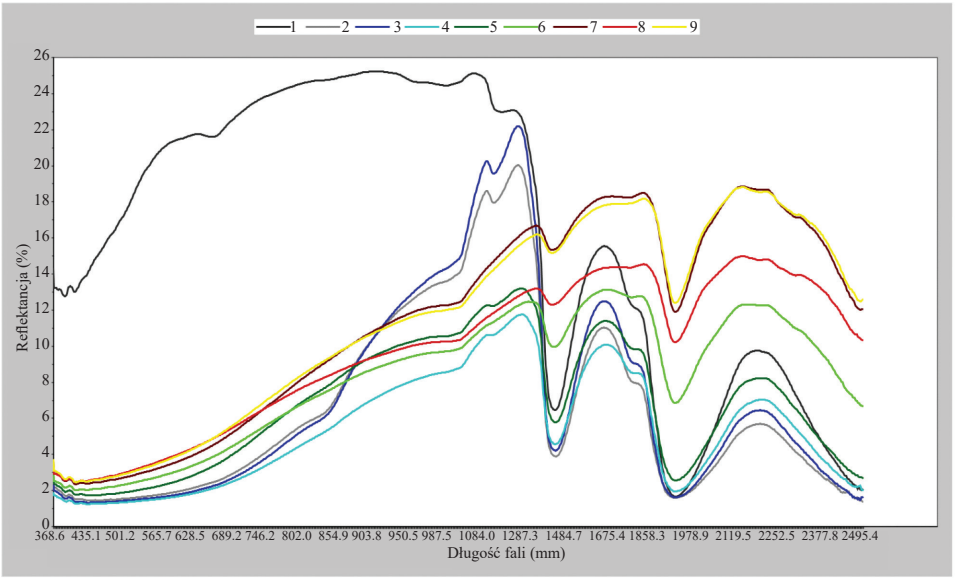
Źródło: opracowanie własne

Ze względu na istotny wzrost reflaktancji w suszonych próbkach oraz pochłanianie pary wodnej z powietrza przez próbki suche, do analiz spektralnych wykorzystano tylko próbki gleb w stanie wilgotności aktualnej. We wstępnej fazie badań spektralnych gleb pochodzenia organicznego przeprowadzono następujące oceny:
- wpływu rodzaju materiału organicznego i stopnia jego przeobrażenia na kształt widm,
- wpływu stopnia rozkładu torfów na kształt widm spektralnych,
- analizę składowych głównych (PCA),
- analizę regresyjną pomiędzy zwartością węgla całkowitego ($C_{tot}$) i azotu całkowitego ($N_{tot}$).

## Wpływ rodzaju materiału organicznego i stopnia jego przeobrażenia na kształt widm

Zastosowanie techniki VIS-NIR potwierdziło występujące różnice w kształcie widm utworów organicznych charakteryzujących się różnym pochodzeniem (torf, gytia). Wykazano także zróżnicowanie widm spektralnych torfów o różnym stopniu rozkładu – przykładowe widma spektralne badanych utworów glebowych przedstawiono na rysunku 4.

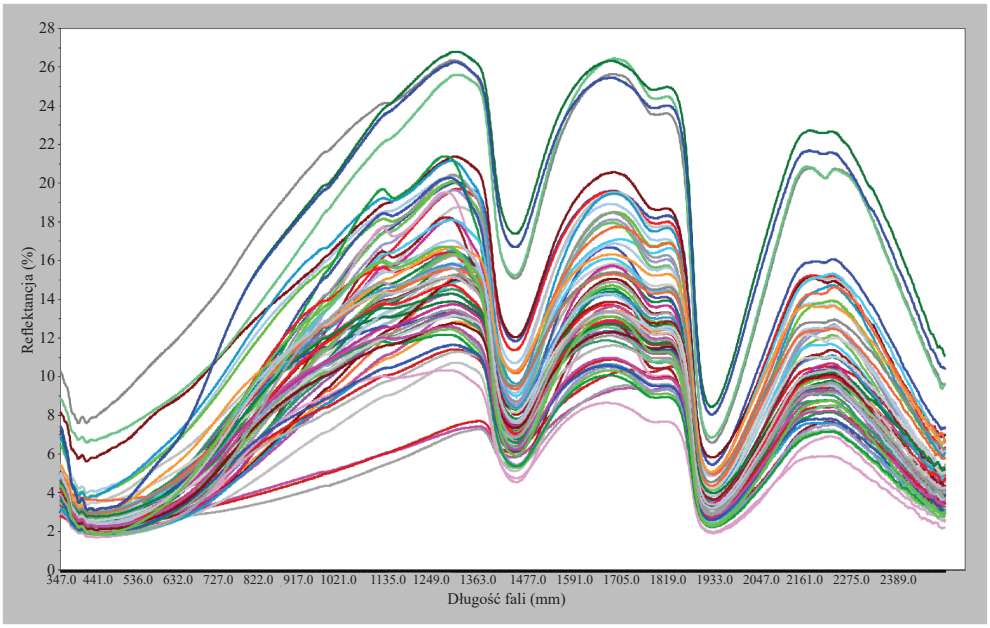
Ze wstępnych badań wynika, że w przypadku gytii wapiennej maksimum reflaktancji przypadało dla zakresu długość fal pomiędzy 903 nm a 1084 nm. Również dla torfu średnio rozłożonego maksimum reflaktancji było charakterystyczne dla tego zakresu długości fal. W przypadku torfu silnie rozłożonego maksima reflaktancji przypadały dla zakresów 1675-1858 nm i 2119-2252 nm. Najbardziej wyraźne różnice pomiędzy gytią, a średnio i silnie rozłożonym torfem zaobserwowano w zakresie długości fal 368,6-1084 nm. Różnice w kształcie widm spektralnych badanych utworów mogą wynikać z różnej ich struktury, która ma wpływ na absorbcję fal elektromagnetycznych w różnych zakresach (1).




Rys. 4. Wpływ rodzaju utworu organicznego na kształt widm spektralnych: 1 – gytia; 2, 3 – torf średnio rozłożony; 4, 5, 6, 7, 8, 9 – torf silnie rozłożony

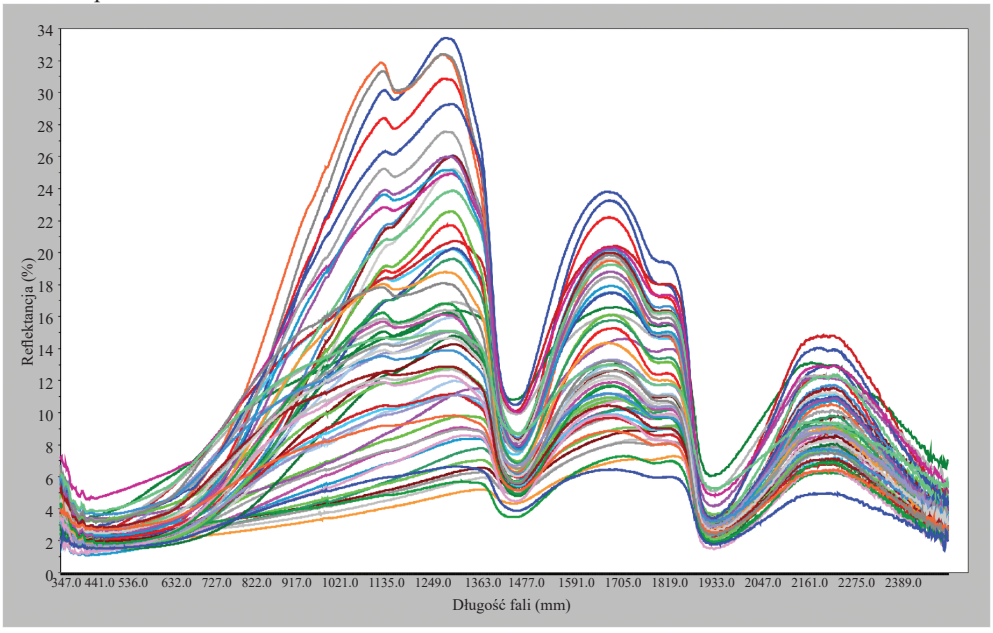
Źródło: opracowanie własne

Dodatkowo zanotowano różnice w budowie widm spektralnych w obrębie poszczególnych utworów organicznych takich jak mursze (Rys. 5 ) i torfy (Rys. 6). Na podstawie analiz spektralnych stwierdzono, że wartości reflaktacji w glebach murszowych osiągały znacznie niższe wartość w porównaniu do gleb torfowych. Wynikać to może z różnej struktury tych utworów. Mursze, które charakteryzują się znacznie większym rozrobnieniem i strukturą agregatową, mają większą zdolność do absobcji fal elektromagnetycznych, szczególnie w zakresie bliskiej podczerwieni. Z kolei analizując wartości reflaktancji torfów można stwierdzić, że utwory te w mniejszym stopniu absorbują fale elektromagnetyczne w zakresie bliskiej podczerwieni. Różnice te może powodować włóknista struktura torfów, ale potwierdzenie tego przypuszczenia wymaga dalszych badań.




Rys. 5. Zmienność spektralna gleb murszowych

Źródło: opracowanie własne



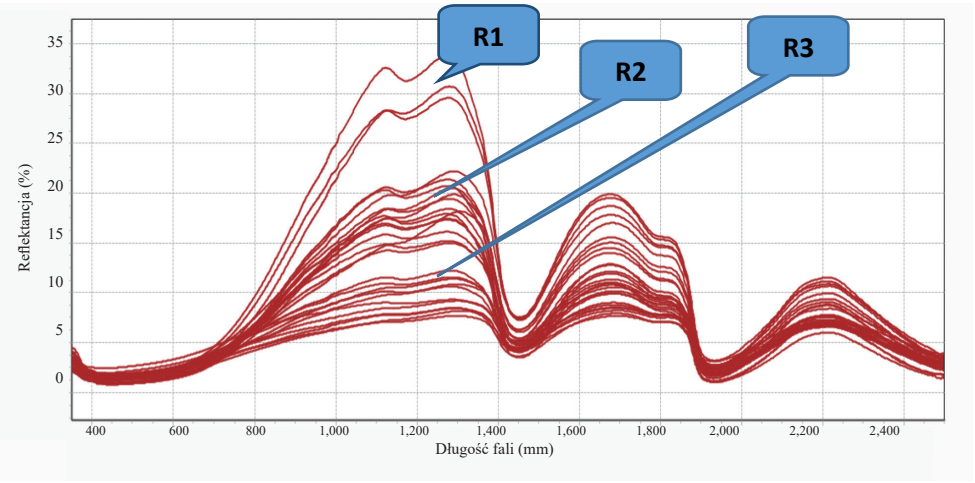

Rys. 6. Zmienność spektralna gleb torfowych

Źródło: opracowanie własne

## Wpływ stopnia rozkładu torfu na kształt widm spektralnych

Przeprowadzona analiza spektralna widm wykazała, że stopień rozkładu torfu różnicuje charakterystyki spektralne tych utworów (Rys. 7). Stopień rozkładu torfu z podziałem na trzy grupy przyjęto za Okruszko (20), gdzie R1 to materiał organiczny o słabym stopniu rozkładu (do 30%), R2 – materiał organiczny średnio rozłożony (30-60%), R3 – materiał organiczny silnie rozłożony (powyżej 60%). Podział ten jest uznany przez Międzynarodowe Stowarzyszenie Torfowe (ang. *International Peatland Society*).

Wstępne wyniki badań wskazują, że technika VIS-NIR może być stosowana do oceny stopnia rozkładu utworów torfowych. Stwierdzono, że torfy najsilniej rozłożone wykazywały istotnie niższą reflaktancję (Rys. 7), co może być spowodowane znacznie większym rozdrobnieniem materii organicznej i zmianami jej budowy w porównaniu do torfów o słabym stopniu rozkładu.

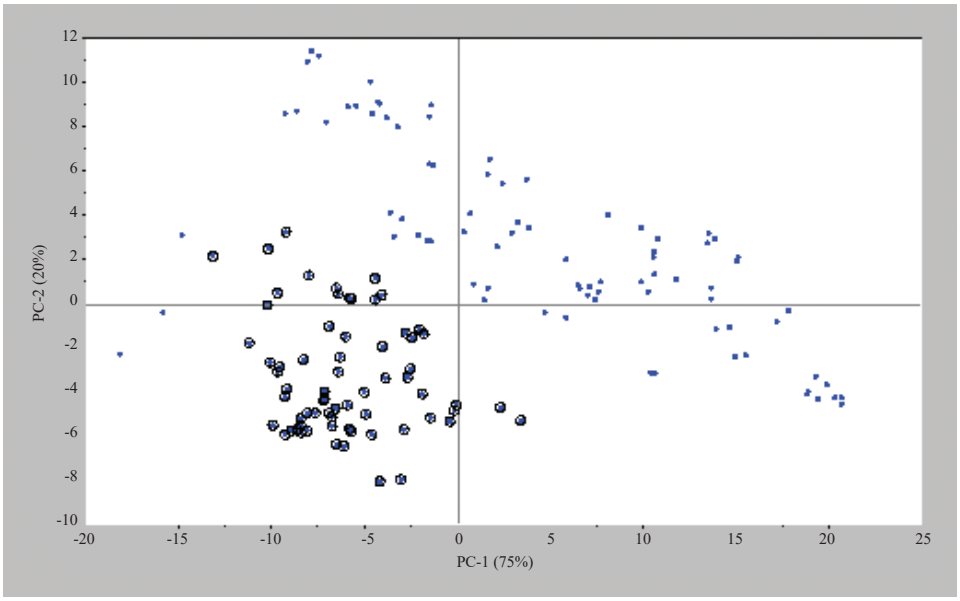



Rys. 7. Zróżnicowanie widm spektralnych w zależności od stopnia rozkładu torfu

Źródło: opracowanie własne

## Analiza składowych głównych

Analiza PCA wskazuje możliwość rozróżnienia utworów glebowych na organiczne i mineralne przez dwie pierwsze główne składowe. Gleby organiczne (mursze, torfy, muły i gytie) wykazują przeważnie dodatnie wartości PC1, a gleby mineralne w większości przypadków charakteryzują się ujemnymi wartościami PC1. Wykres ładunku (Rys. 8) wskazuje, że składowa PC1 opisuje 75%, natomiast PC2 wyjaśnia 20% całkowitej zmienności. Gleby pochodzenia organicznego wykazują zarówno dodatnie jak i ujemne wartości PC1 co wskazuje na złożony charakter tych utworów i prawdopodobnie jest związane z przekształceniami materii organicznej, szczególnie w płytkich glebach murszowych i glebach murszastych. W glebach tych może następować mieszanie się części mineralnych i organicznych gleby. W celu weryfikacji tych przypuszczeń konieczne jest przeprowadzenie dodatkowych analiz chemometrycznych.

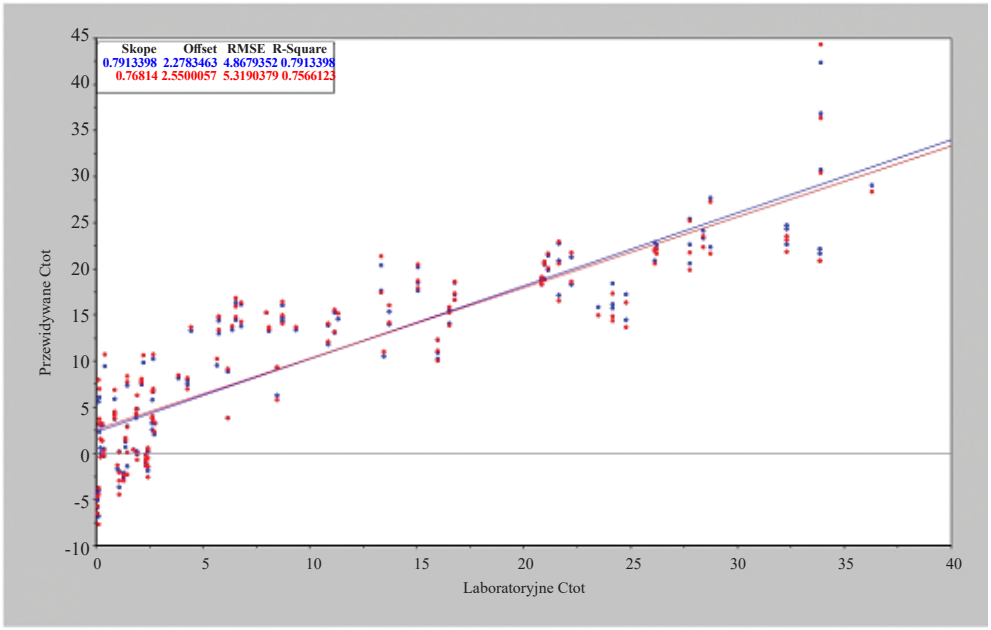



Rys. 8. Analiza PCA danych spektralnych gleb pochodzenia organicznego
Źródło: opracowanie własne

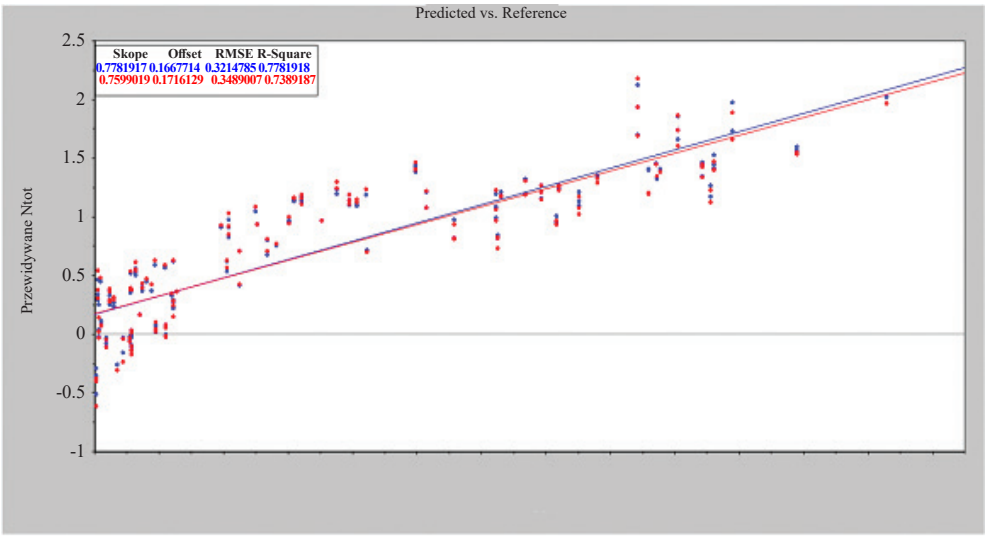
## Modele regresyjne

Na rysunkach 9 i 10 przedstawiono zależność regresyjną pomiędzy przewidywaną i mierzoną wartością węgla całkowitego ($C_{tot}$) i azotu całkowitego ($N_{tot}$) w badanych próbkach glebowych.

Na podstawie analizy regresji częściowych najmniejszych kwadratów (PLS-partial least squares regression) stwierdzono, że zawartości węgla całkowitego oraz azotu całkowitego w badanych glebach szacowane na podstawie uzyskanych modeli kalibracyjnych charakteryzują się bardzo dobrą zdolnością predykcyjną. Współczynnik determinacji ($R^2$) dla zbioru walidacyjnego wynosił w przypadku $C_{tot}$ 0,76, a dla $N_{tot}$ – 0,74. Średnie kwadratowe błędy przewidywania wynosiły dla $C_{tot}$ – 5,32, a dla $N_{tot}$ – 0,35.




Rys. 9. Przewidywane vs. mierzone wartości Ctot (%), niebieski – kalibracja, czerwony – walidacja
Źródło: opracowanie własne




Rys. 10. Przewidywane vs. mierzone wartości Ntot (%), niebieski – kalibracja, czerwony – walidacja
Źródło: opracowanie własne

## Podsumowanie

Wstępne badania wykazały potencjalną przydatność technik spektralnych do klasyfikowania gleb pochodzenia organicznego, wytworzonych z różnych utworów organicznych. Uzyskane dane spektralne dla gleb torfowych, murszowych oraz gytii zasiliły Spektralną Bibliotekę Gleb – IUNG, dzięki czemu będą pomocne w szybkim określaniu pochodzenia organicznych utworów glebowych oraz ocenie stopnia ich przemian. Wyniki predykcji (zawartość węgla organicznego czy azotu całkowitego) są porównywalne z wynikami otrzymanymi klasycznymi metodami analizy, co oznacza, że niezależny nowy zbiór danych może być użyty do sprawdzenia zdolności predykcyjnej otrzymanych modeli.

Wykorzystanie spektralnej bazy danych w zakresie bliskiej podczerwieni oraz światła widzialnego może przyczynić się do rozwoju spektroskopii gleb i stworzenia nowoczesnych narzędzi badawczych (modeli predykcyjnych) służących modelowaniu, monitorowaniu gleb organicznych i ocenie stopnia ich degradacji, a w następnej kolejności sporządzania map dla obszarów występowania tych gleb.

## Literatura


1. Ben-Dor E., Banin A.: Near-infrared analysis as a rapid method to simultaneously evaluate several soil properties. Soil Sci. Soc. Am. J., 1995, **59**: 364-372.
2. Batten, G.D.: Plant analysis using near infrared reflectance spectroscopy: the potential and the limitations. Aust. J. Exp. Agric. 1998, **38**: 697–706.
3. Bednarek R., Skiba S: Elementarne (typologiczne) procesy glebotwórcze. [W:] Gleboznawstwo, redakcja naukowa A. Mocek, 2016: 91-92.
4. Ben-Gera, I., Norris, K.H.: Direct Spectrophotometric Determination of Fat and Moisture in Meat Products. J. Food Sci., 1968, **33**: 64–67.
5. Bieniek A., Łachacz A.: Ewolucja gleb murszowych w krajobrazie sandrowym. [W]: Wybrane problemy ochrony mokradeł. A. Łachacz (red.). Współczesne Problemy Kształtowania i Ochrony Środowiska. Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Katedra Gleboznawstwa i Ochrony Gleb, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, 2012, 111-131.
6. Brown, D.J., Shepherd, K.D., Walsh, M.G., Dewayne Mays, M., Reinsch, T.G.: Global soil characterization with VNIR diffuse reflectance spectroscopy. Geoderma 2006, **132**: 273–290.
7. Cécillon, L., Cassagne, N., Czarnes, S., Gros, R., Brun, J.-J.: Variable selection in near infrared spectra for the biological characterization of soil and earthworm casts. Soil Biology and Biochemistry, 2008, **40**: 1975–1979.
8. Cécillon, L.; Barthès, B. G.; Gomez, C.; Ertlen, D.; Genot, V.; Hedde, M.: Assessment and monitoring of soil quality using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). w: European J. Soil Sci., 2009, **60(5)**: 770–784.
9. Chang, C.-W., Laird, D.A., Mausbach, M.J., Hurburgh, C.R.: Near-Infrared Reflectance Spectroscopy–Principal Components Regression Analyses of Soil Properties. Soil Science Society of America Journal, 2001, **65**: 480.
10. Debaene G., Bartmiński P., Niedźwiecki J., Miturski T.: Visible and Near –Infrared Spectroscopy as a Tool for Soil Classification and Soil Profile Description. Polish Journal of Soil Science, 2017, **50**: 1-10.
11. Debaene, G., Niedźwiecki, J., Pecio, A., Żurek, A.: Effect of the number of calibration samples on the prediction of several soil properties at the farm-scale. Geoderma, 2014a, **214-215**: 114-125.
12. Debaene, G., Pikula, D., Niedźwiecki, J.: Use of VIS-NIRS for land management classification with a suport vector machine and prediction of Soil Organic Carbon and other soil properties. Ciencia e investigación agrarian, 2014b, **41**: 5-6.

13. Deng F., Knadel M., Thomsen A., Greve M.H.: Development of near infrared spectral library of Danish soils. The Second Global Workshop on Proximal Soil Sensing. Montreal, 2011.
14. Dunn, B.W., Batten, G.D., Beecher, H.G., Ciavarella, S. The potential of near-infrared reflectance spectroscopy for soil analysis — a case study from the Riverine Plain of south-eastern Australia. Aust. J. Exp. Agric. 2002, **42**: 607–614.
15. Geladi P.: Chemometrics in spectroscopy Part 1. Classical Chemometrics. Spectrochimica Acta Part B, 2003, **58**: 767-782.
16. Jadczyszyn J., Smreczak B.: Mapa glebowo-rolnicza w skali 1:25 000 i jej wykorzystanie na potrzeby współczesnego rolnictwa, Studia i Raporty IUNG-PIB, 2017, **51(5)**: 9-27.
17. Karczewska A.: Ochrona gleb i rekultywacja terenów zdegradowanych. Wrocław, 2008: 85-100.
18. Keith L. H., Gron L. U., Young J. L.: Green analytical methodologies. Chemical Reviews, 2007, **107**: 2695-2708.
19. Niedźwiecki J., Debaene G., Kowalik M.: Spektralna biblioteka gleb użytków rolnych w Polsce – podstawowe założenia. Studia i Raporty IUNG-PIB. Krajowe bazy danych o glebach. 2017 (50), 5: 91-110.
20. Okruszko H.: Zasady rozpoznawania i podziału gleb hydrogenicznych z punktu widzenia potrzeb melioracji , Bibl. Wiad. IMUZ, 1976, **52**: 7-53.
21. Piaścik H., Gotkiewicz J.: Procesy degradacji na odwodnionych torfowiskach terenów młodo glacjalnych. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 1995, **418**: 185-190.
22. Piaścik H., Gotkiewicz J.: Przeobrażenia odwodnionych gleb torfowych jako przyczyna ich degradacji. Roczn. Gleb. 2004, **55**: 331-338.
23. Prusinkiewicz Z.: Środowisko i gleby w definicjach, Oficyna Wyd. Turpress, Toruń, 1999.
24. Sørensen, L.K., Dalsgaard, S.: Determination of Clay and Other Soil Properties by Near Infrared Spectroscopy. Soil Science Society of America Journal, 2005, **69**: 159.
25. Strategia tematyczna w dziedzinie ochrony gleby. Komunikat Komisji do Rady, Parlamentu Europejskiego, Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-społecznego oraz Komitetu Regionów, Bruksela, dnia 22.9.2006, KOM(2006)231 wersja ostateczna.
26. Velasquez, E., Lavelle, P., Barrios, E., Joffre, R., Reversat, F.: Evaluating soil quality in tropical agroecosystems of Colombia using NIRS. Soil Biology and Biochemistry, 2005, **37**: 889-898.
27. Viscarra Rossel, R. A., McBratney, A. B.: Diffuse Reflectance Spectroscopy as a Tool for Digital Soil Mapping, w: Digital Soil Mapping with Limited Data, red. Alfred E. Hartemink, Alex McBratney i Mendonça-Santos, Maria de Lourdes. Dordrecht: Springer Netherlands, 2008: 165-172
28. Viscarra Rossel, R. A.; Behrens, T.; Ben-Dor, E.; Brown, D. J.; Demattê, J.A.M.; Shepherd, K. D.: A global spectral library to characterize the world's soil. w: Earth-Science Reviews 2016: 198–230
29. Viscarra Rossel, R.A., Walvoort, D.J.J., McBratney, A.B., Janik, L.J., Skjemstad, J.O.: Visible, near infrared, mid infrared or combined diffuse reflectance spectroscopy for simultaneous assessment of various soil properties. Geoderma 2006, **131**: 59-75.
30. Viscarra Rossel, R.A., Webster, R.: Discrimination of Australian soil horizons and classes from their visible-near infrared spectra. European Journal of Soil Science 2011, **62**: 637-647.
31. Wijewardane, N. K.; Ge, Y.; Morgan, C. L. S.: Prediction of soil organic and inorganic carbon at different moisture contents with dry ground VNIR: a comparative study of different approaches. European Journal of Soil Science, 2016, **67(5)**: 605-615.

Adres do korespondencji:

*dr Jacek Niedźwiecki*
*Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów*
*IUNG-PIB*
*ul. Krańcowa 8, 24-100 Puławy*
*tel. 81 47 86 780*
*e-mail: jacekn@iung.pulawy.pl*

**S T U D I A I R A P O R T Y IUNG-PIB**

**ZESZYT 54(8)**: 57-71 **2017**

**Beata Feledyn-Szewczyk, Adam Kleofas Berbeć, Paweł Radzikowski**

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

# ROLA DŻDŻOWNIC W KSZTAŁTOWANIU JAKOŚCI GLEB ORAZ WPŁYW RÓŻNYCH ZABIEGÓW AGROTECHNICZNYCH NA ICH WYSTĘPOWANIE*

**Słowa kluczowe***:* dżdżownice, jakość gleby, bioróżnorodność, systemy produkcji rolnej

## Wstęp

Jakość gleby jest definiowana jako zdolność danej gleby do funkcjonowania w obrębie naturalnych lub przekształconych rolniczo ekosystemów, do utrzymywania produktywności roślinnej i zwierzęcej, do zachowania lub polepszenia jakości wody i powietrza oraz do zapewnienia zdrowotności ludzi i ich środowiska (18). Nie można jej mierzyć bezpośrednio, natomiast ocenia się ją pośrednio, na podstawie cech samej gleby lub cech ekosystemu, którego jest częścią. Ocena jakości pozwala rejestrować zmiany stanu gleby powodowane przez czynniki naturalne i działalność człowieka (27). Pojęcie „jakość gleby" jest zatem pojęciem szerszym niż „urodzajność gleby", czyli zespół fizycznych, chemicznych i biologicznych właściwości gleby zapewniający roślinom odpowiednie warunki wzrostu (składniki pokarmowe, wodę i powietrze glebowe) (24-25). Na jakość gleby wpływa szereg różnych czynników abiotycznych i biotycznych, w tym zasiedlenie jej przez mikroorganizmy i mezofaunę glebową. Organizmy te odgrywają główną rolę w takich procesach, jak: rozkład w glebie resztek organicznych (roślinnych i zwierzęcych) i udostępnianie roślinom zawartych w nich składników pokarmowych, powstawanie humusu glebowego, tworzenie gruzełkowatej struktury gleby, degradacja substancji zanieczyszczających (ksenobiotyki) środowisko glebowe, ograniczanie rozwoju fitopatogenów, wiązanie azotu atmosferycznego i inne (14).

Zabiegi agrotechniczne, jak uprawa roli, zmianowanie, uprawa międzyplonów, stosowanie nawozów mineralnych i pestycydów mają istotny wpływ na dzikie gatunki

* Opracowanie wykonano w ramach zadań 1.2 i 1.3 w programie wieloletnim IUNG-PIB.

flory i fauny występujące w krajobrazie rolniczym oraz organizmy zasiedlające glebę (13, 36, 38). Niektóre spośród zabiegów agrotechnicznych, w szczególności uprawa roli, ale także melioracje, powodują silne zmiany siedliska glebowego. Zabiegi te często prowadzą do znaczących zmian w składzie gatunkowym organizmów glebowych (26). Dżdżownice mogą uczestniczyć w różny sposób w kształtowaniu żyzności i biologicznej aktywności gleby. Spełniają wiele kluczowych funkcji, przez co zwiększają stopień zrównoważenia ekosystemów rolniczych. Pośrednio wpływają na lepszą adaptację systemów rolniczych do zmian klimatu (3).

Mimo wieloletnich badań dżdżownice nie należą do zwierząt dobrze poznanych (19). Istnieje coraz większe zainteresowanie rolników znaczeniem dżdżownic w kształtowaniu żyzności i jakości gleby oraz ich rolą jako wskaźnika poprawnego gospodarowania rolniczego. Jednak z przeglądu literatury wynika, że do tej pory stosunkowo niewiele jest prac na temat wpływu dżdżownic na glebę, interakcji z innymi organizmami i oddziaływania zabiegów agrotechnicznych na ich występowanie (24-25, 29).

Celem pracy było określenie znaczenia dżdżownic w kształtowaniu jakości gleby, ocena wpływu różnych zabiegów agrotechnicznych i systemów produkcji rolnej na liczebność i biomasę dżdżownic na podstawie literatury i wyników badań własnych oraz zidentyfikowanie praktyk rolniczych sprzyjających występowaniu tej grupy organizmów.

## Znaczenie dżdżownic w kształtowaniu żyzności i jakości gleby

Rodzina dżdżownice (*Lumbricidae*) należy do rzędu skąposzczetów (*Oligochaeta*), typu pierścienic (*Annelida*); (32). Jeszcze w XIX wieku dżdżownice były uważane za szkodniki gleby. Mimo, że wiedza na ich temat zmieniła się do dzisiejszych czasów, wciąż niewielu rolników świadomie stosuje praktyki rolnicze w celu zwiększenia zasiedlenia gleby przez dżdżownice (29).

Liczba, biomasa i różnorodność dżdżownic są uważane za ważne wskaźniki żyzności gleby i jej jakości. Chociaż na świecie znanych jest według Plisko (32) około 250 gatunków dżdżownic, a według Pfiffnera (29) 3000 gatunków, tylko 40 występuje w Europie Środkowej (27), a około 32 w Polsce (32, 19). W glebach uprawnych Polski znajduje się zwykle od 4 do 11 gatunków (Tab. 1). Większość z nich to gatunki o szerokim zasięgu występowania i dużych zdolnościach adaptacyjnych. Do gatunków najczęstszych w Polsce należą: *Dendrobaena octaedra* (Sav.), *Lumbricus terrestris* L., *L. rubellus* Hoffm., *Aporrectodea caliginosa* (Sav.), *A. rosea* (Sav.), *Eiseniella tetraedra* (Sav.). Wiele gatunków jest rzadkich, znanych tylko z pojedynczych stanowisk (19). Bogatsze w gatunki dżdżownic są łąki i pastwiska niż gleby uprawne (Tab. 1). Według Pfiffnera (29) na 1 ha żyznej gleby użytków zielonych może występować od 1 do 3 mln dżdżownic. Obserwuje się tendencję, że gatunki o niewielkich rozmiarach występują liczebniej, niż gatunki duże (32).

Tabela 1

Występowanie dżdżownic w różnych siedliskach rolniczych w Polsce

| **Lp.** | **Nazwa gatunku** | **Gleby uprawne** | **Łąki i pastwiska** | **Ugory** |
|---|---|---|---|---|
| 1. | *L. terrestris* | + | + | + |
| 2. | *L. polyphemus* | - | + | - |
| 3. | *L. baicalensis* | - | + | - |
| 4. | *L. castaneus* | - | + | + |
| 5. | *L. rubellus* | + | + | + |
| 6. | *L. tetraedra* | + | + | + |
| 7. | *A. caliginosa* | + | + | + |
| 8. | *A. rosea* | + | + | + |
| 9. | *A. chlorotica* | + | + | + |
| 10. | *A. georgii* | + | + | - |
| 11. | *A. antipai f. tuberculata* | - | + | - |
| 12. | *E. tetraedra* | + | + | + |
| 13. | *E. foetida* | + | + | + |
| 14. | *D. octaedra* | - | + | + |
| 15. | *D. rubrida f. typica* | - | + | - |
| 16. | *D. rubrida f. subrubicunda* | + | + | + |
| 17. | *D. rubrida f. tenuis* | - | + | - |
| 18. | *D. platyura f. montana* | + | + | + |
| 18. | *D. platyura f. depressa* | - | + | |
| 20. | *O. lacteum* | + | + | + |
| 21. | *O. cyaneum* | + | - | - |
| | **ogółem** | **13** | **20** | **13** |

Źródło: opracowanie własne na podstawie Plisko, 1973 (32)

Dżdżownice można podzielić na 3 grupy ze względu na głębokość ich przemieszczania się w glebie oraz inne cechy morfologiczne i fizjologiczne (Tab. 2).

Tabela 2

Trzy ekofizjologiczne kategorie dżdżownic w klimacie umiarkowanym

| **Grupa** | **Gatunki ściółkowe** | **Gatunki drążące płytkie korytarze** | **Gatunki drążące głębokie korytarze** |
|---|---|---|---|
| **Występowanie** | Żyją blisko powierzchni gleby, gatunki epigeiczne | Żyją płytko w glebie, endogeiczne, drążą poziome systemy tuneli | Żyją w glebie, anektyczne, drążą głębokie, pionowe tunele |
| **Przykłady** | *Eisenia fetida*<br>*Lumbricus rubellus* | *Octolasion lacteum*<br>*Aporrectodea caliginosa* | *Lumbricus terrestris*<br>*Aporrectodea longa* |
| **Kolor** | Ciemny: brunatny, purpurowo-fioletowy | Blady: kremowy | Purpurowo-brunatny, zwłaszcza przednia część ciała |
| **Siedlisko** | Warstwa ściółki w środowisku łąk i lasów, także w pryzmach kompostu i obornika. Na gruntach ornych występują nielicznie. | Wierzchnia warstwa (5-40 cm), w glebach próchniczno-mineralnych. Tworzą nietrwałe, poziome tunele. Często znajdywane w strefie korzeniowej roślin. | Tworzą trwałe, pionowe tunele do głębokości kilku metrów, penetrując wszystkie warstwy gleby. Mają duże znaczenie na użytkach rolnych. |
| **Wielkość** | Małe, przeciętnie od 2 do 6 cm długości. | Średnie i małe, do 18 cm długości. | Przeważnie duże, od 15 do 45 cm długości. |
| **Odżywianie** | Odżywiają się martwą materią roślinną na powierzchni gleby | Żywią się resztkami roślinnymi w glebie | Wciągają duże fragmenty roślin do swoich tuneli |
| **Rozmnażanie** | Żywotne, produkują do 100 kokonów rocznie | Ograniczone, przeciętnie 8-12 kokonów rocznie. | Ograniczone, przeciętnie 8-12 kokonów rocznie. |
| **Okres życia** | Krótki, 1- 2 lata | Średni, 3-5 lat | Długi, 4-8 lat |
| **Wrażliwość na światło** | Mała | Duża | Zróżnicowana |

Źródło: opracowanie własne na podstawie Pfiffner (29)

Dżdżownice żyją, w zależności od gatunku, od 2 do 8 lat. Szczyt aktywności i reprodukcji w strefie klimatu umiarkowanego przypada na okresy marzec-kwiecień i wrzesień-październik. W okresie suszy i wysokich temperatur wiele dżdżownic migruje do głębszych warstw gleby, a w okresie zimy do niezamarzniętych warstw gleby, jednocześnie spowalniając metabolizm. Dżdżownice mogą przemieszczać się na pola z użytków ekologicznych, np. miedzy, sąsiadujących łąk, a *Lumbricus terrestris* może migrować na odległość nawet 20 m w ciągu roku. Nieprodukcyjne

elementy krajobrazu są szczególnie ważnym refugium dla dżdżownic, pozwalającym im przetrwać i ponownie zasiedlić sąsiadujące grunty orne (21, 29).

Dżdżownice żywią się szczątkami organicznymi głównie pochodzenia roślinnego, zmieszanymi z cząstkami gleby (32). Gatunki dużych, drążących głębokie tunele dżdżownic, takich jak *L. terrestris* w nocy żerują między innymi na glonach, które rosną na powierzchni gleby. W ciągu dnia wciągają duże fragmenty martwej roślinności, np. liście drzew do wydrążonych korytarzy w celu ich wstępnego przetrawienia przez mikroorganizmy glebowe, co trwa 2-4 tygodni.

Zawartość i rodzaj humusu w glebie jest jednym z najważniejszych czynników warunkujących występowanie dżdżownic. *L. terrestris* ma wyraźną tendencję do występowania w glebie bogatej w węgiel organiczny, podczas gdy *A. caliginiosa* występuje nawet w glebach bardzo ubogich w węgiel (33). Wszystkie gatunki wykazują selektywność pokarmową. Na gruntach ornych szczególnie preferowane są bogate w białko resztki roślin bobowatych *(Fabaceae)*. Także gatunki żyjące w glebach mineralnych koncentrują się w miejscach, gdzie zawartość materii organicznej jest większa. Dżdżownice chętnie zjadają obornik i kompost stosowane jako nawozy (32, 19). Dla dobrej kondycji dżdżownic potrzebny jest pokarm wysokiej jakości (22, 29). Zmiany ciężaru zwierzęcia, jego rozwój i osiągnięcie dojrzałości płciowej są ściśle uwarunkowane ilością i jakością pożywienia. Dżdżownice mają zdolność znoszenia dużych wahań zawartości wody w glebie, mimo to długotrwałe przesuszenia mogą zabić znaczną część ich populacji (40). Długotrwała susza może także przerwać następstwo pokoleń, co utrudni odbudowę populacji w następnym roku (34). Poprzez nabłonek skórny łatwo wymieniają one wodę ze środowiskiem, będąc ważnym jej nośnikiem w pionowej strukturze gleby (32). W przypadku zachwiania równowagi ekologicznej, wywołanego przez zmianę czynników zewnętrznych, może nastąpić odpowiednie przystosowanie się osobników lub całych populacji do nowych warunków, np. w postaci diapauzy fakultatywnej (zahamowania rozwoju), kończącej się z chwilą, gdy bodźce wywołujące ją przestają działać (32).

Znaczenie dżdżownic w rolnictwie i gospodarce człowieka jest znane od dawna. Odgrywają dużą rolę w procesie użyźniania gleb, wpływając na ich właściwości fizykochemiczne. Specyfika poruszania się dżdżownic w glebie wymaga od nich połykania i przepuszczania przez przewód pokarmowy ogromnych ilości ziemi. Dzięki temu gleba zostaje spulchniona, kanaliki ułatwiają przenikanie tlenu i wody, poprawia się struktura, wilgotność i aeracja gleby. Ponadto dżdżownice uczestniczą w przemieszczaniu warstw gleby, dzięki czemu transportują materię organiczną i składniki pokarmowe z głębszych warstw gleby do wierzchnich, zwiększając ich żyzność. Wprowadzając do swoich korytarzy martwy materiał organiczny przyspieszają jego rozkład i zamianę w próchnicę.

Dżdżownice mają zdolność wprowadzania do gleb uprawnych do 6 t martwej materii organicznej na 1 ha w ciągu roku. W glebie spotyka się nawet 900 mb korytarzy na 1 $m^2$ i 1 m głębokości gleby nieoranej. Pionowe korytarze stabilizowane przez śluz mogą mieć głębokość do 3 m w glebach lessowych i do 6 m w czarnych ziemiach. Oddziałuje to na proces infiltracji wody w glebie, ogranicza spływy powierzchniowe i erozję (29). Dżdżownice mają zdolność penetrowania nawet bardzo zbitych

i zwięzłych gleb, co poprawia ich drenaż. Korytarze wydrążone przez dżdżownice są wykorzystywane przez korzenie roślin, które dzięki temu mogą penetrować głębsze warstwy gleby.

Dzięki swym fizjologicznym zdolnościom dżdżownice zdolne są do koncentrowania w swych ekskrementach wielu składników mineralnych i organicznych, korzystnych dla wzrostu i rozwoju roślin. Ekskrementy dżdżownic (koprolity) w porównaniu z otaczającą je glebą zawierają o wiele więcej substancji organicznej, 5 razy więcej azotu, 7 razy więcej fosforu i 11 razy więcej potasu (32, 29). Gleba, która przechodzi przez układ pokarmowy dżdżownic, zostaje wzbogacona w pożyteczne mikroorganizmy wiążące wolny azot oraz aktywujące fosfor, który staje się dostępny dla roślin. Zarówno wydaliny, jak i wydzieliny (woda metaboliczna, śluz) dżdżownic zawierają stymulatory wzrostu roślin (auksyny, gibereliny i cytokiny), wpływając na jakość i wielkości plonu (35). Koprolity produkowane w ilości 40-100 $t \cdot ha^{-1} \cdot rok^{-1}$ tworzą stabilne agregaty glebowe (gruzełki), przez co pełnią rolę strukturotwórczą (29).

Dżdżownice sprzyjają zasiedleniu gleby przez pożyteczne bakterie i grzyby. Poprzez wciąganie porażonych liści do gleby, degradują patogeny i szkodniki. Natomiast zarodniki patogenów mogą przetrwać proces trawienia w przewodzie pokarmowym dżdżownic (wydalane w ekskrementach). Dżdżownice pobierają resztki organiczne o różnym stosunku C:N i przetwarzają na produkty o węższym stosunku C:N, przez co uczestniczą w sekwestracji węgla, a pośrednio przeciwdziałają zmianom klimatu (29). Wrażliwość tych organizmów na niekorzystne zmiany w agrocenozach czyni z nich dobry bioindykator dla dobrych i złych praktyk rolniczych oraz dobry wskaźnik zrównoważenia produkcji rolniczej (28).

## Wpływ zabiegów agrotechnicznych na zasiedlenie gleby przez dżdżownice

### *Uprawa roli*

Uprawa roli ma silny wpływ zarówno na liczebność, jak też skład gatunkowy dżdżownic w glebie. Spadek liczebności dżdżownic w wyniku uprawy gleby spowodowany jest najczęściej niekorzystnymi zmianami środowiska glebowego w wyniku zbyt intensywnej uprawy. Orka wykonywana pod uprawę zbóż na glebie gliniastej w Szwajcarii uszkadzała od 27% do 41% osobników oraz zabijała od 18% do 28% dżdżownic, w dodatku eksponując je na drapieżnictwo ptaków (5). Duże znaczenie ma także czas wykonania zabiegu. Orka wykonana latem, w czasie suszy jest szczególnie niekorzystna dla populacji dżdżownic. Według różnych danych od 29% do 50% osobników ginie bezpośrednio na skutek wykonania zabiegu, natomiast dodatkowe 39% na skutek przesuszenia gleby (39-40). Gatunki dżdżownic które głęboko penetrują glebę, reagują silnym spadkiem populacji w wyniku uprawy płużnej, szczególnie przy głębokiej uprawie. Z drugiej strony gatunki bytujące bliżej powierzchni gleby mogą nawet zwiększyć swoją liczebność w wyniku uprawy gleby, szczególnie jeśli do gleby trafi duża ilość materii organicznej (4). Pozostawienie gleby pozbawionej okrywy roślinnej na czas zimy może spowodować wymarzanie znacznej części populacji (19).

Głównym celem uprawy roli jest nadanie jej możliwie najkorzystniejszych właściwości produkcyjnych (fizycznych, biologicznych, chemicznych) oraz zwiększenie biologicznej aktywności gleby. Według Pfiffnera (29) uprawa pługiem odkładnicowym oraz broną talerzową powinna być stosowana tylko wtedy, kiedy jest to niezbędne, ponieważ może zniszczyć od 25 do 70% populacji dżdżownic. Należy jej unikać zwłaszcza w okresie największej wiosennej i jesiennej aktywności dżdżownic. Intensywna uprawa roli prowadzi do znacznej degradacji środowiska glebowego, co wymusza poszukiwanie nowych technik uprawy, które sprzyjają ochronie gleby i jej bioróżnorodności (14). Dżdżownice odgrywają istotną rolę szczególnie w uproszczonych systemach uprawy roli. W systemach tych, w porównaniu do tradycyjnego systemu płużnego, dżdżownice odpowiadają w większym stopniu za nadanie odpowiedniej fizycznej struktury gleby, a także za obieg składników pokarmowych (4). Według Kuntza i in. (20) stosowanie uproszczonej uprawy roli zwiększało liczebność i biomasę dżdżownic odpowiednio o 67 i 48%, a liczbę kokonów aż o 438% w porównaniu do konwencjonalnej uprawy orkowej. Wyniki badań Crittenden i in. (6) nad krótko- i długoterminowym wpływem uprawy płużnej i uproszczonej na populację dżdżownic w systemie ekologicznym i konwencjonalnym wykazały spadek liczebność dżdżownic w czasie do 3 tygodni po przeprowadzeniu jesiennego zabiegu (orki) w obu systemach gospodarowania. Populacja dżdżownic została jednak odbudowana już wiosną następnego roku i nie obserwowano statystycznie istotnych różnic między systemem płużnym a uproszczonym.

*Stosowanie pestycydów*

Stosowanie pestycydów oddziałuje na dżdżownice w trojaki sposób: wpływa na ekspresję genów i procesy fizjologiczne, zmniejsza liczebność populacji, powoduje zmiany w biomasie. Pestycydy mogą zakłócać procesy enzymatyczne, zwiększać śmiertelność osobników, zmniejszać płodność i wzrost lub powodować zmiany w zachowaniu, np. w procesie odżywiania, wpływając na zmniejszenie liczebności i biomasy osobników Pfiffner (29) .

Dżdżownice głęboko penetrujące glebę, jak *Lumbricus terrestris,* są bardziej wrażliwe na pestycydy stosowane na powierzchni gleby. Gatunek ten formuje stałe korytarze w glebie, nie wchodzi w kontakt z podpowierzchniową warstwą gleby. Natomiast endogeniczne gatunki dżdżownic, penetrujące glebę średnio głęboko, np. *A. caliginosa*, stale powiększające zasięg swoich korytarzy, są bardziej narażone na pestycydy obecne w glebie (29). Według badań Irmlera (17) zmiana sposobu gospodarowania z konwencjonalnego na ekologiczny wpłynęła pozytywnie głównie na gatunki tworzące głębokie tunele, takie jak *L. terrestris.* Na gatunki drążące płytkie, poziome tunele, takie jak *A. caliginiosa* i *A. rosea* zmiana systemu produkcji rolnej nie wpłynęła znacząco.

Większość herbicydów prawdopodobnie nie zabija dżdżownic bezpośrednio. Jeśli są one stosowane w zalecanych dawkach, wykazują małą toksyczność. Mogą jednak ograniczać liczebność populacji dżdżownic przez zmniejszanie liczebności chwastów, a przez to dostępności materii organicznej na powierzchni gleby (29).

Według niektórych autorów fauna glebowa jest bardziej zagrożona stosowaniem insektycydów niż herbicydów. Substancje aktywne, takie jak karbofuran, forat i terbufos, stosowane do zwalczania szkodników żyjących w glebie są także wyjątkowo toksyczne wobec dżdżownic (Tomlin i Gore cyt. za McLaughlin i Mineau (26)).

*Nawożenie*

Niektóre nawozy mineralne, szczególnie siarczan amonu, mogą wpływać szkodliwie na populacje dżdżownic, prawdopodobnie ze względu na efekt zakwaszający (29). Stwierdzono, że grunty nawożone nawozami organicznymi cechują się wyższą aktywnością mikroorganizmów (2). Co więcej, stosowanie obornika zwiększa zarówno liczebność, jak też biomasę dżdżownic w glebach gruntów ornych (8). Potwierdzają to badania Pfiffnera i Madera (30), które wykazały, że na polach konwencjonalnych, gdzie stosowano nawożenie mineralne i integrowaną ochronę roślin, liczebność i biomasa dżdżownic były o około 40% mniejsze w porównaniu do obiektów, w których stosowano nawożenie mineralno-organiczne i integrowaną ochronę roślin. Natomiast w systemie ekologicznym (nawożenie organiczne i wykluczenie syntetycznych pestycydów) liczebność dżdżownic była dodatkowo o 80% większa, a biomasa o 40% większa w porównaniu do obiektu z nawożeniem mineralno-organicznym i integrowaną ochroną roślin.

Lekko rozłożony kompost zawiera więcej pokarmu dla dżdżownic i jest lepszy dla nich niż dojrzały kompost. Zaleca się, aby nawozy organiczne były płytko przyorywane. Głęboko przyorane są szkodliwe dla dżdżownic, ponieważ mogą wystąpić tam warunki beztlenowe (29).

Amoniak w płynnych nawozach naturalnych jest szkodliwy dla dżdżownic, zwłaszcza żyjących na powierzchni gleby, dlatego nawozy te powinny być wymieszane (a przez to napowietrzone) i rozcieńczone przed zastosowaniem. Nie należy przekraczać dawki 25 $m^3$ na 1 ha. Rolnicy powinni dbać także o odpowiedni odczyn gleby, w razie potrzeby przeprowadzając wapnowanie, ponieważ pH gleby poniżej 5,5 jest szkodliwe dla dżdżownic (29).

*Zmianowanie*

Urozmaicone zmianowanie, z udziałem roślin głęboko korzeniących się i międzyplonów, w tym koniczyny, sprzyja zasiedleniu gleby przez dżdżownice (fot. 1). Według Schmidt i Curry (34) po okresie dwuletniej uprawy traw z koniczyną na gruntach ornych populacja dżdżownic osiągnęła liczebność i skład gatunkowy taki, jak na naturalnych łąkach. Podobne działanie ma pozostawianie resztek roślinnych na polu, szczególnie w okresie zimy i mulczowanie (29, 34). Resztki pożniwne są istotnym źródłem substancji organicznej, wpływają też na właściwości mikroklimatyczne gleby. Gleby, na których stosuje się mulczowanie, charakteryzują się liczniejszymi populacjami dżdżownic żerujących blisko powierzchni gleby. Dodatkowo gleby takie są bardziej odporne na zamarzanie niż gleby pozbawione okrywy z resztek roślinnych, co ma wpływ na śmiertelność dżdżownic w okresach zamarzania gleby (7, 17, 37).

Fot. 1. Koniczyny z trawami sprzyjają występowaniu dżdżownic
Źródło: fot. Beata Feledyn-Szewczyk

## Wpływ różnych systemów produkcji rolnej na występowanie dżdżownic

Według Pfiffnera (29) w Europie Środkowej za zadowalające zasiedlenie dżdżownic w glebie ornej przyjmuje się około 120-140 dżdżownic na 1 $m^2$. W badaniach własnych prowadzonych w roślinach uprawianych w różnych systemach produkcji rolnej zarejestrowano mniejszą liczbę dżdżownic w warstwie ornej gleby, przy czym zawierała się ona w szerokim przedziale od 96 szt.$\cdot m^{-2}$ w systemie ekologicznym do 8 szt.$\cdot m^{-2}$ w miskancie uprawianym na cele energetyczne (Tab. 3, Rys.1).

Doświadczenie prowadzone było w Stacji Doświadczalnej IUNG-PIB w Osinach (woj. lubelskie) (51°28' N, 22°04' E), na glebie płowej wytworzonej z piasku gliniastego, o odczynie lekko kwaśnym ($pH_{KCl}$ = 5,6), średniej zawartości fosforu (43, 6 mg $\cdot$ $kg^{-1}$ P), niskim poziomie potasu (63,1 mg $\cdot$ $kg^{-1}$ K) i zawartości próchnicy 1,6%. Powierzchnia każdego pola pszenicy ozimej wynosiła 1 ha, a roślin wieloletnich na cele energetyczne - 200-700 $m^2$.

Ocena występowania dżdżownic została przeprowadzona w kwietniu 2014 i 2015 roku. Na każdym polu wykopano po 5 bloków gleby o wielkości 25 cm x 25 cm x 25 cm. Gleba została rozłożona na arkuszu foliowym. Dżdżownice były ręcznie wybierane z gleby, transportowane do laboratorium, liczone, myte na sicie i ważone. Liczbę i świeżą masę dżdżownic przeliczono na 1 $m^2$.

Tabela 3

Zabiegi agrotechniczne w pszenicy ozimej uprawianej w różnych systemach produkcji rolnej (1996-2015) i roślinach uprawianych na cele energetyczne (2004-2015)

| Wyszczególnienie | Systemy produkcji rolnej | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Ekologiczny | Integrowany | Konwencjonalny | Konwencjonalny monokultura | Rośliny na cele energetyczne |
| Rośliny uprawne | zmianowanie: ziemniak pszenica jara + wsiewka koniczyn z trawami (1 rok) koniczyny z trawami (2 rok) pszenica ozima | zmianowanie: ziemniak pszenica jara+ międzyplon bobik lub łubin pszenica ozima | zmianowanie: rzepak pszenica ozima pszenica jara | pszenica ozima (od 1994) | wierzba miskant ślazowiec pensylwański |
| Nawożenie organiczne | kompost (30 t·ha$^{-1}$) pod ziemniak + międzyplon | kompost (30 t·ha$^{-1}$) pod ziemniak + 2 × międzyplon | słoma rzepaku, słoma pszenicy ozimej | słoma pszenicy ozimej (co 2 lata) | - |
| Nawożenie mineralne (kg·ha$^{-1}$) | Dozwolone nawozy fosforowe i potasowe: 75 kg $K_2O$, 42 kg $P_2O_5$ | NPK (85+55+65) | NPK (140+60+80) | | NPK (80+60+80) |
| Fungicydy | - | 2 x | 2 – 3 x | | - |
| Retardanty | - | 1 – 2 x | 2 x | | - |
| Regulacja zachwaszczenia | brona chwastownik 2-3 x | brona chwastownik 1x herbicydy 1-2 x | herbicydy 2-3 x | | - |

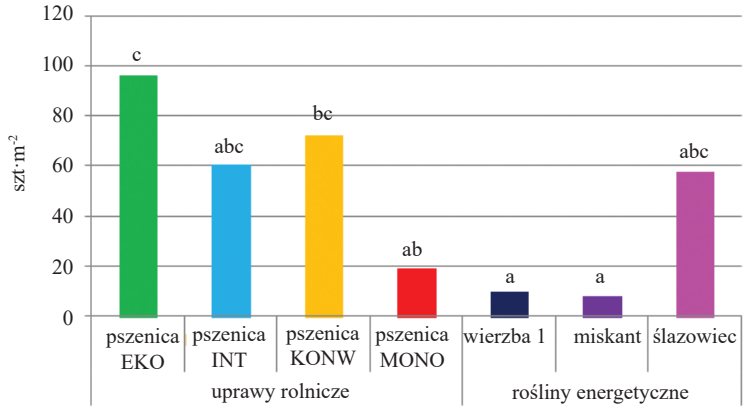
Źródło: opracowanie własne

Wyniki badań własnych (11) oraz zagranicznych (31) wykazały, że system ekologiczny sprzyja większej liczebności i biomasie dżdżownic w porównaniu do systemu konwencjonalnego i integrowanego (różnice na korzyść systemu ekologicznego od 25 do 79%) (Rys.1 A-B i 2). W pszenicy ozimej uprawianej w warunkach Polski w systemie ekologicznym stwierdzono około 5 razy większą liczbę i biomasę dżdżownic w porównaniu do wieloletniej monokultury pszenicy ozimej (Rys. 1 A i B).

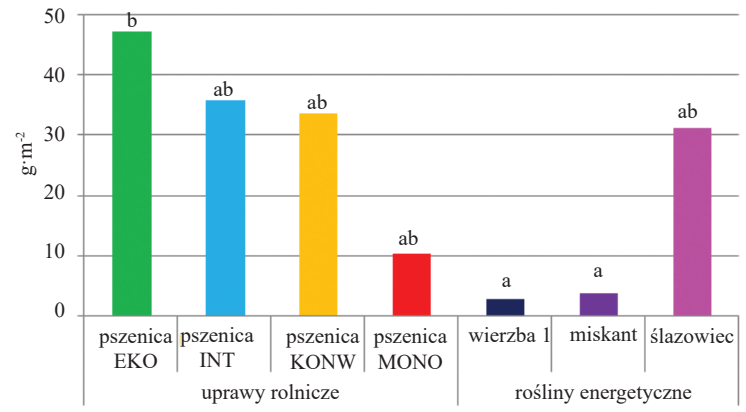
W konwencjonalnym systemie gospodarowania z uproszczoną uprawą roli średnia liczebność dżdżownic (153 osobniki·m$^{-2}$) nie różniła się istotnie od uprawy płużnej (130 osobników·m$^{-2}$). Z drugiej strony, w systemie ekologicznym całkowita liczebność dżdżownic była o około 45% mniejsza w warunkach uproszczonej uprawy gleby (297 szt.·m$^{-2}$) niż w przypadku uprawy płużnej (430 osobników·m$^{-2}$). Różnice te wynikały prawdopodobnie ze zwiększonej dostępności przyorywanej materii organicznej w systemie płużnym w porównaniu do systemu uproszczonego (6).

Zagęszczenie dżdżownic w roślinach wieloletnich uprawianych na cele energetyczne zależało od gatunku uprawianych roślin (Rys. 1A).

A – liczba dżdżownic




B – biomasa dżdżownic

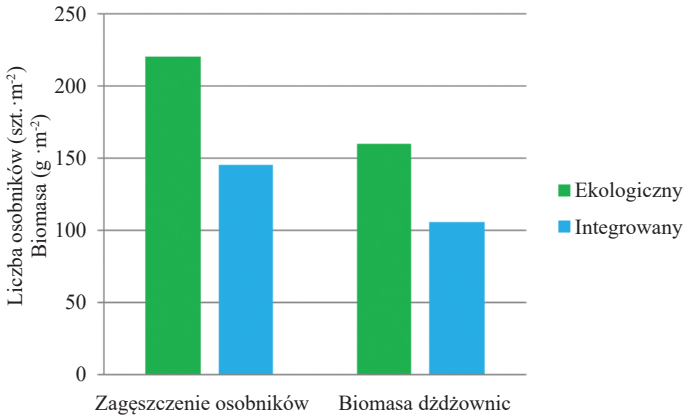



Rys. 1. Zagęszczenie (A) i biomasa (B) dżdżownic w roślinach uprawianych w różnych systemach produkcji rolnej (średnia z lat 2014-2015)

(EKO – system ekologiczny, INT – system integrowany, KONW – system konwencjonalny, MONO – monokultura pszenicy ozimej, wierzba 1 – wierzba zbierana co roku)

Źródło: Feledyn-Szewczyk i Stalenga, 2016 (11)

Wskaźniki bioróżnorodności dżdżownic były 10 razy mniejsze w glebie pod uprawą wierzby i miskanta w porównaniu do zbóż w systemie ekologicznym, co wskazuje, że uprawa takich roślin może negatywnie wpłynąć na niektóre usługi ekosystemowe związane z funkcjami produkcyjnymi i retencyjnymi gleby. Korzystniejszą ocenę wpływu miskanta na występowanie dżdżownic pokazują wyniki badań Felten i Emmerlinga (12), w których bioróżnorodność dżdżownic w uprawie miskanta była pośrednia między intensywnie uprawianym rzepakiem, zbożami i kukurydzą, a łąkami i gruntami odłogowanymi i nie różniła się istotnie od tych obiektów. Całkowita liczebność dżdżownic wahała się od 62 (±49) osobników na 1 $m^2$ w kukurydzy do 355 (±132) osobników na 1 $m^2$ w gruntach odłogowanych.




Rys. 2. Oddziaływanie systemu produkcji na liczebność i biomasę dżdżownic w uprawie zbóż
Źródło: Pfiffner i Luka, 2007 (31)

Według autorów tych badań uprawa miskanta może sprzyjać tworzeniu się zróżnicowanych zbiorowisk fauny glebowej nawet w glebach intensywnie użytkowanych. Badania Hedde i in. (15) wykazały, że zmiana użytkowania gruntów z uprawy roślin jednorocznych na wieloletnie rośliny energetyczne powodowała zwiększenie liczebności bezkręgowców w glebie, co może być spowodowane mniejszą ilością stosowanych syntetycznych nawozów mineralnych i chemicznych środków ochrony roślin, przy czym nie zaobserwowano znaczących zmian bogactwa i składu gatunkowego badanych bezkręgowców.

Spośród wieloletnich roślin energetycznych największą liczbę i biomasę dżdżownic zaobserwowano w ślazowcu pensylwańskim (Rys. 1). Uprawa wieloletnich roślin na cele energetyczne może ponadto wpływać pozytywnie na sekwestrację dwutlenku węgla i ochronę gleby przed erozją (10).

Badania innych autorów potwierdzają, że intensywne rolnictwo powoduje zmniejszenie różnorodności biologicznej różnych grup organizmów: mikroorganizmów glebowych, chwastów, dżdżownic, owadów, pająków, ptaków i ssaków (9, 13, 16, 38) co może mieć wpływ na ważne świadczenia ekosystemów: funkcje gleby, obieg składników pokarmowych, biologiczną ochronę roślin, zapylanie i inne (23).

Jednym z celów zrównoważonego rolnictwa jest ochrona bioróżnorodności funkcjonalnej krajobrazu rolniczego (1). Poszukiwanie wydajnego, a jednocześnie niskonakładowego, zróżnicowanego i zrównoważonego systemu gospodarowania rolniczego jest obecnie ważnym zadaniem rolników, naukowców i polityków (2). Właściwe sterowanie bioróżnorodnością ekosystemów rolniczych, z uwzględnieniem dostarczanych przez nią usług ekosystemowych, prowadzi do stworzenia samoregulującego się agroekosystemu, w którym żyzność i jakość gleby, ale także produktywność roślin utrzymywane są stale na wysokim poziomie. Bioróżnorodność może być wspierana przez właściwy płodozmian, siew roślin

okrywowych oraz międzyplonów, wdrożenie idei agroleśnictwa itp. Utrzymanie wysokiej bioróżnorodności leży u podstaw skutecznej biologicznej ochrony upraw przed szkodnikami oraz chorobami, przyczynia się do poprawy obiegu składników pokarmowych, a także jest podstawą ochrony jakości gleby dzięki wspomaganiu różnorodności organizmów glebowych, w tym dżdżownic.

## Podsumowanie

Dżdżownice są bardzo ważną grupą organizmów glebowych, które w wieloraki sposób oddziałują na jakość gleby. System produkcji rolnej może sprzyjać bioróżnorodności i zasiedleniu gleby przez dżdżownice lub ograniczać populacje tych organizmów. Badania wykazały, że różne systemy rolnicze (ekologiczny, konwencjonalny, integrowany, rośliny energetyczne) w odmienny sposób oddziałują na różnorodność biologiczną dżdżownic. System ekologiczny w większym stopniu sprzyja zachowaniu bioróżnorodności niż system konwencjonalny i integrowany i może zwiększać poziom usług ekosystemowych niezbędnych dla człowieka (utrzymanie prawidłowej struktury gleby, obieg składników pokarmowych, ograniczenie erozji, biologiczna ochrona upraw). Bioróżnorodność gleb zajętych pod uprawę roślin wieloletnich wykorzystywanych na cele energetyczne zależy od uprawianego gatunku. W badaniach własnych wierzba i miskant miały negatywny wpływ na liczebność i biomasę dżdżownic, co może ograniczać funkcje produkcyjne i retencyjne gleby, ale sprzyja sekwestracji dwutlenku węgla i ochronie gleby przed erozją.

Praktyki rolnicze sprzyjające występowaniu dżdżownic to: dostarczanie odpowiedniej ilości pokarmu roślinnego, odejście od stosowania pestycydów szkodliwych dla dżdżownic, stosowanie konserwujących systemów uprawy roli, jak uprawa uproszczona i zerowa, przeciwdziałanie zagęszczeniu gleby, stosowanie zbilansowanego nawożenia z udziałem nawozów organicznych i naturalnych, odpowiednie zmianowanie dostarczające do gleby dużo materii organicznej.

Bogactwo dżdżownic jest kluczem do poprawnego gospodarowania glebą, utrzymania jej wysokiej jakości, zabezpieczenia przed degradacją i sprzyja świadczeniu przez glebę różnych usług ekosystemowych niezbędnych dla zdrowia i gospodarki człowieka.

## Literatura:

1. Altieri M. A. Biodiversity and Pest Management in Agroecosystems. Haworth Press, New York, 1994, ss. 185.
2. Altieri M.A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. Agriculture, Ecosystems and Environment, 1999, **74**: 19-31.
3. Blouin M., Hodson M.E., Delgado E.A., Baker G., Brussaard L., Butt K.R., Dai J., Dendooven L., Peres G., Tondoh J.E., Cluzeau D., Brun J.-J. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. European Journal of Soil Science 2013, **64**: 161-182.
4. Chan, K.Y.,. An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity—implications for functioning in soils. Soil and Tillage Research, 2001, **57(4)**: 179-191.

5. Cuendet G. Predation on earthworms by the Black-headed gull (*Larus ridibundus* L.). Za: Satchell, J.E. (ed) Earthworm ecology: From Darwin to vermiculture. Chapman and Hall, London, 1983: 415-424.
6. Crittenden S.J., Eswaramurthy T., De Goede R.G.M., Brussaard L. and Pulleman M.M. Effect of tillage on earthworms over short- and medium-term in conventional and organic farming. Applied Soil Ecology, 2014, **83**: 140-148.
7. Davies N. A Guide to the Study of Soil Ecology. Andrews, William A. (Ed.), Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1973, ss. 198.
8. Doran J.W., Werner M.R. Management and soil biology. In: Francis, C.A., Flora, C.B., King, L.D. (Eds.), Sustainable Agriculture in Temperate Zones. Wiley, New York, 1990: 205–230.
9. Ewald J.A., Aebischer N.J. Pesticide use, avian food resources and bird densities in Sussex. Joint Nature Conservation Committee, Peterborough, JNCC Report, 1999, **296**, ss. 71.
10. Faber A. Przyrodnicze skutki uprawy roślin energetycznych. Studia i Raporty IUNG-PIB, Puławy 2008, **11**: 43-54.
11. Feledyn-Szewczyk B., Stalenga J. Biodiversity as an ecosystem service and methods of its evaluation. Intercathedra 2016, **32/1**: 14-24.
12. Felten D., Emmerling Ch. Effects of bioenergy crop cultivation on earthworm communities – A comparative study of perennial (Miscanthus) and annual crops with consideration of graded land-use intensity. Applied Soil Ecology, 2011, **49**: 167-177.
13. Flohre A., Rudnick M., Traser G., Tscharntke T., Eggers T. Does soil biota benefit from organic farming in complex vs. simple landscape? Agriculture, Ecosystems & Environment, 2011, **141(1-2)**: 210-214.
14. Gałązka A., Łyszcz M., Abramczyk B., Furtak K., Grządziel J., Czaban J., Pikulicka A. Bioróżnorodność środowiska glebowego - przegląd parametrów i metod w analizach różnorodności biologicznej gleby. Monografie i rozprawy naukowe, Wyd. IUNG-PIB, Puławy, 2016, **49**, ss. 100.
15. Hedde, M., van Oort, F., Renouf, E., Thénard, J. and Lamy, I. Dynamics of soil fauna after plantation of perennial energy crops on polluted soils. Applied soil ecology, 2013, **66**, 29-39.
16. Hyvönen, T., Ketoja, E., Salonen, J., Jalli, H. and Tiainen, J. Weed species diversity and community composition in organic and conventional cropping of spring cereals. Agriculture, ecosystems & environment, 2003, **97(1)**: 131-149.
17. Irmler, U. Changes in earthworm populations during conversion from conventional to organic farming. Agriculture, ecosystems & environment, 2010, **135(3)**: 194-198.
18. Karlen, D.L., Mausbach, M.J., Doran, J.W., Cline, R.G., Harris, R.F. and Schuman, G.E. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation (a guest editorial). Soil Science Society of America Journal, 1997, **61(1)**: 4-10.
19. Kasprzak K. Skomposzczety glebowe, III. Rodzina: dżdżownice (Lumbricidae). Klucze do oznaczania bezkręgowców Polski. Tom 6, Wyd. PAN, Instytut Zoologii, Warszawa 1986, ss. 186.
20. Kuntz M., Berner A., Gattinger A., Mader P., Pfiffner L. Influence of reduced tillage on earthworm and microbial communities under organic arable farming. Pedobiologia, 2013, **56:** 251-260.
21. Lagerlöf, J., Goffre, B., & Vincent, C.. The importance of field boundaries for earthworms (*Lumbricidae*) in the Swedish agricultural landscape. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2002, **89(1)**: 91-103.
22. Lee K.E. Earthworms. Their ecology and relations with soils and land use. Academic Press, Sydney, 1985, ss. 410.
23. Mace G.M., Norris K., Fitter A.H. Biodiversity and ecosystem services: a multilayered relationship. Trends in Ecology and Evolution, 2012, **27(1)**: 19-26.
24. Makulec G. Biologia, ekologia i wpływ dżdżownic na urodzajność gleby. W: Fauna gleb użytkowanych rolniczo a ich urodzajność (red. J. Tyburski, G. Makulec). UWM w Olsztynie, 2013: 35-68.
25. Makulec G., Ilieva-Makulec K. Ogólna charakterystyka fauny glebowej. W: Fauna gleb użytkowanych rolniczo a ich urodzajność (red. J. Tyburski, G. Makulec). UWM w Olsztynie, 2013: 10-34.

26. McLaughlin A., Mineau P. The impact of agricultural practices on biodiversity. Agriculture, Ecosystems and Environment, 1995, **55**: 201-212
27. Paluszek J. Kryteria oceny jakości fizycznej gleb uprawnych Polski. Rozprawy i Monografie, Wyd. Instytut Agrofizyki PAN, Lublin, 2011, **2**, ss. 139.
28. Paoletti, M. G. The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. Agriculture, Ecosystems & Environment, 1999, **74(1)**: 137-155.
29. Pfiffner L. Earthworms – architects of fertile soils. Their significance and recommendations for their promotion in agriculture. Technical Guide on Earthworms, Order no 1629, international edition, Wyd. Research Institute of Organic Agriculture, FIBL, Szwajcaria and TILMAN-ORG project Consortium, 2014, ss. 9. https://shop.fibl.org/chde/mwdownloads/download/link/id/624/ (dostęp 21.07.2017)
30. Pfiffner L., Mader P. Effects of biodynamic, organic and conventional systems on earthworm populations. Biological Agriculture and Horticulture, 1997, **15:** 3-10.
31. Pfiffner L., Luka H. Earthworm populations in two low-input cereal farming systems. Applied Soil Ecology, 2007, **37**: 184-191.
32. Plisko J. D. Lumbricidae. Dżdżownice (Annelida: Oligochaeta). Fauna Polski, Nr 1, Wyd. PAN, Instytut Zoologiczny, 1973, ss. 156.
33. Poier K. R., Richter J. Spatial distribution of earthworms and soil properties in an arable loess soil. Soil Biology and Biochemistry, 1992, **24(12)**: 1601-1608.
34. Schmidt O., Curry J. P. Population dynamics of earthworms (*Lumbricidae*) and their role in nitrogen turnover in wheat and wheat clover cropping systems. Pedobiologia, 2001, **45(2)**: 174-187.
35. Sinha, R. K., Valani, D., Chauhan, K., & Agarwal, S. Embarking on a second green revolution for sustainable agriculture by vermiculture biotechnology using earthworms: reviving the dreams of Sir Charles Darwin. Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development, 2010, **2(7)**: 113-128.
36. Stalenga i in. Kodeks dobrych praktyk rolniczych sprzyjających bioróżnorodności. Monografia. Wyd. II popr., IUNG-PIB, Puławy, 2016, ss. 293.
37. Teotia, S. P., Duley, F. L., & McCalla, T. M. Effect of stubble mulching on number and activity of earthworms. Historical Research Bulletins of the Nebraska Agricultural Experiment Station (1913-1993). 1950, **165:** 1-20.
38. Urmler U. Changes in earthworm populations during conversion from conventional to organic farming. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2010, **135(3)**: 194-198.
39. Westernacher-Dotzler, E. Earthworms in arable land taken out of cultivation. Soil Biology and Biochemistry, 1992, **24**: 1673-1675.
40. Zicsi, A. Einfluß der Trockenheit und der Bodenbearbeitung auf das Leben der Regenwürmer in Ackerböden. Acta Agronomica Academiae Scientiarum Hungaricae, 1958, **8**: 67-75.

Adres do korespondencji:

*dr hab. Beata Feledyn-Szewczyk, prof. nadzw.*
*Zakład Systemów i Ekonomiki Produkcji Roślinnej*
*IUNG-PIB*
*ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy*
*tel. 81 47 86 803*
*e-mail: bszewczyk@iung.pulawy.pl*

**S T U D I A I R A P O R T Y IUNG-PIB**

**ZESZYT 54(8)**: 73-82 **2017**

**Karol Abramczyk, Anna Gałązka**

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

# PAŁECZKI *SALMONELLA* I *ESCHERICHIA COLI* JAKO REALNE ZAGROŻENIE ZDROWIA LUDZI ORAZ JAKOŚCI GLEBY*

**Słowa kluczowe:** bakterie, *Salmonella*, *Escherichia coli*, zagrożenie zdrowia

## Wstęp

Zachowanie właściwych relacji pomiędzy środowiskiem zwierzętami a człowiekiem jest rzeczą kluczową dla zachowania poprawnej homeostazy w środowisku. Współistnienie zwierząt i człowieka w środowisku oraz ich wzajemne zależności stwarzają potencjalne zagrożenie dla zdrowia. Duży problem stanowią choroby przenoszone ze zwierząt na człowieka (zoonozy). Powietrze, woda oraz gleba są w znaczący sposób zanieczyszczone przez rozwój przemysłu i intensyfikację rolnictwa. Zakażenia mikrobiologiczne w organizmach zwierząt przekładają się na skażenie żywności (11, 26, 28). Zanieczyszczone środowisko i skażona żywność są źródłem bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. Niektóre z nich stanowią naturalną florę bakteryjną przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt (48). Mogą one stanowić jednocześnie poważne zagrożenie zdrowia i powodować występowanie groźnych chorób ludzi i zwierząt.

Celem artykułu jest charakterystyka pałeczek *Salmonella* spp. i *Escherichia coli* z rodziny *Enterobakteriacae* jako realnego zagrożenia zdrowia ludzi i zwierząt. Z uwagi na znaczną patogenność w stosunku do zwierząt i ludzi istnieje potrzeba stałego monitoringu pałeczek *Salmonella* i *E. coli* w poszczególnych komponentach środowiska oraz ich szybka identyfikacja.

* Opracowanie wykonano w ramach zadania 1.4 w programie wieloletnim IUNG-PIB.

## Pałeczki *Salmonella*

Naturalnym rezerwuarem bakterii z rodzaju *Salmonella* jest gleba, nawozy, zwierzęta dzikie (gryzonie, ptactwo) i domowe (psy, koty) a także ludzie chorzy lub nosiciele (17). *Salmonella* należy do Gram ujemnych (G-), względnie beztlenowych, nieruchliwych pałeczek, nie wytwarzających przetrwalników (5). Rodzaj *Salmonella* obejmuje dwa gatunki *S. bongori* i *S. enterica* (23, 54).Najważniejszą rolę w przenoszeniu bakterii *Salmonella* pełni gleba. Mimo, że w 1 g świeżej, żyznej gleby może znajdować kilka miliardów bakterii (29) to obecnie znanych jest tylko 12% gatunków bakterii występujących w środowisku naturalnym (14, 30). *Salmonella* może przedostawać się do gleby wraz ze ciekami bytowo-gospodarczymi, wodami powierzchniowymi oraz szczątkami organizmów (61). Ponadto ważną rolę w transmisji pałeczek *Salmonella* mają gleby nawożone nawozami organicznymi (obornik, gnojowica); (21, 43 59).Zagrożenie dla gleby stwarzają także ścieki, osady ściekowe i nawozy na bazie osadów ściekowych, które również mogą zawierać pałeczki *Salmonella* (25). Mimo tego, że gleba dla bakterii *Salmonella* nie jest optymalnym środowiskiem bytowania, to pałeczki te mogą się w niej swobodnie namnażać (33).

*Salmonella* jest mikroorganizmem stosunkowo odpornym na warunki środowiska (55).Według literatury, przeżywalność pałeczek *Salmonella*w glebie waha się od 6 do ponad 500 dni, co stwarza realne ryzyko skażenia roślin rolniczych, a tym samym może prowadzić do wywołania chorób u ludzi. Ponadto w dogodnych warunkach, bakterie te mogą migrować w głąb gleby i do wód gruntowych tworząc kolejne źródło potencjalnego zagrożenia (27, 31, 35). Żywotność *Salmonelli* tak jak innych bakterii jelitowych zależy w środowisku od wielu czynników i są to przede wszystkim: dostępności substancji odżywczej (materia organiczna), obecność glebowych mikroorganizmów autochtonicznych, temperatury, wilgotności, pory roku, nasłonecznienia, odczynu oraz struktury i typu gleby (60) a także od obecności w glebie mikroorganizmów antagonistycznych np. *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa,* grzybów i pierwotniaków (26).

## *Salmonella* jako czynnik etiologiczny choroby u ludzi

Duże zagrożenie dla zdrowia mogą powodować bakterie naturalnie bytujące w przewodzie pokarmowym zwierząt i ludzi, które są następnie wydalane z kałem. W kale może znajdować ogromna ilość różnego typu mikroorganizmów (48). Do zakażenia u ludzi może dochodzić przez zjedzenie produktów mięsnych, ciast, deserów lecz najbardziej niebezpieczne w wywoływaniu infekcji są niedogotowane lub surowe jaja (49).Głównym powodem zatruć pokarmowych wśród ludzi są bakterie *Salmonella*, a następnie *Escherichia coli* (20). W Polsce (1993-2000), zarejestrowane ogniska zatruć pokarmowych pałeczkami *Salmonella* stanowiły 89,4% ogólnej liczby zatruć. W przypadku zakażenia pałeczką *Salmonella* bakteria ta może powodować m. in. ostre zapalenie jelit, dur brzuszny (*Salmonella Typhi*), dur rzekomy (*Salmonella ParaTyphi*

A, B i C), bakteriemię i posocznicę. *Salmonella* może wywoływać także zakażenia skóry, układu moczowego, oddechowego, powodować ropnie narządów (16, 56).

Postać kliniczna salmonellozy u ludzi to najczęściej ostre zatrucie pokarmowe, schorzenia jelitowe lub nieżyt żołądkowo-jelitowy. Objawy kliniczne to zazwyczaj: ból brzucha, nudności, wymioty i gorączka (18). Często może dochodzić do odwodnienia organizmu lub zakażeń układowych, szczególnie w przypadku niemowląt i osób starszych (18). Rzadziej występującymi postaciami salmonellozy jest zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie stawów, ropnie czy posocznica. Postacie te diagnozowane są u 5,2% ludzi mających bezpośredni kontakt z chorymi (50).

Szczególnie niebezpieczne są pałeczki *Salmonella* wywołujące zakażenia szpitalne. Wśród nich groźne są szczepy m. in.*Salmonell*a *Enteritidis*i *Salmonella Infantis*, które są często odporne na leki przeciwbakteryjne (26).Aktualnie w Polsce notuje się spadek liczby zakażeń wśród ludzi a najliczniejszym izolowanym serowarem pozostaje *Salmonella Enteritidis* (40).Każdego roku odnotowuje się około 1,3 mld chorób wywołanych bakteriami z rodzaju*Salmonella*, z czego około 3 mln przypadków kończy się zgonem (32). Mimo tego, że liczba zachorowań wśród ludzi w Polsce od 2000 r. sukcesywnie spada to sytuacja epidemiologiczna salmonelloz nie jest zadawalająca i wymaga dalszego monitorowania (26).

## ***Salmonella*jako czynnik etiologiczny choroby u zwierząt**

Potencjalne źródło zakażenia może dla zwierząt stanowić pochodząca z pastwisk gleba zanieczyszczona odchodami, a także ściekami, osadami ściekowymi czy gnojowicą (25). Ponad 66% wszystkich zidentyfikowanych szczepów *Salmonella* i 99% serowarów odpowiedzialnych za choroby u zwierząt stałocieplnych należy do podgatunku I *Salmonella entericasubsp. enterica* (7).

Wybrane serotypy bakterii *Salmonella* są przypisane do konkretnych gatunków zwierząt np. *S. Dublin* do bydła, *S. Choleraesuis*do trzody chlewnej, *S. Gallinarum*i *S. Pullorum*do drobiu (26).Jak podaje (26) w Szkocji wśród wszystkich notowanych przypadków salmonellozy u zwierząt aż 73,1% stanowiła *Salmonella Typhimurium* DT104 występująca u bydła. W przypadku wystąpienia choroby u bydła mogły występować biegunka, ronienia i padnięcia cieląt (26). Rezerwuarem zarazków i potencjalnym zagrożeniem dla zdrowia są także dziko żyjące ptaki przebywające na fermach gdzie wystąpiły przypadki chorych zwierząt. Badania przeprowadzone na lisach w Norwegii dowiodły, że zwierzęta te poprzez zjadanie drobnych ptaków zakażonych *Salmonella Typhimurium* mogą być wskaźnikiem lokalnego skażenia środowiska przez te szczepy bakterii (36).

Najważniejszym rezerwuarem odzwierzęcej pałeczki *Salmonella* jest jednak drób (41, 54). Nosicielami pałeczek *Salmonella* może być drób domowy (głównie kury) jak i ptactwo ozdobne oraz dzikie (38). *Salmonella Enteritidis,* która dominuje wśród wszystkich serotypów ma zdolność zakażania jajników przez co zarazki przenoszą się także na jaja (34). Zakażone jaja mogą być źródłem choroby dla piskląt. Monitoringiem

ochronnym pod względem salmonellozy są objęte w Polsce także stada gęsi, indyków i kaczek. Oprócz tego badane są pasze dla zwierząt i produkty mleczne, głównie sery (34). Jak podaje Bernard i in. (2) nosicielami pałeczek Salmonella są także płazy i gady (żółwie, jaszczurki, węże, gekony, iguany). Zwierzęta te są chętnie hodowane w prywatnych domach i mogą stać się dodatkowym źródłem zakażenia dla ludzi. Już 1946 roku notowano przypadki Salmonellozy u żółwi pochodzących z Galapagos (37). Obecnie dużą rolę w przenoszeniu tej choroby mają chętnie hodowane w Polsce żółwie słodkowodne (36).W Polsce notowano także zakażenia u kotów(47). W przypadku kotów nawet po ustąpieniu objawów ze strony układu pokarmowego zwierzęta te mogą jeszcze przez dwa tygodnie wydalać zarazki *Salmonella* wraz z kałem, natomiast pałeczki *Salmonella* mogą pozostawać w jamie ustnej, migdałach i węzłach chłonnych kotów (26).

Na uwagę zasługuje to, że zarówno w przypadku ludzi jak i zwierząt zakażenie pałeczkami *Salmonella* może przebiegać bezobjawowo z utajoną infekcją. Zakażone organizmy stają się nosicielami a zanieczyszczając środowisko swoimi wydalinami stwarzają dodatkowe zagrożenie (4, 26).

## Identysfikacja i diadnostyka pałeczek *Salmonella*

Najczęściej występującym serotypem wywołującym choroby w Polsce i Europie jest *Salmonella Enteritidis*. W związku z pojawianiem się każdego roku nowych serotypów zarazków, które należy szybko identyfikować konieczne jest stosowanie w tym celu różnych metod. Jedną z metod identyfikacji pałeczek *Salmonella* są testy lateksowe - Lateks *Salmonella* (LS) służące do oznaczania grupowych antygenów bakterii *Salmonella* w mieszanych hodowlach bakteryjnych na podłożu SF i w czystych hodowlanym podłożu stałym (12). Jedną z najszybszych metod diagnostycznych pałeczek *Salmonella* jest technika PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pozwalająca na szybkie zidentyfikowanie pałeczek z rodzaju *Salmonella* (42).

## Pałeczki *Escherichia. coli*

Pałeczka okrężnicy *Escherichia coli* została odkryta przez austriacko-niemieckiego pediatrę oraz bakteriologa Theodora Eschericha w 1885 roku. Z powodu odnalezienia jej w okrężnicy pierwotnie zwano ją „bacterium coli commune"(45).

Bakterie *Escherichia coli* należą do Gram-ujemnych (G-), względnie beztlenowych pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* o długości około 2 μm. Ze względu na zróżnicowaną budowę natygenową gatunek E. coli dzieli się na ponad 180 serotypów (45). Naturalnym rezerwuarem tej bakterii jest przewód pokarmowym ludzi i zwierząt. Pałeczki *E. coli* są również powszechnie obecne w środowisku, zwłaszcza w glebie, wodzie i na roślinach (57). Charakteryzują się stosunkowo niską odpornością na warunki środowiska. Ginie po około 20 minutach ogrzewania w temperaturze 60 °C, jest wrażliwa na większość środków dezynfekcyjnych. Optymalna temperatura

wzrostu E. coli to 30-37° C, natomiast w kale o temperaturze 0 °C jest w stanie przeżyć kilka miesięcy (45). Znaczna większość pałeczek *E. coli* występuje w przewodzie pokarmowym tylko przejściowo i ma niewielki lub żaden wpływ na gospodarza. Niewielka liczba szczepów ma zdolność kolonizacji jelit przez miesiące i lata żyjąc w symbiozie z innymi składnikami mikroflory jelitowej (19).

## *Escherichia coli* jako czynnik etiologiczny choroby u ludzi

*E. coli* w jelicie grubym zwierząt stałocieplnych i człowieka spełnia szereg pozytywnych funkcji tj. uczestniczy w procesie rozkładu resztek pokarmu, syntezie witamin (B1, B12, K oraz wit. C) oraz kwasu foliowego. Ponadto kolonizuje skórę, błony śluzowe jamy ustnej oraz układ oddechowy (45).

Mimo tego, że pałeczki występują naturalnie w przewodzie pokarmowym człowieka mogą być dla niego potencjalnie chorobotwórcze. W przypadku szczepów oportunistycznych bakterie te mogą kolonizować wiele tkanek oraz miejsc w organizmie gospodarza. Posiadają wiele genotypów i fenotypów i poprzez szeroki wachlarz czynników zjadliwości wywołują wiele klinicznych objawów (22). Liczne szczepy *E. coli* mogą wywoływać jelitowe i pozajelitowe zakażenia u ludzi, zarówno tych całkowicie zdrowych jak i tych z obniżoną odpornością (8, 9). Mechanizm przechodzenia *E. coli* z formy komensala do postaci chorobotwórczej jest możliwy dzięki ruchomej puli genów wymienianej między spokrewnionymi bakteriami. Pałeczka okrężnicy ma zdolność horyzontalnej wymiany genów (ang. *horizontal gene transfer*, HGT) gdzie platformami niosącymi geny adaptacyjne są ruchome elementy genetyczne (52). Komórki bakterii nabywają obce DNA na drodze transformacji (wychwytywanie wolnego DNA), transdukcji (za pośrednictwem DNA bakteriofaga) lub koniugacji (przekazywanie plazmidów); (46). *E. coli* może nabywać właściwości pochodzące od licznych gatunków bakterii (np. inna *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella*spp.) i w ten sposób przekształcić się w mikroorganizm patogenny mogący wywoływać różne objawy chorobowe (52).

Zakres patogeniczności *E. coli* jest bardzo szeroki. Pałeczki te są czynnikiem etiologicznym m.in. zakażenia dróg moczowych, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i dolegliwości biegunkowych (26). Obok częstych zakażeń dróg moczowych bakterie *E. coli* wywołują zakażenia wewnątrzbrzuszne (*cholangitis*/ *cholecystitis*, *appendicitis*,*peritonitis*). Często też uczestniczą w zapaleniach płuc i bakteriemiach (9). Spośród innych gatunków z rodziny *Enterobacteriaceae* pałeczki *E. coli* są również najczęściej izolowane z krwi (około 3-5%); (8, 15). Ponadto oportunistyczne szczepy powodują zapalenie otrzewnej (translokacja z jelita grubego), zapalenia kości, szpiku i mięśni oraz ropnie narządowe i zakażenia pooperacyjne. *E. coli*, spośród wszystkich pałeczek Gram-ujemnych. (G-) jest również czynnikiem najczęściej wywołującym sepsę (45). Szczególnie niebezpieczne dla zdrowia ludzkiego są szczepy *Escherichia coli* wytwarzające shigatoksyny/werotoksyny zwane STEC (Shigatoxin-producing *Escherichia coli*) lub VTEC (Verotoxin-producing *Escherichia*

*coli*). Patogenne dla ludzi szczepy *E. coli* w obrębie patotypu STEC nazywane są również enterokrwotocznymi – EHEC (enterohaemorrhagic *E. coli*); (53).

Źródła zakażenia człowieka szczepami STEC *E. coli* są m. in.: skażona bakteriami woda lub produkty pochodzenia zwierzęcego (mięso, mleko) lub roślinnego (nasiona, owoce, warzywa). Człowiek może ulec zakażeniu także poprzez bezpośredni kontakt ze zwierzętami lub ich wydalinami (53).

Spośród 100 szczepów patogennych dla człowieka wytwarzających Shigatoksynę dwa mają największe znaczenie kliniczne i są to serotypy O157:H7(58) i O104:H4 (53).

Enterokrwotoczne szczepy *E. col*i (w tym O157:H7 i O104:H4) mogą u ludzi wywoływać zakażenia w szerokim zakresie: od biegunek łagodnych do krwotocznych z ostrym przebiegiem oraz nasilające się dysfunkcje nerek tzw. zespół hemolityczno-mocznicowy (ang. *haemolytic-uraemic syndrome* HUS). U małych dzieci poniżej 5. roku życia i noworodków dysfunkcja nerek może mieć przebieg ciężki, a w przypadku tych ostatnich może to prowadzić do znacznego odwodnienia lub posocznicy (13).

Zespół hemolityczno-mocznicowy u dorosłych ludzi może być sporadycznie przyczyną zejścia śmiertelnego.(53). W przypadku zakażenia szczepami STEC okres inkubacji choroby trwa 3-8 dnia objawami są zapalenie żołądka i jelit lub wyłącznie okrężnicy o ostrym przebiegu. Często występują wymioty i gorączka niskiego stopnia (1, 53). Ponadto w przebiegu choroby obserwuje się niedokrwistość hemolityczną i spadek poziomu płytek krwi (1).

## *Escherichia coli*jako czynnik etiologiczny choroby u zwierząt

Szczepy *E. coli* wytwarzające toksyny Shiga są również chorobotwórcze w stosunku do zwierząt. Są to zazwyczaj szczepy typu STEC lecz odmienne od serotypu O104:H4.

Pałeczki patogenne dla zwierząt także u ludzi mogą wywoływać zaburzenia żołądkowo-jelitowe, a ich źródłem są produkty pochodzenia zwierzęcego (mięso, mleko); (1). Enterokrwotoczne pałeczki *E. coli* (EHEC) nie należące do serotypu O104:H4. izolowane są co roku w różnych częściach świata. Obecnie enterokrwotoczne pałeczki *E. coli* izolowane są od zwierząt (owiec, kóz, bydła) u których nie stwierdzono objawów chorobowych lub też z przypadków gdzie wystąpiła biegunka (6). W przypadku bydła choroba występuje stosunkowo rzadko. Zwierzęta te są raczej bezobjawowymi nosicielami szczepów STEC i stanowią największe zagrożenie pod względem transmisji zarazków na ludzi (53).Bezobjawowe nosicielstwo *E. coli* w obrębie patotypu STEC występuje rzadziej niż u przeżuwaczy, w przypadku świń (3) i drobiu (26).

## Podsumowanie

Pałeczki Gram-ujemne (G-) z rodziny *Enterobakteriacae* stanowią potencjalnie duże zagrożenie jako zanieczyszczenie biologiczne środowiska i czynnik etiologiczny wielu chorób u ludzi i zwierząt. Mimo, że niektóre z nich (*Escherichia coli*) stanowią naturalną mikroflorę przewodu pokarmowego, mogą z komensali przekształcać się w formy patogenne wywołujące ciężkie choroby.

Z uwagi na liczne drogi zakażenia (skażona żywność, kontakt ze zwierzętami oraz ich wydalinami, środowisko zanieczyszczone kałem) i znaczną chorobotwórczość, pałeczek z rodzaju *Salmonella* i *E. coli* powinny być szybko identyfikowane i diagnozowane jako czynnik etiologiczny chorób.

## Literatura:


1. Anonim.: European Food Safety Authority. Scientific Report of EFSA. Urgent advice on the public health risk of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in fresh vegetables. EFSA Journal, 2011, **9 (6):** 2274, 1-50.
2. Bertrand S., Rimhanen-Finne R., Weill F. X., Rabach W., Thornton L., Perevescikovs J., van Pelt W., Heck M.: *Salmonella* infections associated with reptiles: the current situation in Europe. Eurosurveillance, 2008, **13:** 264-269.
3. Bonardi S., Brindani F., Pizzin G., Lucidi L., D'Incau M., Liebana E., Moabito S.: Detection of *Salmonella spp*., *Yersinia enterocolitica*and verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in pigs at slaughter in Italy. Int. J. Food Microbiol., 2003, **85:** 101-110.
4. Budzińska K.: Ocena sanitarno-higieniczna osadów ściekowych z oczyszczalni ścieków zakładów mięsnych. Pr. Komis. Nauk Rol. i Biol. BTN, 1999, seria B **45:** 145-159.
5. Burbianka M., Pliszka A., Burzycka H.: Mikrobiologia żywności. PZWL, 1983, Warszawa.
6. Caprioli A., Moabito S., Brugere H., Oswald E.: Enterohaemorrhagic*Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. Vet. Res., 2005, **36:** 289-311.
7. Chan K., Baker S., Kim C.C., Detweiler C.S., Dougan G., Falkow S.: Genomic Comparison of *Salmonella*entericaSerovars and *Salmonella*bongori by Use of an S. entericaSerovar Typhimurium DNA Microarray. J Bacteriol., 2003, **185(2):** 553.
8. Daniluk T., Ściepuk M., Fieduruk K., Zaremba M. L., Rożkiewicz D., Ołdak E.: Częstość występowania i wrażliwość na antybiotyki szczepów *Escherichia coli* i *Kliebsiellapneumoniae* izolowanych od dzieci hospitalizowanych w Uniwersyteckim Szpitalu Dziecięcym w latach 2004-2007. Nowiny Lekarskie, 2008, **77(4):** 265–272.
9. Denton M.: *Enterobacteriaceae*. Int. J. Antimicrob. Agents., Suppl., 2007, **3:** 9-22
10. Dipineto L., Santaniello A., Fontanella M., Lagos K., Fioretti A., Menna L.F.: Presence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in living layer hens. Lett.App. Microbiol., 2006, **43:** 293-295.
11. Dzwolak W.: Doskonalenie systemów zarządzania bezpieczeństwem żywności, Przemysł Spożywczy, 2011, **2:** 6-11.
12. Filczak K.: Ocena przydatności odczynu lateksowego do szybkiego wykrywania antygenów pałeczek *Salmonella* w próbkach materiału klinicznego w trakcie rutynowych badań diagnostycznych. Problemy Lek., 1992, **30(3-4):** 189-194.
13. Frank C., Werber D., Kramer J.P., Askar M., Faber M., an der Heiden M., Bernard H., Fruth A., Prager R., Spode A., Wadl M., Zoufaly A., Jordan S., Stark K., Krause G.: Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany – preliminary report. N. Engl. J. Med., 2011, **365:** 1-11.
14. Gałązka A., Łyszcz M., Abramczyk B., Furtak K., Grządziel J., Czaban J., Pikulicka A.: „Bioróżnorodność środowiska glebowego – Przegląd parametrów i metod w analizach różnorodności biologicznej gleby". Monografie i Rozprawy Naukowe IUNG-PIB., 2016, 49.
15. Gaynes R., Edwards J.R.: National Nosocomial Infections Surveillance System, Overview of nosocomial infections caused by Gram-negative bacilli. Clin. Infect. Dis., 2005, **41:** 848-54.

16. Ghafari M., Bakhshi B., Reza Pour Shafi M., Mozafari N. A., Salimi M., Roosta F.: Investigation of genetic diversity of *Salmonella enterica* strains isolated from patients by Pulsed Field Gel Electrophoresis. BMC Proc, 2011, **5(1):** 95.
17. Gliński Z., Kostro K.: 2009. Zwierzęta nieudomowione źródłem chorób odzwierzecych-zoonotyczne bakterie. Życie Wet., 2009, **84(9):** 718-722.
18. Gonera E., Magdzik W., Naruszewicz-Lesiuk D., Zieliński A. (red.).: Choroby zakaźne i pasożytnicze – epidemiologia i profilaktyka. Wydanie VI Wydawnictwo Alfa Medica Press, 2007, 273-278.
19. Gordon D.M., Stern S.E., Collignon P.J.: Influence of the age and sex of human hosts on the distribution of *Escherichia coli* ECOR groups and virulence traits. Microbiology, 2005, **151:** 15-23.
20. Górecka A.: 2010. Jakość i bezpieczeństwo żywności (zagrożenia bezpieczeństwa żywności), „Przemysł Spożywczy", 2010, **1:** 46-47.
21. Holley R.A., Arrus K.M., Ominski K.H., Tenuta M., Blank G.: *Salmonella* survival in manure-treated soils during simulated seasonal temp temperature exposure. J. Environ. Qual., 2006, **35:** 170-1180.
22. Huang D.B., Mohanty A., DuPont H.L., Okhuysen P.C., Chiang T.: A review of an emerging enteric pathogen: enteroaggregative*Escherichia coli*. J. Med. Microbiol., 2006, **55:** 1303-1311.
23. Kałużewski S., Szych J.: Nowelizacja metodyki wykrywania i identyfikacja pałeczek z rodziny *Enterobakteriacae*. PZH. Zakład promocji zdrowia i Szkolenia Podyplomowego, 1999, Warszawa.
24. Kępińska M.: Analiza epidemiologiczna zatruć pokarmowych w Polsce w porównaniu z danymi Unii Europejskiej. Żywność, Nauka, Technologia, Jakość, 2006, **2(47):** 382–388.
25. Kłapeć T. 2004. *Salmonella* bacteria as an indicator of sanitary evaluation of sewage sludge used for fertilizer production. Pol J Environ Stud., 2004, **13:** 126-128.
26. Kłapeć T., Stroczyńska-Sikorska M.: Salmonellozy jako wciąż aktualne zagrożenie środowiskowe dla ludzi i zwierząt. Medycyna środowiskowa, 2011, **14(1):** 79-84.
27. Kluczek J. P. 1995. Problemy mikrobiologicznego skażenia gleby. Pr. Komis. Nauk Rol. i Biol. BTN, 1995, seria B **43:** 5-27.
28. Kołożyn-Krajewska D.: Higiena produkcji żywności, Wydawnictwo SGGW, 2007, Warszawa.
29. Łowiński Ł., Dach J.: Termofilne kompostowanie liści kasztanowca z osadami ściekowymi jako metoda unieszkodliwiania zagrożenia szrotówkiemkasztanowcowiaczkiem. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 2006, **51(2):** 108-111.
30. Łyszcz M., Gałązka A.: Wybrane metody molekularne wykorzystywane w ocenie bioróżnorodności mikroorganizmów glebowych. Post. Mikrob., 2016, **55(3):** 309-319.
31. Mawdsley J. L., Bardgett R.D., Merry R. J., Pain B. F., Theodorou M. K.:Pathogens in livestock waste, their potential for movement through soil and environmental pollution. Appl. Soil Ecol., 1995, **2:** 1-15.
32. Misiewicz A., Goncerzewicz A.: Wykrywanie bakterii salmonella metodami molekularnymi w produktach żywnościowych. Zeszyty Prob. Post. Nauk Roln., 2013, **573:** 3–11.
33. Olszewska H., Paluszak Z., Szejniuk B.: Przeżywalność Salmonella enteritidisw warunkach laboratoryjnych w glebie, gnojowicy i ścieku komunalnym. Rocz. Nauk. Zoot., 1999, **26:** 275-285.
34. Osek J., Wieczorek K.: Choroby odzwierzęce i ich czynniki etiologiczne w Raporcie Europejskiego Urzędu do spraw Bezpieczeństwa żywności za 2008 r. Życie Wet., 2010, **85(4):** 315-324.
35. Paluszak Z., Olszewska H., Kluczek J.P.: Skażenie mikrobiologiczne gleby w następstwie stosowania gnojowicy bydlęcej. Pr. Komis. Nauk Rol. i Biol. BTN, 1995, seria B **43:** 35-49.
36. Pęconek J., Szczawiński J., Szczawińska M.: Żółwie a salmonellozy u ludzi. Życie Wet., 2009, **84(9):** 733-734.
37. Pęconek J.: Charakterystyka pałeczek Salmonella występujących u żółwi w Polsce i wytwarzanej przez nie enterotoksyny. I. Charakterystyka szczepów *Salmonella* wyizolowanych od żółwi. Przegl. Epidemiol., 1984, **38:** 273-280.

38. Piasecki T.: Ocena stanu zdrowotnego goП´bi miejskich w aspekcie zagrożenia zdrowia ludzi. Medycyna Wet., 2006**, 62(5):** 531-535.
39. Rabinowitz P.M., Gordon Z., Odofin L.: Pet–related infections. Amer. Fam. Physician, 2007, **76:** 1314–1322.
40. Rabsch W., Prager R., Koch J., Stark K., Roggentin P., Bockeműhl J., Beckmann G., Stark R., Siegl W., Ammon A.: Molecular epidemiology of *Salmonella enterica*serovarAgona: characterization of a diffuse outbreak caused by aniseed-fennel- araway infusion. Epidemiol Infect., 2005, **133:** 837-844.
41. Rzedzicki J., Kołodziejczyk A., Tokarzewski S., Boś M.: Niektóre aspekty epidemiologiczne salmonelozy ptaków. Medycyna Wet., 2000, **56(2):** 79-84.
42. Salwa A., Przewoski W., Strzałkowski L., Burkiewicz A.: Identyfikacja drobnoustrojów z rodzaju Salmonella w oparciu o technikę PCR. Medycyna Wet., 2001, **57(5):** 349-352.
43. Santamaria J., Toranzos G.A.: Enteric pathogens and soil: a short review. Int. Microbiol., 2003, **6:** 5-9.
44. Scheutz F., Strockbine N.A.: Genus I. Escherichia Castellani and Chalmers 1919, 941 TAL. W: Bergey's manual of systematic bacteriology, Second Edition, (The Proteobacteria. Part B „TheGammaproteobacteria", Brenner DJ, Krieg NR, Stanley J.T. – eds. volume two), 2005, **2:** 607-24.
45. Simon K., Janocha J.: Epidemia EHEC (*Escherichia coli* O104:H4) w Europie w 2011 roku – Problemy kliniczne i terapeutyczne. Przegl. Epidemiol., 2012, **66:** 73 - 77.
46. Skippington E., Ragan M.A.: Phylogeny rather than ecology or lifestyle biases the construction of *Escherichia coli–Shigella*genetic exchange communities. Open Biol., 2012, **2:** 102-112.
47. Sławoń J., Saba L., Bis-Wencel H., Wencel C.: Pałeczki *Salmonella* w środowisku ferm mięsożernych zwierząt futerkowych. Medycyna Wet., 1994, **50(11):** 545-548.
48. Smyłła A., Piotrowska-Seget Z., Tyflewska A.: Pathogenic bacteria hazard in surface waters. AUMC Limnological Papers, Toruń, 2003, **110(13):** 159 - 169.
49. Stephens N., Sault C., Firestone S.M., Lightfoot D., Bell C.: Large outbreaks of *Salmonella Typhimurium* phage type 135 infections associated with the consumption of products cointaining raw egg in Tasmania. Commun. Dis. Intell., 2007, **31:** 118-124.
50. Stypułkowska-Misiurewicz H.: Aktualne problemy epidemiologiczne shigelloz i salmonelloz., Mikrobiol. Med., 1996, **2(7):** 37-43.
51. Szejniuk B., Wasilewski P., Kubisz Ł., Szrajda P., Wroński G.: Eliminacja Bakterii *Salmonella*Senftenberg $W_{755}$ w uprawie wybranych roślin rolniczych. Acta Sci. Pol., Agricultura, 2007, **6(4):** 73-81.
52. Tenaillon O., Skurnik D., Picard B., Denamur E.: The population genetics of commensal *Escherichia coli*. Nat. Rev. Microbiol., 2010, **8:** 207-217.
53. Truszczyński M., Pejsak Z.: Epidemia wywołana przez werotoksycznyserotyp O104:H4 *Escherichia coli* za pośrednictwem żywności pochodzenia roślinnego. Życie Wet., 2011, 86(9): 680-682.
54. Truszczyński M., Pejsak Z.:Zoonotyczne nosicielstwo *Salmonella spp*. u świń., 2015, **90 (7):** 435-439.
55. Venglovsky J., Placha I., Vargova M., Sasakova N.: Viability of Salmonella typhimurium in the solid fraction of slurry from agricultural wastewater treatment plant stored at two different temperatures. 9th Int. Cong. Anim. Hyg., Helsinki, 1997, **2**: 805-810.
56. Virella V. G.: Mikrobiologia i choroby zakaźne. Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, 2000, Wrocław.
57. Watkinson A.J., Micalizzi G.R., Bates J.R., Costanzo S.D.: Novel method for rapid assessment of antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates from environmental waters by use of a modified chromogenic agar. Appl Environ Microbiol., 2007, **7(7):** 2224-2229.
58. Weiner M.: Shigatoksyczneenterokrwotoczne szczepy *Escherichia coli* – nowe czy dobrze znane zagrożenie? Życie Wet., 2011, **86(7):** 507-514.

59. You Y., Rankin S.C., Aceto H.W., Benson C.E., Toth J. D., Dou Z.: Survival of *Salmonella enterica*serovarnewport in manure and manure-amended soils. Appl. Environ. Microbiol., 2006, **72:** 5777-5783.
60. Zaleski K.J., Josephson K.L., Gerba C.P., Pepper I.L.: Survival, growth and regrowth of enteric indicator and pathogenic bacteria in biosolids, compost, soil and land applied biosolids. J. Res. Sci. Technol., 2005, **2:** 49-63.
61. Zmysłowska I.: Mikrobiologia ogólna i środowiskowa, Wyd. UWM, 2003, Olsztyn.

Adres do korespondencji:

*dr Karol Abramczyk*
*Zakład Mikrobiologii Rolniczej*
*IUNG-PIB*
*ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy*
*tel. 81 47 86 960*
*e-mail: kabramczyk@iung.pulawy.pl*

**S T U D I A I R A P O R T Y IUNG-PIB**

**ZESZYT 54(8)**: 83-93 **2017**

**Monika Kozieł, Anna Gałązka**

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

# LICZEBNOŚĆ BAKTERII URUCHAMIAJĄCYCH FOSFOR ZE ZWIĄZKÓW MINERALNYCH W GLEBACH UPRAWNYCH POLSKI*

**Słowa kluczowe**: fosfor, gleba, liczebność PSB

## Wstęp

Fosfor występuje powszechnie w środowisku i odgrywa ważną rolę w prawidłowym rozwoju roślin oraz człowieka. Makroelement ten jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania każdej żywej komórki, gdyż wchodzi w skład kwasów nukleinowych (DNA i RNA) oraz nukleotydów (ATP, GTP, UTP) zaangażowanych w wewnątrzkomórkowy transport energii. Prawidłowy wzrost, rozwój i metabolizm roślin jest silnie powiązany z odpowiednim poziomem fosforu w ich tkankach (3). Stężenie jonów fosforanowych w komórce roślinnej może osiągać wartość od 1 do 10 mM (23). We wczesnych fazach rozwoju roślin pierwiastek ten stymuluje prawidłowy rozwój systemu korzeniowego (18). Ponadto rośliny, dobrze zaopatrzone w fosfor są bardziej odporne na suszę, niskie temperatury i brak składników pokarmowych (8). Wymagania pokarmowe roślin w stosunku do fosforu są duże, a niedobór tego pierwiastka w glebie może skutkować opóźnieniem kwitnienia i obniżeniem owocowania (3). Brak lub niskie stężenie przyswajalnych dla roślin form fosforu w glebie prowadzi również do zahamowania rozwoju brodawek korzeniowych u roślin bobowatych oraz do upośledzenia procesu wiązania azotu atmosferycznego (8).

Całkowite stężenie fosforu w glebie waha się od 50-3000 mg $P \cdot kg^{1}$ i zazwyczaj zmniejsza się wraz z głębokością profilu glebowego (5). W środowisku glebowym fosfor występuje zarówno w postaci związków organicznych jak i nieorganicznych. Pula organiczna to najczęściej od 15 do 80% całkowitej zawartości fosforu w glebie i stanowią ją głównie kwasy fitynowe, fosfolipidy i kwasy nukleinowe (5, 18, 21). Organiczne związki fosforu ulegając mikrobiologicznej degradacji uwalniają nieorganiczne formy tego pierwiastka, które są dostępne dla roślin. Jednak fosfor

* Opracowanie wykonano w ramach zadania 1.4 w programie wieloletnim IUNG-PIB.

biodostępny bardzo szybko ulega tzw. uwstecznieniu, czyli precypitacji jako nierozpuszczalne sole. Nieorganiczne związki fosforu występujące w glebie to przede wszystkim fosforany wapnia, glinu i żelaza (6, 15).

W roztworze glebowym dostępny dla roślin jest jedynie fosfor występujący w postaci jonów $H_2PO_4^-$ i $HPO_4^{2-}$, a jego stężenie waha się od 0,1 do 1$\mu g \cdot g^1$ gleby (13, 16). Około 40% gleb występujących na terenie Polski charakteryzuje się niską lub bardzo niską zawartością fosforu przyswajalnego (14) a więc rośliny uprawiane na tych obszarach narażone są na jego niedobór. W związku z tym, coraz częściej zwraca się uwagę na stymulację naturalnych mechanizmów zwiększających biodostępność P obecnego w glebie (natywnego i uwstecznionego) oraz istotną w tych procesach rolę bakterii uruchamiających ten pierwiastek z jego różnych nierozpuszczalnych związków. Bakterie posiadające taką cechę określane są mianem PSB (ang. *Phosphate Solubilizing Bacteria*) i należą do grupy PSM (ang. *Phosphate Solubilizing Microorganisms*), w której można znaleźć również wiele gatunków grzybów (3). PSB mogą posiadać również wysoką aktywność hydrolityczną wobec estrów fosforowych. Na przykład, kwasy mineralne i organiczne wytwarzane i uwalniane do gleby przez te bakterie są odpowiedzialne za rozpuszczanie nieprzyswajalnych, mineralnych związków P, głównie trójrzędowych fosforanów wapnia, natomiast enzymy takie jak fosfatazy, nukleazy i fosfolipazy mają duże znaczenie w mineralizacji organicznych form P glebowego (2). Enzymatyczna hydroliza umożliwia rozrywanie wiązań estrowych w organicznych związkach fosforowych (np. fityna, fosfolipidy, nukleotydy, fosforanowe pochodne cukrów) i uwalnianie grup fosforanowych. PSM wprowadzają do roztworu glebowego więcej fosforu niż jest im to potrzebne do wzrostu i metabolizmu, a pozostającą w roztworze nadwyżkę wykorzystują rośliny. Bakterie fosforowe poza fosforem wprowadzają również do gleby wiele substancji promujących wzrost roślin tj.: siderofory, auksyny, cytokiny oraz witaminy (4, 9, 17).

Celem pracy było określenie ogólnej liczebności PSB (ang. *Phosphate Solubilizing Bacteria*) najwydajniej uruchamiających fosfor w glebach uprawnych Polski.

## Materiały i metody

Materiał do badań stanowiły próby glebowe pobrane w 2015 r. przez pracowników Zakładu Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów podczas prowadzenia krajowego monitoringu chemizmu gleb. Programem tym zostały objęte wybrane użytki rolnicze w różnych województwach. Próby glebowe zostały pobrane z 216 stałych punktów pomiarowo-kontrolnych zlokalizowanych na gruntach ornych charakterystycznych dla pokrywy glebowej kraju. Reprezentują one użytki rolnicze o różnym stopniu intensyfikacji produkcji rolnej znajdujące się w obszarach rolniczej i pozarolniczej działalności człowieka. Próby glebowe były pobierane na obszarze o powierzchni ok. 100 $m^2$, z głębokości 0-20 cm, a następnie mieszane w celu uzyskania próby średniej. Do oznaczenia ogólnej liczebności PSB wykorzystano 182 średnie próby glebowe pochodzące z różnych województw (Tab. 1).

Tabela 1

Liczba średnich prób glebowych pobranych z punktów pomiarowych usytuowanych w różnych województwach oraz ich przynależność do typu i gatunku gleby

| **Województwo** | **Liczba próbek glebowych** | **Typ gleb** | **Gatunek gleb wg PTG 2008** |
|---|---|---|---|
| dolnośląskie | 7 | AP, Bw (3x), Bk, B, Dz | pyg (5x), gp (2x) |
| kujawsko-pomorskie | 13 | B, AP (3x), Dz, Ar (4x), Fb (2x), F, Bw | gl, gp (6x), pl (3x), ps, pg (2x) |
| lubelskie | 18 | Bk, F, Dz, AP (2x), Bw (6x), Ar (2x), Gc, B (2x), Fb, C | gp (2x), pg (3x), pyg (8x), pyz (3x), pyi, ps |
| lubuskie | 5 | Bk, AP, Ar (2x), Fc | pg (4x), gz |
| łódzkie | 11 | AP (7x), D, Bw, Ar, Bk | pg (5x), gp (4x), pl, ps |
| małopolskie | 17 | Fb (4x), Bw (4x), AP (5x), Cz, B (2x), Bk | gp (3x), pyi (3x), pyg (10x), pyz |
| mazowieckie | 20 | Bw (2x), AP (7x), Ar (6x), A, Dz, Bk (2x), Fb | gp (4x), pl (4x), pg (10x), ps, gz |
| opolskie | 6 | AP (4x), Bk, Ar | gp (2x), pyg (3x), ps |
| podkarpackie | 13 | Bw (7x), Bk, AP, Ar, B, Fb, Cz | gz, pg (2x), pyg (4x), gp, pyi (4x), pyz |
| podlaskie | 6 | AP (2x), Ar (2x), Bw (2x) | gp (2x), ps, pg (3x) |
| pomorskie | 9 | Ar, Bk, AP, Bw, Fb (2x), Fc (2x), D | pg (3x), gp, gz (2x), gl, gi, pyi |
| śląskie | 18 | AP (7x), Bk (2x), Bw, B, Gb (3x), D (2x), Fb (2x) | gp (8x), pyg (6x), pg (2x), gz, pyz |
| świętokrzyskie | 9 | AP (6x), Ar, Bw, B | pg (2x), ps, gz, pyg, pyi, gp (3x) |
| warmińsko-mazurskie | 11 | Bk (2x), D, B (2x), AP (4x), Ar, Dz, | gl (2x), gi, gp (4x), ps (2x), pyg, gpyi |
| wielkopolskie | 10 | Bw, Ar (3x), AP (4x), B (2x) | pg (5x), ps (3x), gp (2x) |
| zachodniopomorskie | 9 | Bk (3x), Ar, Bw (2x), Dz, Fc, D | pl (2x), gp (3x), pg (3x), gl |

Źródło: opracowanie własne na podstawie danych IUNG

* zastosowano skrót typów gleb zgodnie z zapisem podanym na stronie Monitoringu Chemizmu Gleb Ornych Polski (www.gios.gov.pl)

Ogólną liczebność bakterii wykorzystujących $Ca_3(PO_4)_2$ jako jedynego źródła fosforu określono metodą płytkową wysiewając odpowiednio rozcieńczone zawiesiny badanych gleb na pożywkę agarową zawierającą fosforan trójwapniowy według ogólnie przyjętej metodyki (19). Po 6 dniach inkubacji płytek w 28˚C liczono tylko te kolonie bakterii, które były otoczone wyraźną strefą przejaśnienia podłoża wskazującą na rozpuszczenie fosforanu wapnia. Liczebność PSB wyrażono jako liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk) w 1 gramie powietrznie suchej masy gleb.

W celu stwierdzenia równości (różnice nieistotne statystycznie) lub braku równości (różnice istotne statystycznie) dla wszystkich średnich liczebności PSB zasiedlających badane gleby o różnej przynależności taksonomicznej i pochodzące z różnych województw w obrębie danej serii zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Natomiast aby wskazać, które wartości średnie w danej serii różnią się istotnie od pozostałych a które są równe, zastosowano test NIR Fishera (najmniejszej istotnej różnicy). Dla przeprowadzonych analiz przyjęto poziom istotności $\alpha < 0,05$.

## Wyniki

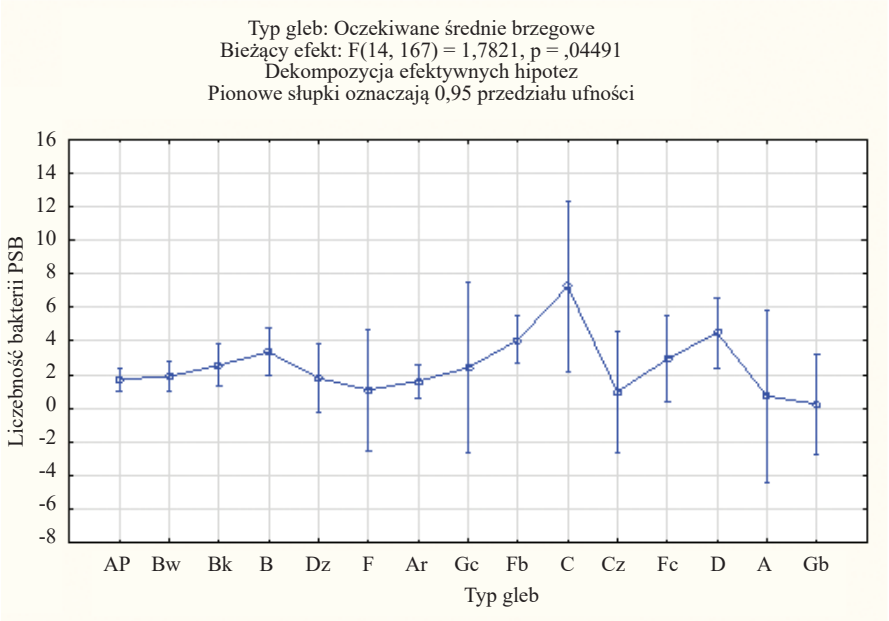
PSB stwierdzono w 149 (81%) spośród 182 przeanalizowanych prób glebowych. Ogólna liczebność badanej grupy bakterii wahała się w granicach od 0,31 x $10^7$ do 17 x $10^7$ jtk·$g^1$s.m. gleby. Przeprowadzone badania wykazały duże rozbieżności w zespole bakterii w analizowanych glebach za co w dużej mierze odpowiedzialność ponoszą czynniki abiotyczne gleb. Analizy statystyczne wykonano dla wszystkich 182 prób glebowych. Wyznaczono i porównano średnie liczebności PSB w trzech wariantach:

Wariant 1 – średnie liczebności PSB zostały wyznaczone dla wszystkich prób należących do danego typu gleby, a typ gleby był podstawą do podziału 182 prób na 15 grup.

Wariant 2 – średnie liczebności PSB zostały wyznaczone dla wszystkich prób należących do danego gatunku gleby, a pobrane próby zostały podzielone na 11 grup odpowiadających liczbie gatunków gleb.

Wariant 3 – średnie liczebności PSB zostały wyznaczone dla wszystkich prób pobranych z obszaru danego województwa i uzyskano 16 grup odpowiadających liczbie województw.

Na podstawie jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA możemy wnioskować, że średnie zmiennej (liczebność bakterii PSB) w poszczególnych grupach: gatunek gleb i województwo różniły się istotnie statystycznie. Średnie liczebności bakterii fosforowych wyznaczone dla poszczególnych typów gleb nieznacznie różniły się od siebie toteż nie zaobserwowano istotnego wpływu tej grupy na badaną zmienną. Stwierdzono najwyższe średnie liczebności PSB dla czarnoziemów właściwych, a najniższe dla rędziny brunatnej (Rys. 1 i Tab. 2). Na podstawie analizy wariancji ANOVA (Rys. 2 i Tab. 3) średnich zmiennej w grupie gatunek gleb możemy wnioskować, że średnie różniły się istotnie statystycznie. Stwierdzono (test NIR), że średnia liczebność PSB dla gliny pylasto-ilastej różniła się istotnie od średnich liczebności dla pozostałych gatunków gleb. Najwyższe średnie liczebności PSB zanotowano dla gliny pylasto-ilastej, natomiast najniższe dla gliny piaszczystej. Stwierdzono także statystyczne różnice średnich liczebności bakterii fosforowych w grupie województw (Rys. 3 i Tab. 4). Średnia liczebność PSB dla województwa świętokrzyskiego różniła się istotnie statystycznie od średnich dla województw pomorskiego i lubuskiego. Najniższymi średnimi liczebności badanych bakterii charakteryzowało się województwo świętokrzyskie, z kolei najwyższymi województwo warmińsko-mazurskie.




Rys. 1. Srednia liczebność PSB (jtk·10⁷·g¹s.m. gleby) wyznaczona dla danego typu gleby

Źródło: opracowanie własne.

Tabela 2

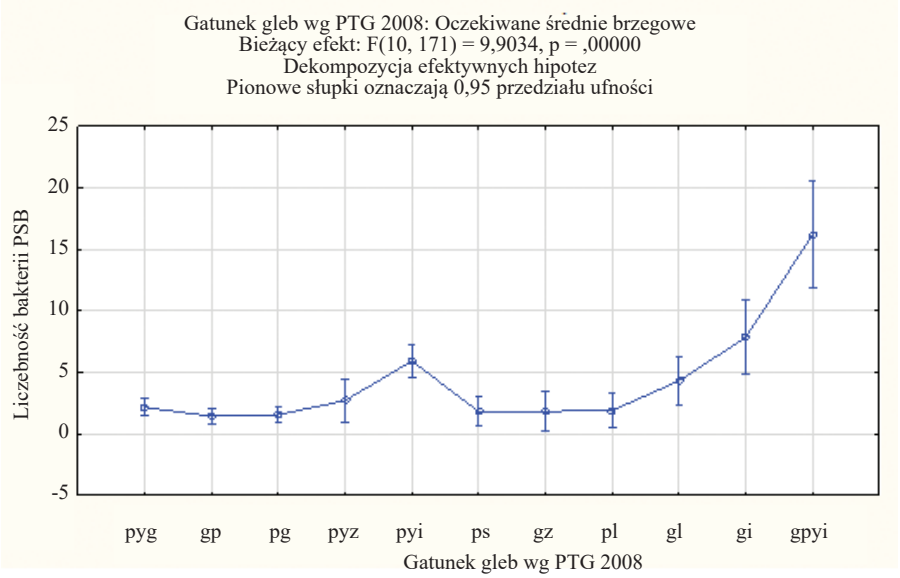
Średnia liczebność PSB (jtk·10⁷·g¹s.m. gleby) wyznaczona dla danego typu gleby.

| | Typ gleb | Liczebność bakterii PSB (jtk·10⁷·g¹s.m. gleby) Średnie | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 15 | Gb (rędziny brunatne) | 0,256667 | a | b | | |
| 14 | A (gleby bielicowe) | 0,730000 | a | b | c | d |
| 11 | Cz (czarnoziemy zdegradowane) | 0,985000 | a | b | c | |
| 6 | F (mady właściwe) | 1,095000 | a | b | c | d |
| 7 | Ar (gleby rdzawe) | 1,624231 | a | b | | |
| 1 | AP (gleby płowe) | 1,729455 | a | | | |
| 5 | Dz (czarne ziemie zdegradowane) | 1,798333 | a | b | c | d |
| 2 | Bw (gleby brunatne wyługowane ) | 1,903750 | a | b | | |
| 8 | Gc (rędziny czarnoziemne) | 2,420000 | a | b | c | d |
| 3 | Bk (gleby brunatne kwaśne) | 2,552941 | a | b | c | d |
| 12 | Fc (mady czarnoziemne) | 2,930000 | a | b | c | d |
| 4 | B (gleby brunatne właściwe) | 3,353846 | | b | c | d |
| 9 | Fb (mady brunatne) | 4,060000 | | | c | d |
| 13 | D (czarne ziemie właściwe) | 4,490000 | | | c | d |
| 10 | C (czarnoziemy właściwe) | 7,240000 | | | | d |

Średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie na poziomie $\alpha < 0,05$

Źródło: opracowanie własne

Rysunek 1 przedstawia jednoczynnikową analizę wariancji dla średniej liczby PSB w zależności od typu gleby. Jednoczynnikowa analiza wariancji wykazała brak istotnych statystycznie różnic pomiędzy liczebnościami PSB w poszczególnych typach gleb. Jednakże szczegółowe porównanie tych średnich za pomocą analizy NIR (Tab. 2) wykazała istotne różnice pomiędzy kilkoma typami gleb, co pozwoliło wyodrębnić 7 grup gleb o zbliżonej liczebności PSB. Rędziny brunatne, gleby rdzawe i gleby brunatne wyługowane znajdują się w jednej grupie. Gleby bielicowe, mady właściwe, czarne ziemie zdegradowane, rędziny czarnoziemne, gleby brunatne kwaśne i mady czarnoziemne należą do drugiej grupy. Do trzeciej grupy należą czarnoziemy zdegradowane, do czwartej gleby płowe, do piątej gleby brunatne właściwe, w grupie szóstej znajdują się mady brunatne i czarne ziemie właściwe, a grupę siódmą stanowią czarnoziemy właściwe.




Rys. 2. Średnia liczebność PSB (jtk·$10^7$·$g^{-1}$s.m. gleby) wyznaczona dla danego gatunku gleby
Źródło: opracowanie własne

Tabela 3

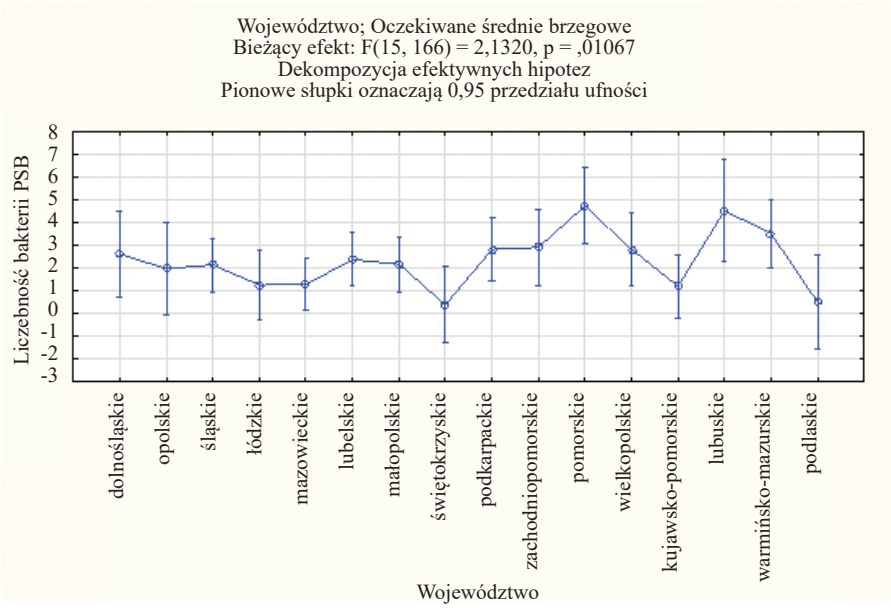
Średnia liczebność PSB (jtk·$10^7$·$g^{-1}$s.m. gleby) wyznaczona dla danego gatunku gleby

| | Gatunek gleb wg PTG 2008 | Liczebność bakterii PSB (jtk·$10^7$·$g^{-1}$s.m. gleby) Średnie | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | gp (glina piaszczysta) | 1,44660 | a | | | |
| 3 | pg (piasek gliniasty) | 1,57614 | a | | | |
| 6 | ps (piasek słabogliniasty) | 1,84167 | a | | | |
| 7 | gz (glina zwykła) | 1,84571 | a | b | | |
| 8 | pl (piasek luźny) | 1,91800 | a | | | |
| 1 | pyg (pył gliniasty) | 2,15868 | a | | | |
| 4 | pyz (pył zwykły) | 2,72333 | a | b | | |
| 9 | gl (glina lekka) | 4,33000 | | b | c | |
| 5 | pyi (pył ilasty) | 5,93500 | | | c | |
| 10 | gi (glina ilasta) | 7,85500 | | | c | |
| 11 | gpyi (glina pylasto-ilasta) | 16,20000 | | | | d |

Średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie na poziomie $\alpha < 0,05$

Źródło: opracowanie własne

Metoda ANOVA (Rys. 2) wykazała, że średnie liczebności PSB wyznaczone dla różnych gatunków gleb różniły się istotnie statystycznie. W celu wskazania, które gatunki gleb są zasiedlane przez zespół PSB o istotnie mniejszej lub większej liczebności niż pozostałe przeprowadzono analizę NIR. Wykonany test NIR Fishera (tabela 3) pozwolił podzielić gatunki gleb na 5 grup. Glina piaszczysta, piasek gliniasty, piasek słabogliniasty, piasek luźny i pył gliniasty znajdują się w jednej grupie i nie różnią się między sobą. Grupę drugą stanowią glina zwykła i pył zwykły, grupę trzecią glina lekka, a grupę czwartą pył ilasty i glina ilasta. Do piątej odrębnej grupy należy glina pylasto-ilasta.




Rys. 3. Średnia liczebność PSB (jtk·$10^7$·$g^1$s.m. gleby) wyznaczona dla danego województwa.

Źródło: opracowanie własne

Tabela 4

Średnia liczebność PSB (jtk·$10^7$·$g^1$s.m. gleby) wyznaczona dla danego województwa.

| | Województwo | Liczebność bakterii PSB (jtk·$10^7$·$g^1$s.m. gleby) Średnie | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 8 | świętokrzyskie | 0,362222 | a | | | |
| 16 | podlaskie | 0,493333 | a | b | | |
| 13 | kujawsko- pomorskie | 1,185385 | a | b | | |
| 4 | łódzkie | 1,236364 | a | b | | |
| 5 | mazowieckie | 1,267500 | a | b | | |
| 2 | opolskie | 1,963333 | a | b | c | |
| 3 | śląskie | 2,125556 | a | b | c | |
| 7 | małopolskie | 2,167059 | a | b | c | |
| 6 | lubelskie | 2,358889 | a | b | c | |
| 1 | dolnośląskie | 2,604286 | a | b | c | d |
| 9 | podkarpackie | 2,814615 | | b | c | d |
| 12 | wielkopolskie | 2,818000 | | b | c | d |
| 10 | zachodniopomorskie | 2,903333 | | b | c | d |
| 15 | warmińsko- mazurskie | 3,511818 | | | c | d |
| 14 | lubuskie | 4,514000 | | | c | d |
| 11 | pomorskie | 4,730000 | | | c | d |

Średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie na poziomie $\alpha < 0,05$

Źródło: opracowanie własne

Rys. 3 przedstawia jednoczynnikową analizę wariancji dla średniej liczebności PSB w zależności od miejsca pobrania prób glebowych (województwo). Jednoczynnikowa analiza wariancji potwierdziła istotne statystycznie różnice w średnich liczebnościach zespołu tych bakterii w zależności od województwa z którego zostały pobrane próby glebowe. Przeprowadzony test NIR Fishera (Tab. 4) pogrupował województwa na 6 grup, przy czym statystycznie istotne różnice w średniej liczebności bakterii fosforowych stwierdzono pomiędzy trzema grupami (grupa pierwsza, piąta i szósta).

## Dyskusja

PSB obecne są niemal w każdej glebie, jednakże ich liczebność i skład gatunkowy uzależniony jest od wielu chemicznych, fizycznych i biologicznych właściwości gleby (np. odczyn, skład granulometryczny, zawartość materii organicznej) ale także od wielu czynników klimatycznych (tj. pora roku, temperatura, opady). Biorąc pod uwagę gleby użytkowane rolniczo oddziaływania wyżej wymienionych czynników modyfikowane są w mniejszym lub większym stopniu przez zabiegi agrotechniczne związane z uprawą roślin, a w szczególności orka, stosowanie nawozów i chemicznych środków ochrony roślin oraz płodozmian (10, 19).

W przeprowadzonych badaniach obecność bakterii rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ stwierdzono w 81% analizowanych próbach glebowych, a ich liczebności kształtowała się na poziomie $10^7$ jtk w g s.m. gleby, co jest zgodne z danymi literaturowymi, które podają, że w 1g żyznej gleby występuje zazwyczaj od $10^1$ do $10^{10}$ komórek PSB (19). Liczne populacje PSB można znaleźć w glebach użytkowanych rolniczo (22), co potwierdził w swoich badaniach Kobus (11). W przeprowadzonych badaniach oprócz oznaczenia ogólnej liczebności PSB w glebach uprawnych Polski analizowano również wpływ typu gleby, gatunku gleby i miejsca poboru prób glebowych na występowanie i liczebność tej grupy bakterii. Gleby województw lubuskiego, pomorskiego i warmińsko-mazurskiego (Tab. 4) posiadały najliczniejsze zespoły mikroorganizmów PSB, co daje szansę na intensyfikację naturalnych procesów uruchamiających fosfor. W glebach na terenie województw świętokrzyskiego i podlaskiego, gdzie zanotowano najmniejsze liczebności tej grupy bakterii należałoby zastosować np. doszczepianie w celu zwiększenia liczebności PSB a tym samym puli biodostępnego P. Za różnice jakie pojawiły się w ilości tych bakterii w glebach poszczególnych województw w dużej mierze odpowiedzialne są odmienne warunki środowiskowe i geograficzne. Do podobnych wniosków doszli Acosta-Martinez i in. (1), którzy zauważyli, iż miejsce poboru prób glebowych oraz panujące tam warunki glebowo-klimatyczne wpływają zarówno na liczebność jak i skład gatunkowy bakterii uruchamiających fosfor ze związków mineralnych. Biorąc pod uwagę wpływ typu gleby na ilość mikroorganizmów zdolnych do rozpuszczania $Ca_3(PO_4)_2$, widzimy, że najwięcej tych bakterii znaleziono w czarnoziemach właściwych. Nieco mniej drobnoustrojów o tych uzdolnieniach znaleziono w czarnych ziemiach właściwych i madzie

brunatnej, natomiast najmniej PSB zawierały rędziny brunatne (Tab. 2). W badaniach prowadzonych przez Stefaniak i Maniewską (20) liczebność PSB w czarnych ziemiach była nieco niższa i wahała się od 2 x 103 do 870 x 103 komórek w 1 gramie świeżej gleby w zależności od pory roku, głębokości gleby, jak również od stosowanych zabiegów agrotechnicznych. Poszukując wpływu gatunku gleby na liczebność PSB możemy stwierdzić, że glina pylasto-ilasta sprzyja rozwojowi i przeżywalności PSB, ponieważ ten gatunek gleb charakteryzowała najwyższa średnia liczebność tych bakterii (Tab. 3). Stosunkowo liczne zespoły bakterii PSB odnotowano w glinie ilastej i pyle ilastym, z kolei glina piaszczysta i piasek gliniasty zawierały bardzo małe ilości tych bakterii. Uzyskane wyniki znacznie różniły się od tych, które uzyskał Kobus (11). Wykazał on, że na liczebność bakterii mineralizujących fosfor istotny wpływ mają: typ gleby, stopień jej mineralizacji oraz rodzaj uprawy. Najliczniejsze zespoły bakterii rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ występowały w glebach piaszczystych, a najmniej ich wykryto w glebie ilastej. Liczba bakterii PSB w glebach gliniastych i torfowych była od 10-100-krotnie mniejsza niż w glebach lessowych. Takie rozbieżności mogą wynikać z różnych miejsc poboru badanych prób gleby, rodzaju uprawy, stosowania zabiegów agrotechnicznych, czy różnic we właściwościach badanych gleb. Również Domey (7) potwierdza, że duże różnice w liczebności PSB są spowodowane przez czynniki abiotyczne gleb. Stwierdzenie to poparte jest przez Kuceya (12), który w przeprowadzonych badaniach wykazał, że bakterie fosforowe występują niemal we wszystkich badanych glebach jednakże ich liczebność uzależniona jest od właściwości gleb, warunków klimatycznych i uprawy roślin.

## Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono obecność PSB w 81% analizowanych próbach glebowych. Ogólna liczebność badanej grupy bakterii wahała się w granicach od 0,31 x $10^7$ do 17 x $10^7$ jtk·$g^{-1}$s.m. gleby. Przeprowadzone analizy statystyczne wykazały istotny wpływ gatunku gleby i miejsca poboru prób na liczebność bakterii rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$. Pomimo różnic w liczebności bakterii fosforowych w zależności od typu gleb wyniki okazały się nieistotne statystycznie.

## Literatura

1. Acosta-Martinez V., Down S., Sun Y., Allen V.: Tag-encoded pyrosequencing analysis of bacterial diversity in a single soil type as affected by management and land use. Soil Biology and Biochemistry, 2008, **40:** 2762-2770.
2. Alef K., Nannipieri P.: Methods in applied soil microbiology and biotechnology, Academic Press, London, Great Britain, 1995.
3. Bezek-Mazur E., Stoińska R.: The importance of phosphorus in the environment – review article. Archives of Waste Management and Environmental Protection, 2013, **15(3)**: 33-42.
4. Bhattacharyya P. N., Jha D. K.: Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, **28:** 1327-1350.
5. Chinchilla R. F.C.: Phosphorus responde and orthophosphate leaching in floratam St. Augustinegrass and Empire Zoysiagrass. University of Florida, 2010.

6. Ciereszko I.: Pobieranie fosforanów przez rośliny. Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych, 2005, **54(4)**: 391-400.
7. Domey S.: Vorkommen Phosphatmobilisierender Bakterien in der Rhizosphäre landwirtschaftlicher Kulturpflanzen bei mittleren bis hoher Phosphor-Versorgung des Bodens. ZentralblattfürMikrobiologie, 1992, **147:** 270-276.
8. Gaj R., Grzebisz W.: Fosfor w roślinie. w: Pierwiastki w środowisku. Fosfor. Grzebisz W.. Journal of Elementology, 2003, **8:** 109-128.
9. Glick B. R., Penrose D. M., Li J.: A model for lowering of plant ethylene concentration by plant growth-promoting bacteria. Journal of Theoretical Biology, 1998, **190:** 63-68.
10. Kim K. Y., Jordan D., McDonald G. A.: Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. Biology and Fertility of Soils, 1998, **26:** 79-87.
11. Kobus J.: Udział drobnoustrojów w przemianach związków fosforowych w glebie. Rocznik Nauk Rolniczych Seria D, 1961, **91:** 101.
12. Kucey R. M. N.: Phosphate solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. Canadian Journal of Soil Science, 1983, **63:** 671-678.
13. Kucey R. M. N., Janzen H. H., Leggett M. E.: Microbially mediated increases in plant available phosphorus. Advanced in Agronomy, 1989, **42:** 199-228.
14. Lipiński W.: Odczyn I zasobność gleb w świetle badań Stacji Chemiczno-Rolniczych. FertilizersFertilization, 2000, **3a:** 89-105.
15. Mengel K., Kirkby E. A.: Podstawy żywienia roślin. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, 1983: 308-324.
16. Paul E. A., Clark F. E.: Mikrobiologia i biochemia gleby. Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, 2000.
17. Ponmurugan P., Gopi C.: *In vitro* production of growth regulators and phosphatase activity by phosphate solubilizing bacteria. African Journal of Biotechnology, 2006, **5(4):** 348-350.
18. Schachtman D., Reid R. J., Ayling S. M.: Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. Plant Physiology, 1998, **116:** 447-453.
19. Sharma S., Kumar V., Tripathi R. B.: Isolation of Phosphate Solubilizing Microorganism (PSMs) from soil. Journal of Microbiology and Biotechnology Research, 2011, **1(2):** 90-95.
20. Stefaniak O., Maniewska R.: Wpływ zabiegów agrotechnicznych na występowanie bakteriirozpuszczających trójfosforan wapnia w czarnej ziemi. AkademiaTechniczno-Rolniczaim. J. J. Śniadeckich w Bydgoszczy, ZeszytyNaukowe, 1982, **97(14)**, 17-29.
21. Vance C. P., Uhde-Stone C., Allan D. L.: Phosphorus acquisition and use; critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. New Phytologist, 2003, **157:** 423-447.
22. Yahya A., Azawi S. K. A.: Occurrence of phosphate solubilizing bacteria in some Iranian soils. Plant Soil, 1998, **117:** 135-141.
23. Zboińska M.: Wybrane aspekty adaptacji roślin do warunków niedoboru fosforu w środowisku glebowym. Kosmos, 2016, **65(3)**: 419-431.

Adres do korespondencji:

*mgr Monika Kozieł*
*Zakład Mikrobiologii Rolniczej*
*IUNG-PIB*
*ul. Krańcowa 8, 24-100 Puławy*
*tel. 81 47 86 952*
*e-mail: mmaczka@iung.pulawy.pl*

**S T U D I A I R A P O R T Y IUNG-PIB**

**ZESZYT 54(8)**: 95-109 **2017**

**Anna Gałązka, Karolina Gawryjołek, Anna Kocoń**

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

# LICZEBNOŚĆ DROBNOUSTROJÓW ROZPUSZCZAJĄCYCH FOSFORANY I AKTYWNOŚĆ FOSFATAZ W GLEBIE W KONTEKŚCIE STOSOWANIA PREPARATÓW MIKROBIOLOGICZNYCH*

**Słowa kluczowe:** preparaty mikrobiologiczne, drobnoustroje rozkładające fosforany, fosfataza kwaśna i zasadowa

## Wstęp

Gleba zasiedlana jest przez różnorakie gatunki mikroorganizmów. Urodzajna gleba zawiera nawet miliardy bakterii w przeliczeniu na 1g świeżej masy gleby (15). Skład mikroorganizmów może być istotnym wyznacznikiem tempa rozkładu materii organicznej i obiegu składników pokarmowych oraz ich dostępności w glebach. Udział drobnoustrojów w kształtowaniu żyzności i zdrowotności gleby jest powszechnie znany, ponieważ to właśnie mikroorganizmy glebowe odgrywają główną rolę w mineralizacji materii organicznej, udostępnianiu roślinom składników pokarmowych, powstawaniu humusu glebowego, ograniczaniu patogenów i wielu innych procesach (5). Drobnoustroje glebowe odgrywają istotną rolę w przemianach wielu pierwiastków w przyrodzie. Mikroorganizmy biorą udział nie tylko w przemianach węgla i azotu, lecz także w przemianach fosforu, potasu, siarki i żelaza. Oddziaływanie drobnoustrojów na krążenie tych pierwiastków polega na mineralizacji związków organicznych lub na przekształcaniu związków mineralnych z form nieprzyswajalnych dla roślin w związki przyswajalne. Drobnoustroje mogą też pobierać z gleby mineralne związki fosforu, potasu, siarki i żelaza i gromadzić je w swoich komórkach (1, 7).

Ogólna zawartość fosforu w glebach jest wysoka, jednak średnie stężenie fosforu w roztworze glebowym wynosi od 0,1 do 1 μg na 1 g gleby (1, 15). Mikroorganizmy glebowe są zdolne do wykorzystywania zarówno organicznych źródeł fosforu jak też uprzystępniania trudno rozpuszczalnych związków fosforu w związki biodostępne dla roślin (8, 10). Z resztkami roślinnymi i zwierzęcymi dostają się do gleby organiczne związki fosforu, takie jak fityna, fosfolipidy i fosfoproteidy. Drobnoustroje

* Opracowanie wykonano w ramach zadania 1.4 w programie wieloletnim IUNG-PIB.

w glebie mineralizują te związki, uwalniając z nich jony fosforanowe (5, 13). Jony fosforanowe, jako rozpuszczalne w wodzie, mogą być pobierane przez drobnoustroje i rośliny. Zdolność do pobierania fosforu mineralnego w formie rozpuszczalnej jest u drobnoustrojów właściwością powszechną. Ponieważ w mikrobiologicznych procesach przemian fosforu pierwiastek ten uwalniany jest w ilościach przekraczających zapotrzebowania drobnoustrojów, znaczna jego część wykorzystywana jest przez rośliny. Podobnie przy pobieraniu fosforu z nawozów mineralnych, drobnoustroje tylko w małym stopniu konkurują z roślinami (5).

W odżywianiu roślin duże znaczenie ma też zdolność drobnoustrojów do przeprowadzania trudno rozpuszczalnych mineralnych związków fosforu np. $Ca_3(PO_4)_2$ w związki rozpuszczalne w wodzie, jak np. $Ca(H_2PO_4)_2$, $CaHPO_4$ (1, 13, 16). Takie przekształcenie mineralnych związków fosforu związane jest w dużym stopniu z wytwarzaniem kwasów organicznych w procesach fermentacji oraz z wytwarzaniem kwasu azotowego w procesie nitryfikacji i kwasu siarkowego w procesach utleniania siarki (11). Występowanie i aktywność drobnoustrojów czynnych w uruchamianiu przyswajalnego dla roślin fosforu stwierdza się, określając na pożywkach wybiórczych ich liczebność lub śledząc pojawienie się stref przejaśnienia wokół kolonii produkujących kwasy (16).

Mikroorganizmy, które najwydajniej uruchamiają fosfor z jego różnych nierozpuszczalnych związków określane skrótem PSB (*Phosphate Solubilizing Bacteria*) opisywane są często jako szczepy promujące wzrost roślin, ponieważ wiele z nich syntetyzuje takie substancje jak siderofory, auksyny, cytokininy oraz witaminy (5, 13).

Wśród bakterii PSB najczęściej izolowane są mikroorganizmy należące do rodzajów: *Bacillus, Pseudomonas, Enterobacter, Arthrobacter, Micrococcus, Aerobacter, Xanthomonas* (6, 13, 19). Populacja tych bakterii jest bardzo zróżnicowana w różnych glebach i zależy od ich właściwości abiotycznych i biotycznych.

Głównym mechanizmem rozpuszczania mineralnych związków fosforowych jest zakwaszanie środowiska poprzez wydzielane przez drobnoustroje kwasy organiczne (16). Kwasy te są jednocześnie pośrednimi produktami różnych szlaków metabolicznych. Stąd też mechanizm ten jest uważany za niespecyficzny, ponieważ zachodzi z udziałem wielu mikroorganizmów glebowych (19). Kwasy organiczne wchodzą w reakcje z trudno rozpuszczalnymi, mineralnymi związkami fosforytu tj. np. $Ca_3(PO_4)_2$.

Niskocząsteczkowe kwasy organiczne mają zdolność do wiązania wielu kationów i mogą tworzyć trwałe połączenia z $Ca^{2+}$, $Al^{3+}$, $Fe^{3+}$. Siła wiązania kationów uzależniona jest od ilości grup karboksylowych w cząsteczce kwasu. Kwasy hydroksy-trójkarboksylowe tworzą trwalsze kompleksy z kationami niż kwasy dwuhydroksy-dwukarboksylowe i kwasy α-hydroksy-monokarboksylowe (15). Szczepy bakteryjne należące do tego samego gatunku mogą być zróżnicowane pod względem produkcji różnych kwasów organicznych (9). Ponadto dla syntezy różnych kwasów organicznych równie istotny jak źródło węgla jest rodzaj związku fosforu w środowisku.

O biodostępności fosforu w glebie w dużej mierze decyduje synteza fosfataz. Fosfatazy odgrywają ważną rolę w glebie, ponieważ stymulują przemiany organicznych związków fosforu w nieorganiczne fosforany, bezpośrednio dostępne dla roślin i organizmów glebowych. Synteza fosfataz przez mikroorganizmy i korzenie roślin jest indukowana przy braku przyswajalnego fosforu w roztworze glebowym (20). Większość zewnątrzkomórkowych fosfataz to enzymy syntetyzowane przez mikroorganizmy. Wiadomo iż kwaśne fosfatazy wydzielane przez drobnoustroje glebowe wykazują większą aktywność w rozkładzie organicznych związków fosforu niż fosfatazy wytwarzane przez korzenie roślin.

Wraz z ciągłym rozwojem proekologicznych technologii uprawy roślin poszukuje się nowych, ekologicznych metod, których celem będzie m.in. zwiększenie żyzności gleby poprzez wzrost jej aktywności mikrobiologicznej. Efektywność tworzonych konsorcjów mikroorganizmów opiera się na działaniu odpowiednio dobranych mikroorganizmów, które mogą wspólnie rozwijać się w mieszaninach hodowlanych i są ze sobą kompatybilne fizjologicznie (5). Dlatego też w ostatnich latach w rolnictwie dużą popularnością cieszy się wykorzystanie preparatów mikrobiologicznych.

Celem prowadzonych badań była ocena efektywności działania wybranych preparatów mikrobiologicznych na liczebność drobnoustrojów rozpuszczających fosforany i aktywność fosfataz w glebie.

## Materiały i metody

### Preparaty mikrobiologiczne

W przeprowadzonych badaniach wykorzystano trzy najpowszechniejsze na rynku preparaty o nazwie handlowej: EM, EmFarma Plus, UGmax.

Preparat EM składa się z mikroorganizmów pochodzenia naturalnego, należących m.in. do bakterii kwasu mlekowego, bakterii fotosyntetyzujących, drożdży, promieniowców i grzybów pleśniowych. W skład preparatu EM jak podaje producent wchodzą bakterie mlekowe (*Lactobacillus casei*, *Streptococcus lactis*), bakterie fotosyntetyzujące (*Rhodopseudomonas palustris*, *Rhodobacter spae*), drożdże (*Saccharomyces albus*, *Candida utilis*), promieniowce (*Streptomyces albus*, *S. griseus*) oraz pleśnie (*Aspergillus oryzae*, *Mucor hiemalis*).

W skład preparatów mikrobiologicznych typu EmFarma Plus wchodzą natomiast bakterie kwasu mlekowego (*Lactobacillus i Bifidobacterium*), promieniowce (*Actinomycetes*), bakterie fotosyntetyzujące oraz drożdże (*Saccharomyces*). UGmax stosowany jako użyźniacz glebowy jest ekstraktem ze specjalnego kompostu i jak deklaruje producent, służy do podnoszenia urodzajności gleby. Dopuszczony on jest do stosowania we wszystkich systemach rolnictwa, w tym również w ekologicznym.

Preparaty mikrobiologiczne stosowano w dawkach wg zaleceń producenta. W przypadku preparatu EM i EmFarma Plus było to 30 l preparatu na hektar, zaś UGmax w dawce 0,9 l/ha. Wszystkie preparaty stosowano co roku, we wrześniu w rozcieńczeniu z 300 litrami wody i opryskiwano nimi: ściernisko lub ściernisko wraz z pociętą słomą pozostawioną na polu po zbiorze ziarna a także ściernisko ze

słomą z dodatkiem azotu (30 kg N). Po oprysku, zawsze tego samego dnia preparaty były przykrywane około 10 cm warstwą gleby (kompaktową broną talerzową KBT). Działanie badanych produktów porównywane było z obiektami kontrolnymi, bez stosowania ww. preparatów.

## Doświadczenie polowe

Doświadczenie było zlokalizowane na terenie Rolniczego Zakładu Doświadczalnego RZD w Grabowie (52°13'N, 19 °37'E), woj. mazowieckie, w warunkach eksperymentów polowych, w latach 2012-2014. Badania przeprowadzono na glebie płowej wytworzonej na glinie lekkiej, kompleksu przydatności rolniczej żytniego bardzo dobrego, gdzie przedplonem była pszenica ozima.

Doświadczenie polowe prowadzono na glebie płowej, która charakteryzowała się uregulowanym odczynem pH oraz korzystnymi zasobnościami w podstawowe makro i mikroelementy (Tab. 1).

Tabela1

Właściwości chemiczne gleby (warstwa 0-20 cm)

| Gleba | $pH_{KCl}$ | C org. % | N min. mg·kg$^{-1}$ ś. m. gleby | | Zawartość mg w 100 g gleby | | | Formy całkowite mg · kg$^{-1}$ gleby | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $NH_4^+$ | $NO_3^-$ | $P_2O_5$ | $K_2O$ | Mg | B | Cu | Fe | Zn | Mn | Mo |
| Glina Piaszczysta | 6,8 | 0,70 | 2,9 | 12,3 | 28,5 | 11,3 | 2,6 | 5,6 | 4,5 | 4455 | 21,4 | 148 | 0,09 |

Źródło: Gałązka i in., 2017 (5)

Doświadczenie miało charakter statyczny i prowadzono je metodą równoważnych podbloków: split-block-split-plot, w 3 powtórzeniach na 108 poletkach, każde o powierzchni brutto 48 m$^2$ i powierzchni netto (do zbioru) 25,5 m$^2$. Roślinami doświadczalnymi we wszystkich 3 latach badań były różne gatunki zbóż: pszenżyto jare odm. Nagano, pszenica ozima odm. Figura oraz jęczmień jary odm. Kucyk. Siewy zbóż prowadzono w terminach optymalnych dla danego gatunku zboża. Zabiegi ochrony roślin prowadzono zgodnie z zaleceniami IOR, w zależności od potrzeb.

## Czynniki doświadczenia

W prowadzonych badaniach zastosowano 3 czynniki badawcze. Pierwszym czynnikiem były 3 badane produkty z mikroorganizmami pożytecznymi + kontrola: EM Naturalnie Aktywny (Greenland Technologia EM Sp. z o.o.), EmFarma Plus (PrioBiotics Polska), UGmax – Użyźniacz Glebowy (P.P.H.U. BOGDAN) oraz obiekt kontrolny – bez stosowania preparatów mikrobiologicznych (4 obiekty). Drugim czynnikiem badawczym były 3 sposoby stosowania ww. produktów (trzy sposoby aplikowania preparatów): bezpośrednio na ściernisko, na ściernisko + słomę oraz na ściernisko + słomę + 30 kg N. Natomiast trzecim czynnikiem były 3 poziomy

nawożenia N, w pierwszym roku było to: 60 kg N/ha, 120 kg N/ha oraz 180 kg N/ha, a w kolejnych dwu latach (2013-14): O – kg N/ha, 70 kg N/ha oraz 140 kg N/ha. Azot w formie saletry amonowej ($NH_4NO_3$) stosowano na wiosnę, przy 2 poziomie nawożenia tj. NI - w dwu dawkach, natomiast przy 3 poziomie nawożenia NII – w trzech dawkach dzielonych.

**Oznaczanie ogólnej liczebności drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$**

Oznaczenia ogólnej liczebności drobnoustrojów wykorzystujących $Ca_3(PO_4)_2$ jako jedyne źródło fosforu określano metodą posiewu wgłębnego na płytkach Petriego na pożywce agarowej zawierającej fosforan trójwapniowy według ogólnie przyjętej metodyki (15, 18). Wyniki podano w jtk$\cdot 10^5 \cdot g^{-1}$ s.m. gleby na podstawie obserwacji stref przejaśnienia wokół kolonii bakterii spowodowanych rozpuszczeniem fosforanu wapnia.

**Oznaczenie fosfataz w glebie**

Badania aktywności enzymatycznej gleby opierały się na oznaczeniu aktywności fosfataz w glebie (zasadowej pH = 11,0; kwaśnej pH = 6,5). Aktywność powyższych enzymów glebowych oznaczono metodą kolorymetryczną według metodyki opisanej przez Tabatabai i Bremner (1969). Oznaczenia aktywności fosfatazy kwaśnej i zasadowej prowadzono po 1-godzinnej inkubacji próbek w temperaturze 37°C, w obecności p-nitrofenylofosforanu sodu (PNP) jako substratu. Wykonywano pomiar absorpcji uwolnionego p-nitrofenolu w czasie hydrolitycznego rozkładu soli disodowej p-nitrofenylofosforanu przy długości fali 400 nm przy użyciu spektrofotometru *Nicolet Evolution 60* (ThermoScientific). Wyniki podano w μg PNP$\cdot ml^{-1} \cdot h^{-1}$.

**Opracowanie statystyczne**

Uzyskane wyniki badań opracowano statystycznie, posługując się programem *Statistica* 7.1. W celu oceny istotności różnic wielu średnich zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. Celem tej analizy była weryfikacja hipotezy, że średnie w grupach są jednakowe, wobec hipotezy alternatywnej: co najmniej dwie średnie różnią się między sobą (rozkłady zmiennych były zbliżone do rozkładu normalnego). Za zmienne w analizie wariancji przyjęto: ogólną liczebność drobnoustrojów rozpuszczających fosforany, aktywność fosfatazy kwaśnej i zasadowej.

## Dyskusja i wyniki

Wielu autorów podkreśla, że w warunkach polowych trudno jest uzyskać pozytywne efekty stosowania preparatów mikrobiologicznych, głównie ze względu na skomplikowane interakcje z organizmami glebowymi, oddziaływanie zmiennych warunków pogodowych i innych czynników abiotycznych (1, 7). Liczebność mikroorganizmów wprowadzanych do gleby wraz z preparatem mikrobiologicznym jest zwykle redukowana do poziomu naturalnego. Każda gleba w warunkach naturalnych zasiedlona jest przez drobnoustroje, które przystosowały się do życia w danym środowisku i skolonizowały w nim wszystkie dostępne i umożliwiające

egzystencję nisze ekologiczne (2, 3, 4). Fosfor jest usuwany ze środowiska w wyniku immobilizacji przez drobnoustroje oraz odkładania w formie organicznej i nieorganicznej w związku z sorbowaniem go przez cząstki mineralne gleby. W glebach gliniastych i torfowych ilość drobnoustrojów zdolnych do rozpuszczenia związków fosforu nieorganicznego jest 10- krotnie mniejsza niż w glebach lessowych.

W celu oceny istotności różnic wielu średnich zastosowano jednoczynnikową i dwuczynnikową analizę wariancji. Celem tej analizy była weryfikacja hipotezy, że średnie w grupach są jednakowe, wobec hipotezy alternatywnej: co najmniej dwie średnie różnią się między sobą (rozkłady zmiennych były zbliżone do rozkładu normalnego). Za zmienne w analizie wariancji przyjęto ogólną liczebność bakterii rozpuszczających fosforany oraz aktywność fosfataz w glebie (Tab. 2). Na podstawie dwuwymiarowej analizy wariancji nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy średnimi dla poszczególnych zmiennych (Tab. 2). W celu stwierdzenia, które średnie dla analizy jednoczynnikowej i dwuczynnikowej wariancji różnią się między sobą, a które są równe, zastosowano test NIR (najmniejszej istotnej różnicy) oraz test Tukeya.

Tabela 2

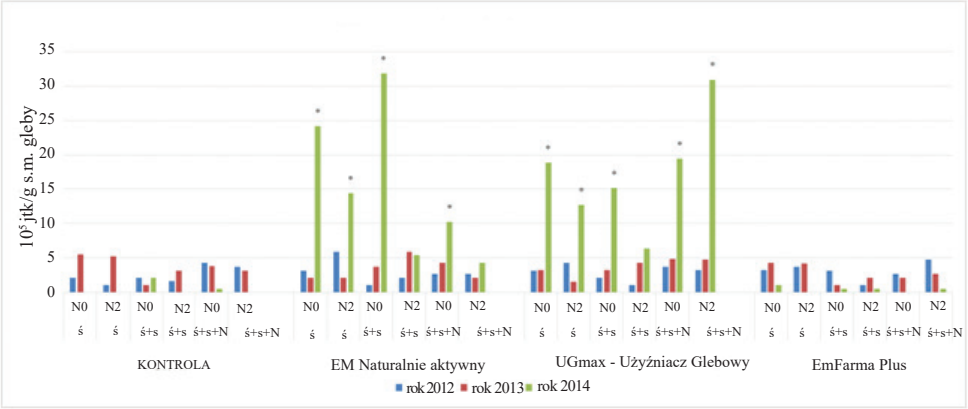
Wyniki dwuwymiarowej analizy wariancji ($\alpha \leq 0,05$) dla całego zbioru danych

| Czynnik/Factor | wartość F<br>F values | α |
|---|---|---|
| | | |
| Preparat | 104,6* | 0,000* |
| Sposób stosowania produktu | 70,0* | 0,000* |
| Rok | 35,0* | 0,001* |
| Preparat_sposób stosowania produktu | 201,5 | 0,979 |
| Preparat_nawożenie NPK | 104,6 | 0,844 |
| Sposób stosowania produktu_ nawożenie NPK | 70,0 | 0,912 |
| Preparat_sposób stosowania produktu – nawożenie NPK | 201,0 | 0,996 |

* zaznaczono istotne statystycznie ($\alpha \leq 0,05$) wartości F i poziomy istotności

Źródło: opracowanie własne

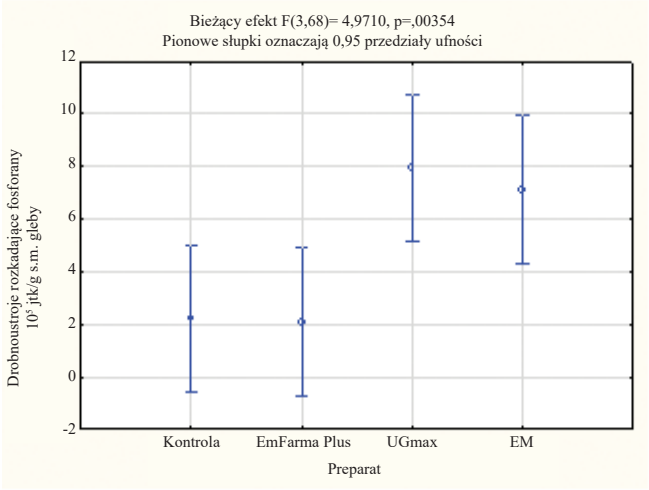
Na podstawie analiz mikrobiologicznych gleby z poszczególnych obiektów doświadczalnych stwierdzono statystycznie istotne różnice pomiędzy obiektami kontrolnymi a obiektami z zastosowanymi preparatami. Najwyższą liczebność drobnoustrojów rozpuszczających fosforany stwierdzono w ostatnim roku badań (2014) po zastosowaniu preparatu EM i UGmax (Rys. 1).

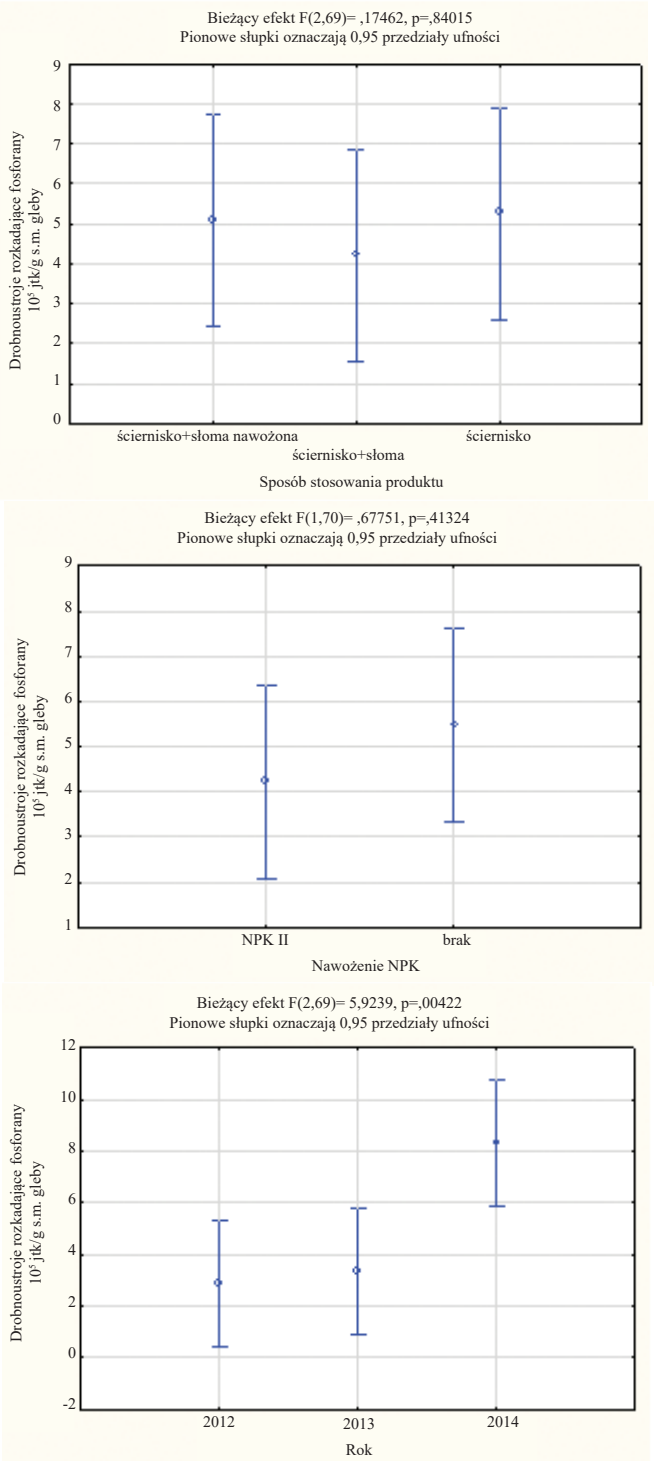



Rys. 1. Ogólna liczebność drobnoustrojów rozkładających fosforany w próbkach glebowych w latach 2012-2014

n=3; K – kontrola, EM – preparat EM, Ug – preparat UGmax, PBE – preparat ProBioEMy: ś – ściernisko; ś+s- ściernisko i słoma; ś+s+N – ściernisko, słoma i nawożenie; N0 – brak nawożenia; N2 – II dawka NPK

Źródło: opracowanie własne






Rys. 2. Jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA dla grup: rok, preparat, sposób stosowania preparatu oraz nawożenie NPK dla $\alpha \leq 0,05$

Źródło: opracowanie własne

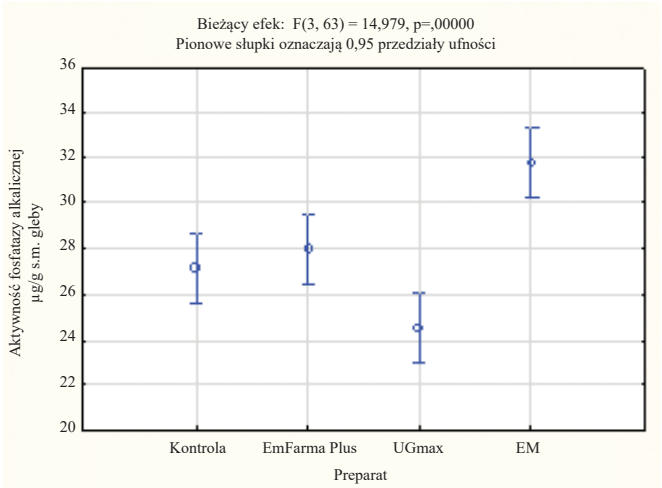
Średnie liczebności drobnoustrojów rozpuszczających fosforany (PSB) w glebie po zastosowaniu preparatu EM i UGmax w roku 2014 różniły się istotnie statystycznie od pozostałych średnich (Rys. 2). Nie stwierdzono ponadto istotnego wpływu sposobu stosowania (aplikowania) preparatu i nawożenia na liczebność drobnoustrojów PSB.

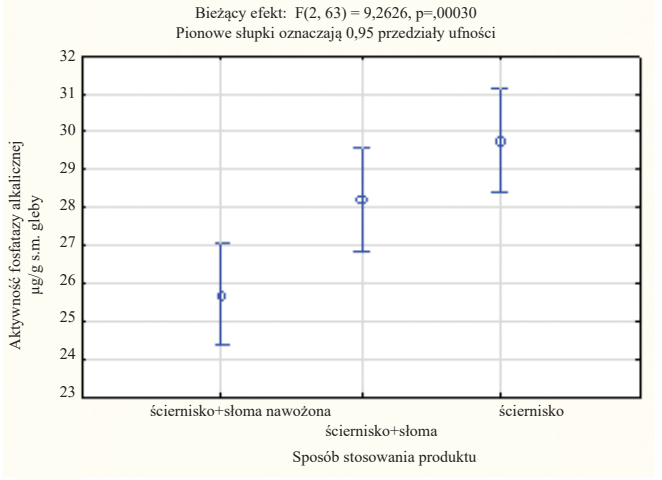
Większość szczepów bakteryjnych uwalnia więcej fosforu z $Ca_3(PO_4)_2$ niż przy rozpuszczaniu $AlPO_4$ i $FePO_4$ (17, 19). Z badań Rodrigez i Fraga (1999) wynika, iż w płynie pohodowlanym szczepu *Pseudomonas fluorescens* oznaczono znacznie większą pulę fosforu (100mg/l) uwolnionego z fosforanu wapnia niż w podłożach z fosforanem glinu i fosforanem żelaza (odpowiednio 92 i 51 mg P/l). Dużą grupę bakterii PSB stanowią bakterie z rodzaju *Bacillus* (*B. megaterium, B. circulans, B. subtilis, B. polymyxa*) (7, 12, 13). Bakterie z rodzaju *Bacillus* w niekorzystnych warunkach wzrostu i rozwoju (mróz, susza) są zdolne do wytwarzania przetrwalników. Stąd też wyselekcjonowanie takich bakterii i wprowadzenie ich do gleby w postaci szczepionki może prowadzić do zwiększenia populacji bakterii PSB w kolejnym sezonie wegetacyjnym nawet po okresie niekorzystnych temperatur (5).

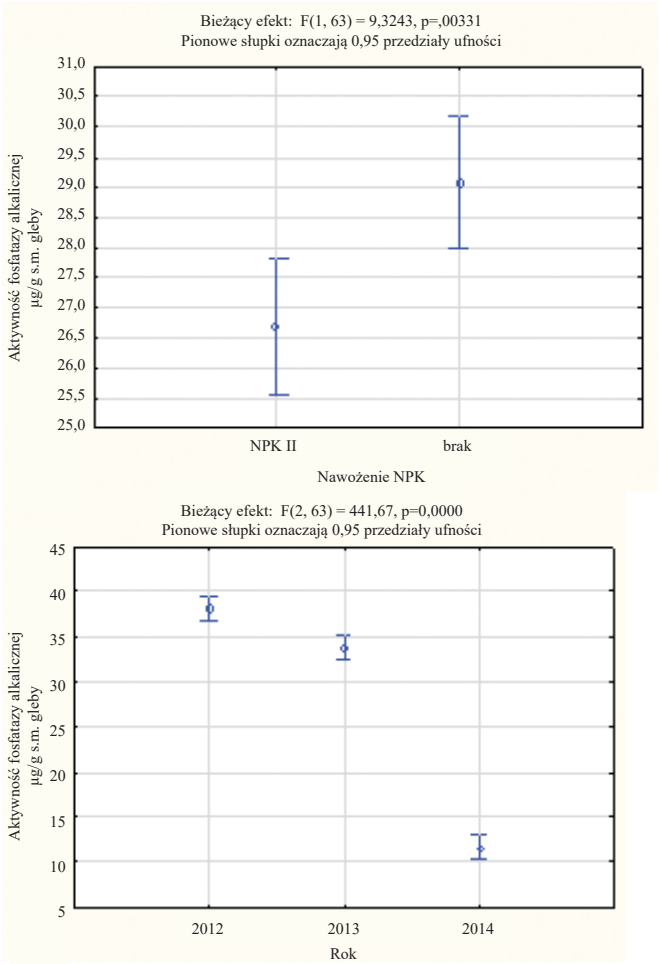
Znane są również tzw. szczepionki mobilizujące, w których zawarte mikroorganizmy zdolne są do mineralizacji organicznych połączeń fosforu (1). Przykładem takiej szczepionki jest fosfobakteryna zawierająca bakterie *Bacillus megaterium* (15). Bakterie te dodatkowo wykorzystują połączenia organiczne fosforu, oddając do środowiska fosforany nieorganiczne. Innym przykładem szczepionki tego typu jest szczepionka zawierająca *Pseudomonias pulidas* (17). W zależności od warunków siedliskowych jak też i specyfiki samego mikroorganizmu rozróżniamy zarówno szczepy zdolne do większej lub mniejszej aktywności immobilizacyjnej fosforu.

Drobnoustroje rozpuszczające fosfor nieorganiczny są bardzo ważnym czynnikiem w biologicznej immobilizacji przyswajalnego fosforu glebowego, ponadto mogą chronić niektóre formy P przed długotrwałym wiązaniem przez części mineralne gleb (15). Czynniki środowiska, takie jak: pH, zawartość składników pokarmowych i materii organicznej, istotnie wpływają na tempo rozpuszczania i ilość rozpuszczanych składników.

Oznaczanie aktywności fosfataz w warunkach niekorzystnych dla aktywności życiowej mikroorganizmów odgrywa istotną rolę w ocenie stopnia mineralizacji materii organicznej (7, 15). Aktywność fosfataz w środowisku glebowym odzwierciedla aktywność enzymów związanych z koloidami glebowymi i substancjami humusowymi, wolnymi fosfatazami w roztworze glebowym oraz fosfatazami związanymi z żywymi i martwymi komórkami roślin. Jednak głównym źródłem fosfataz w środowisku glebowym są przede wszystkim mikroorganizmy glebowe, a także korzenie roślin i fauna glebowa. Fosfatazy mogą być dobrym wskaźnikiem potencjału mineralizacji fosforu organicznego oraz aktywności biologicznej gleby (2, 3).


Bieżący efek: F(3, 63) = 14,979, p=,00000
Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności
Aktywność fosfatazy alkalicznej µg/g s.m. gleby
36
34
32
30
28
26
24
22
20
Kontrola
EmFarma Plus
UGmax
EM
Preparat

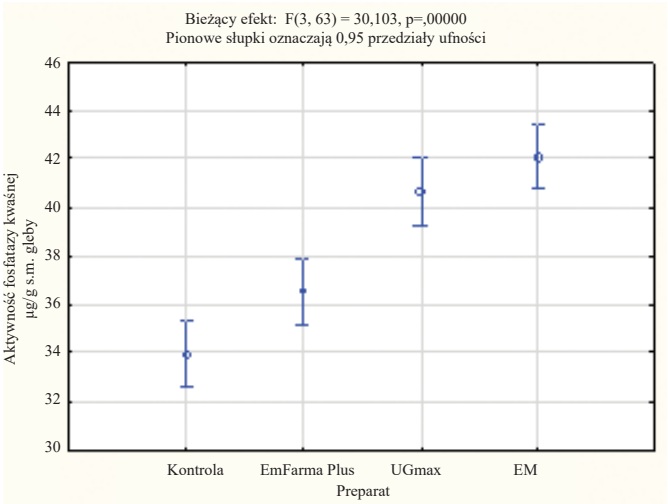

Bieżący efekt: F(2, 63) = 9,2626, p=,00030
Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności
Aktywność fosfatazy alkalicznej µg/g s.m. gleby
32
31
30
29
28
27
26
25
24
23
ściernisko+słoma nawożona
ściernisko+słoma
ściernisko
Sposób stosowania produktu

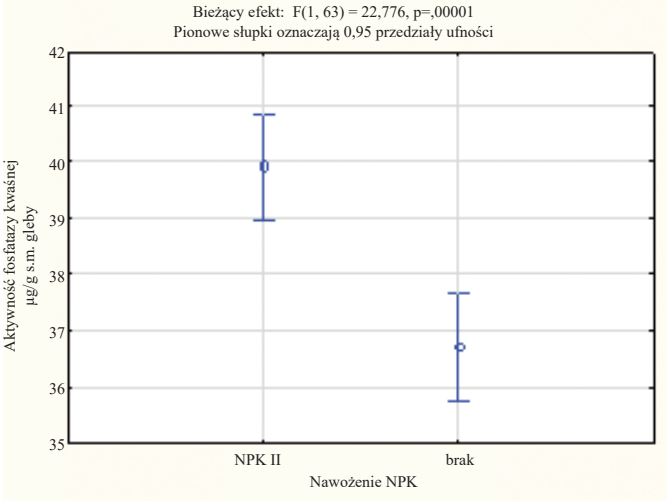


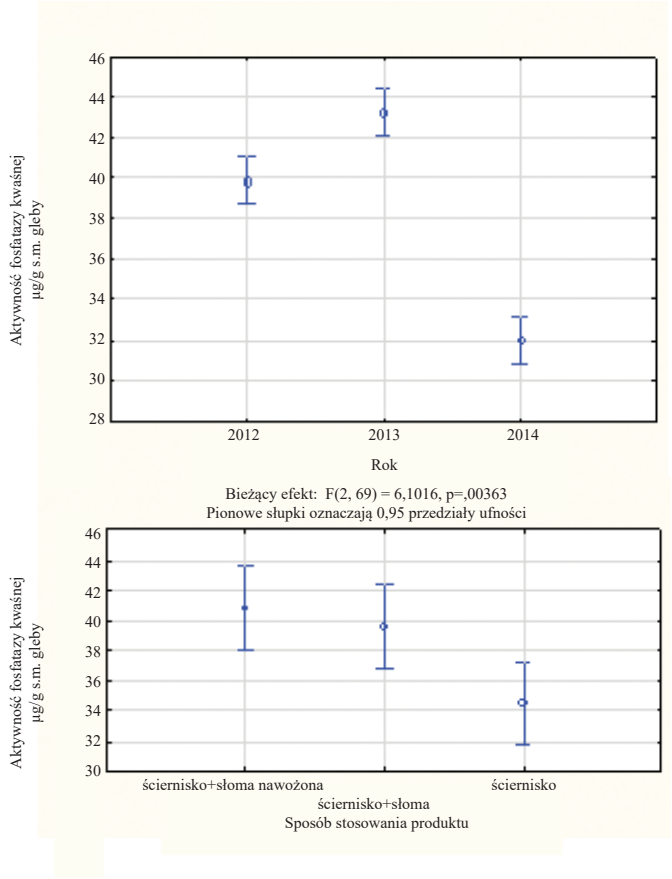

Rys. 3. Jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA dla grup: rok, preparat, sposób stosowania preparatu oraz nawożenie NPK dla $\alpha \leq 0,05$

Źródło: opracowanie własne

Najwyższą aktywność fosfatazy alkalicznej stwierdzono w pierwszym roku badań (2012), natomiast najniższą w ostatnim roku badań (2014); (Rys. 3). Stwierdzono statystycznie istotny spadek aktywności fosfatazy alkalicznej w każdym kolejnym roku badań. Ponadto nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływ zarówno zastosowanego preparatu, sposobu jego dozowania oraz nawożenia na zmiany aktywności fosfatazy alkalicznej w badanych próbkach glebowych.


Bieżący efekt: F(3, 63) = 30,103, p=,00000
Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności
Aktywność fosfatazy kwaśnej µg/g s.m. gleby
46
44
42
40
38
36
34
32
30
Kontrola
EmFarma Plus
UGmax
EM
Preparat


Bieżący efekt: F(1, 63) = 22,776, p=,00001
Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności
Aktywność fosfatazy kwaśnej µg/g s.m. gleby
42
41
40
39
38
37
36
35
NPK II
brak
Nawożenie NPK




Rys. 4. Jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA dla grup: rok, preparat, sposób stosowania preparatu oraz nawożenie NPK dla $\alpha \leq 0,05$

Źródło: opracowanie własne

Natomiast w przypadku oznaczeń aktywności fosfatazy kwaśnej stwierdzono statystycznie istotny wpływ zarówno zastosowanego preparatu, sposobu jego za dozowania oraz roku badań na poziom aktywności badanego enzymu. Najwyższą aktywność fosfatazy kwaśnej stwierdzono w pierwszym i drugim roku badań po zastosowaniu preparatu EM i UGmax. Istotnie statystycznie na poziom aktywności fosfatazy kwaśnej wpłynął także sposób stosowania preparatu oraz poziom nawożenia.

Duża intensywność mineralizacji fosforu organicznego ma miejsce w glebach kwaśnych (1). Mineralizacja organicznych związków fosforu zależy od ilości tego pierwiastka w materii organicznej i aktywności enzymów – fosfataz drobnoustrojów. Wiele drobnoustrojów jest zdolnych do rozpuszczania nieorganicznych związków fosforu w glebie (19), w ryzosferze roślin uprawnych (1), i innych gatunkach roślin (14).

Brak dostępności fosforu może być czynnikiem ograniczającym rozwój roślin w wielu lądowych ekosystemach. Ponieważ rośliny wykorzystują jedynie fosfor nieorganiczny, mineralizacja organicznych związków fosforu ma duże znaczenie w rolnictwie i ekonomii. Wprowadzenie do gleby nawozów mineralnych powoduje przejściowy wzrost ilości biodostępnej formy fosforu (jonów: $HPO_4^{-2}$ i $H_2PO_4^{-}$), które są ponownie wiązane przez kationy glebowe (tzw. uwstecznianie fosforu) (7). Wysoce reaktywne aniony fosforanowe w zależności od odczynu gleby mogą przejść w formy nierozpuszczalne. W glebie o pH bliskim neutralnego obie formy jonów ortofosforanowych występują w roztworze glebowym w równej ilości, a w glebie o pH 8 proporcje te się zmieniają i 80 % biodostępnej formy P stanowi $HPO_4^{-2}$. W roztworze glebowym o pH 4-6 anion $H_2PO_4$ − stanowi około 100% puli biodostępnego P (10). W glebach kwaśnych większość anionów fosforanowych reaguje z tlenkami i hydroksytlenkami Fe i Al tworząc w procesach strącania i/lub sorpcji trudno rozpuszczalne połączenia P. W glebach zasadowych (pH powyżej 6,5) dominują fosforany wapnia, związki średnio dostępne dla roślin (17).

Dla rolnictwa najważniejsza jest żyzność gleby, czyli zawartość składników zaspokajających życiowe potrzeby roślin. Najczęściej, jeżeli struktura gospodarstwa na to pozwala, stosuje się dobrze przefermentowany obornik, który ma ogromne znaczenie w podniesieniu żyzności gleby i zdrowotności roślin. Łodygi, liście i korzenie stanowią bogate źródło materii organicznej, zasobnej w składniki pokarmowe, które powracają do gleby i będą mogły być wykorzystane przez rośliny następcze. Jednak ich wadą jest szeroki stosunek C:N i wobec tego mineralizację warunkuje dostarczenie do gleby azotu, który można podać w formie mineralnej lub naturalnej, np. nawożąc gnojowicą.

## Literatura


1. Chung M.P., Munusamy M., Sundaram S., Jaekyeong S., Hyunsuk C., Tongmin S.: Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. 2005, Soil Biol. Biochem. **37**: 1970-1974.
2. Gałązka A., Kocoń A.: Ocena efektywności działania preparatów z mikroorganizmami pożytecznymi na aktywność enzymatyczną gleb. 2015, Studia i Raporty IUNG: **45**(19): 143-154.
3. Gałązka A., Kocoń A.: Wpływ preparatów z mikroorganizmami pożytecznymi na liczebność i biomasę mikrobiologiczną gleb. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2015, **45**(19): 127-142, 2015.
4. Kocoń A., Gałązka A.: Wpływ preparatów z mikroorganizmami pożytecznymi na właściwości fizykochemiczne i plon roślin. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2015, **45**(19): 113-125.
5. Gałązka A., Gawryjołek K., Kocoń A. The effect of same microbial products on basic biological activities of soil under cereals crop. Plant Soil Environment, 2017, **63(3),** 111-116.
6. Hariprasad P., Niranjana S.R.: Isolation and characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve plant health of tomato. 2009, Plant Soil, **316**: 13-24.
7. Hilda R., Fraga R.: Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. 2000, Biotechnol. Adv. **17**: 319-359.
8. Katzenelson H., Bose B.: Metabolic activity and phosphate dissolving ability of bacterial isolates from wheat roots rhizosphere and non-rhizosphere soil. 1959, Can. J. Microbiol. **5**: 79-85.
9. Kumar A., Bhargava P., Rai L.C.: Isolation and molecular characterization of phosphate solubilizing *Enterobacter* and *Exiguobacterium* species from paddy fields of Eastern Uttar Pradesh, India. 2010, Afr. J. Microbiol. Res. **4(9)**: 820-829.

10. Lis-Krzyścin A., Ostrowska J., Wacławska I.: Rozpuszczanie fosforu nieorganicznego w zróżnicowanych warunkach aktywności biologicznej gleby. Acta Scientarum Polonorum Hortorum Cultus, 2003, **2(2)**: 101-108.
11. Nautiyal C.S.: An efficient microbiological growth medium for screening phosphate-solubilizing microorganisms. FEMS Microbiol. Lett., 1999, **170**: 265-270.
12. Panhwar O.A., Othman R., Rahman Z.A., Meo S.,Mohd R.I.: Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from aerobic rice. African J. Biotech., 2012, **11**(11): 2711-2719.
13. Panhwar Q.A., Naher U.A., Jusop S.., Othman R., Latif M.A.: Biochemical and Molecular Characterization of Potential Phosphate-Solubilizing Bacteria in Acid Sulfate Soils and Their Beneficial Effects on Rice Growth. 2014, PLoS ONE 9(10): e97241. doi:10.1371/journal. pone.0097241.
14. Parasanna A., Deepa V., Balakirashna Murthy P., Deecaraman M., Sridhar R., Dhandapani P.: Insoluble phosphate solubilization by bacterial strains isolated form rice rhizosphere soils from southern India. Int. J. Soil Sci., 2011, **6**(2): 134-141.
15. Paul E.A., Clark, F.E.: Mikrobiologia i biochemia gleb. Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie - Skłodowskiej, Lublin, 2000.
16. Pikovskaya R.I.: Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. 1948, Microbiologiya, **17**: 362- 370.
17. Pikowska R.J.: Mobilizacja fosfatov w poczvie w swiazi s zizniediejatielnostju niekotorych vidov mikrobov. Mikrobiologia, 1948, **5(17)**: 362-371.
18. Reyes I., Valery A., Valduz Z.: Phosphate-solubilizing microorganisms isolated from rhizospheric and bulk soils of colonizer plants at an abandoned rock phosphate mine. Plant Soil, 2006, **287**: 69-75.
19. Rodina A.: Mikrobiologiczne metody badania wód. Warszawa, 1968, ss. 368.
20. Rodriguez H., Fraga R.: Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnol. Adv., 1999, **17**(4-5): 319-339.
21. Tabatabai M.A., Bremner J.M.: Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil Biol. Biochem., 1969, **1**: 301-307.

Adres do korespondencji:

*dr Anna Gałązka*
*Zakład Mikrobiologii Rolniczej*
*IUNG-PIB*
*ul. Krańcowa 8, 24-100 Puławy*
*tel. 81 47 86 950*
*e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl*

**S T U D I A I R A P O R T Y IUNG-PIB**

**ZESZYT 54(8)**: 111-121 **2017**

**Monika Kozieł, Sylwia Siebielec, Grzegorz Siebielec, Stefan Martyniuk**

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

# OCENA EFEKTYWNOŚCI SYMBIOTYCZNEJ SZCZEPÓW BAKTERII Z RODZAJU *RHIZOBIUM* WYIZOLOWANYCH Z BRODAWEK KORZENIOWYCH BOBIKU (*VICIA FABA L. VAR.MINOR*) I GROCHU (*PISUM SATIVUM L.*)*

**Słowa kluczowe**: bakterie, brodawki korzeniowe, bobik, groch

## Wstęp

Rośliny bobowate (*Fabaceae*) są ważnym źródłem białka dla ludzi i zwierząt hodowlanych, a ich uprawa wpływa korzystnie na żyzność gleb i plonowanie innych roślin uprawianych w płodozmianie, zwłaszcza w warunkach rolnictwa integrowanego i ekologicznego (4). Jednym z najważniejszych czynników oddziałujących na wzrost i plonowanie omawianych roślin są bakterie z rodzaju *Rhizobium* indukujące powstawanie na korzeniach brodawek symbiotycznych, w których odbywa się proces redukcji azotu atmosferycznego do formy amonowej, pobieranej przez roślinę bobowatą. Biopreparaty zawierające bakterie symbiotyczne przyczyniają się do zwiększenia plonów roślin bobowatych, w związku z tym stosowane są one dość powszechnie w nowoczesnej agrotechnice tych roślin do przedsiewnego otoczkowania nasion. Badania przeprowadzone w różnych krajach wykazały, że stosowanie preparatów zawierających bakterie symbiotyczne daje bardzo pozytywne efekty plonotwórcze wówczas, gdy rośliny bobowate uprawiane są na glebach nie zawierających rizobiów lub na glebach zasiedlonych przez małe i nieefektywne populacje wymienionych bakterii. W przypadku upraw na glebach zasiedlonych przez duże populacje bakterii symbiotycznych aplikacja szczepionek rizobiowych nie przyczynia się na ogół do istotnych przyrostów plonów (2, 5, 6, 14, 16). Najważniejszymi czynnikami, od których zależą efekty stosowania biopreparatów jest liczebność rizobiów w preparacie, a przede wszystkim efektywność symbiotyczna

* Opracowanie wykonano w ramach zadania 1.3 i 1.4 w programie wieloletnim IUNG-PIB.

wyselekcjonowanych szczepów bakteryjnych wchodzących w skład preparatu szczepionkowego (2, 4, 5, 6, 11).

Zakład Mikrobiologii Rolniczej IUNG-PIB w Puławach posiada kolekcję licznych izolatów bakterii brodawkowych, a najefektywniejsze symbiotycznie szczepy wykorzystywane są do badań i produkcji szczepionek. Z tego też względu bardzo ważne jest pozyskiwanie nowych szczepów, które wzbogaciłyby istniejącą kolekcję i mogłyby być wykorzystywane w praktyce.

Celem przeprowadzonych badań było wyodrębnienie nowych izolatów bakterii symbiotycznych grochu i bobiku z ekstensywnych upraw tych roślin oraz ocena efektywności symbiotycznej wyizolowanych szczepów.

## Materiały i metody

Próbki gleb i roślin bobowatych pobrano w lipcu 2015 roku z pól, na których uprawiano groch w miejscowości Gołąb oraz bobik w miejscowościach Stara Wieś i Pożóg. Na polach, z których pobierano materiał do badań nie stosowano szczepionek zawierających bakterie brodawkowe dla roślin bobowatych oraz środków ochrony roślin. Próbki glebowe pobierano z warstwy 0-15 cm w 3 powtórzeniach. Glebę spod roślin bobowatych, przeznaczoną do analiz mikrobiologicznych przesiano na sicie o średnicy oczek 2 mm. Próbki glebowe przechowywano w zamkniętych woreczkach foliowych w temperaturze 4°C. Próbki powietrznie suche przeznaczono do oznaczeń fizykochemicznych gleb: odczyn gleby (pH w $H_2O$) oraz skład granulometryczny.

- Wyodrębnienie szczepów

Korzenie roślin bobowatych wysterylizowano w 70% etanolu, a następnie pobrano brodawki i wyłożono na płytki Petriego zawierające agarową pożywkę YEMA z dodatkiem Czerwieni Kongo. Płytki inkubowano w 28°C przez okres 5 dni. Następnie uzyskane kolonie bakterii z rodzaju *Rhizobium* doczyszczano metodą posiewów redukcyjnych, a uzyskane czyste kolonie przenoszono na skosy agarowe YEMA z 3 g $CaCO_3$ $L^{-1}$ według metodyk (17) i przechowywano do dalszych analiz w 4°C.

- Oznaczenia właściwości gleb

Wykonano oznaczenia aktywności biochemicznej gleb: dehydrogenaz (1), fosfatazy zasadowej oraz fosfatazy kwaśnej (15). Badanie aktywności dehydrogenaz wykonano metodą kolorymetryczną, z zastosowaniem jako substratu 3-procentowego TTC (chlorku trójfenylotetrazolu), po 24-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C, przy długości fal 485 nm. Aktywność fosfatazy zasadowej i kwaśnej wykonano metodą kolorymetryczną z zastosowaniem PNP (p-nitrofenylofosforan sodu), po 1-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C, przy długości fali 410nm.

Ogólną liczebność bakterii właściwych i liczebność bakterii promieniowców (18), ogólną liczebność bakterii z rodzaju *Azotobacter* (3) oraz ogólną liczebność grzybów (9) określono metodą wysiewu rozcieńczeń glebowych. Płytki inkubowano w temperaturze 28°C, natomiast liczbę kolonii drobnoustrojów hodowanych na poszczególnych pożywkach określono po upływie 3 do 5 dni. Następnie oznaczono liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk) w przeliczeniu na 1 g s.m. gleby.

Skład granulometryczny gleb oznaczony został w Zakładzie Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów IUNG-PIB metodą laserową (Tabela1).

Tabela 1

Skład granulometryczny gleb z pól, na których uprawiano groch (Gołąb) oraz bobik (Stara Wieś, Pożóg)

| Zawartość procentowa frakcji granulometrycznych | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Miejscowość | Piaski 2,0-0,05mm | Pyły 0,05-0,002mm | Ił <0,002mm | Gatunek[1] |
| Stara Wieś | 33,02 | 62,81 | 4,17 | pył gliniasty |
| Pożóg | 25,48 | 69,71 | 4,81 | pył gliniasty |
| Gołąb | 37,75 | 55,84 | 6,41 | pył gliniasty |

[1]gatunek gleby wg klasyfikacji PTG z 2008 r.

Źródło: opracowanie własne

- Doświadczenie wazonowe

W doświadczeniu wazonowym przetestowano 9 nowo- pozyskanych szczepów bakterii symbiotycznych bobiku (*Rhizobium leguminosarum biovar viciae*): 1A1, 1A2, 1A3, 1A4 (Stara Wieś), 2A1, 2A2, 2A3, 2A4, 2A5 (Pożóg) oraz 2 szczepy pochodzące z kolekcji Zakładu Mikrobiologii Rolniczej IUNG-PIB: N-96, BA1, dla uproszczenia zwane w dalszej części pracy szczepami kolekcyjnymi. Z kolei w przypadku grochu porównano 6 nowych izolatów bakterii symbiotycznych *Rhizobium leguminosarum biovar viciae*: 3A1, 3A2, 3A3, 3A4, 3A5, 3A6 (Gołąb) oraz 3 szczepy z istniejącej kolekcji: GGC, GGL, PRE (Tab. 2). Doświadczenie przeprowadzono w plastikowych wazonach o pojemności 1000 ml wypełnionych sterylnym podłożem (perlit). Każdy szczep bakteryjny testowano w 3 powtórzeniach (wazonach). Każdy z wazonów odpowiednio nawodniono płynną bezazotową pożywką (50 ml). Nasiona grochu (odm. Bobas) i bobiku (odm. Tarchalska) przed wysianiem zostały wysterylizowane w 5% $H_2O_2$ (10 minut) i dokładnie przepłukane sterylną wodą destylowaną i pozostawione do wyschnięcia. Tak przygotowane nasiona wprowadzono do dołków w podłożu perlitowym w ilości pięć sztuk nasion na jeden wazon. Przed wysianiem każdego pojedynczego nasiona do dołka dodano po 1 ml hodowli bakteryjnej reprezentującej dany szczep, natomiast do wazonów kontrolnych dodano po 1 ml płynnej pożywki YEMA. Po skiełkowaniu nasion pozostawiono po 3 rośliny w każdym wazonie. Wazony umieszczono w pokoju fitotronowym z regulowaną temperaturą i oświetleniem na okres czterech tygodni. Po tym czasie otrzymane rośliny zważono (części nadziemne oraz korzenie) i policzono brodawki na korzeniach roślin. Ocenę statystyczną doświadczenia wazonowego obejmującą analizę wariancji oraz test średnich Tukeya wykonano w programie Statistica.

Tabela 2

Schemat doświadczenia wazonowego przeprowadzonego w celu porównania nowo-pozyskanych szczepów z upraw ekstensywnych oraz szczepów z istniejącej kolekcji

| Roślina | Szczep | Miejsce pozyskania szczepu | Rok pozyskania |
|---|---|---|---|
| Bobik | $1A_1$<br>$1A_2$<br>$1A_3$<br>$1A_4$ | Stara Wieś | 2015 |
| | $2A_1$<br>$2A_2$<br>$2A_3$<br>$2A_4$<br>$2A_5$ | Pożóg | 2015 |
| | N-96 | Puławy | 1997 |
| | $BA_1$ | Antopol | 1990 |
| Groch | $3A_1$<br>$3A_2$<br>$3A_3$<br>$3A_4$<br>$3A_5$<br>$3A_6$ | Gołąb | 2015 |
| | GGC | Puławy | 1990 |
| | GGL | Puławy | 1990 |
| | PRE | Holandia | 1958 |

Źródło: opracowanie własne

## Wyniki i dyskusja

Gleby, z których wyizolowano nowe szczepy bakterii charakteryzował podobny skład granulometryczny, wszystkie posiadały uziarnienie pyłu gliniastego. Odczyn gleb wahał się od pH 4,3 (gleba z Gołębia) do pH 5,8 gleba ze Starej Wsi (Tab. 1). Pomimo ekstensywności produkcji na polach, z których pobierano materiał, niektóre z gleb charakteryzowały się wysoką aktywnością enzymatyczną. Zbliżone wartości dla aktywności dehydrogenaz oraz fosfatazy kwaśnej i fosfatazy zasadowej zanotowano dla gleb ze Starej Wsi i Pożoga. W glebie pochodzącej z Gołębia, charakteryzującej się najniższym pH, stwierdzono też niższą aktywność dehydrogenaz (50,1 $\mu g\ g^{-1}$) i fosfatazy zasadowej (16,7 $\mu g\ g^{-1}$), natomiast aktywność fosfatazy kwaśnej była dwukrotnie wyższa (103,7 $\mu g\ g^{-1}$) w porównaniu z aktywnością tego enzymu dla dwóch pozostałych gleb (Tabela 2). Badania innych autorów wskazują, że grupa enzymów glebowych jest wrażliwa i w dużym stopniu zależna od odczynu gleby (7). Ogólna liczebność bakterii i grzybów była podobna we wszystkich analizowanych glebach, jedynie w glebie z Gołębia (pH 4,3) nie stwierdzono bakterii z rodzaju *Azotobacter.*

Jak wynika z danych literaturowych te niesymbiotyczne bakterie wiążące azot atmosferyczny preferują gleby zasadowe i rzadko występują w glebach kwaśnych o pH poniżej 6 (10); (Tabela 3).

Tabela 3

Odczyn oraz charakterystyka mikrobiologiczna gleb spod uprawy grochu i bobiku

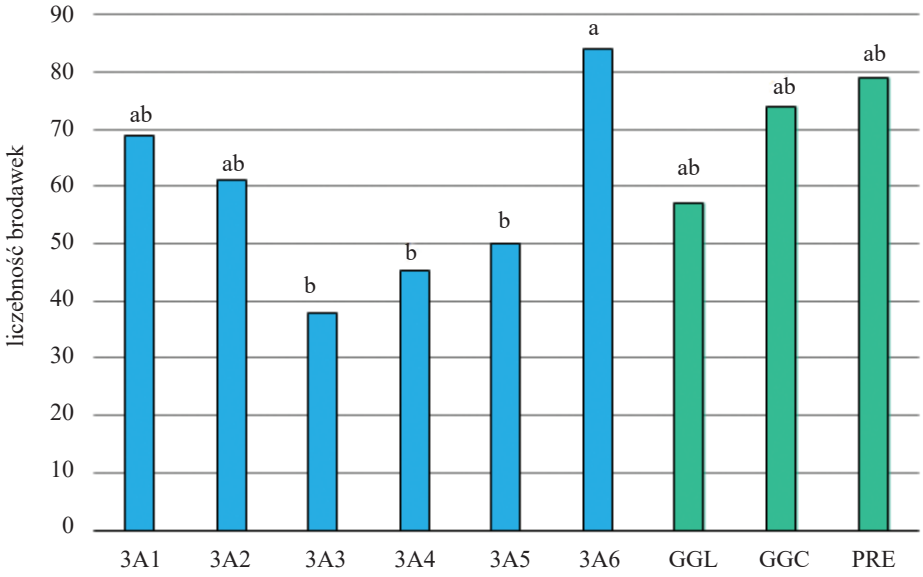
| **Miejscowość** | **pH gleby (w $H_2$0)** | **Ogólna liczebność bakterii z rodzaju *Azotobacter* ($10^3$ jtk·g$^{-1}$s.m. gleby)** | **Ogólna liczebność grzybów ($10^5$ jtk·g$^{-1}$s.m. gleby)** | **Ogólna liczebność bakterii ($10^7$ jtk·g-1s.m. gleby)** | **Fosfataza kwaśna (µg p-nitrofenolu·g s.m.$^{-1}$)** | **Fosfataza zasadowa (µg p-nitrofenolu·g s.m.$^{-1}$)** | **Dehydrogenaza (µg TPF·g s.m.$^{-1}$)** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Stara Wieś | 5,8 | 1,20 x $10^3$ | 11,61 x $10^5$ | 10,8 x $10^7$ | 64,90 | 56,43 | 257,20 |
| Pożóg | 4,9 | 1,17 x $10^3$ | 14,64 x $10^5$ | 15,96 x $10^7$ | 53,29 | 71,48 | 214,36 |
| Gołąb | 4,3 | brak | 8,00 x $10^5$ | 19,7 x $10^7$ | 103,73 | 16,65 | 50,12 |

Źródło: opracowanie własne

W przeprowadzonym doświadczeniu wazonowym analizowano wpływ badanych szczepów na intensywność brodawkowania, wzrost części nadziemnych i korzeni grochu i bobiku.

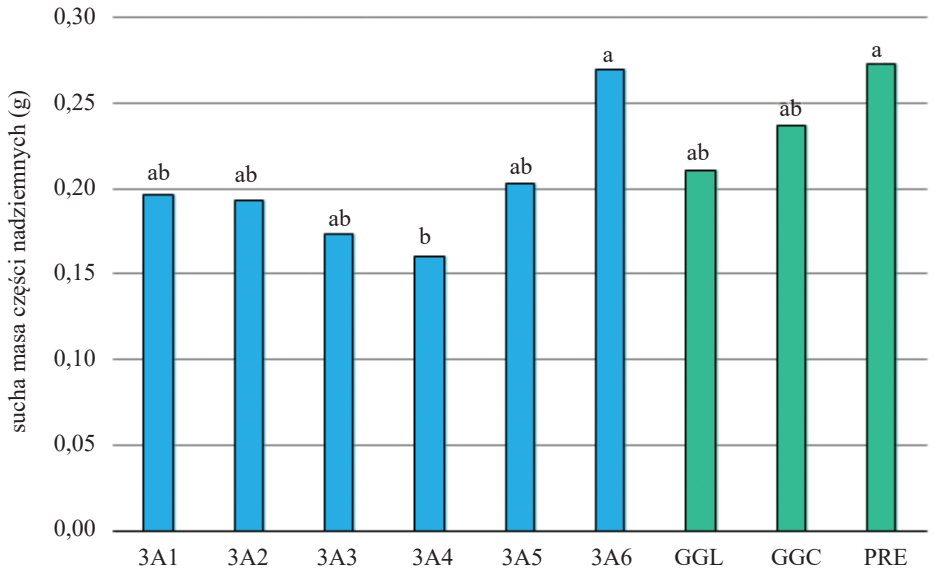
W bioteście z grochem stwierdzono, że rośliny zaszczepione szczepem $3A_6$, wyizolowanym z brodawek tej rośliny uprawianej w Gołębiu, charakteryzowały się największą liczebnością brodawek (84 brodawek/roślinę); (Rys. 1). Dwa spośród trzech szczepów *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*: GGC (74 brodawek/roślinę) i PRE (79 brodawek/roślinę), pochodzące z kolekcji Zakładu Mikrobiologii Rolniczej również miały korzystny wpływ na proces brodawkowania. Z reguły nowe izolaty były nieco gorsze od szczepów kolekcyjnych (Rys. 1). Również w przypadku masy części nadziemnych wykazano dużą zmienność wśród testowanych szczepów a zaobserwowane różnice w pewnym stopniu odzwierciedlały zróżnicowanie w liczbie brodawek. Największa sucha masa części nadziemnych grochu charakteryzowała rośliny zaszczepione szczepem $3A_6$ (0,27 g) oraz szczepami z istniejącej kolekcji GGC (0,24 g) i PRE (0,27g). Zbliżone zależności uzyskano w stosunku do suchej masy korzeni grochu (Rys. 2 i 3). Średnia wielkość suchej masy części nadziemnych roślin szczepionych nowymi szczepami była nieco niższa (0,20 g) niż w przypadku szczepów kolekcyjnych (0,24 g) jednak z reguły nowe szczepy nie były istotnie mniej efektywne niż szczepy z kolekcji. Podobne rezultaty uzyskano w przypadku średnich wartości dla suchej masy korzeni grochu (Rys. 2 i 3).

Wyniki doświadczenia wazonowego z bobikiem wskazują, że spośród symbiontów bobiku wyizolowanych z brodawek korzeniowych tej rośliny szczepy $1A_2$ (31 brodawek/roślinę) i $2A_5$ (29 brodawek/roślinę) indukowały największą liczbę brodawek korzeniowych a liczba brodawek była mocno zróżnicowana pomiędzy poszczególnymi szczepami (Rys. 4). Szczepy kolekcyjne (N-96, BA1) były mniej zróżnicowane pod tym względem i nie zapewniały większej liczby brodawek niż nowe szczepy pozyskane z upraw ekstensywnych. Średnie intensywności brodawkowania dla szczepów wyizolowanych z brodawek korzeniowych bobiku zarówno ze Starej Wsi (24 brodawek/roślinę), jak i Pożoga (20 brodawek/roślinę) były tylko nieco wyższe w porównaniu ze szczepami kolekcyjnymi (18 brodawek/roślinę). Zwiększenie intensywności brodawkowania przez szczepy $1A_2$ i $2A_5$ nie miało jednak wpływu na wzrost bobiku. Duże zróżnicowanie liczby brodawek na roślinach bobiku szczepionych testowanymi szczepami, nie znalazło również odzwierciedlenia w masie nadziemnych części tych roślin, gdzie praktycznie nie stwierdzono istotnej zmienności. Jeden ze szczepów kolekcyjnych (BA1) zapewniał istotnie wyższą masę nadziemną bobiku, w przypadku pozostałych szczepów nie było istotnych różnic (Rys. 5). Średnia wartość suchej masy części nadziemnych dla szczepów kolekcyjnych wynosiła w przeliczeniu na 1 roślinę 0,29 g, natomiast dla izolatów pochodzących ze Starej Wsi i Pożoga, odpowiednio 0,23g i 0,26 g. Z kolei średnie wartości suchej masy korzeni dla szczepów ze Starej Wsi były z reguły nieco niższe niż w przypadku szczepów z Pożoga (Rys. 6). W większości przypadków nowe szczepy z upraw ekstensywnych nie były jednak istotnie słabsze od szczepów kolekcyjnych pod względem wpływu na masę korzeni roślin.



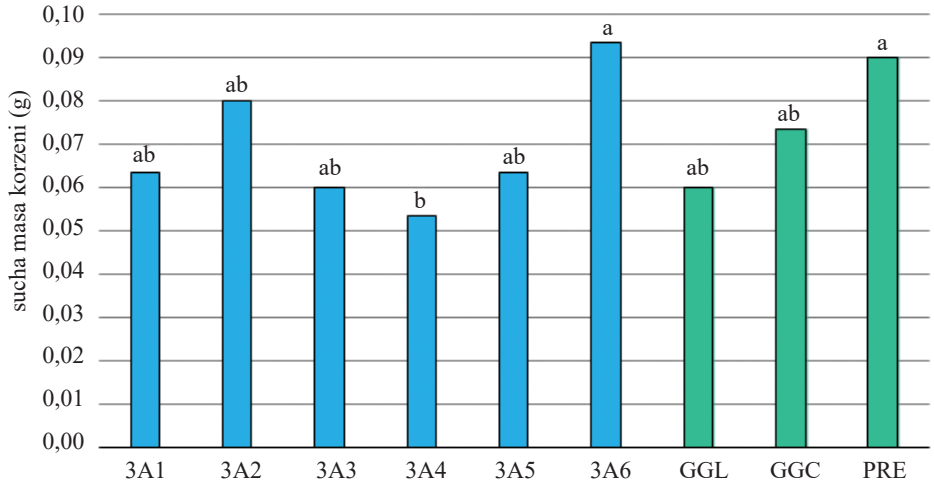

Rys. 1. Średnia liczebność brodawek na korzeniach grochu szczepionego badanymi izolatami bakterii symbiotycznych. Średnie oznaczanymi tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie wg testu Tukeya na poziomie istotności 0,05

Źródło: opracowanie własne



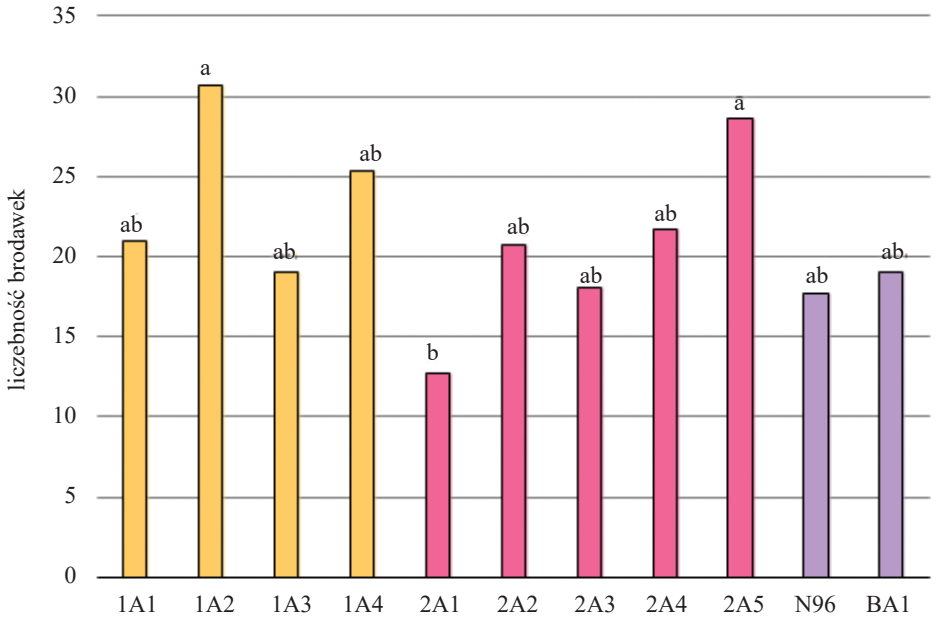

Rys. 2. Sucha masa części nadziemnych grochu w przeliczeniu na 1 roślinę. Średnie oznaczanymi tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie wg testu Tukeya na poziomie istotności 0,05

Źródło: opracowanie własne.



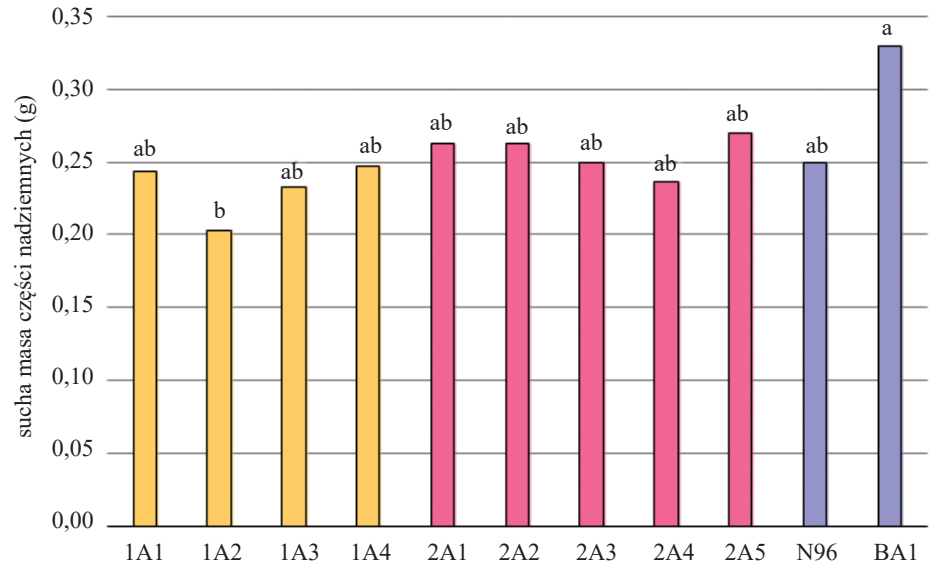

Rys. 3. Sucha masa korzeni grochu w przeliczeniu na 1 roślinę. Średnie oznaczanymi tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie wg testu Tukeya na poziomie istotności 0,05

Źródło: opracowanie własne



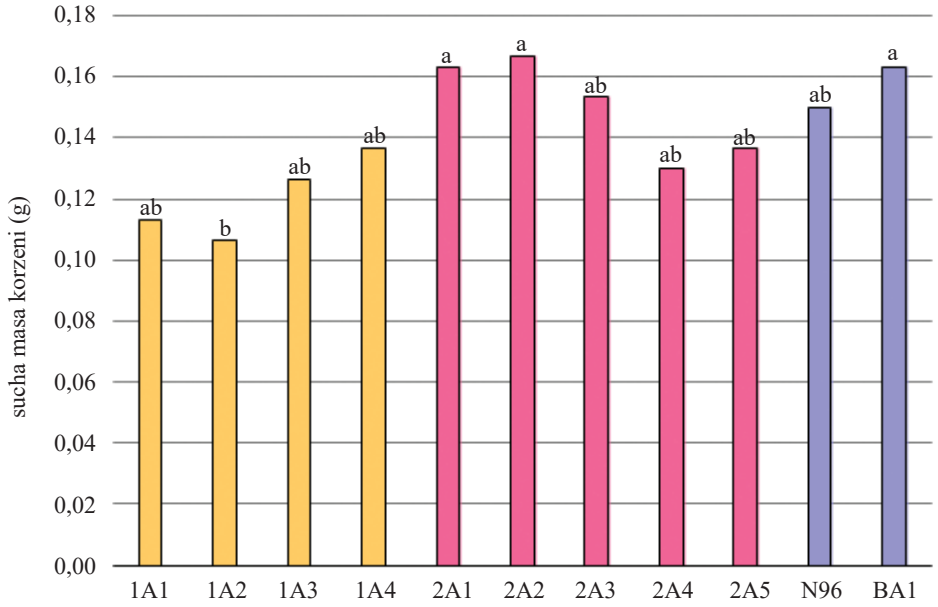

Rys. 4. Średnia liczebność brodawek na korzeniach bobiku szczepionego badanymi izolatami bakterii symbiotycznych. Średnie oznaczanymi tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie wg testu Tukeya na poziomie istotności 0,05

Źródło: opracowanie własne




Rys. 5. Sucha masa części nadziemnych bobiku w przeliczeniu na 1 roślinę. Średnie oznaczanymi tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie wg testu Tukeya na poziomie istotności 0,05

Źródło: opracowanie własne




Rys. 6. Sucha masa korzeni bobiku w przeliczeniu na 1 roślinę. Średnie oznaczanymi tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie wg testu Tukey'a na poziomie istotności 0,05

Źródło: opracowanie własne

Podsumowując, przeprowadzone doświadczenie wazonowe wykazało, że nowo wyizolowane szczepy bakterii symbiotycznych grochu i bobiku były bardzo zróżnicowane pod względem efektywności symbiotycznej. Spośród dziewięciu szczepów wyizolowanych z brodawek bobiku tylko trzy ($1A_2$, $1A_4$ i $2A_5$) indukowały znacznie więcej brodawek korzeniowych niż kolekcyjne szczepy bobiku, natomiast na korzeniach siewek bobiku zaszczepionych pozostałymi izolatami stwierdzono podobne lub nawet mniejsze liczebności brodawek niż na korzeniach siewek zaszczepionych szczepami kolekcyjnymi. Oznaczenia suchej masy pędów i korzeni bobiku (Rys. 5 i 6) wykazały, że parametry te miały najniższe wartości w przypadku siewek bobiku zaszczepionych szczepem $1A_2$, pomimo że indukował on zawiązanie największej liczby brodawek na korzeniach tej rośliny. Wyniki te wskazują, że omawiany szczep mógł być mało efektywny pod względem symbiotycznym i prawdopodobnie wiązał małe ilości azotu atmosferycznego.

Spośród sześciu szczepów wyizolowanych z brodawek grochu tylko jeden ($3A_6$) indukował nieco więcej brodawek korzeniowych w porównaniu ze szczepami kolekcyjnymi, Szczep ten zapewniał tez największe wartości masy pędów i korzeni roślin. Wyniki te mogą wskazywać, że omawiany szczep jest szczególnie efektywny i wiąże największą ilość azotu atmosferycznego.

Nasze badania pozwoliły stwierdzić, że większość testowanych szczepów charakteryzował pozytywny wpływ na brodawkowanie i wzrost roślin wykorzystanych

w doświadczeniu w porównaniu ze szczepami kolekcyjnymi. Na uwagę zasługuję fakt, że szczepy kolekcyjne pomimo długoletniego przechowywania w warunkach laboratoryjnych wciąż wykazują duża aktywność symbiotyczną. Szczep PRE wyizolowany został już w latach 50 XX w., natomiast pozostałe szczepy pozyskano w latach 90 XX w. Możliwe jest również pozyskanie nowych izolatów równie aktywnych bakterii symbiotycznych, czego dowodem są niniejsze wyniki.

Pudełko i Żarnicka (12) w swoich badaniach izolowali nowe szczepy bakterii symbiotycznych z brodawek korzeniowych różnych odmian łubinu uprawianych w Polsce. Pozyskane izolaty sprawdzane były pod względem aktywności symbiotycznej, przy czym wykazano ich znaczne zróżnicowanie pod względem zdolności do indukcji brodawek, podobnie jak w naszym doświadczeniu w przypadku szczepów właściwych dla roślin bobiku. Pudełko (13) w swoich badaniach prowadzonych na szczepach wyizolowanych z brodawek korzeniowych łubinu stwierdził, iż bakterie zdolne do brodawkowania stanowią populacje istotnie endogenne, doskonale przystosowane do lokalnych warunków środowiskowych gleb Polski.

## Podsumowanie

W przeprowadzonych badaniach zaobserwowano dużą zmienność efektywności szczepienia roślin nowymi izolatami bakterii *Rhizobium*, wyrażoną liczbą brodawek oraz wielkością biomasy. Efektywność szczepienia testowanymi szczepami bakterii nie różniła się istotnie od wyników uzyskanych dla szczepów znajdujących się w kolekcji zakładowej, co sugeruje, że w uprawach ekstensywnych roślin bobowatych istnieje znaczny potencjał pozyskiwania nowych wydajnych szczepów bakterii brodawkowych. Najefektywniejsze symbiotycznie szczepy wyizolowane z brodawek korzeniowych grochu ($3A_6$) i bobiku ($1A_2$ i 2A5) mogłyby wzbogacić istniejącą zakładową kolekcję bakterii symbiotycznych i być wykorzystywane do produkcji szczepionek. Wyniki te wymagają jednak potwierdzenia w dalszych badaniach.

## Literatura

1. Casida L., Klein D., Santoro T.: Soil Dehydrogenase Activity. Soil Science, 1964, **98:** 371-376.
2. Cheminingwa, G. N. and Vessey, J. K.: The abundance and efficacy of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* in cultivated soils of the eastern Canadian prairie. Soil Biology and Biochemistry, 2006, **38:** 294-302.
3. Fenglerowa W.: Simple method for counting *Azotobacter* in soil samples. Acta Microbiologica Polonica, 1965, **14(2):** 203-206.
4. Gołębiowska J., Sypniewska U.: The effect of the plant and of ecological conditions on development of symbiosis between lupine and *Rhizobium lupini*. Acta Microbiologi Polonica, 1962, **11:** 319-328.
5. Graham P. H., Vance C. P.: Legumes: importance and constrains to greater use. Plant Physiology, 2003, **131:** 872-877.
6. Jensen E. S.: Inoculation of pea by application of *Rhizobium* in the planting furrow. Plant and Soil, 1987, **97:** 63-70.

7. Kaniuczak J., Kostecka J., Niemiec W.: Wybrane aspekty zagospodarowania odpadów organicznych a produkcja biomasy wierzby energetycznej. Uniwersytet Rzeszowski, Politechnika Rzeszowska, Rzeszów, 2005.
8. Księżak J., Staniak M., Bojarszczuk J.: The regional differentiation of legumes cropping area in Poland between 2001 and 2007. Polish J. Agron., 2009, **1:** 25-31.
9. Martin J. P.: Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. Soil Science, 1950, **69:** 215-232.
10. Martyniuk S.: Znaczenie procesu biologicznego wiązania azotu atmosferycznego w rolnictwie ekologicznym. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 2008, **53:** 9-14.
11. Martyniuk S.: Naukowe i praktyczne aspekty symbiozy roślin strączkowych z bakteriami brodawkowymi. Polish Journal of Agronomy, 2012, **9:** 17-22.
12. Pudełko K., Zarnicka J.: Diversity in symbiotic specificity of bacterial strains nodulating lupins in Poland. Polish Journal of Agronomy, 2010, **2:** 50-56.
13. Pudełko K.: Diversity among field populations of bacterial strains nodulating lupins in Poland. Fragmenta Agronomica, 2010, **27(1):** 107-116.
14. Singleton, P. W., Bohlool, B. B., Nakao, P. L.: Legume response to rhizobial inoculation in the Tropics: Myth and realities. In Lai, R. and Sanchez, P. (eds). Myths and Science of the Soils of the Tropics. Madison, WI, SSSA Spec. Publ., 1992, **29:** 135-155.
15. Tabatabai M. A., Bremner J. M.: Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soilphosphatase activity. Soil Biology and Biochemistry, 1969, **1:** 301-307.
16. Thies J. E., Singleton P. W., Bohlool B. B.: Influence of the size of indigenous rhizobial populations on establishment and symbiotic performance of introduced rhizobia on field-grown legumes. Applied and Environmental Microbiology, 1991, **57:** 19-28.
17. Vincent J. M.: A manual for the practical study of root-nodule bacteria. Blackwell Scientific, Oxford, 1970.
18. Wallace R., Lochhead A.: Qualitative studies of soil microorganisms IX. Amino acid requirements of rhizosphere bacteria. Canadian J. Res., 1950, **28:** 1-6.

Adres do korespondencji:

*mgr Sylwia Siebielec*
*Zakład Mikrobiologii Rolniczej*
*IUNG-PIB*
*ul. Krańcowa 8, 24-100 Puławy*
*tel. 81 47 86 952*
*e-mail: sstaniak@iung.pulawy.pl*

W serii wydawniczej **„RAPORTY PIB”**, a od 2007 r. **„STUDIA I RAPORTY IUNG-PIB”** ukazały się następujące pozycje:

**1.** *Wybrane aspekty agrochemicznych badań gleby.* Puławy, 2006.

**2.** *Zasady wprowadzania nawozów do obrotu.* Puławy, 2006.

**3.** *Regionalne zróżnicowanie produkcji rolniczej w Polsce*. Puławy, 2006.

**4.** *Monitoring skutków środowiskowych planu rozwoju obszarów wiejskich.* Puławy, 2007.

**5.** *Sprawdzenie przydatności wskaźników do oceny zrównoważonego gospodarowania zasobami środowiska rolniczego w wybranych gospodarstwach, gminach i województwach.* Puławy, 2007.

**6.** *Możliwości rozwoju rolnictwa ekologicznego w Polsce.* Puławy, 2007.

**7.** *Współczesne uwarunkowania organizacji produkcji w gospodarstwach rolniczych.* Puławy, 2007.

**8.** *Efektywne i bezpieczne metody regulacji zachwaszczenia, nawożenia i uprawy roli.* Puławy, 2007.

**9.** *Wybrane elementy technologii produkcji roślinnej.* Puławy, 2007.

**10.** *Problem erozji gleb w procesie przemian strukturalnych na obszarach wiejskich.* Puławy, 2008.

**11.** *Uprawa roślin energetycznych a wykorzystanie rolniczej przestrzeni produkcyjnej w Polsce.* Puławy, 2008.

**12.** *Wybrane zagadnienia systemów informacji przestrzennej i obszarów problemowych rolnictwa w Polsce*. Puławy, 2008.

**13.** *Tworzenie postępu biologicznego w hodowli tytoniu i chmielu.* Puławy, 2008.

**14.** *Kierunki zmian w produkcji roślinnej w Polsce do roku 2020.* Puławy, 2009.

**15.** *Wybrane elementy regionalnego zróżnicowania rolnictwa w Polsce.* Puławy, 2009.

**16.** *Systemy wspomagania decyzji w zrównoważonej produkcji roślinnej.* Puławy, 2009.

**17.** *Stan i kierunki zmian w produkcji rolniczej (wybrane zagadnienia).* Puławy, 2009.

**18.** *Produkcyjne i środowiskowe aspekty współczesnych metod nawożenia i regulacji zachwaszczenia.* Puławy, 2009.

**19.** *Oddziaływanie rolnictwa na środowisko przyrodnicze w warunkach zmian klimatu.* Puławy, 2010.

**20.** *Ocena zrównoważenia gospodarowania zasobami środowiska rolniczego w wybranych gospodarstwach, gminach, powiatach i województwach.* Puławy, 2010.

**21.** *Możliwości rozwoju obszarów problemowych rolnictwa (OPR) w świetle PROW 2007–2013.* Puławy, 2010.

**22.** *Możliwości rozwoju gospodarstw o różnych kierunkach produkcji rolniczej w Polsce.* Puławy, 2010.

**23.** *Związki fitogeniczne jako naturalna alternatywa antybiotykowych promotorów wzrostu.* Puławy, 2010.

**24.** *Wybrane aspekty przemian strukturalnych na obszarach wiejskich*. Puławy, 2010.

**25.** *Stan obecny i perspektywy nawożenia roślin w Polsce w aspekcie regulacji prawnych.* Puławy, 2010.

**26.** *Stan obecny i perspektywy rozwoju rolnictwa ekologicznego w Polsce.* Puławy, 2010.

**27(1).** *Środowiskowe skutki działalności rolniczej i wdrażania PROW na obszarach problemowych rolnictwa.* Puławy, 2011.

**28(2).** *Techniki i technologie stosowane w produkcji roślinnej a środowisko przyrodnicze.* Puławy, 2012.

**29(3).** *Problemy zrównoważonego gospodarowania w produkcji rolniczej*. Puławy, 2012.

**30(4).** *Doskonalenie integrowanych technologii produkcji zbóż jarych i roślin pastewnych ze szczególnym uwzględnieniem początkowych elementów agrotechniki*. Puławy, 2012.

**31(5).** *Rola badań naukowych w kształtowaniu postępu w produkcji chmielu i tytoniu*. Puławy, 2012.

**32(6).** *Wybrane aspekty zrównoważonego rozwoju i specjalizacji gospodarstw rolniczych.* Puławy, 2013

**33(7).** *Działalność Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa-PIB w Puławach w zakresie wspierania doradztwa i praktyki rolniczej*. Puławy, 2013.

**34(8).** *Problemy gospodarki nawozowej w Polsce*. Puławy, 2013.

**35(9).** *Zagrożenia dla prawidłowego funkcjonowania gleb użytkowanych rolniczo – wybrane zagadnienia.* Puławy, 2013.

**36(10).** *Zmiany w technologiach produkcji roślinnej – oceny i wpływ na środowisko rolnicze.* Puławy, 2014.

**37(11).** *Dobre praktyki w nawożeniu.* Puławy, 2014.

**38(12).** *Jakość informacji w systemach wspomagania decyzji.* Puławy, 2014.

**39(13).** *Wykorzystanie odnawialnych źródeł energii pochodzenia rolniczego i ich wpływ na środowisko.* Puławy, 2014.

**40(14).** *Wybrane problemy rolnictwa polskiego z uwzględnieniem stanu jego zrównoważenia.* Puławy, 2014.

**41(15).** *Technologie produkcji zbóż i roślin pastewnych warunkujące wysoki plon i dobrą jakość.* Puławy, 2014.

**42(16).** *Podstawy nowoczesnego doradztwa nawozowego w Polsce.* Puławy, 2015.

**43(17).** *Wybrane problemy produkcji rolniczej z uwzględnieniem aspektu dóbr publicznych.* Puławy, 2015.

**44(18).** *Wybrane zagadnienia produkcji roślinnej w Polsce.* Puławy, 2015.

**45(19).** *Kształtowanie żyzności gleby*. Puławy, 2015.

**46(20).** *Wybrane zagadnienia związane z ochroną gleb przed degradacją*. Puławy, 2015.

**47(1).** *Problemy produkcji rolniczej w Polsce w kontekście ich oddziaływania na środowisko.* Puławy, 2016.

**48(2).** *Innowacje w nawożeniu.* Puławy, 2016.

**49(3)**. *Siedliskowe i agrotechniczne uwarunkowania produkcji roślinnej w Polsce*. Puławy, 2016.

**50(4).** *Technologie produkcji roślinnej w warunkach zmieniającego sie klimatu*. Puławy, 2016.

**51(5)**. *Krajowe bazy danych o glebach*. Puławy, 2017.

**52(6)**. *Redukcja emisji gazów cieplarnianych i amoniaku oraz metody adaptacji do zmian klimatu (wybrane zagadnienia)*. Puławy, 2017.

**53(7)**. *Nawożenie a środowisko*. Puławy, 2017.

## WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW

W serii wydawniczej **„STUDIA I RAPORTY IUNG-PIB”** publikowane są recenzowane prace z zakresu agronomii oraz ochrony i kształtowania środowiska rolniczego, wykonane w ramach zadań programów wieloletnich pn. „Kształtowanie środowiska rolniczego Polski oraz zrównoważony rozwój produkcji rolniczej” (2005-2010) oraz „Wspieranie działań w zakresie kształtowania środowiska rolniczego i zrównoważonego rozwoju produkcji rolniczej w Polsce” (2011-2015). W zeszytach problemowych o charakterze monografii, wydawanych w ramach tej serii, mogą być zamieszczane również prace autorów spoza IUNG-PIB, które merytorycznie mieszczą się w tematyce zadań programu wieloletniego. **Publikowane są prace problemowe, głównie mające charakter przeglądowy, z podkreśleniem znaczenia omawianych zagadnień dla rolnictwa polskiego.**

**Wydruk tekstu do recenzji:**
czcionka 12 p., z odstępem 1,5-wierszowym.

**Przygotowanie do druku:**
- tekst i tabele w programie Word, wersja 6.0 lub wyższa
- czcionka – Times New Roman
- układ pracy: słowa kluczowe, wstęp, wyniki i dyskusja bądź omówienie wyników, podsumowanie lub wnioski, literatura

**tekst**
- czcionka – 11 p. (spis pozycji literatury – 9 p.)
- wcięcie akapitowe – 0,5 cm

**tabele**
- podział na wiersze i kolumny (z funkcji tworzenia tabel)
- szerokość dokładnie 13 cm (tabele w pionie) lub 19 cm (tabele w poziomie)
- czcionka 9 p., pojedyncze odstępy międzywierszowe
- pod tabelą przypis ze wskazaniem źródła danych (autorstwa)

**rysunki**
- czarno-białe
- wykresy w programie Word lub Excel
- wymiary w zakresie 13 cm × 19 cm
- w podpisach czcionka 9 p.
- na płycie lub innym nośniku w oddzielnych plikach
- pod rysunkiem przypis ze wskazaniem źródła danych (autorstwa)

**jednostki miary**
- system SI
- jednostki zapisywać potęgowo (np. $t \cdot ha^{-1}$)

**literatura**
- spis literatury na końcu pracy w układzie alfabetycznym wg nazwisk autorów, w kolejności: nazwisko (pismo rozstrzelone), pierwsza litera imienia, tytuł pracy, miejsce publikacji: tytuł wydawnictwa (wg ogólnie przyjętych skrótów tytułów czasopism), rok, numer (pismo pogrubione), strony,
- cytowanie w tekście – jako numer pozycji ze spisu literatury (w nawiasach okrągłych) lub dodatkowo z nazwiskiem autora (pismo rozstrzelone).

Pracę do recenzji należy złożyć w 1 egzemplarzu. Po recenzji oryginalny egzemplarz recenzowany złożyć/przesłać do Redakcji, a ostateczną wersję pracy, uwzględniającą uwagi recenzenta i redaktora, przesłać e-mailem.

Dane kontaktowe:
mgr Ewa Decka-Cywińska
Dział Upowszechniania i Wydawnictw IUNG-PIB
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
e-mail: edecka@iung.pulawy.pl