

Anna PIOTROWSKA¹ i Przemysław CHARZYŃSKI²

ZMIENNOŚĆ CZASOWO-PRZESTRZENNĄ ZAWARTOŚCI I AKTYWNOŚCI GLEBOWEJ BIOMASY MIKROBIOLOGICZNEJ

SPATIO-TEMPORAL VARIABILITY OF SOIL MICROBIAL BIOMASS CONTENT AND ACTIVITY

Abstrakt: W poziomie powierzchniowym (0-20 cm) czarnej ziemi badano zmienność czasowo-przestrzenną zawartości glebowej biomasy mikrobiologicznej (C i N biomasy - MBC i MBN) oraz jej aktywności (aktywność dehydrogenaz - DH, poziom hydrolizy diocyanu fluoresceiny - FDAH, oddychanie gleby - RESP 3) oraz ich powiązanie z wybranymi właściwościami chemicznymi gleby (C_{ORG} , N_{OG} , pH-H₂O). W kwietniu i w sierpniu 2007 roku pobrano po 50 próbek glebowych z punktów zlokalizowanych w sztywnej siatce kwadratów (10 x 10 m). Wyniki opracowano metodami statystycznymi i geostatystycznymi. Tylko wartości C i N biomasy oraz poziomu hydrolizy FDA były istotnie większe ($p < 0,05$) w próbkach gleby pobranej w kwietniu niż w sierpniu. Największą zmienność wartości badanych cech mierzona za pomocą współczynnika zmienności (CV) uzyskano dla wyników oddychania glebowego ($CV > 36\%$), zaś pozostałe badane cechy wykazywały zmienność małą i umiarkowaną ($CV = 11,9-25,6\%$). Wartości skośności dla większości cech były dodatnie, wskazując na prawostronną asymetrię rozkładu wyników. Kurtოza mieściła się w zakresie od 1,18 do 3,54 i dla większość badanych cech była ona ujemna, co świadczy o mniejszej koncentracji wyników wokół średniej w porównaniu do rozkładu normalnego. Najwyższe współczynniki korelacji prostej uzyskano pomiędzy zawartością MBN i MBC oraz C_{ORG} i N_{OG} . Mapy rastrowe wykazały, że wartości badanych zmiennych były nieregularnie rozmieszczone na badanym obszarze. Ponadto dla wszystkich badanych cech uzyskano odmienne rozmieszczenie przestrzenne wyników w obu terminach analiz.

Słowa kluczowe: glebowa biomasa mikrobiologiczna, dehydrogenazy, poziom hydrolizy FDA, oddychanie gleby, zmienność czasowo-przestrzenna

Wstęp

Liczebność i aktywność mikroorganizmów glebowych może być mierzona za pomocą takich parametrów, jak ich liczebność ogólna lub liczebność specyficznych grup, a także biomasa mikroorganizmów, oddychanie gleby lub aktywność enzymatyczna [1-3]. Większość parametrów charakteryzujących populacje mikroorganizmów glebowych jest ze sobą ściśle powiązana i uzależniona od poziomu właściwości fizykochemicznych gleby [4]. Najsilniej wskaźniki mikrobiologiczne związane są z zawartością węgla organicznego, azotu ogółem, minerałów ilastych oraz z odczynem gleby [5].

W literaturze krajowej dużo miejsca poświęca się badaniom liczebności i aktywności biomasy mikroorganizmów glebowych jako wskaźnika stanu środowiska glebowego wywołanego działaniem różnorodnych czynników naturalnych i antropogennych. Badania te jednak prowadzi się zwykle w warunkach kontrolowanych (wazony lub mikropoletka) bez uwzględnienia zmienności przestrzennej tych parametrów, jaka może wystąpić w większej skali, np. pola uprawnego. Parametry mikrobiologiczne należą bowiem do cech gleby charakteryzujących się bardzo dużą zmiennością czasowo-przestrzenną

¹ Katedra Biochemii, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz, email: apiotr@utp.edu.pl

² Zakład Geografii Krajobrazu, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, 87-100 Toruń, email: pecha@umk.pl

w porównaniu do innych właściwości gleby [6]. Z tego względu badania ich zróżnicowania mogą mieć duże znaczenie zarówno poznawcze, jak i praktyczne i mogą być pomocne we właściwym zrozumieniu procesów zachodzących w glebie.

W odniesieniu do powyższego celem pracy było rozpoznanie i charakterystyka zmienności czasowo-przestrzennej parametrów charakteryzujących liczebność i aktywność glebowej biomasy mikrobiologicznej w skali pola uprawnego.

Materiał i metody

Próbki czarnej ziemi właściwej, służącej jako materiał badawczy, pobrano z 80-hektarowego pola uprawnego położonego w miejscowości Orlinek k. Mroczy w województwie kujawsko-pomorskim. Na wybranym do badań polu uprawiana był pszenica ozima, której przedplonem był rzepak ozimy. Próbki glebowe do analiz pobrano z poziomu ornopróchnicznego profilu glebowego dwukrotnie: wiosną w fazie strzelania w źdźbło pszenicy ozimej oraz bezpośrednio po jej zbiorze. Razem pobrano 100 próbek z punktów zlokalizowanych w sztywnej siatce kwadratów o boku 10 m, przy czym każda próba stanowiła średnią z 10 indywidualnych pobrań.

Aktywność dehydrogenaz oznaczona została według metody Thalmanna [7] z zastosowaniem chlorku 2,3,5-trójfenylotetrazolu (TTC) jako akceptora. Oznaczenie poziomu hydrolizy diocyanu fluoresceiny (FDAH) polegało na kolorymetrycznym pomiarze fluoresceiny uwolnionej po inkubacji gleby z diocyanem fluoresceiny w 37°C [8]. Zawartości węgla (MBC) i azotu (MBN) biomasy mikrobiologicznej oznaczono metodą chloroformowej fumigacji-ekstrakcji [9]. „Oddychanie glebowe” (RESP 3) mierzono ilością CO₂ wydzielonego po 3 dniach inkubacji gleby w temperaturze 25°C [10]. Analizy podstawowych właściwości chemicznych gleby, takie jak pH w H₂O metodą potencjometryczną, węgiel organiczny i azot ogółem analizatorem Vario Max CN firmy Elementar, przeprowadzono na próbkach powietrznie suchych i przesianych przez sito o średnicy oczek 2 mm.

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie przy zastosowaniu programu STATISTICA v. 8.0 firmy StatSoft Polska. Dla populacji uzyskanych wyników obliczono miary położenia (średnią arytmetyczną i geometryczną oraz medianę), miary zmienności (odchylenie standardowe - *SD*, współczynnik zmienności - *CV%*) oraz miary asymetrii i koncentracji (skośność i kurtozę). Dla zobrazowania zmienności przestrzennej badanych cech wykreślono mapy rastrowe oraz wyrysowano korelogramy, przedstawiające korelacje wyników danej zmiennej na badanym obszarze. Analizy geostatystyczne wykonano przy użyciu programu ISATIS firmy Geovariance.

Wyniki i ich omówienie

Wyniki podstawowych parametrów statystycznych badanych zmiennych zamieszczono w tabeli 1. Wszystkie zmienne określające zawartość i aktywność biomasy mikroorganizmów miały większe wartości w próbkach pobranych w kwietniu niż w sierpniu, choć analiza wariancji wykazała, że jedynie w przypadku zawartości C i N biomasy oraz poziomu FDAH różnice te były istotne statystycznie ($p < 0.05$).

Dla zawartości N_{OG}, C i N biomasy oraz poziomu hydrolizy FDA większy zakres (minimum i maksimum) oraz większe wartości *SD* uzyskano dla wyników próbek

glebowych badanych w kwietniu niż w sierpniu. Dla pozostałych zmiennych parametry te były zbliżone w obu terminach analiz. Współczynnik zmienności obliczony dla zawartości C_{ORG} mieścił się w zakresie niskiej zmienności (CV między 0÷15%), zaś dla zawartości MBC i MBN zakres zmienności znajdował się w klasie średniej ($CV = 16÷35\%$) (tab. 1). Dużą zmiennością ($CV = 37,1$ i $41,3\%$) cechowały się jedynie wartości oddychania gleby (RESP 3). Wyniki aktywności dehydrogenaz oraz poziom FDAH, a także zawartość N_{OG} mieściły się pomiędzy niską a średnią klasą zmienności, zgodnie z klasyfikacją podaną przez Wildinga [11].

Tabela 1

Parametry statystyczne badanych zmiennych ($n = 50$)

Table 1

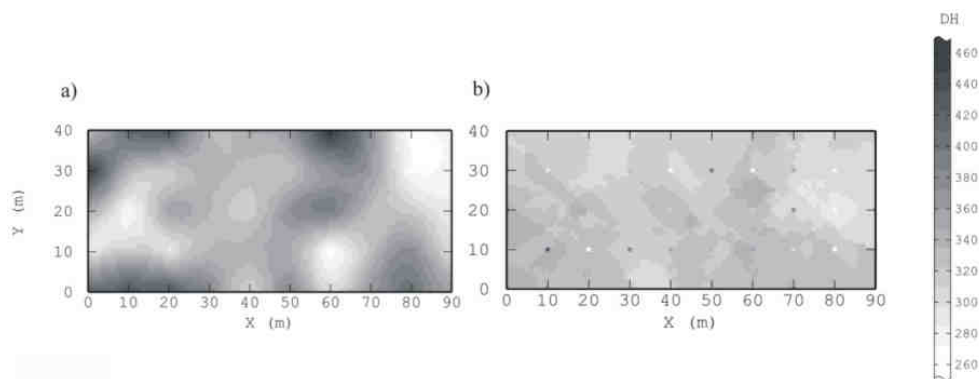
Statistical parameters of variables studied ($n = 50$)

Zmienna Variable	Miesiąc Month	Minimum Minimum	Maksimum Maximum	Średnia arytm. Arithmet. mean	Średnia geomet. Geomet. mean	Mediana Median	SD	Skośność Skewness	Kurtoza Kurtosis	CV [%]
DH	IV	265,4	459,8	345,4	341,9	337,2	50,0	0,393	-0,411	14,5
	VIII	198,9	441,4	320,3	315,5	319,2	55,1	0,002	-0,453	17,2
FDA	IV	30,1	70,4	49,8	48,7	49,7	10,4	0,015	-0,974	20,8
	VIII	29,0	52,0	37,3	37,1	36,4	4,44	0,965	1,78	11,9
MBC	IV	379,5	967,3	715,2	693,5	727,5	171,1	-0,224	-1,180	23,9
	VIII	249,9	696,9	392,7	376,1	374,7	123,2	1,035	0,221	31,4
MBN	IV	54,7	136,1	95,5	93,1	98,0	21,2	-0,044	-0,939	22,2
	VIII	41,1	109,3	70,1	67,9	64,4	18,0	0,465	-0,811	25,6
RESP 3	IV	1,13	5,32	2,87	2,67	2,90	1,06	0,417	-0,496	37,1
	VIII	0,88	4,73	2,66	2,42	2,54	1,10	0,240	-0,919	41,3
C_{ORG}	IV	13,1	25,1	18,7	18,5	18,4	2,83	0,175	-0,170	15,1
	VIII	15,2	26,5	19,8	19,7	19,4	2,65	0,336	-0,219	13,4
N_{OG}	IV	1,41	3,02	1,80	1,87	1,85	0,294	-1,359	3,540	16,3
	VIII	1,52	2,68	1,99	1,98	1,95	0,241	0,696	0,409	12,1
pH-H ₂ O	IV	6,73	7,36	-	7,02	7,01	0,16*	0,071	-0,932	2,14
	VIII	6,48	7,19	-	6,85	6,88	0,18*	-0,262	-0,951	2,62

DH - aktywność dehydrogenaz; dehydrogenase activity [$mg\ TPF \cdot kg^{-1} \cdot 24\ h^{-1}$], FDA - poziom hydrolizy diocetanu fluoresceiny; fluorescein diacetate hydrolysis [$mg\ F \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$], MBC - zawartość węgla biomasy mikrobiologicznej; microbial biomass carbon content [$mg \cdot kg^{-1}$], MBN - zawartość azotu biomasy mikrobiologicznej; microbial biomass nitrogen content [$mg \cdot kg^{-1}$], RESP 3 - średnia wartość oddychania gleby mierzona po 72 godzinach inkubacji; mean value of soil respiration after 72 hours of incubation [$mg\ CO_2 \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$], C_{ORG} - zawartość węgla organicznego; organic carbon content [$g \cdot kg^{-1}$], N_{OG} - zawartość azotu ogółem; total nitrogen content [$g \cdot kg^{-1}$], IV - kwiecień; April, VIII - sierpień; August, SD - odchylenie standardowe; standard deviation, CV [%] - współczynnik zmienności; coefficient of variation

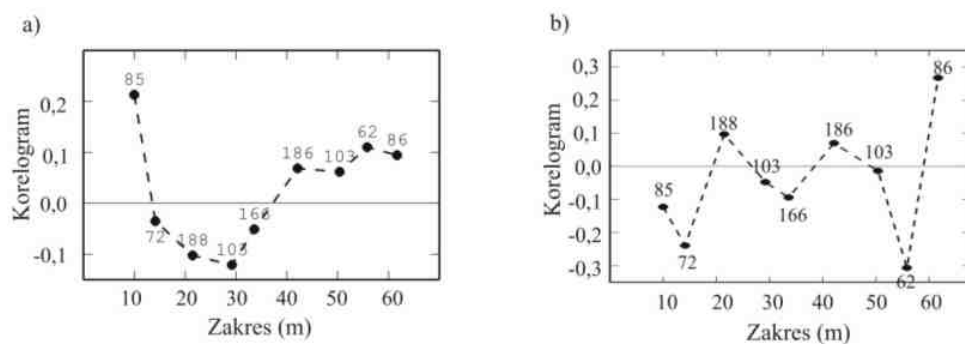
W celu określenia asymetrii i koncentracji uzyskanych wyników w porównaniu do rozkładu normalnego obliczono skośność oraz kurtozę. Z wyjątkiem wyników MBC (sierpień) i N_{OG} (kwiecień) wartości skośności mieściły w najczęściej uzyskiwanym przedziale wynoszącym od -1 do 1 [12]. Większość wartości skośności obliczona dla badanych zmiennych była dodatnia, wskazując na niewielką prawostronną asymetrię rozkładu wyników, tj. większość wyników była mniejsza od średniej arytmetycznej. Jedynie zawartość C i N biomasy oraz zawartość N_{OG} mierzona w próbkach glebowych pobranych w kwietniu oraz wyniki pH-H₂O oznaczone w materiale glebowym pobranych

w sierpniu wykazywały asymetrię lewostronną (skośność ujemna). Porównanie wartości średnich arytmetycznych i median badanych zmiennych potwierdziło wyniki uzyskane przez obliczenie współczynnika asymetrii (skośności). Kurtoza, która charakteryzuje względną płaskość lub wysmukłość rozkładu w porównaniu z rozkładem normalnym, czyli jest miarą koncentracji cechy wokół średniej, obliczona dla badanych zmiennych, mieściła się w zakresie od $-1,18$ do $3,54$. Większość badanych cech miała kurtozę ujemną, co świadczy o mniejszej koncentracji wyników wokół średniej niż w przypadku rozkładu normalnego. Największą i dodatnią wartość kurtozy ($3,54$) uzyskano dla wyników N_{OG} analizowanego w próbkach pobranych w kwietniu, co świadczy o większej koncentracji wyników wokół średniej w porównaniu do rozkładu normalnego.



Rys. 1. Przestrzenne rozmieszczenie wyników aktywności dehydrogenaz (DH): a) w kwietniu i b) w sierpniu

Fig. 1. Spatial distribution of dehydrogenase activity (DH): a) in April and b) in August



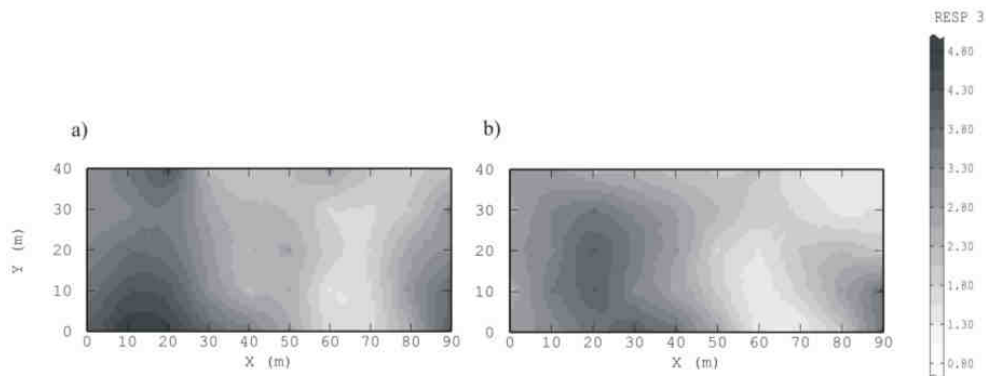
Rys. 2. Przestrzenna korelacja wyników aktywności dehydrogenaz (DH): a) w kwietniu i b) w sierpniu

Fig. 2. Spatial correlation of dehydrogenase activity (DH): a) in April and b) in August

Dla określenia zależności pomiędzy badanymi zmiennymi wykonano analizę korelacji prostej. Ponieważ większość współczynników korelacji pomiędzy badanymi zmiennymi była nieistotna lub bardzo niska, nie przedstawiono ich w formie tabeli. Najwyższe współczynniki korelacji uzyskano pomiędzy zawartością MBN i MBC ($r = 0,851$;

$p < 0,001$ - w kwietniu oraz $r = 0,826$; $p < 0,001$ - w sierpniu) oraz C_{ORG} i N_{OG} ($r = 0,913$; $p < 0,001$ - w kwietniu i $r = 0,932$; $p < 0,001$ - w sierpniu). Ponadto, wyniki RESP 3 w obu terminach badań były dodatnio skorelowane z wartościami pH-H₂O ($r = 0,564$ i $r = 0,599$; $p < 0,01$).

Mapy rastrowe wykazały, że wartości analizowanych parametrów były nieregularnie rozmieszczone na badanym obszarze, przy czym niektóre ze zmiennych miały zupełnie inne rozmieszczenie wyników w obu terminach analiz. Przykładowo na mapie obrazującej zmienność aktywności dehydrogenaz w kwietniu występuje kilka nieregularnych skupisk wysokich wartości na tle niższych i znacznie mniej zróżnicowanych (rys. 1a). Rozmieszczenie aktywności DH na obszarze badanym w sierpniu było jeszcze bardziej nieregularne i mozaikowate (rys. 1b). Nieregularne rozmieszczenie wyników aktywności DH potwierdzone zostało przez małe wartości korelacji przestrzennej tej zmiennej (rys. 2 a i b). Największa intensywność respiracji początkowej (RESP 3) mierzona w obu terminach analiz wystąpiła na badanym obszarze w pasie na długości 10÷30 m i na całej szerokości badanego obszaru (rys. 3a i b).



Rys. 3. Przestrzenne rozmieszczenie wyników oddychania glebowego (RESP 3): a) w kwietniu i b) w sierpniu
Fig. 3. Spatial distribution of soil respiration (RESP 3): a) in April and b) in August

Podsumowanie

Uzyskane wyniki wskazują, że badane cechy określające zawartość i aktywność biomasy mikrobiologicznej wykazywały dużą zmienność zarówno w czasie, jak i na przestrzeni badanego obszaru. Statystycznie większą zawartość (C i N biomasy) i aktywność mierzoną szybkością hydrolizy FDA miała biomasa mikroorganizmów w glebie badanej w kwietniu w porównaniu do gleby analizowanej w sierpniu. Aktywność DH i poziom oddychania gleby nie wykazywały istotnego zróżnicowania pomiędzy badanymi terminami. Z większymi wartościami badanych parametrów uzyskanymi w kwietniu wiązało się także większe zróżnicowanie populacji ich wyników mierzone zakresem (minimum i maksimum) oraz odchyleniem standardowym. Współczynnik zmienności dla badanych cech (oprócz FDAH) był natomiast większy w próbkach gleb pobranych sierpniu niż w kwietniu. Mapy rastrowe wykazały, że wartości badanych zmiennych były nieregularnie rozmieszczone na badanym obszarze. Ponadto, dla

wszystkich badanych cech uzyskano odmienne rozmieszczenie przestrzenne wyników w obu terminach badań.

Uzyskane wyniki wskazują na konieczność prowadzenia badań zmienności przestrzennej parametrów glebowych w celu określenia ich rzeczywistej wartości w różnych częściach badanego obszaru. Zmienność właściwości gleby występująca w obrębie pola uprawnego jest bowiem często pomijana, a gleba na danym polu traktowana jako jednorodna. Pozwala to na ograniczenie ilości analiz parametrów glebowych do jednego lub kilku punktów pomiarowych, co nie zawsze można odnieść do warunków rzeczywistości występujących w danej skali. Wizualizacja rozmieszczenia wartości zmiennych glebowych na danym obszarze może wskazać miejsca, w których należy zwiększyć (lub zmniejszyć) liczbę próbkowań w następnych pomiarach, tak aby uzyskany obraz badanej cechy był dokładniejszy [13].

Podziękowania

Badania finansowane przez MNiSzW w ramach projektu badawczego N 310 030 32/1588.

Literatura

- [1] Alef K, Nannipieri P. *Methods in soil microbiology and biochemistry*. New York: Academic Press; 1995.
- [2] Scinner F, Öhlinger R, Kandeler E, Margesin R. *Methods in soil biology*. New York: Berlin: Springer Verlag; 1995.
- [3] Bloem J, Hopkins D, Benedetti A. *Microbiological methods for assessing soil quality*. Cambridge: CABI Publishing; 2006.
- [4] Martyniuk S, Stachyra A, Wróblewska B, Zięba S. Związki pomiędzy mikrobiologicznymi i enzymatycznymi właściwościami gleby a plonami ziemniaków. W: *Drobnoustroje w środowisku. Występowanie, aktywność i znaczenie*. Barabasz W, redaktor. Kraków: Akademia Rolnicza w Krakowie; 1997;439-447.
- [5] Gianfreda L, Ruggiero P. Enzyme activities in soil. W: *Nucleic Acids and Proteins in Soil*. Nannipieri P, Smalla K, redaktorzy. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2006;20-25.
- [6] Parkin TB. *J Environ Qual*. 1993;22:409-417.
- [7] Thalmann A. *Landwirtsch Forsch*. 1968;21:249-258.
- [8] Adam G, Duncan H. *Soil Biol Biochem*. 2001;33:943-951.
- [9] Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS. *Soil Biol Biochem*. 1987;19:703-707.
- [10] Stotzky G. Microbial respiration. W: *Methods of Soil Analysis*. Black CA, redaktor. Madison: American Society of Agronomy; 1965;1550-1570.
- [11] Wilding LP. Spatial variability: its documentation, accommodation, and implication to soil surveys. W: *Soil spatial variability*. Nielsen DR, Bouma J, redaktorzy. Wageningen: Pudoc Wageningen; 1985:166-194.
- [12] Iqbal J, Thomasson JA, Jenkins JN, Owens PR, Whisler FD. *Soil Sci Soc Am J*. 2005;69:1338-1350.
- [13] Usowicz B, Hajnos M, Sokołowska Z, Józefaciuk G, Bowanko G, Kossowski J. *Acta Agrophys., Rozprawy i Monografie*. 2004;3:5-90.

SPATIO-TEMPORAL VARIABILITY OF SOIL MICROBIAL BIOMASS CONTENT AND ACTIVITY

¹ Faculty of Agriculture and Biotechnology, Department of Biochemistry
University of Technology and Life Sciences, Bydgoszcz

² Faculty of Biology and Earth Sciences, Department of Landscape Geography
Nicolaus Copernicus University, Toruń

Abstract: Spatio-temporal variability of soil microbial biomass content (microbial biomass carbon - MBC and nitrogen - MBN) and activity (dehydrogenase - DH, and fluorescein diacetate hydrolysis - FDAH, soil basal respiration after 3 days - RESP 3) and their relationship to the variability of some chemical properties (C_{ORG} - organic carbon content, N_{TOT} - total nitrogen content, soil pH H_2O) in the surface horizon (0-20 cm) of Phaeozems (Pomorze and Kujawy region) was studied. Fifty soil samples were collected in April and August 2007 in a square sampling grid (10 x 10 m). The results were evaluated with the use of classic statistical and geostatistical methods. Only MBC and MBN as well as FAD hydrolysis data was significantly higher in the soil samples taken in April than in August ($p < 0.05$). The highest variability of the studied properties values as measured with coefficient of variation (CV [%]) was shown for soil respiration ($CV > 36\%$), while the other properties displayed small and moderate variability ($CV = 11.9\div 25.6\%$). Most of the properties studied displayed the positive skewness, showing left-sided asymmetry. The kurtosis ranged from -1.18 to 3.54 and most of variables studied shown the negative values of this parameter, suggesting lower concentration of the data around the average value compared to the normal distribution. The raster maps showed that microbial properties studied were distributed irregularly in the topsoil. The highest positive correlation coefficients were found between MBN and MBC, and between organic carbon and total nitrogen contents.

Keywords: soil microbial biomass, dehydrogenase, FDA hydrolysis, soil respiration, spatio-temporal variability