

# RÓZnorodność mikroorganizmów w funkcji właściwości fizykochemicznych gleb o różnym sposobie użytkowania i nawożenia wykorzystywanych do uprawy pszenicy

Artur Banach<sup>1</sup>, Agnieszka Kuźniar<sup>1</sup>, Anna Kruczyńska<sup>1</sup>, Andrzej Słomczewski<sup>2</sup>, Jacek Podlewski<sup>2</sup>, Sara Jurczyk<sup>3</sup>, Agnieszka Wolińska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Medyczny, Katedra Biologii i Biotechnologii Mikroorganizmów, Konstantynów 11, 20-708 Lublin; <sup>2</sup>CGFP Sp. z o.o., Wojnowo 5, 86-014 Sienkiewo; <sup>3</sup>Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Przyrodniczych i Technicznych, Katedra Sztucznej Inteligencji, Konstantynów 1H, 20-708 Lublin

## WPROWADZENIE I CEL BADAŃ

Produktywność gleb oraz ich kondycja jest związana z kompozycją zasiedlających je mikroorganizmów. Różnorodność mikroorganizmów glebowych może ulegać zmianom w zależności od zastosowanego systemu uprawy oraz obecności i wielkości nawożenia. W związku z tym celem przeprowadzonych badań było rozpoznanie zmienności bioróżnorodności mikroorganizmów zasiedlających gleby, stanowiące zasoby spółki CGFP, przeznaczone do uprawy pszenicy (odmiana RAGT Kilimanjaro), uprawianej dwiema technologiami (orka głęboka, UGŁ oraz pasowa, UP) wraz ze zróżnicowanym, zredukowanym nawożeniem azotowym (0, 84, 113 i 141 kg N ha<sup>-1</sup>).



Rys. 1. Lokalizacja gospodarstwa oraz pól objętych badaniami, numerami oznaczono wydzielone rastry. Źródło: własne oraz Google Maps.

Próby glebowe z pól doświadczalnych (Rys. 1) pobierano w sezonie wegetacyjnym 2021 r. w 2 terminach: przed siewem pszenicy (17-19.10.2021) oraz po zbiorze plonów (lipiec/sierpień 2022). Z każdego z analizowanych pól pobierano po 20 reprezentatywnych prób glebowych, oznaczonych odpowiednio: 1-20 (UGŁ - uprawa głęboka) i 21-40 (UP - uprawa pasowa). Poszczególne warianty doświadczenia różniły się dawką nawożenia azotowego (Tab. 1).

Tabela 1. Wielkość nawożenia w poszczególnych systemach upraw.

Technologia	nr prób	nawożenie kg N ha <sup>-1</sup>	% zmniejszenia nawożenia N
uprawa głęboka (UGŁ)	1-20	140,70	100%
		112,56	80%
		83,75	60%
		0,00	0%
uprawa pasowa (UP)	20-40	140,70	100%
		112,56	80%
		83,75	60%
		0,00	0%

### Wyznaczone parametry chemiczne:

- pH, Eh, EC, CEC (S), wilgotność, PPW,
- zasobność w węgiel (TC/TOC/EDC),
- azot (N-NO<sub>3</sub>, N-NO<sub>2</sub>, N-NH<sub>4</sub>),
- fosfor (P-PO<sub>4</sub>, P Olsena), siarkę (TS),
- Mg, Ca i K

### Wyznaczone parametry biologiczne:

- aktywność dehydrogenazowa (AD) oraz respiracyjna (AR),
- poziom substancji humusowych,
- różnorodność mikrobiologiczna (bakterie) (NGS, metody bioinformatyczne i statystyczne)

## WNIKI

Gleby pochodzące z systemu UGŁ cechowały niższe wartości pH, EC, PPW, wilgotności, zawartości K, TC, EDC, N-NO<sub>3</sub>, P-PO<sub>4</sub>, P Olsena i AR. W UP niższe wartości zanotowano jedynie wobec Eh, Ca, Mg, N-NH<sub>4</sub>, E4/6 oraz AD. Analiza zmienności badanych właściwości w czasie wykazała istotny wpływ systemu uprawy (p < 0,001) na wartości (Tab. 2):

- UGŁ: obniżeniu uległo Eh, dostępność wody, zawartość Ca, K, EDC, Olsen P, jak również poziom substancji humusowych oraz aktywność mikrobiologiczna
- UP: zmiany obserwowano jedynie w przypadku EC, dostępności wody, K, EDC, N-NO<sub>3</sub> oraz aktywności mikrobiologicznej (p < 0,001).

Tabela 2. Sezonowa zmienność (delta±SD) badanych parametrów z podziałem na system uprawy pszenicy (delta – różnica danych z okresu zbioru plonów a wysiewu pszenicy. Zawartość jonów, form C, N i P w mg kg<sup>-1</sup> gleby, CEC (cmol(+) na kg gleby, CKH (g kg<sup>-1</sup> gleby), AD (μg g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>), AR (mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>)

uprawa	głęboka	pasowa	uprawa	głęboka	pasowa
pH	0,21	0,01	N-NO <sub>3</sub>	3,714	-9,681
SD	0,33	0,47	SD	8,748	21,400
Eh	-31,04	56,78	N-NO <sub>2</sub>	0,058	0,189
SD	41,52	18,75	SD	0,286	0,346
EC	126,57	-14,98	N-NH <sub>4</sub>	6,896	10,667
SD	70,19	176,66	SD	3,296	4,790
PPW	-3,39	-0,17	P-PO <sub>4</sub>	1,499	1,183
SD	4,57	4,78	SD	0,409	0,889
Wilgotność	-6,82	-8,99	Olsen P	-0,438	5,979
SD	1,96	3,01	SD	3,951	6,758
Ca	-183,04	800,03	S	2,17	2,71
SD	352,16	746,81	SD	1,51	2,11
Mg	3358,88	6046,00	C <sub>KH</sub>	-1,033	0,506
SD	924,80	1200,57	SD	2,879	0,825
K	-5113,32	-5657,57	E4/6	-0,847	0,071
SD	2343,95	2524,69	SD	0,953	0,704
TS	0,1239	0,1725	AD	-0,000066	-0,000047
SD	0,0243	0,0280	SD	0,000439	0,000170
TC	0,170	0,148	AR	-21,81	-30,78
SD	0,293	0,295	SD	23,96	27,85
EDC	-34,05	-400,09			
SD	108,03	158,63			

W Tabeli 3 przedstawiono wpływ zastosowania zredukowanego nawożenia na zmianę wyznaczone właściwości gleb z podziałem na system uprawy. Analiza danych wykazała zróżnicowany wpływ nawożenia z przewagą tendencji do wzrostu lub braku istotnych zmian wartości wyznaczonych parametrów.

Tabela 3. Wpływ nawożenia na zmiany wartości wyznaczonych parametrów w poszczególnych technologiach uprawy rzepaku. UGŁ – uprawa głęboka, UP – uprawa pasowa.

	Dodatni	Brak	Ujemny	Dodatni	Brak	Ujemny
pH	-	UGŁ	UP	N-NO <sub>3</sub>	UP	-
Eh	UGŁ	UP	-	N-NO <sub>2</sub>	-	UGŁ/UP
EC	UP	-	UGŁ/UP	N-NH <sub>4</sub>	UP	UGŁ
PPW	UGŁ/UP	-	-	P-PO <sub>4</sub>	UGŁ	UP
Wilgotność	-	UGŁ/UP	-	Olsen P	-	UGŁ/UP
Ca	UP	UGŁ	-	CEC	UGŁ	-
Mg	UGŁ/UP	-	-	C <sub>KH</sub>	UGŁ	UP
K	-	UGŁ/UP	-	E4/6	UP	-
TS	UP	-	UGŁ	AD	UGŁ	UP
TC	UP	UGŁ	-	AR	UGŁ	-
EDC	UGŁ	UP	-			

## WNIOSKI

Przeprowadzone badania wykazały iż właściwości badanych gleb były związane ze sposobem ich uprawy oraz wielkością nawożenia.

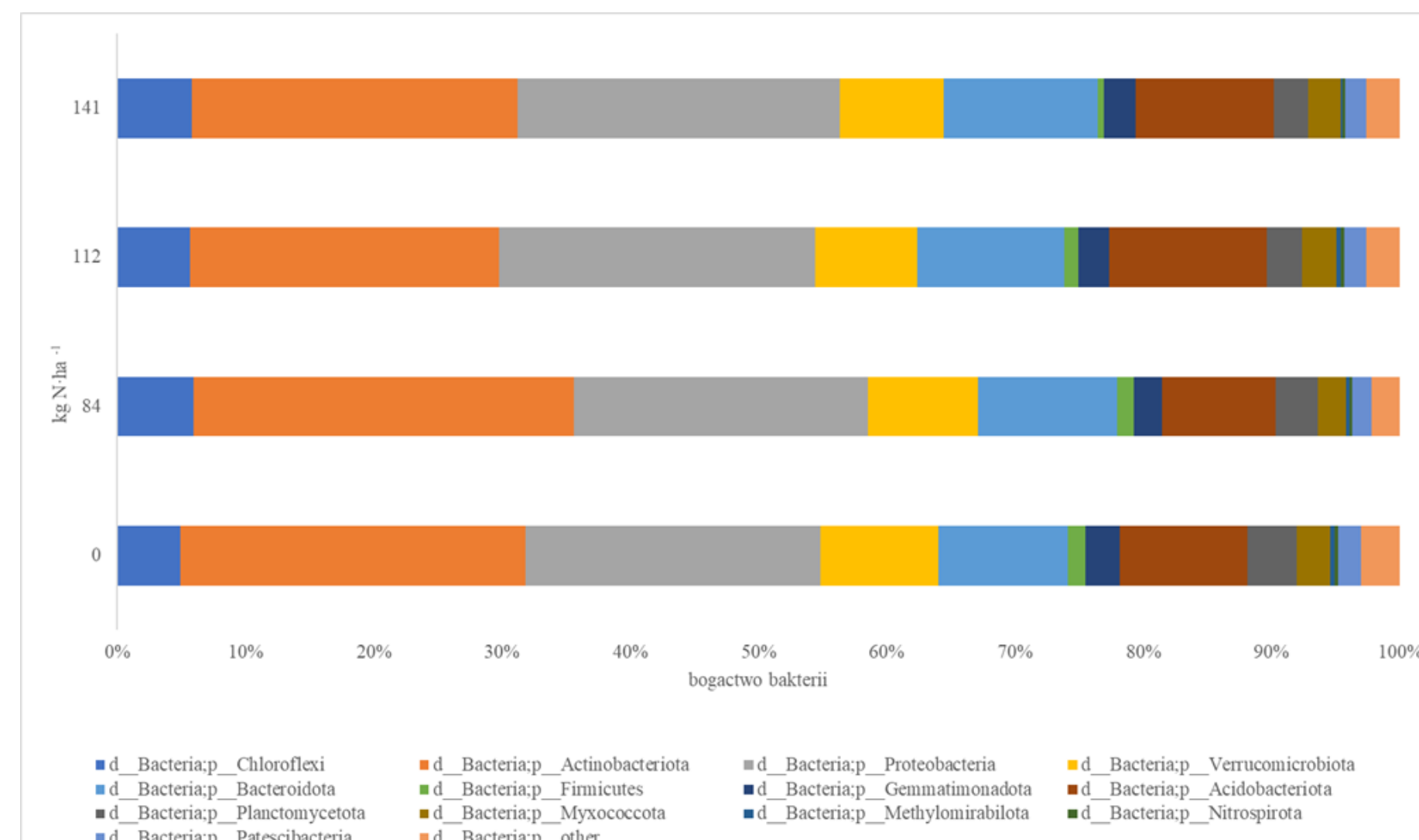
- Silniejsze zmiany właściwości gleb zanotowano w systemie uprawy głębokiej
- Zastosowane nawożenie przyczyniło się do wzrostu lub braku istotnych zmian wartości wyznaczonych parametrów.

Zmiana warunków w glebach wytworzyła nisze dla określonych grup mikroorganizmów.

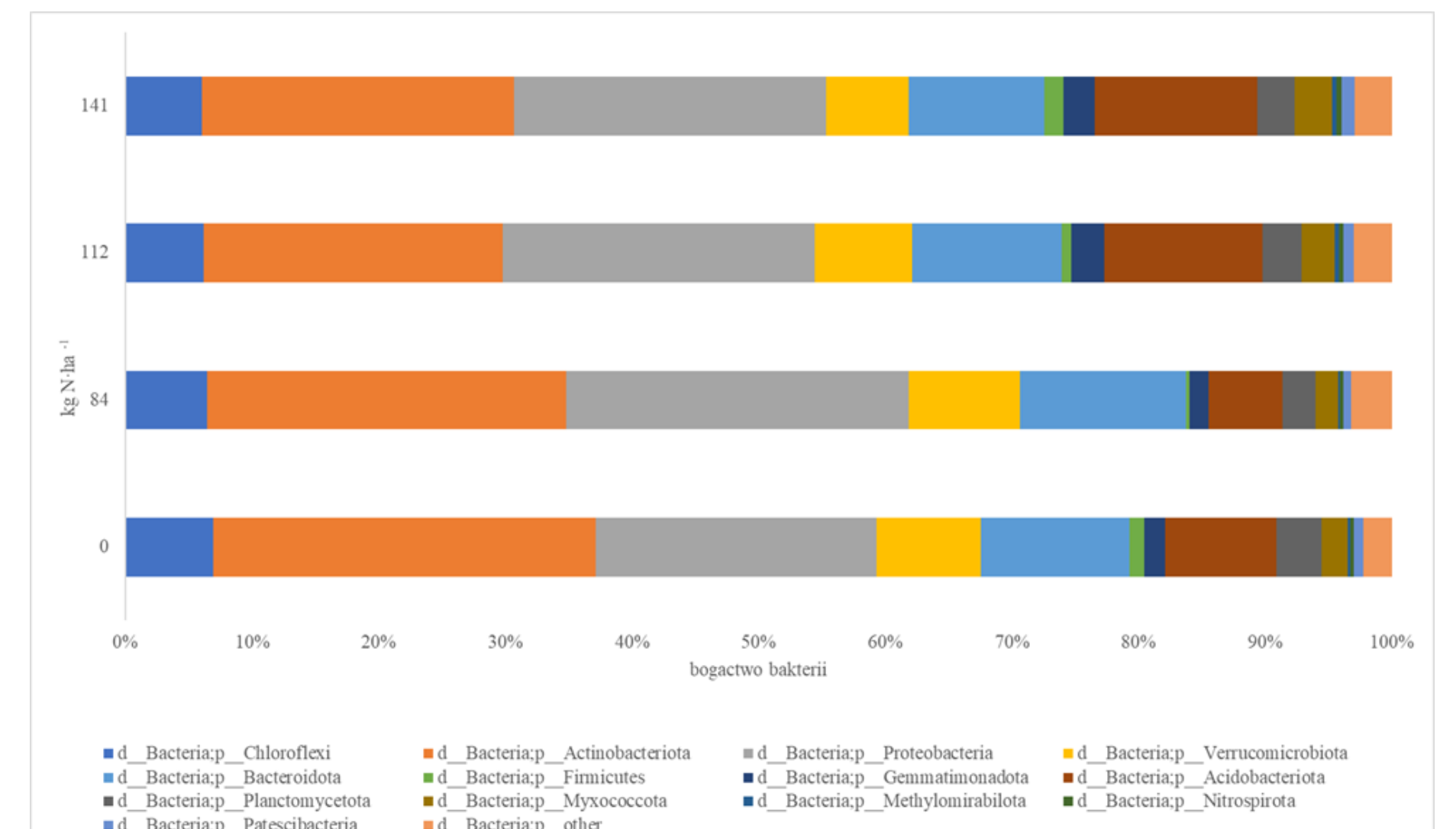
- W uprawie pasowej fluktuacja mikrobiomu były większe w porównaniu do głębokiej (orki tradycyjnej), a największe zmiany populacji bakterii odnotowano względem typu Actinobacteriota, które wyniosły do 5,5%.
- Stwierdzono brak zmian w bogactwie bakterii należących do subrecendentów: Patescibacteria, Methyloirabiolota, Nitrospirota (niezwykle ważna filogenetycznie i rolniczo grupa mikroorganizmów) podczas zastosowania warunków technologii uprawy pasowej.

Struktura bakterii w badanych glebach pod uprawą głęboką charakteryzowała się eudominującymi mikroorganizmami należącymi do typów Proteobacteria (22,9-25%) i Actinobacteriota (24-29,7%). Grupa dominantów w strukturze bakterii badanych gleb była reprezentowana przez typy: Acidobacteriota (8,86-12,3%) oraz Bacteroidota (10-12%). Wykazano, iż nawożenie miało największy wpływ na Acidobacteriota (zmiana o ok. 3,5%). Subdominujące bakterie stanowiły następujące typy: Chloroflexi (4,9-5,9%) oraz Verrucomicrobiota (8-9,2%). Dane wskazują, że prawdopodobnie mikroorganizmy subdominujące podlegają fluktuacjom podczas zmienności nawożenia azotowego. Recendenci w strukturze badanych gleb pozostali w zakresie 1-5%: Gemmatimonadota (2,2-2,7%) oraz Planctomycetota (2,7-3,85%); subrecendenci stanowili poniżej 1% całej populacji gleb spod UGŁ (Rys. 2).

Struktura mikrobiomu w glebach spod uprawy pasowej pszenicy w zmiennym nawożeniu azotowym wyróżniała się mikroorganizmami eudominującymi należącymi do trzech typów, w przeciwieństwie do uprawy głębokiej (Rys. 3): Actinobacteriota (23,6-30,2%), Proteobacteria (22,1-27%) oraz Bacteroidota (10,7-13,1%). Przedstawione dane wskazują na większe fluktuacje w bogactwie tych bakterii podczas zmienności nawożenia w porównaniu do uprawy głębokiej. Największe zmiany populacji bakterii odnotowano względem typu Actinobacteriota i wyniosły do 5,5%. Grupę dominującą bakterii tworzyli przedstawiciele Acidobacteriota (5,78-12,85%), Chloroflexi (6-6,9%) oraz Verrucomicrobiota (6,6-8,8%). Zaobserwowano fluktuacje populacji bakterii z typu Acidobacteriota najwyższą – ok. 7% oraz Verrucomicrobiota (ok. 2%). Gatunki bakterii należące do Chloroflexi nie podlegały istotnym zmianom pod wpływem nawożenia azotowego (<1%). Mikroorganizmy subdominujące w strukturze mikrobiomu badanych gleb były reprezentowane przez bakterie z typów Firmicutes, Gemmatimonadota, Planctomycetota oraz Myxococcota a ich bogactwo pozostawało na poziomie od 1-5%. Populacja tej grupy bakterii nie wykazała zmian podczas zmienności nawożenia azotowego (najwyższa zmiana w przypadku Gemmatimonadota <1%). Mikroorganizmy tworzące subrecendentów, filogenetycznie były przynależne do typów Patescibacteria, Methyloirabiolota oraz Nitrospirota. Fluktuacje ich liczebności populacji były nieznaczne. Prawdopodobnie można sądzić, że w przeciwieństwie do warunków panujących w uprawie głębokiej, warunki technologii uprawy pasowej nie powodują zmian w bogactwie bakterii należących do subrecendentów, niezwykle ważnej filogenetycznie grupy mikroorganizmów.



Rys. 2. Struktura bakterii zidentyfikowanych na poziomie taksonomicznym typ, w glebach pod uprawą głęboką (UGŁ) pszenicy po zastosowaniu nawożenia.

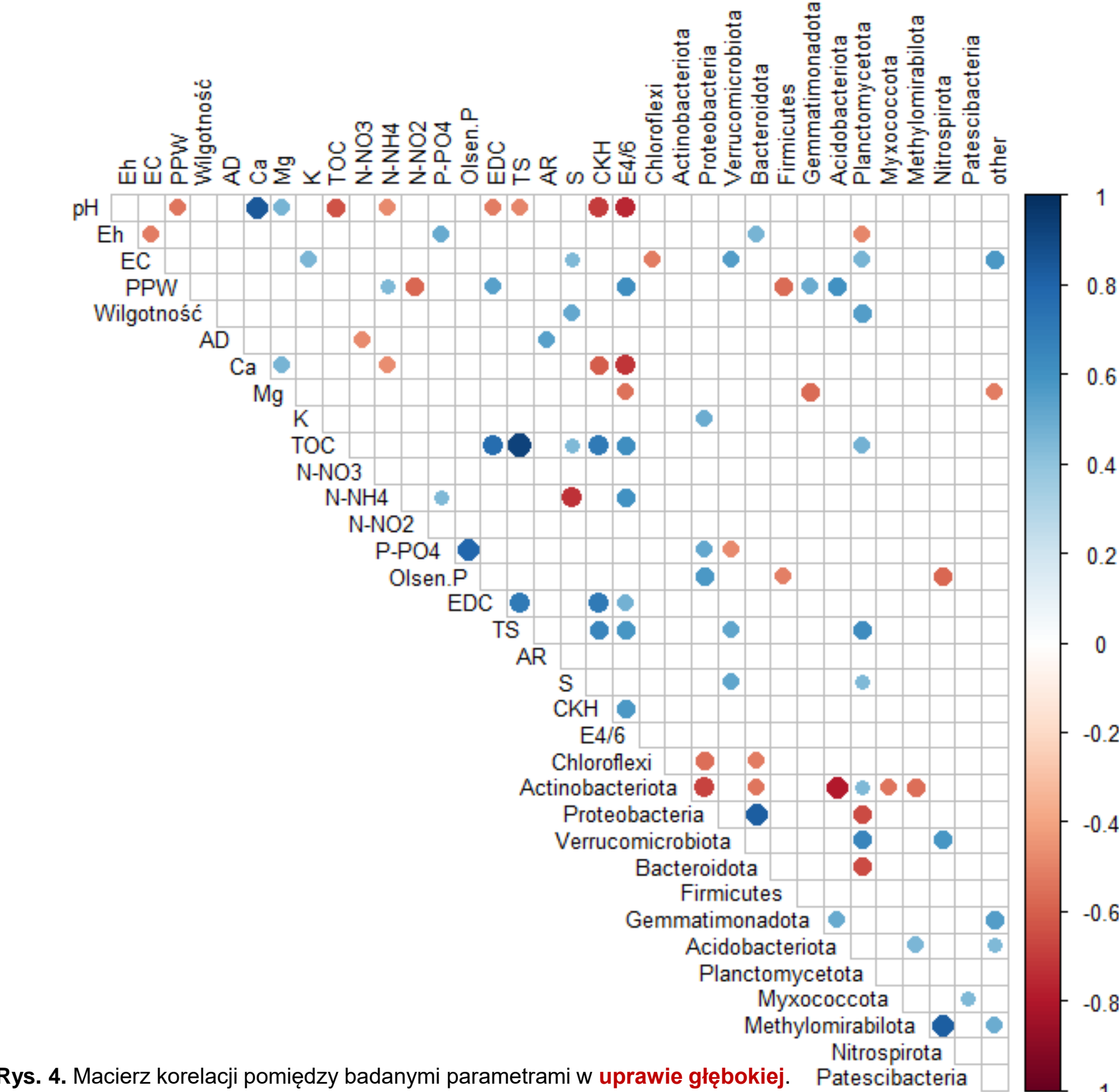


Rys. 3. Struktura bakterii zidentyfikowanych na poziomie taksonomicznym typ, w glebach pod uprawą pasową (UP) pszenicy po zastosowaniu nawożenia.

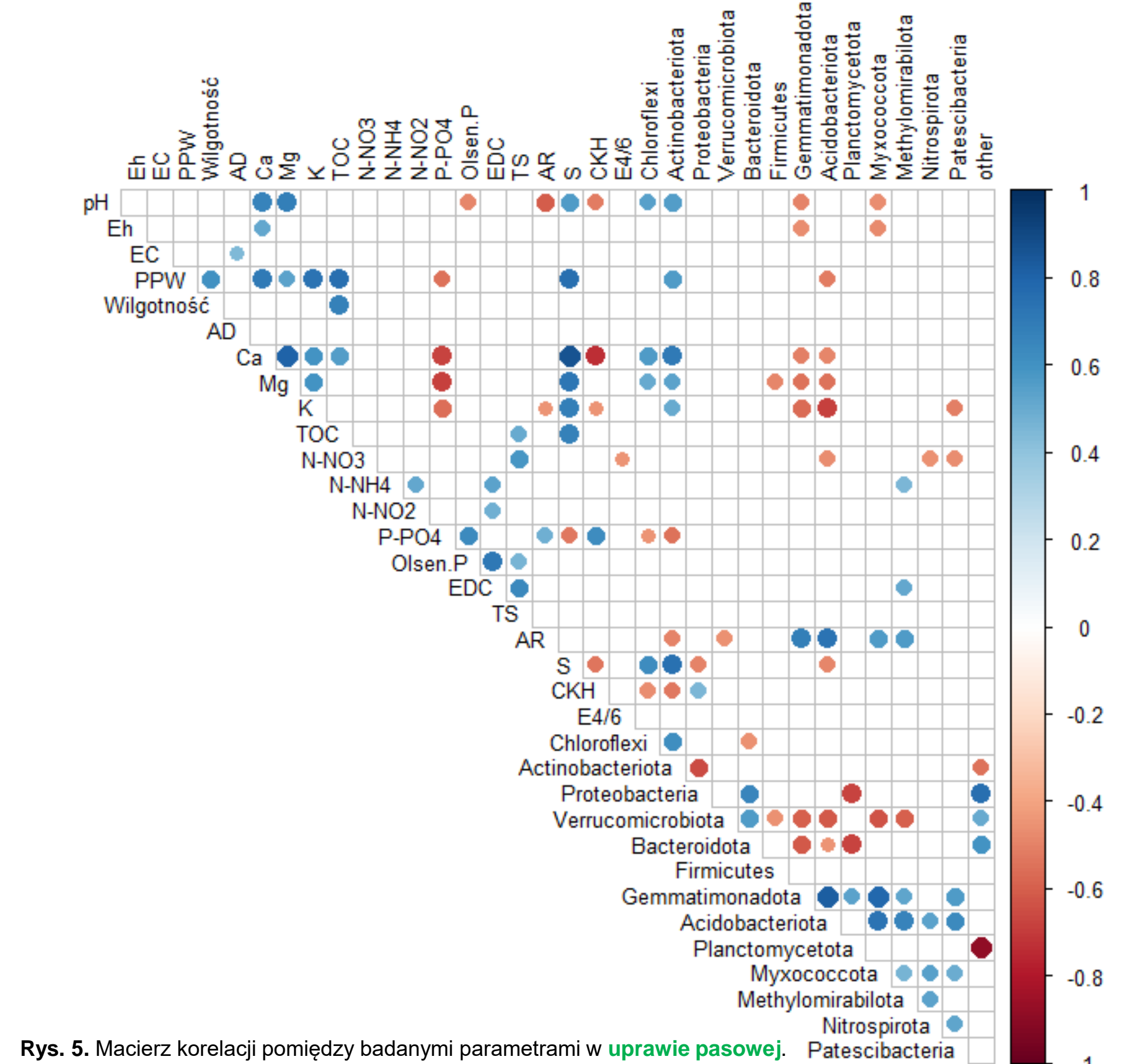
Analiza korelacyjna (Rys. 4 i 5) wykazała istotny wpływ wyznaczonych parametrów na liczebność zidentyfikowanych mikroorganizmów. Analizując cały zbiór danych Patescibacteria, Gemmatimonadota, Acidobacteriota, Chloroflexi oraz Actinobacteriota ulegały wpływowi największej ilości czynników (6-10), podczas gdy Bacteroidota i Firmicutes tylko jednego, a grupa 'other' nie ulegała istotnemu wpływowi. Warunki aeracyjne gleb oraz ich zasobność w związki biogenne i makroelementy najsilniej wpływała na liczebność Chloroflexi, Actinobacteriota, Verrucomicrobiota, Gemmatimonadota oraz Nitrospirota i Patescibacteria (r=0,63 do 0,49).

Biorąc pod uwagę system uprawy głębokiej (Rys. 4) przedstawiciele Planctomycetota (6 czynników), Verrucomicrobiota (4 czynniki) oraz Proteobacteria (3 czynniki) były najsilniej kształtowane przez właściwości gleb. Planctomycetota było negatywnie skorelowane z Eh (r=-0,49) oraz pozytywnie z EC (r=0,46), wilgotnością (r=0,55), TOC (r=0,48), TS (r=0,62) oraz CEC (S) r=0,45. Dla Verrucomicrobiota wyznaczono istotne korelacje z: EC (r=0,55), P-PO<sub>4</sub> (r=-0,48), TS i CEC (oba r=0,53). Bogactwo Proteobacteria było związane z poziomem K (r=0,50) i dostępnością P-PO<sub>4</sub> i Olsena (odpowiednio r=0,52 i 0,57).

W uprawie pasowej zaobserwowano znacznie silniejszy wpływ wyznaczonych właściwości gleb na Chloroflexi (6 czynników), Actinobacteriota (9 czynników), Gemmatimonadota (6 czynników) i Acidobacteriota (7 czynników) (Rys. 5). Odczyn miał pozytywny wpływ na bogactwo Chloroflexi i Actinobacteriota (r=0,55 i 0,56) oraz negatywny na Gemmatimonadota (r=-0,49) i Acidobacteriota (r=-0,39). Dwa ostatnie typy były skorelowane również z Eh (r=-0,46 i -0,40). PPW miało natomiast silny wpływ na Actinobacteriota (r=0,56) i Acidobacteriota (r=-0,52). Bogactwo przedstawicieli tych 4 typów było skorelowane z poziomem Ca i Mg, w przypadku Chloroflexi i Actinobacteriota wyznaczono korelację dodatnią (odpowiednio r=0,56 i 0,71 z Ca, oraz 0,51 i 0,54 z Mg). W przypadku Gemmatimonadota i Acidobacteriota zależność ta miała charakter ujemny (r=-0,50 i -0,48 z Ca oraz -0,55 dla obu typów z Mg). Poziom K miał istotny wpływ na Actinobacteriota (r=0,50) oraz Gemmatimonadota (r=-0,57) i Acidobacteriota (r=-0,68). Bogactwo Chloroflexi i Actinobacteriota było również związane z dostępnością P-PO<sub>4</sub> (r=-0,45 i -0,55), CEC (r=0,63 i 0,74) oraz zawartością substancji humusowych (r=-0,47 i -0,53). Dodatkowo bogactwo Actinobacteriota było negatywnie skorelowane z AR (r=-0,49). Dla Gemmatimonadota i Acidobacteriota wyznaczono również korelacje z AR (r=0,69 i 0,74), a dla tylko Actinobacteriota również z N-NO<sub>3</sub> (r=-0,7) i CEC (r=-0,49).



Rys. 4. Macierz korelacji pomiędzy badanymi parametrami w uprawie głębokiej.



Rys. 5. Macierz korelacji pomiędzy badanymi parametrami w uprawie pasowej.