Практичне заняття №4

Визначення мікробіологічної активності ґрунту.

⊛ Теоретичні відомості:

Біологічна акт-ть ґ. – це сукупність біол-х, біохім-х, мікробіол. процесів, які протікають у ґрунті під впливом життєд-ті мікроорг. (бактерій, актиноміцетів, грибів), кореневої системи рослин та ґрунтової мезофауни.

Основними складовими діагн-ки є:

- дихання ґрунту (інтен-ть виділен. CO_2)

відображає загальну спрямованість та енергетику мінерал-х проц-в орган-ї реч-ни. Виділення вугл. газу прямо пропорційне чисельності й актив-ті гетеротрофної мікроорг.

- целюлозолітична акт-ть – швидкість розкладу природ. біополімеру клітковини (целюлози), яка складає понад 50% орган-го вуглецю рослинних решток. Визнач-ня розк-ду льняного полотна за певний час дає змогу оцінити потенціал трансформації органіки.

- ферментативна акт-ть – каталітичний потенціал ґрунту, зумовлений функц-м гідролітичних та окисно-відновних ферментів (уреази, каталази, протеази, інвертази), іммобілізх на ґрунтових колоїдах.

- фітотоксичність ґрунту – наявність метаболітів токсинсинтезувальних мікроміцетів або прод-в незавершеного розпаду органіки, які пригнічують проростання насіння та ріст проростків с/г культур.

① Визначення інтенс-ті дихання ґрунту (абсорбц. м-д В.Л. Штатнович)

Пр-п методу полягає у поглинанні вугл. газу, що вид-ся ґрунтовою біоценозою дихання мікроор-в та коренів, розчином гідроксиду натрію (NaOH) у закритій камері. Кількість зв'язаного CO_2 визначають шляхом титрування залишку лугу розчином соляної кислоти (HCl) у присутності фенолфталеїну)

Для визначення інт-ті дих. ґ. було використ. метод ізольованих судин з уловлюв. вугл. газу розчином лугу та подальшим титруванням.

Хід аналізу:

1. Наважку свіжого ґрунту масою 100–400 г помістили на дно чер. скл. банки
2. Уловл. CO_2: на поверхню ґрунту встанов. скл. бюкс, у який пінеткою 10 мл 0,1 н розчину NaOH. Банку щільно закрили.
3. Інкубація: зразки помістили для інкубації при t 27–28 °C протягом 24 годин

4. Контр. дослід: паралельно в аналогічних умовах закладали контрольний дослід (банка без ґрунту з бюкси, що містить 10 мл 0,1 Н розчину NaOH) для врахув-ня CO_2 в об'ємі повітря самої банки.

5. Титрування: після закінч. часу інкубації бюкси вийняли, їхній вміст перенесли у конічні колби. До розчину додали 1-2 краплі 0,1% спирт. роз-ну фенолфталеїну та відтитрували залишок лугу 0,1 Н розчином HCl до повного знебарвл. рожевого забарв.

Розрахунок за формулою:

$$CO_2\ (мг/г\ ґрунту\ за\ добу) = \frac{(V_1 - V_2) \times 2{,}2}{m \times T}$$

V_1 – кіл-ть 0,1 Н розчину HCl, витрач. на титрув. в контролі, мл

V_2 – кіл-ть 0,1 Н розч. HCl, витрач. на титрув. з ґрунтом, мл

2,2 – коеф-т перерахунку (1 мл 0,1 Н розч. NaOH відпов. 2,2 мг CO_2)

m – маса абсол. сух. ґрунту, г

T – час інкубації ґрунту, доби ($T=1$)

(2) Визначення целюлозолітичної активності ґрунту (метод агарових пластинок і аплікацій)

Пр-п м-ду ґрунт-ся на обліку швидкості й ступеня деструкції пліснявого полотна целюлозовмісного папера, поміщ. в ґрунтові умови, під дією целюлозоруйнівних мікроор-в (Cytophaga, Cellvibrio, Bacillus, Aspergillus, Penicillium)

1) Зважити висушені пліснявого полотна предмонуч. фор. з точністю до 0,01 г (m_1)

2) У ґрунт. розрізі закласти висушені смужки у ґрунт на визнач. глибину (5-15 см) та витримати 20-30 діб за опт. звол. 60% ПВ

3) Після вилуч. з ґрунту полотна ретельно відмити від частинок ґрунту струм. води, висушити при 105° С до постій. маси і зважити (m_2)

Відсоток втрати маси субстрату (целюлозолітич. акт-ть) розрах. за ф-лою:

$$УА(\%) = ((m_1 - m_2) / m_1) \times 100\%$$

m_1 – почат. маса сух. смужки, г

m_2 – маса висуш. смужки, г

Варіант ґрунту	Маса сух. ґрунту m	Об'єм HCl V_2, мл	Виділення CO_2, мг/г на добу	Втрата маси полот. %	Рівень активності
Чорнозем (орний)	200,0	6,2	0,084	48,5%	висока
Дерново-підзолистий	200,0	8,5	0,033	18,2%	низька
Контроль (без ґрунту)	—	10,0	0,00	0,0%	—

③ Визн-ня фітотоксич-ті ґрунту (біотест за Ю.М. Мочаловим і Н.К. Шестобоєвим)

Пр-п м-ду полягає у визначенні ступеня пригнічення (інгібування) схожості насіння та росту кореневої системи тест-культури (редис Raphanus sativus або пшениця) під дією фітотоксичних речовин, що дифундують із перезволож. ґрунту в шар стерильного піску.

1) Досліди. зразок зволожити до сметаноподіб. стану і розподілити у чашці Петрі
2) На поверхню ґрунтової пласт. нанести шар сухого стерил. річкового піску 0,4-0,6 см
3) Чашки Петрі з ґрунтом і піском витрим. 24 години при кімн. t для дифузії фітотоксинів у піщ. шар.
4) На поверхню піску висіяти по 20-25 насінин редису на однак. відстані та зволожити пісок до 70% - 80% ПВ
5) Як контроль використ. чашки Петрі, де замість ґрунту стерил. пісок
6) Через 3-4 доби інкубації в термостаті підрахувати кіл-ть проросл. насіння і виміряти довжину корені

Рівень інгібування схожості насіння розр. за фор-ю:

$$ФТ(\%) = 100\% - ((K_дослід / K_контроль) \times 100\%)$$

K_дослід – % схожості насіння на дослідній ґрунті (%)
K_контроль % схож. насін. в контрол. вар-ті (%) на піску

Варіант досліду	Кількість висіяного насін. (шт)	К-ть проросл. насін (шт)	% Схожість насіння	Фітотоксич. ґрунту (%)
контроль (стерил. пісок)	25	24	96%	0,0% (нетоксичний)
зразок 1 окультур. ґрунт	25	22	88%	8,3% слаботоксич.
зразок 2 забруднен. ґрунт	25	11	44%	54,2% сильнотоксич.

④ Для градації ґрунтів за рівнем біол-ї та мікробіол. активності використ. такі показники:

- за інтенсивністю виділ. CO_2 („дихання ґрунту")

низька – менше 0,04 мг/г добу
середня – 0,04 - 0,08 мг/г добу
висока – понад 0,08 мг/г добу

- за целюлозолітичною акт-тю (% розкладу льняного полотна за добу)

дуже слабка – менш 20%
слабка – 20-30%
середня – 30-50%
висока – понад 50%

- за фітотоксич. ґрунту (% пригнічен. схожості)

нетокс. ґрунт – інгібування менше 10%
слаботоксичний – 10-30%
середньотоксич. – 30-50%
сильнотоксич. – понад 50%

⊛ Контрольні запитання:

① Біологічна акт-ть ґрунту — сукупність усіх біол-х процесів у ґрунті за участю живих орг-в

Мікробіологічна — інтенсивність життєдіял-ті мікроорг-в в ґрунті

Основні показники: дихання ґрунту, розклад целюлози, кіл-ть мікроор-в і ферментат. актив-ть

② Дихання ґрунту забезпечує кореневі вуглецю та мінерал-ні органічні, CO_2 вищі. бактерії, гриби и актиноміцети.

③ М-д Штатнова ґрунтується на поглинанні вищого ґрунтом CO_2 лугом із подальшим визнач. його кількості

④ Целюлозу розкладають аеробні і анаеробні бактерії, актиноміцети та гриби.

⑤ Целюлозолітичні акт-ть зазвичай зростає за внесення органічних добрив і підвищення окультуреності ґрунту,

⑥ Фітотоксичність - здатність ґрунту пригнічувати ріст рослин, гумічних; токсичні речовини, засолення, забруднення та накопичення продуктів розкладу органіки

⑦ За методом Мочалова та Шерстобоєва насіння пророщують у досліджуваному ґрунті та контрольному зразку, потім порівнюють схожість і ріст проростків.

⑧ Агротехнічні заходи спрямовані на підвищ. біолог. акт-ті це: внесення органічних добрив, сівозміна, вирощування сидератів, вапнування кислих ґрунтів і дотримання агротехніки