

UDK: 630*:631.46

Izvorni naučni rad *Original scientific paper*

SEZONSKA MIKROBIOLOŠKA AKTIVNOST U RIZOSFERI NEKIH DRVENASTIH VRSTA

Timea Hajnal-Jafari¹, Mirjana Jarak¹, Verica Vasić²

Izvod: U radu je ispitivana mikrobiološka aktivnost šumskog zemljišta sa nekoliko lokaliteta u Srbiji. Na brojnost ispitivanih grupa mikroorganizama uticala je biljna vrsta i period vegetacije. Najveći ukupan broj mikroorganizama i aktinomiceta je utvrđen na Staroj planini gde domira bukva. Broj gljiva u jesen povećao se na lokalitetima "Stara planina" i "Kopaonik", gde je učešće bukve u sastojinama bilo dominantno. Broj celulolitskih organizama na svim ispitivanim lokalitetima je bio 2-3 puta manji u jesen nego u proleće. Najviša dehidrogenazna aktivnost zemljišta utvrđena je u sastojinama na Staroj planini.

Ključne reči: mikroorganizmi, šumsko zemljište, dehidrogenaza.

SEASONAL MICROBIOLOGICAL ACTIVITY IN THE RHIZOSPHERE OF SOME WOODY SPECIES

Abstract: The aim of this research was to investigate the microbiological activity in forest soils from four different sites in Serbia. Microbiological activity was affected by seasonal changes and tree species. The highest total number of bacteria and actinomycetes were measured on Stara planina site where beech tree dominates. The number of fungi increased in autumn on Stara planina and Kopaonik sites, where the presence of beech in stands was dominant. Number of cellulolitic microorganisms were 2.3 times lower in all investigated sites in the autumn than in the spring. The highest dehydrogenase activity was measured in stands on Stara planina.

Key words: microorganisms, forest soils, dehydrogenase.

¹ Dr Timea Hajnal-Jafari istraživač saradnik, dr Mirjana Jarak redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad

² dr Verica Vasić, istraživač saradnik, Institut za nizijsko šumarstvo, Antona Čehova 13, 21000 Novi Sad.

UVOD

Rast i razvoj šumskih biljaka u velikoj meri zavise od mikrobiološke aktivnosti jer se u šumskoj proizvodnji ne koriste mineralna i organska đubriva. Šumska zemljišta se karakterišu po konstantnim i visokim inputom biljnih ostataka, te su ta zemljišta bogata organskim jedinjenjima ugljenika (C) i visokim sadržajem mikrobne biomase. Istraživanja Perez et al., (2004), Ndaw et al., (2009) i Araujo et al., (2010) pokazuju da je sadržaj mikrobne biomase u oblastima pod prirodnom vegetacijom veći u odnosu na obradive površine, a organska materija koja potiče od biljnih ostataka stimuliše aktivnost enzima dehidrogenaze. Zemljišni mikroorganizmi, pa tako i oni koji se nalaze u šumskim zemljištima, su u stalnim promenama koje nastaju usled sezonskog variranja temperature, sadržaja vode, pristupačnosti hranljivih materija. Smith et al., (2001) su utvrdili da se bakterijska biomasa ne menja značajno u različitim sezonama, ali da dolazi do značajnih promena u kvalitativnom sastavu mikroorganizama.

Zbog značaja mikroorganizama u obezbeđivanju hraniva za šumske biljke, cilj ovih istraživanja je bio da se utvrdi uticaj biljne vrste i perioda vegetacije na mikrobiološku aktivnost, odnosno ideo pojedinih grupa mikroorganizama i dehidrogenazna aktivnost u rizosferi bukve, jеле, smrče i duglazije.

MATERIJAL I METOD

Istraživanja su obuhvatala četiri lokaliteta (Stara planina-dva lokaliteta, Kopaonik, Tara). Jedan lokalitet na Staroj planini je bio pod bukvom (*Fagus*), a drugi pod mešavinom smrče (*Picea*) i duglazije (*Pseudotsuga*). Lokalitet na Kopaoniku je bio pod mešavinom bukve (*Fagus*) i smrče (*Picea*). Lokalitet na Tari je bio pod mešavinom jеле (*Abies*), bukve (*Fagus*) i smrče (*Picea*). Uzorci zemljišta su uzimani sa dubine 0-30 cm, nakon otklanjanja naslaga šumskog pokrivača. Sa svakog lokaliteta su uzeta četiri uzorka. Analize su obavljene tokom 2011. godine u proleće (maj) i jesen (septembar). Mikrobiološka ispitivanja su obuhvatala određivanje ukupanog broja mikroorganizama, aktinomiceta, gljiva, celulolitskih mikroorganizma i dehidrogenazne aktivnosti zemljišta. Broj mikroorganizama je određen metodom agarnih ploča (Trolldenier, 1996) zasejavanjem odgovarajućeg razređenja zemljišne suspenzije na hranljivu podlogu (Hi media) i preračunavanjem na jedan gram apsolutno suvog zemljišta. Dehidrogenazna aktivnost zemljišta je određena spektrofotometrijski (Lenhard, 1956; Thalmann, 1968).

REZULTATI I DISKUSIJA

Na rasprostranjenost pojedinih šumskih zajednica presudno utiču edafski faktori i klimatske prilike. Na području Srbije zastupljen je veliki broj listopadnih i četinarskih šuma, među kojima su bukva, jela, smrča i duglazija. Ispitivana zemljišta su se razlikovala po hemijskim i fizičkim svojstvima (tabela 1).

Mikrobiološka aktivnost zemljišta zavisi od brojnih faktora abiotičke i biotočke prirode. Najveća zastupljenost i aktivnost mikroorganizama po pravilu je u tzv. topsoil-u (0-30cm), gde dominiraju povoljni uslovi za mikrobnu aktivnost (Jarak i Čolo, 2007). Kruženje elemenata i funkcionalisanje ekosistema je pod uticajem sezonskih promena mikrobine biomase u zemljištu (Lipson et al., 1999, 2001; Wardle, 1998; Zak et al., 1990).

Tabela 1. Osnovne fizičko-hemijske osobine zemljišta
Table 1. Main physical and chemical characteristics of soil

Lokalitet <i>Site</i>	Biljna vrsta <i>Species</i>	% CaCO ₃	% Humus	pH u H ₂ O <i>pH in H₂O</i>	Tekstura zemljišta <i>Soil texture</i>
Stara planina 1	Bukva <i>Beech</i>	0,42	4,00	6,41	Glinovita ilovača <i>Clayish loam</i>
Stara planina 2	Duglazija, smrča <i>Douglas fir, Norway spruce</i>	0,00	3,60	6,15	Peskovita ilovača <i>Sandy loam</i>
Kopaonik	Bukva, smrča <i>Beech, Norway spruce</i>	0,00	3,00	4,83	Peskovita ilovača <i>Sandy loam</i>
Tara	Jela, bukva, smrča <i>Silver fir, beech, norway spruce</i>	2,10	10,17	4,76	Peskovita ilovača <i>Sandy loam</i>

Brojnost mikroorganizama i enzimatska aktivnost u ispitivanim šumskim zemljištima u toku vegetacije prikazana je u tabeli 2.

Broj ispitivanih grupa mikroorganizama je smanjen u jesenjem periodu s izuzetkom lokaliteta Stara planina 1 gde je ukupan broj mikroorganizama i broj gljiva bio veći u jesenjem periodu. Blagi trend rasta ukupnog broja gljiva utvrđen je krajem vegetacije i na lokalitetu "Kopaonik". Na lokalitetima Kopaonik i Tara ukupan broj mikroorganizama je bio oko 5 puta manji u jesen nego u proleće, a broj aktinomiceta i do deset puta manji. Brojnost gljiva je bila značajno manja na lokalitetu "Stara planina 2" i "Tara", a broj celulolitskih mikroorganizama na svim istraživanim objektima za dva do četiri puta. U jesen dolazi do povećanja aktivnosti dehidrogenaze na Staroj planini 2 i Tari, dok se na druga dva lokaliteta smanjuje aktivnost ovog enzima.

Veći efekat na zastupljenost mikroorganizama imala je biljna vrsta. Prosečan broj ispitivanih grupa mikroorganizama i dehidrogenazna aktivnost u rizosferi različitih drvenastih šumskih biljaka prikazana je na grafikonu 1.

Najveći ukupan broj mikroorganizama, aktinomiceta i celulolitskih mikroorganizama je utvrđen na Staroj planini gde domira bukva. Na ovom lokalitetu je utvrđena i visoka dehidrogenazna aktivnost ($824 \mu\text{gTPF}/10\text{g zemljišta}$). Na lokalitetima gde dominiraju četinarske drvenaste biljke broj aktinomiceta je u proseku dvostruko manji. Najveći broj gljiva je zabeležen na Staroj planini 2, a najmanji prosečan broj je dobijen na Kopaoniku ($3,75 \times 10^3/\text{g zemljišta}$). Prosečna aktivnost dehidrogenaze na lokalitetu Tara gde dominiraju jela, bukva i smrča iznosi $331,5 \mu\text{g TPF}/10\text{g zemljišta}$ i najniža je u poređenju sa ostalim objektima.

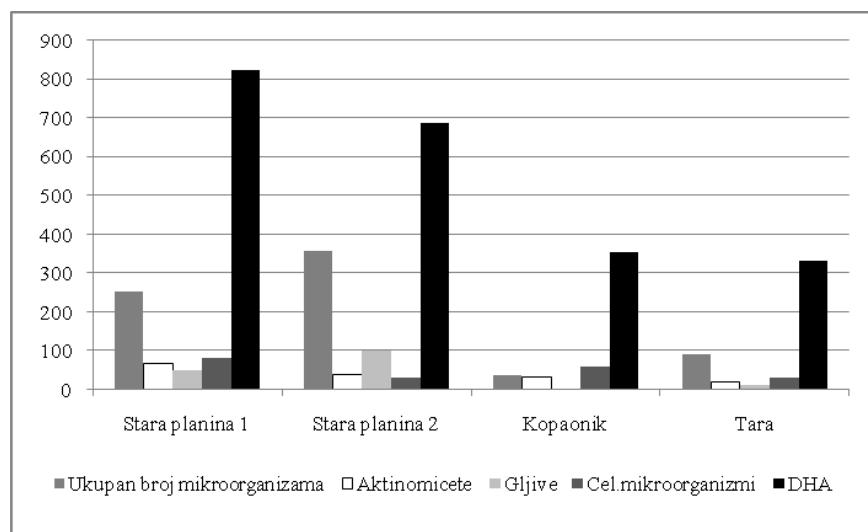
Tabela 2. Mikrobiološka aktivnost šumskog zemljišta
 Table 2. Microbiological activity of forest soils

Broj mikroorganizama po gr zemljišta <i>Number of microorganisms per gr of soil</i>	Stara planina 1		Stara planina 2		Kopaonik		Tara	
	Maj <i>May</i>	Septembar <i>September</i>	Maj <i>May</i>	Septembar <i>September</i>	Maj <i>May</i>	Septembar <i>September</i>	Maj <i>May</i>	Septembar <i>September</i>
Ukupno (10^5) <i>Total (10^5)</i>	82,73	423,52	364,82	352,49	61,95	12,41	153,77	31,46
Aktinomicete (10^4) <i>Actinomycetes (10^4)</i>	95,61	38,94	48,46	26,49	49,62	10,90	36,10	3,16
Gljive (10^3) <i>Fungi (10^3)</i>	35,32	65,23	151,68	50,48	3,23	4,27	21,95	3,82
Celulolitski (10^4) <i>Celulolitic (10^4)</i>	121,52	46,04	42,28	21,05	87,44	34,11	48,00	16,92
DHA* <i>(μg TPF/10g)</i>	959	689	651	722	511	202	219	444

* - Aktivnost dehidrogenaze *Dehydrogenase activity*

Graf.1. Ukupan broj mikroorganizama ($10^5/g$), broj aktinomiceta ($10^4/g$), gljiva ($10^3/g$), celulolitskih mikroorganizmama ($10^4/g$) i dehidrogenazna aktivnost (mg TPF/10g) u rizosferi različitih drvenastih šumskih biljaka

Graph.1. Total number of microorganisms ($10^5/g$), number of actinomycetes ($10^4/g$), fungi($10^3/g$), cellulolytic microorganisms ($10^4/g$) and dehydrogenase activity (mg TPF/10g) in the rhizosphere of different forest trees



U ovim istraživanjima je brojnost ispitivanih grupa mikroorganizama bila najveća u rizosferi bukve. Visoka brojnost mikroorganizama upućuje na činjenicu da su u rizosferi bukve mikroorganizmi imali dovoljno hranljivih materija neophodnih za njihov metabolism. Manji broj ispitivanih sistematskih i fizioloških grupa mikroorganizama i dehidrogenazna aktivnost na lokalitetima Kopaonik i Tara se može objasniti niskom pH reakcijom zemljišta i specifičnim sastavom šumskog pokrivača. Na ovim lokalitetima dominiraju četinarske drvenaste biljke. Četinari produkuju brojne sekundarne biljne metabolite od kojih su najzastupljeniji različiti fenoli i terpenoidi (Manninen et al., 2002). Fenoli, a naročito tanini utiču na procese mineralizacije organskih jedinjenja C i N, deluju toksično na mikroorganizme i inhibiraju enzimatsku aktivnost u zemljištu (Kraus et al., 2004; Kanerva et al., 2006; Nierop et al., 2006). Grayston et al., (1996), Augusto et al., (2002) takođe navode da se uticaj biljne vrste na mikrobiološku aktivnost zemljišta pripisuje i razlikama u kvantitetu i kvalitetu šumske prostirke i korenskih izlučevina, uticaju strukture i teksture zemljišta (Lavelle i Spain, 2001), pedoklimatu (Canham et al., 1994) ili razvoju međuspratne vegetacije (Olsson i Falkengren-Grerup, 2003). Biljna vrsta takođe može da utiče na šumski ekosistem produkcijom jedinjenja koji zakišeljavaju zemljište. Taj proces je mnogo izraženiji kod četinarskih šuma (De Schrijver et al., 2007).

ZAKLJUČAK

Na brojnost ispitivanih grupa mikroorganizama i dehidrogenaznu aktivnost uticala je biljna vrsta i period vegetacije.

Brojnost ispitivanih grupa mikroorganizama smanjena je u jesenjem periodu s izuzetkom lokaliteta Stara planina 1 gde se ukupan sadržaj mikroorganizama i gljiva povećao.

Prosečno najveći ukupan broj mikroorganizama, aktinomiceta i gljiva dobijen je sa lokaliteta na Staroj planini, pa je samim tim i aktivnost enzima dehidrogenaze bila najveća u ovim objektima.

Iz rezultata prikazanih u ovom radu može se zaključiti da su u rizosferi bukve stvoreni povoljni uslovi za rast i razvoj mikroorganizama.

Zahvalnica

Ovaj rad je realizovan u okviru projekta "Biosenzing tehnologije i globalni sistem za kontinuirana istraživanja i integralno upravljanje ekosistemima" (43002) finansiran od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije u sklopu integrisanog i interdisciplinarnog istraživanja u periodu 2011 - 2014.

LITERATURA

- Araujo ASF, Silva EFL, Nunes LAPL, Carneiro RFV (2010): Effect of converting tropical native savanna to *Eucalyptus grandis* forest on soil microbial biomass. Land Degrad Develop 21 (6): 540-545.
- Augusto L, Ranger J, Binkley D, Rothe A (2002): Impact of several common tree species of European temperate forests on soil fertility. Annals of Forest Science 59, 233–253.
- Canham CD, Finzi AC, Pacala SW, Burbank DH (1994): Causes and consequences of resource heterogeneity in forests – interspecific variation in light transmission by canopy trees. Canadian Journal of Forest Research 24, 337–349.
- De Schrijver A, Geudens G, Augusto L, Staelens J, Mertens J, Wuyts K, Gielis L, Verheyen K (2007): The effect of forest type on throughfall deposition and seepage flux: a review. Oecologia 153(3): 663-674.
- Grayston SJ, Vaughan D, Jones D (1996): Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. Applied Soil Ecology 5, 29–56.
- Kanerva S, Kitunen V, Kiikkilä O, Loponen J, Smolander A (2006): Response of soil C and N transformations to tannin fractions originating from Scots pine and Norway spruce needles. Soil Biol Biochem 38:1364–1374
- Kraus TEC, Zasoski RJ, Dahlgren RA, Horwath WT, Preston CM (2004): Carbon and nitrogen dynamics in a forest soil amended with purified tannins from different plant species. Soil Biol Biochem 36:309–21.
- Lavelle P, Spain AV (2001): Soil Ecology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 654 pp.
- Lenhard G (1956): Die dehydrogenase aktivität des Bodenbalsal Mass für die Mikroorganismen tätigkeit im Boden. Z. Pflance Ernährungen. Dung Bodenkunde. 73: 1-11.
- Lipson DA, Näsholm T (2001): The unexpected versatility of plants: organic N use and availability in terrestrial ecosystems. Oecologia 128:305-316.
- Lipson DA, Schmidt SK, Monson RK (1999): Links between microbial population dynamics and N availability in an alpine ecosystem. Ecology 80:1623-1631.
- Jarak M, Čolo J (2007): Mikrobiologija zemljišta. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet.
- Manninen AM, Tarhanen S, Vuorinen M, Kainulainen P (2002): Comparing the variation of needle and wood terpenoids in Scots pine provenances. Journal of Chemical Ecology 28: 211–227.
- Ndaw S.N., Gama-Rodrigues A.C., Gamarodrigues E.F., Sales K.R.N., Rosado A.S. (2009): Relationships between bacterial diversity, microbial biomass, and litter quality in soils under different plant covers in northern Rio de Janeiro State, Brazil. Can J Microb 55, 1089-1095.

- Nierop KGJ, Preston CM, Verstraten JM (2006): Linking the B ring hydroxylation pattern of condensed tannins to C, N and P mineralization. A case study using four tannins. *Soil Biol Biochem* 38:2794–2802.
- Olsson MO, Falkengren-Grerup U (2003): Partitioning of nitrate uptake between trees and understory in oak forests. *Forest Ecology and Management* 179, 311–320.
- Perez KSS, Ramos MLG, McManus C (2004): Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos Cerrados. *Pesq Agropec Bras* 39, 567-573. [In Portuguese].
- Smit E, Leeflang P, Gommans S, van den Broek J, M.S van, Wernars K (2001): Diversity and seasonal fluctuations of the dominant members of the bacterial soil community in a wheat field as determined by cultivation and molecular methods. *Appl Environ Microbiol*, 67 :2284–2291
- Thalmann A (1968): Zur Methodik des Bestimmung des Dehydrogenase aktivitat im Bodenmittels TTC. *Landw. Forch.* 21: 249-258.
- Trolldenier G (1996): Plate Count Technique. In: *Methods in Soil Biology*. Ed. Franz Schinner, Ellen Kandeler, Richard Ohlinger, Rosa Margesin. Springer-Verlag Berlin Heideberg: 20-26.
- Vasić V, Jarak M, Đurić S, Orlović S, Pekeč S (2010): Mikrobiološka aktivnost rizosfernog zemljišta u rasadnicima i zasadima topola. *Topola* 185-186: 51-59.
- Wardle DA (1998): Controls of temporal variability of the soil microbial biomass: a global-scale synthesis. *Soil Biol Biochem* 30:1627-1637.
- Zak DR, Groffman PM, Pregitzer KS, Christensen S, Tiedje JM (1990): The vernal dam: plant-microbe competition for nitrogen in northern hardwood forests. *Ecology* 71:651-656.

Summary

SEASONAL MICROBIOLOGICAL ACTIVITY IN THE RHIZOSPHERE OF SOME WOODY SPECIES

Timea Hajnal-Jafari, Mirjana Jarak, Verica Vasić

The aim of this research was to investigate the microbiological activity in forest soils from four different sites in Serbia. Soil samples were taken in spring (may) and autumn (September) in year 2011. Microbiological properties of soil included the analyses of the total number of bacteria, number of actinomycetes, fungi, cellulolytic microorganisms and dehydrogenase activity. Physical and chemical characterization of soil was also performed. Microbiological activity was influenced by seasonal changes and forest tree species. The highest total number of bacteria and actinomycetes were measured on Stara planina site where beech tree dominates ($423,52 \times 10^5/g$ soil and $95,61 \times 10^4/g$ soil, respectively). The number of fungi increased in autumn only on Stara planina site under beech forest. Number of cellulolytic microorganisms were 2.3 times lower in all investigated sites in the autumn than in the spring. The highest dehydrogenase activity was measured on both sites on Stara planina mountain under beech, spruce and Douglas fir ($651 \mu\text{g TPF}/10\text{g soil}$ and $959 \mu\text{g TPF}/10\text{g soil}$).