



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Mikroorganizmų populiacijos tyrimai stebint rizobakterijų įtaką skirtingo tręšimo dirvožemiuose

Baigiamasis magistro projektas

Greta Stonytė

Projekto autorė

Doc. dr. Renata Žvirdauskienė

Vadovė

Kaunas, 2024



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Mikroorganizmų populiacijos tyrimai stebint rizobakterijų įtaką skirtingo tręšimo dirvožemiuose

Baigiamasis magistro projektas

Pramoninė biotechnologija (6211FX010)

Greta Stonytė

Projekto autorė

Doc. dr. Renata Žvirdauskienė

Vadovė

Doc. dr. Antanas Šarkinas

Recenzentas

Kaunas, 2024



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Greta Stonytė

Mikroorganizmų populiacijos tyrimai stebint rizobakterijų įtaką skirtingo tręšimo dirvožemiuose

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama(s) kitų asmenų autoriaus ar kitų teisių, laikydamasi(s) Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto (toliau – Universitetas) intelektinės nuosavybės valdymo ir perdavimo nuostatų bei Universiteto akademinės etikos kodekse nustatytų etikos reikalavimų;
2. baigiamajame projekte visi pateikti duomenys ir tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti teisėtai, nei viena šio projekto dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar elektroninių šaltinių, visos baigiamojo projekto tekste pateiktos citatos ir nuorodos yra nurodytos literatūros sąrašė;
3. įstatymų nenumatytų piniginių sumų už baigiamąjį projektą ar jo dalis niekam nesu mokėjęs (-usi);
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal Universitete galiojančią tvarką ir būsiu pašalinta(s) iš Universiteto, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai nagrinėjant galimą akademinės etikos pažeidimą.

Greta Stonytė

Patvirtinta elektroniniu būdu

Stonytė, Greta. Mikroorganizmų populiacijos tyrimai stebint rizobakterijų įtaką skirtingo tręšimo dirvožemiuose. Magistro baigiamasis projektas/vadovė doc. dr. Renata Žvirdauskienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis: Biotechnologijos, Technologijų mokslai.

Reikšminiai žodžiai: dirvožemis, kokybė, trąšos, mikroorganizmai, rizobakterijos, žirniai.

Kaunas, 2024. 73 p.

Santrauka

Dirvožemyje gyvenantys mikroorganizmai turi įtakos dirvožemio kokybei ir augalų derlingumui. Mikroorganizmai dirvožemyje atlieka daug svarbių funkcijų: skaido organinius junginius, fiksuoja azotą, nitrifikuoja, denitrifikuoja, tirpdo fosfatą, padeda augalams gauti reikiamų mineralų ir skatina jų augimą. Nors dirvožemio mikroorganizmai geba greitai daugintis, prisitaikyti prie aplinkos ir nepalankiomis sąlygomis išlikti gyvybingi, siekiant išlaikyti dirvožemio kokybę ir derlingumą, svarbu stebėti mikroorganizmų gausą, įvairovę ir aktyvumą. Dažniausiai norint paskatinti derlingumą ir papildyti dirvą trūkstamais elementais yra naudojamos įvairios trąšos, labai dažnu atveju pasirenkamos cheminės trąšos. Norint sumažinti neorganinių cheminių trąšų naudojimą, kaip alternatyvus sprendimas gali būti naudojamos natūralios dirvožemio gerinimo priemonės – mėšlas, durpės, kompostas, tarpiniai augalai ar dirvožemio papildymas mikroorganizmais. Tačiau per didelis trąšų kiekis gali neigiamai paveikti tiek pačią dirvą, tiek mikroorganizmų populiacijas. Atliekant įvairius mikrobiologinius tyrimus, galima laiku aptikti patogeninius mikroorganizmus, stebėti mikroorganizmų bendrųjų pokyčius, jų fiziologinį aktyvumą ar gyvybingumą.

Šio tyrimo metu buvo ištirta skirtingų tręšimų (tręšta cheminėmis trąšomis, kompostu, durpėmis, mėšlu ir kaip kontrolę vertinant niekuo netręštą dirvožemį) įtaka dirvožemio mikroorganizmams, ir žirnių auginimui, pridodant augimą skatinančių *Rhizobium* genties bakterijų ir be jų.

Didesni kiekiai mikroorganizmų, didesnis gausumas, rūšių skaičius bendruomenėje ir bendruomenės fiziologinė įvairovė nustatyti pradinuose dirvožemio mėginiuose prieš žirnių auginimo eksperimentą. Po derliaus nuėmimo tirtuose dirvožemio mėginiuose daugelis šių rodiklių sumažėjo. Didžiausias bendras bakterijų, sporas formuojančių ir azotą fiksuojančių bakterijų skaičius nustatytas kompostu tręštame dirvožemio mėginyje. Šiame mėginyje taip pat užfiksuotas didžiausias mikroorganizmų rūšių skaičius ir didžiausia mikroorganizmų bendruomenės fiziologinė įvairovė. Daugiausia aktinomicetų rasta durpėmis tręštame dirvožemio mėginyje. Didžiausias pelėsinų grybų ir mielių kiekis nustatytas cheminėmis trąšomis tręštame dirvožemyje prieš žirnių auginimą. Įvertinus *Rhizobium* genties bakterijų įtaką žirnių augimui nustatyta, kad didžiausią poveikį jos turėjo sėklų daigumui ir pradiniam augalų augimo greičiui. Dirvožemio mėginiuose, tirtuose po derliaus nuėmimo, didžiausias bendras bakterijų skaičius nustatytas niekuo netręštame dirvožemio mėginyje, o didžiausias pelėsinų grybų skaičius – mėšlu tręštame dirvožemyje. Didžiausias mikroorganizmų gausumas, mikroorganizmų rūšių skaičius bendruomenėje ir fiziologinė įvairovė nustatyti durpėmis tręštame dirvožemyje po žirnių derliaus nuėmimo.

Stonytė, Greta. Microorganism Population Studies Monitoring The Influence Of Rhizobacteria In Soils With Different Fertilization. Master's Final Degree Project/supervisor Assoc. Prof. dr. Renata Žvirdauskienė; The faculty of Chemical technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area: Biotechnology, Technological Sciences.

Keywords: soil, quality, fertilizer, microorganisms, rhizobacteria, peas.

Kaunas, 2024. 73.

Summary

Microorganisms living in the soil affect soil quality and plant productivity. Microorganisms in the soil perform many important functions: break down organic compounds, fix nitrogen, nitrify, denitrify, dissolve phosphate, help plants get the necessary minerals and stimulate their growth. Although soil microorganisms are able to reproduce rapidly, adapt to the environment and remain viable in adverse conditions, it is important to monitor the abundance, diversity and activity of microorganisms in order to maintain soil quality and fertility. Various fertilizers are often used to stimulate fertility and replenish the soil with missing elements, but in most cases, chemical fertilizers are chosen. In order to reduce the use of inorganic fertilizers, an alternative solution can be fertilization by natural means - manure, peat, compost, intercrops or soil supplementation with microorganisms. However, an excessive amount of fertilizers can negatively affect both the soil itself and the populations of microorganisms. By performing various microbiological tests, it is possible to detect pathogenic microorganisms in time, monitor changes in the communities of microorganisms, their physiological activity or vitality.

This study investigated the effect of different fertilizations (fertilization with chemical fertilizers, compost, peat, manure and, as a control sample, soil not fertilized at all) on soil microorganisms and pea growth with and without the addition of growth-promoting bacteria of the genus *Rhizobium*.

Higher amounts of microorganisms, higher abundance, number of species in the community and physiological diversity of the community were found in initial samples 1, 2, 3, 4, 5. After harvesting peas, these parameters decreased in most cases in the studied soil samples. The highest total number of bacteria, spore-forming and nitrogen-fixing bacteria was found in soil sample 2 fertilized with compost. This sample also recorded the highest number of microbial species and the highest physiological diversity of the microbial community. The highest number of actinomycetes was found in soil sample 3, which was fertilized with peat. The highest amount of microscopic fungi and yeasts was found in soil 1 fertilized with chemical fertilizers. After evaluating the influence of *Rhizobium* bacteria on peas, it was found that the greatest effect was on seed germination and initial growth rate. In the post-harvest samples, the highest total bacterial count was found in the unfertilized 5A sample and the highest count of microscopic fungi in the manured 4A soil. The highest abundance of microorganisms, the number of species of microorganisms in the community and the physiological diversity were determined in sample 3A - in the soil fertilized with peat.

Turinys

Lentelių sąrašas	8
Paveikslų sąrašas	9
Santrumpų ir terminų sąrašas	10
Įvadas.....	12
1. Literatūros apžvalga	13
1.1. Dirvožemis	13
1.2. Dirvožemio degradacija.....	14
1.2.1. Dirvožemio erozija	14
1.2.2. Dirvožemio rūgštingumas ir šarmingumas.....	15
1.2.3. Dirvožemio druskingumas.....	16
1.3. Dirvožemio mikroorganizmai ir jų atliekamos funkcijos.....	16
1.3.1. Bakterijos.....	18
1.3.2. Mikroskopiniai grybai	20
1.3.3. Aktinomicetai	21
1.3.4. Mikrodumbliai.....	22
1.3.5. Pirmuonys.....	22
1.4. Dirvožemio kokybė ir derlingumas, jų gerinimas	23
1.4.1. Cheminės trąšos.....	23
1.4.2. Kompostas	25
1.4.3. Durpės.....	26
1.4.4. Mėšlas.....	26
1.4.5. Bioaktyvios trąšos	27
1.4.6. Žalioji trąša.....	28
2. Medžiagos ir tyrimų metodai	31
2.1. Dirvožemio mikroorganizmų skaičiaus nustatymas.....	31
2.2. Mikroorganizmų bendruomenės lygio fiziologinio profiliavimo analizė (CLPP)	34
2.3. <i>Rhizobium</i> genties bakterijų ir skirtingo tręšimo įtakos žirnių augimui įvertinimas.....	37
2.4. Žirnių biomasės tyrimai.....	39
2.5. Dirvožemio mėginių pH nustatymas	41
2.6. Matematinė statistinė analizė	41
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....	42
3.1. Bendro mikroorganizmų skaičiaus nustatymas	42
3.2. Mikroorganizmų bendruomenės lygio fiziologinio profiliavimo analizė (CLPP)	44
3.2.1. Vidutinis šulinėlių spalvos intensyvumo kitimas (AWCD)	44
3.2.2. Mikroorganizmų rūšių skaičius bendruomenėje	47
3.2.3. Mikroorganizmų bendruomenės fiziologinė įvairovė	48
3.2.4. Mikroorganizmų bendruomenės rūšių dominavimas	49
3.2.5. Mikroorganizmų pasiskirstymas pagal anglies substrato rūšį.....	50
3.3. Išskirtos <i>Rhizobium</i> genties ir skirtingo paruošimo dirvožemių įtakos žirnių augimui įvertinimas	53
3.4. Dirvožemio mėginių pH	55
4. Rekomendacijų dalis	58
Išvados	61
Literatūros sąrašas	62

Publikacijų sąrašas	74
Priedai.....	75
1 priedas. Pradiniuose mėginiuose (1, 2, 3, 4, 5) esančių mikroorganizmų pasiskirstymas pagal 31 anglies substratą.....	75
2 priedas. Po derliaus nuėmimo gautuose mėginiuose (1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, 4A, 4B, 5A, 5B) esančių mikroorganizmų pasiskirstymas pagal 31 anglies substratą.....	76

Lentelių sąrašas

1.1 lentelė. Dažniausiai Europos žemės ūkyje naudojamos cheminės trąšos [90]	24
1.2 lentelė. Cheminių trąšų palyginimas su bioaktyviomis trąšomis	28
2.1 lentelė. Anglies substratai Biolog ekoplokštelių šulinėliuose ir skirtingos anglies substratų grupės [124]	35
2.2 lentelė. Anglies substratų, esančių Biolog ekoplokštelių šulinėliuose, kategorijos [125]	35
2.3 lentelė. Žemės ūkio augalų vystymosi tarpsnių BBCH kodų paaiškinimai [129]	39
3.1 lentelė. Bendras mikroorganizmų skaičius, KSV/g (log10) ± standartinis nuokrypis	42
3.2 lentelė. Žirnių daigumo įvertinimas	53
3.3 lentelė. Žirnių augimo įvertinimas ± standartinis nuokrypis	54
4.1 lentelė. Biotrąšų aparatūrinės schemos žymėjimai	58

Paveikslų sąrašas

1.1 pav. Genetiniai dirvožemio horizontai [10]	13
1.2 pav. Mikroorganizmų pasiskirstymas [42].....	17
1.3 pav. <i>Rhizobium</i> genties bakterijų sudaryti mazgeliai ant žirnių šaknų	18
1.4 pav. Azotą fiksuojančios bakterijos mėšlu ir kompostu tręštuose dirvožemiuose.....	19
1.5 pav. Kompostu tręštame dirvožemyje išaugę mikroskopiniai grybai	21
2.1 pav. Dirvožemio mėginių paruošimas sėjimui į mitybines terpes	33
2.2 pav. Giluminio sėjimo schema	33
2.3 pav. Paviršinio sėjimo schema	34
2.4 pav. Mėginių paruošimas ir CLPP analizė.....	36
2.5 pav. Žirnių sėklų inokuliavimas <i>Rhizobium</i> genties bakterijomis	38
2.6 pav. Augalo ilgio matavimas	40
3.1 pav. Pradinių dirvožemio mėginių vidutinio šulinėlių spalvos intensyvumo kitimas laike.....	44
3.2 pav. Po derliaus nuėmimo gautų dirvožemio mėginių vidutinio šulinėlių spalvos intensyvumo kitimas laike.....	45
3.3 pav. Visų mėginių AWCD pokytis, po 48 valandų inkubacijos	46
3.4 pav. Visų mėginių sodrumas (R), po 48 valandų inkubacijos.....	47
3.5 pav. Visų mėginių fiziologinės įvairovės indeksas (H), po 48 valandų inkubacijos	48
3.6 pav. Visų mėginių Simpsono indeksas (D), po 48 valandų inkubacijos.....	49
3.7 pav. Pradiniuose mėginiuose esančių mikroorganizmų pasiskirstymas pagal substrato rūšį	50
3.8 pav. Mikroorganizmų pasiskirstymas pagal substrato rūšį mėginiuose, gautuose nuėmus derlių	51
3.9 pav. Dirvožemio mėginių A ir B variantų vidurkinis pasiskirstymas pagal substrato rūšį, po 48 val.	52
3.10 pav. Mėginių, po derliaus nuėmimo, pH reikšmės	55
4.1 pav. Supaprastinta skystų biotrašų gamybos proceso aparatūrinė schema [130].....	59

Santrumpų ir terminų sąrašas

Santrumpos:

AOB - amoniaką oksiduojančios bakterijos;

ATP – Adenozin-5'-trifosfatas;

AWCD – (angl. *average well color development*) - BioLog EcoPlate™ plokštelėse esančių šulinėlių vidutinis spalvų kitimas;

BBCH – dviejų skaitmenų kodas iš kurio susidaro skalė, apibrėžianti visus daugumos augalų rūšių fenologinius raidos etapus.

CLPP – (angl. *Community-level physiological profiles*) - mikroorganizmų ekobendrijų fiziologinis profilis;

KSV – kolonijas sudarantys vienetai;

NOB - nitritus oksiduojančios bakterijos;

Terminai:

Anaerobinis kvėpavimas – kvėpavimas, kurio metu yra skaidomi cukrūs, kad trūkstant deguonies būtų sugeneruojama energija.

Archėjos – didelė mikroorganizmų grupė, gyvenanti itin ekstremaliomis sąlygomis.

Chromistai – biologinė karalystė, sudaryta tiek iš vienaląsčių, tiek iš daugialąsčių eukariotų, kurių fotosintetinėse organelėse yra chlorofilo C ir kuriuos gaubia keturios membranos.

Dirvodara – dirvožemio susidarymo dirvodarinėje uolienoje procesas, vykstantis dėl cheminių, fizikinių ir biologinių veiksnių.

Edafiniai veiksniai – fizikiniai ir cheminiai veiksniai, susiję su dirvožemiu, pavyzdžiui, sudėtis, pH, drėgmė.

Fimbrijos – trumpos ataugos, kurios padeda mikroorganizmams, dažniausiai gramneigiamoms bakterijoms, prilipti prie ląstelių ar kitų paviršių.

Fulvo rūgštis – geltonos spalvos rūgštis, randama organiniame dirvožemyje ir durpėse, tirpsta vandenyje ir neorganinėse rūgštyse. Pasižymi savybe ardyti mineralus ir sudaryti naujus junginius.

Heterotrofas – organizmai, kurie anglį, reikalingą augimui ir vystymuisi gauna iš organinių medžiagų.

Humifikacija – procesas, kurio metu organinių medžiagų liekanos yra dirvoje, veikiant mikroorganizmams. Šio proceso metu susidaro humusas ir humuso rūgštys.

Huminė rūgštis – tamsios spalvos rūgštis, randama organiniame dirvožemyje ir durpėse, kuri yra mažai tirpi vandenyje ir netirpi neorganinėse rūgštyse.

Humusas – sudėtingas dirvožemio organinis junginys, kuris susidaro dėl augalų ir gyvūnų liekanų biologinio ir biocheminio kitimo.

Katijonas – atomas, kuris turi teigiamą krūvį ir tekant elektros srovei juda link neigiamo elektrodo.

Kaupiamieji augalai – kultūrinių augalų grupė, kurių augimui reikalingi dideli plotai, o tarpueiliai įdirbami. Jiems priklauso techniniai augalai, javai, pašariniai augalai, kai kurios daržovės.

Kriogeninis dirvožemis – užšalęs dirvožemis, kurio susiformavimo procesą apima periodinis užšalimas ir atitirpimas.

Makrofauna – tam tikroje aplinkoje gyvenantys aukštesnieji gyvūnai, pavyzdžiui, dirvožemyje ropliai, sliekai, smulkieji žinduoliai.

Medialinis – vidinis arba esantis arčiau vidinės kūno plokštumos.

Mezofilai – mikroorganizmai, kurie auga ir dauginasi vidutinėse temperatūrose, nuo 20°C iki 45°C.

Micelis – vegetatyvinė grybo dalis, dar vadinama grybiena.

Nediferencijuotas – nesuskirstytas, nesuskaidytas pagal tam tikrus požymius.

Oksidacinis stresas – pusiausvyros sutrikimas tarp laisvųjų radikalų gamybos ir antioksidacinės gynybos.

Oomicetai – grupė vienaląsčių organizmų, kurie išoriškai primena grybus.

Osmosinis stresas – fiziologinė disfunkcija, kurią sukelia staigus tirpių medžiagų koncentracijos pasikeitimas aplink ląstelę, dėl kurio pakinta vandens judėjimas per ląstelės membraną.

Patogenas – ligą sukeliantis biologinis veiksnys. Patogonais dažniausiai laikomi virusai, bakterijos, grybai ir pirmuonys.

Pirmuonys – primityvūs vienaląsčiai gyvūnai, priklausantys protistų karalystei.

Psichrofilai – mikroorganizmai, kurie yra prisitaikę gyventi ir daugintis žemose temperatūrose, nuo -20°C iki 20°C.

Simbiozė – ilgalaikis ir glaudus dviejų skirtingų biologinių rūšių sugyvenimas.

Termofilai – mikroorganizmai, kurių optimaliam augimui ir dauginimuisi reikalinga aukšta temperatūra, dažniausiai nuo 41°C, o kai kurie ekstremalūs termofilai gali egzistuoti iki 122°C.

Vegetatyvinis dauginimasis – nelytinis augalų dauginimosi būdas, kurio metu augalai išauga iš motininio augalo dalių, o ne iš sėklų.

Žvyneliai – judrios citoplazmos ataugos būdingos bakterijoms.

Įvadas

Žemės ūkis Lietuvoje jau nuo senų laikų sudarė svarbią dalį šalies ekonomikoje. Palankios klimato sąlygos, sukaupia ilgametę patirtis ir didelis kiekis geros kokybės žemės plotų užtikrina galimybę žemdirbystę plėtoti iki šių dienų. Tačiau, su kiekvienais metais intensyvėjanti klimato kaita turi neigiamos įtakos dirvožemio kokybei ir derlingumui. Besikeičiant klimatui, Lietuvoje atsiranda stiprūs vėjai ir liūtytys, ilgesnį laiką trunkančios sausros, nepastovus kritulių kiekis ir temperatūra, dėl kurių pakinta dirvožemio savybės, suprastėja augalų derlius ir gyvenančių mikroorganizmų veikla [1, 2]. Neretai gausios liūtytys ir sustiprėjęs vėjas prisideda prie patogeninių mikroorganizmų platinimo, kurie sukelia augalams įvairias ligas. Nuolatos dirvožemyje gyvenančios mikroorganizmų bendrijos dalyvauja skaidyme ir dirvožemio atsinaujinimo procesuose, padeda augalams apsirūpinti reikiama mineralais bei skatina jų augimą [3]. Todėl, norint išlaikyti kokybišką dirvožemį ir gausų derlingumą yra svarbu periodiškai patikrinti dirvožemio fizikines ir chemines savybes bei jame gyvenančius mikroorganizmus. Atliekant įvairius mikrobiologinius tyrimus galima laiku aptikti patogeninius mikroorganizmus, stebėti mikroorganizmų bendrijų pokyčius, jų fiziologinę veiklą ar gyvybingumą [4]. Be intensyvėjančios klimato kaitos taip pat aktuali ir tarša aplinkai, kurią sukelia cheminių trąšų naudojimas. Norint sumažinti neorganinių trąšų naudojimą, kaip alternatyvūs sprendimas gali būti tręšimas natūraliomis priemonėmis – mėšlu, durpėmis, kompostu, augalais ar auginant pasėlius kartu su mikroorganizmais [5]. Todėl šio tyrimo metu buvo tirta skirtingo tręšimo įtaka dirvožemiui, mikroorganizmams ir žirnių augimui bei augimą skatinančių *Rhizobium* genties bakterijų įtaka žirnių dygimui ir augimui.

Tyrimo objektas. Skirtingo tręšimo dirvožemio mėginiai (tręštas cheminėmis trąšomis, kompostu, durpėmis, mėšlu ir netręštas visai) – naudoti mikroorganizmų analizei prieš žirnių auginimą ir žirnių auginimo eksperimentui, kurio metu buvo stebima azotą fiksuojančių *Rhizobium* genties bakterijų įtaka augalų augimui. Po žirnių auginimo eksperimento gauti dirvožemio mėginiai naudoti antrai mikroorganizmų analizei.

Tyrimo tikslas – ištirti skirtingų tręšimų įtaką dirvožemio mikroorganizmams ir žirnių auginimui, pridodant augimą skatinančių *Rhizobium* genties bakterijų ir be jų.

Uždaviniai:

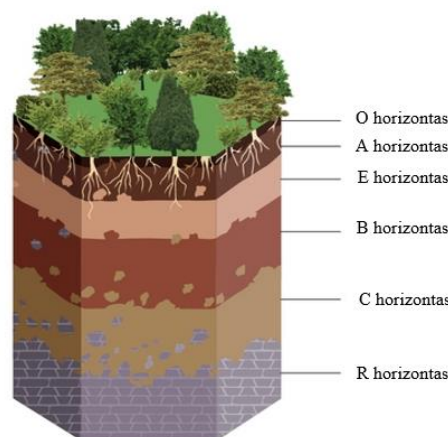
1. ištirti skirtingo tręšimo pradiniuose dirvožemių mėginiuose mikroorganizmų populiacijas, jų gausumą ir įvairovę;
2. nustatyti skirtingo tręšimo dirvožemių ir juose esančių mikroorganizmų įtaką žirnių daigumui bei augimui, sėjant žirnių sėklas padengtas *Rhizobium* genties bakterijomis ir be jų;
3. ištirti mikroorganizmų populiacijas, jų gausumą ir įvairovę skirtingo tręšimo dirvožemiuose po žirnių auginimo su *Rhizobium* genties bakterijomis ir be jų.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Dirvožemis

Dirvožemis, dar vadinamas žeme, yra nediferencijuota, biologiškai aktyvi, porėta terpė, susiformavusi viršutiniame žemės plutos sluoksnyje. Dirvožemis yra vienas iš pagrindinių substratų augalams ir mikroorganizmams augti, nes jame kaupiasi vanduo, dujos, maistinės ir mineralinės medžiagos, filtruojamos ir skaidomos kenksmingos atliekos, vyksta įvairūs mikrobiologiniai procesai [6]. Dirvožemis sudarytas iš kietos organinių medžiagų ir mineralų fazės, vadinamos dirvožemio matrica, ir dujas bei skysčius sulaikančios porėtos fazės [7]. Susiformavusio dirvožemio fizikinės ir cheminės savybės labai skiriasi dėl vyraujančio klimato, dirvos nusėdimo ir erozijos epizodų, reljefo aukščio, kraštovaizdžio raidos dėsningumo ir jame gyvenančių organizmų. Dažniausiai tankis, atsižvelgiant į išdžiūvusias tuštumas yra nuo 1,1 iki 1,6 g/cm³, nors dirvožemio dalelių tankis yra daug didesnis – nuo 2,6 iki 2,7 g/cm³ [6, 7]. Standartinį dirvožemį sudaro iki 50 % kietųjų medžiagų, iš kurių 45 % yra mineralinės ir 5 % organinės medžiagos, o likę 50 % yra poros, užpildytos vandeniu arba dujomis [7]. Priklausomai nuo dalelių dydžio, formos ir stiprumo susiformuoja porų struktūra, kuri lemia oro, vandens ir augalų šaknų judėjimą per dirvą [8].

Dirvodaros metu, nediferencijuotas dirvožemis suformuoja dirvožemio profilį, sudarytą iš horizontalių sluoksnių, vadinamų genetiniais dirvožemio horizontais (1.1 pav.). Horizontai tarpusavyje skiriasi fizikinėmis, cheminėmis, biologinėmis ir morfologinėmis savybėmis, pavyzdžiui, tekstūra, spalva, mikroorganizmais ir jų kiekiu, tankiu, konsistencija, poringumu ar temperatūra. Susiformavusio dirvožemio profilis dažniausiai yra sudarytas iš trijų pagrindinių horizontų: A, B ir C, o gyvoji dalis daugiausia būna tik O ir A horizontuose [6, 9].



1.1 pav. Genetiniai dirvožemio horizontai [10]

Formavimosi pradžioje vyraujančias uolienas palaiapsniui apgaubia samanų ir kerpės, vėliau žoliniai augalai, krūmai ir galiausiai miškai. Tokiu principu lygiagrečiai susiformuoja viršutinis humuso horizontas A ir gilesni mineraliniai horizontai B, C ir R. Kiekvienam vis žemiau esančiam horizontui yra būdingas tam tikros sudėties dirvožemis ir augalija, kuri suformuoja atskiras ekosistemas [7]. Horizontai yra žymimi tarptautiniais raidžių simboliais. Pačiame paviršiuje vyrauja O horizontas, daugiausia sudarytas iš yrančių organinių medžiagų ir šiukšlių. Žemiau O horizonto yra horizontas A, kuris pasižymi patamsėjusia spalva dėl organinių medžiagų ir humuso kaupimosi. Jame yra didžiausias maistinių ir organinių medžiagų kiekis bei pasižymi intensyviausiu biologiniu aktyvumu dėl augančių augalų šaknų, sliėkų, vabzdžių ir mikroorganizmų. E horizontas suformuojamas

dažniausiai dirbtinai – pašalinant molį, organines medžiagas, aliuminį ar geležį, dėl to pašviesėja spalva ir yra randamas ne visur [6, 9]. Storą sluoksnį sudaro B horizontas, kuriam yra būdingas didelis kiekis molio. Šis horizontas paprastai pasižymi mažesniu biologiniu aktyvumu ir derlingumu bei šviesesne spalva. Jame yra sulaikoma daug drėgmės, kaupiasi geležis, aliuminis, gipsas ir karbonatai. Po A ir B horizontais yra C horizonto sluoksnis, kuriame yra labai mažas kiekis humuso ir dirvos. Giliausiai yra R horizontas, kurį sudaro sutvirtinta uoliena, gausu granito, kvarco, bazalto ir kalkakmenio [9, 10]. Dirvožemio cheminė sudėtis priklauso nuo uolienu, mineralų ir organinių medžiagų, kurios susidaro mikroorganizmams skaidant negyvus augalus ir gyvūnus. Paprastai dirvožemį sudaro septyniolika cheminių elementų, iš kurių daugiausia yra deguonies, anglies, vandenilio, azoto, fosforo ir sieros. Šiek tiek mažiau randama geležies, kalcio, kalio, magnio, natrio. Be išvardintų elementų, sudėtyje yra mangano, boro, cinko, vario, molibdeno, nikelio ir chloro [11].

1.2. Dirvožemio degradacija

Dirvožemio būklės blogėjimas yra apibūdinamas degradacijos terminu, kurio metu suardoma stabili dirvožemio pusiausvyra. Degradacija atsiranda dėl netinkamo dirvožemio panaudojimo arba priežiūros, dažniausiai naudojant jį žemės ūkio, miesto ar pramonės reikmėms, bet įtakos taip pat turi ir klimatas [12]. Degradacijos procesas apima fizikinį, cheminį ir biologinį dirvos kokybės blogėjimą, tokį kaip praradimas organinių medžiagų ir derlingumo, erozijos atsiradimas, druskingumo, rūgštingumo arba šarmingumo pokyčiai, teršalų ir toksinų cheminių medžiagų kaupimasis [13]. Degradacijos sunkumo lygis yra įvertinamas atsižvelgiant į pradinę dirvožemio būklę, veikiančius aplinkos veiksnius ir dirvožemio gebėjimą atstatyti pusiausvyrą. Pagrindiniai degradacijos rodikliai pirmiausiai yra vizualūs: spalva, augančių piktžolių rūšys, miško ploto pokyčiai, daubų atsiradimai, augalų vystymosi pakitimai ir nuosėdų kaupimasis. Fizikiniai rodikliai yra įvertinami analizuojant stambiąsias ir smulkiąsias daleles bei jų išsidėstymą, stebimas tankis, pralaidumas vandeniui ir dujoms, poringumas, temperatūra. Cheminiai rodikliai nustatomi matuojant dirvožemio druskingumą, pH, maistinių ir organinių medžiagų kiekį, toksinų ir radioaktyvių elementų buvimą. Biologinius rodiklius apima mikroorganizmų gausa, jų veikla ir išskiriami šalutiniai produktai [13, 14].

1.2.1. Dirvožemio erozija

Erozija yra laipsniškas procesas, vykstantis dirvožemyje, kurio metu yra ardomi dirvožemio sluoksniai ir pernešami į kitas vietas. Dažniausiai erozija yra natūralus procesas, sukliamas gamtos jėgų, tokių kaip vėjas ar lietus, tačiau prie jos neretai prisideda ir žmonių veikla [15]. Dėl intensyvaus gyvulių ganymo, neteisingo žemės išdirbimo (perstumdam ir suspaudžiant dirvožemį arba dirvą išariant per gilias), miškų naikinimo ar netinkamos statybos dirvožemio sluoksnis suardomas ir paliekamas nesutvirtintas. Todėl dirvožemio erozijos greitis priklauso nuo įvairių veiksnių, įskaitant augmeniją ir jos įsitvirtinimą, dirvožemio sudėtį, vyraujančią klimatą bei žemės ūkio veiklos intensyvumą [16]. Paprastai yra išskiriamos dvi pagrindinės erozijos rūšys – vėjo ir vandens, o smarkaus lietaus sukeliama erozija yra dažniausiai pasitaikanti ir daugiausia nuostolių sukelianti erozija [17]. Vandens erozija nuplauna viršutinį žemės sluoksnį dėl kritulių, sniego tirpimo, prasto laukų drėkinimo ar neteisingo vandens nutekėjimo. Vandens sukliamas dirvos pažeidimas vyksta keliais etapais ir dažniausiai yra skirstomas pagal sukėlusius veiksnius į atskiras grupes [18]. Pirmasis etapas yra vandens lašų erozija, sukliama smarkaus lietaus, kai lašai krisdami pažeidžia atvirą žemės plotą, dėl ko yra išjudinamos dirvos dalelės ir sunaikinama viršutinio sluoksnio struktūra. Per ilgesnį laiką smarkus lietus neigiamai paveikia dirvožemio pralaidumą dėl paviršinės plutos sudarymo [19].

Kai kritulių intensyvumas viršija gebėjimą susigerti į dirvą, prasideda antrasis etapas – plokščioji erozija. Jos metu yra prarandamos smulkiosios dirvožemio dalelės, kuriose yra organinės ir maisto medžiagos. Laiku nesustabdžius plokščiosios erozijos, vanduo pradeda kauptis ant dirvožemio viršutinio sluoksnio ir pradeda formuoti kanalus, kurie gali siekti iki 30 cm gylį. Kanalais tekantis vanduo intensyviau ardo dirvos paviršių ir transportuoja daleles. Laikui bėgant, kanalai gali tapti grioviais ir paskatinti griovių erozijos atsiradimą [18, 19]. Dėl viršutinio dirvos sluoksnio suardymo, vandens erozija neišvengiamai paveikia gyvūnus, augalus ir mikroorganizmus. Vandeniui išplovus iš dirvožemio maisto ir organines medžiagas, augalai negauna reikiamo kiekio augimui reikalingų elementų, dėl ko sumažėja derlingumas, o mikroorganizmai dažniausiai žūva dėl mechaninio poveikio ir mineralų trūkumo. Vandens erozijos paveiktas dirvožemis praranda gebėjimą sugerti vandenį, dėl ko atsiranda galimybė formuotis potvyniams [20].

Taip pat daug nuostolių sukelia ir vėjo erozija, kurios metu yra pašalinamos smulkios dalelės ir nunešamos į kitas vietas. Tokio tipo erozijos stiprumas priklauso nuo dirvožemio paviršiaus būklės, vėjo greičio ir vyraujančios augalijos. Didžiausias poveikis yra oro kokybės pablogėjimas ir įvairių mikroorganizmų, įskaitant ir patogeninius, sporų platinimas [18, 20]. Erozija ir jos poveikis gali būti sumažinami pritaikant dirvožemio išsaugojimo metodus. Vienas iš efektyviausių metodų yra virš viršutinio dirvožemio sluoksnio suformuoti dengiamąjį sluoksnį iš augalų arba sutvirtinti jį surišančiais augalais, tokiais kaip žolė. Taip pat galima taikyti žemės ūkio tipo ir pasėlių keitimą vietose, kurios yra linkusios į eroziją, taikyti kitokį žemės apdirbimo metodą [16].

1.2.2. Dirvožemio rūgštingumas ir šarmingumas

Dirvožemyje vykstantys procesai priklauso nuo dirvožemio pH, kuris parodo dirvos rūgštingumo ir šarmingumo laipsnį. Pagal pH intervalo reikšmes, kurios gali būti nuo 0 iki 14, dirvožemiai būna rūgštūs, šarminiai arba neutralūs, o įprastas dirvožemio pH svyruoja nuo 4,5 iki 7,5 [21]. Tačiau dirvai tapus per daug rūgščia arba šarminė, yra sutrikdoma augalų galimybė maitintis, sumažinama mikroorganizmų gausa ir gyvybingumas. Dirvoje kaupiantis vandenilio katijonams sumažėja pH vertė ir dirvožemis pradeda rūgštėti [22]. Iš cheminės pusės taip atsitinka kai į dirvožemį patenka protonų donoras, kuriuo dažniausiai būna rūgštys, tokios kaip sieros, azoto ar anglies. Protonų donoru taip pat gali būti ir kitas junginys, pavyzdžiui, aliuminio sulfatas [21]. Natūraliai dirvožemis rūgštėja kai dumbliai ir kerpės pradeda ardyti uolienu paviršius, bet rūgštingumą taip pat gali paskatinti žemės ūkis, tarša ir rūgštus lietus. Rūgštėjimas gali prasidėti ir išsiplovus iš dirvožemio baziniams katijonams – kalciui, kaliui, magniui ar natriui [23]. Didėjant pH vertėms, dirvožemis tampa šarminiu, o viršijus 8,5 pH vertę dirvožemis pasižymi kieta struktūra ir mažu vandens sugėrimu. Šarminiai dirvožemiai paprastai yra labai molingi ir turi kietą kalkių sluoksnį 0,5–1 metro gylyje [21, 24]. Natūraliai dirvožemis šarmėja dėl dirvoje vyraujančių mineralų, kurie sudaro junginius, tokius kaip natrio karbonatas ar natrio bikarbonatas. Kaip ir dirvožemio rūgštėjimo atveju, šarmėjimą gali paskatinti žemės ūkis, tarša, vandens minkštinimas ir anglies ar lignino deginimas [24]. Apie dirvos pH galima spręsti vizualiai iš vyraujančių augalų: rūgštų dirvožemį paprastai mėgsta rūgštynės, spanguolės, samanos, viržiai ir našlaitės, šarminiame dirvožemyje dažnai auga liucernos, dirvinės čiužutės ir laukinės garstyčios, o neutralų dirvožemį renkasi jonažolės, ramunėlės, dobilai ir ankstyvieji šalpusniai [23].

Per daug rūgščiam dirvožemyje pradeda kauptis manganas ir aliuminis, kurie slopina augalų augimą, suprastėja kalcio ir magnio pasisavinimas, vyrauja grybai, retai aptinkama sliekų. Labai šarmingame dirvožemyje, augalams yra sunku pasisavinti azotą, cinką, geležį, manganą ir varį, todėl jie tampa

jautresni įvairioms ligoms. Dirvožemiui būdingi mikroorganizmai, kurie skaido organines medžiagas į paprastesnius junginius, lengviau pasisavinamus augalams, gyvybingiausi būna kai pH vertės 6,3–6,8. Jei dirva tampa per daug rūgšti, mikroorganizmų veikla silpnėja ir bakterijos nebeaprūpina augalo tinkamu kiekiu paprastesnių medžiagų. Mikroskopiniams grybams ir bakterijoms, kurios fiksuoja azotą, labiau tinkamas yra šarminis dirvožemis [25, 26]. Dirvos pH gali būti reguliuojamas rūgštinant arba šarminant dirvožemį. Dirvožemio parūgštinimui dažnai naudojamos durpės, fiziologiškai rūgščios trąšos ar įvairios rūgštinimo priemonės. Šarmingumas įprastai padidinamas naudojant kalkines medžiagas: klintis, kalkes, cemento dulkes ar kreidą [26].

1.2.3. Dirvožemio druskingumas

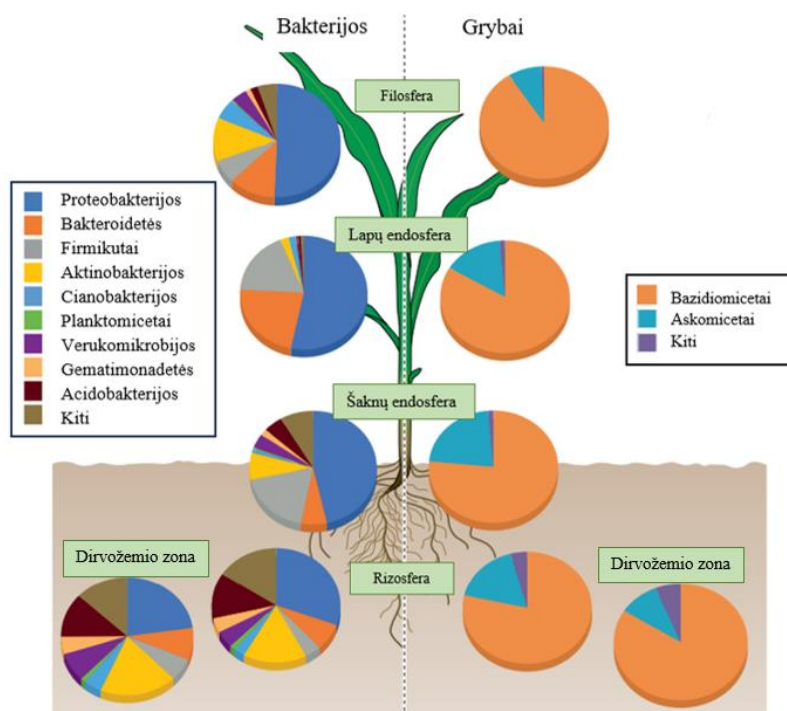
Dirvožemio druskingumas yra apibūdinamas kaip dirvožemyje esančios druskos kiekis. Tiek vandenyje, tiek dirvožemyje druskos yra natūralus komponentas, tačiau per didelis druskų kiekio padidėjimas, blogina dirvožemio kokybę. Už druskingumą yra atsakingi natrio, kalio, kalcio, magnio ir chloro jonai, o pats dirvožemio druskėjimas paprastai yra susijęs su vandenyje tirpios valgomosios druskos (natrio chlorido) kaupimusi [27, 28]. Dirvožemio druskėjimas atsiranda natūraliai arba dėl netinkamos žmonių veiklos, ypač žemės ūkio. Natūralios druskėjimo priežastys dažniausiai yra sausas klimatas ir mažas kritulių kiekis, didelis vandens garavimo greitis, požeminių vandenių druskingumo laipsnis ir jūros lygio pakitimai. Dirbtinai druskingumas gali padidėti dėl prasto drenažo, drėkinimo druskingu vandeniu, augmenijos pašalinimo ir netinkamo tręšimo [28]. Iš pradžių, didėjantį dirvožemio druskingumą galima pamatyti vizualiai – stebint dirvožemio paviršių, vandens sugėrimo greitį ir augalijos būklę, kadangi dirvos paviršius pradeda balti, po to susidaro aiškūs druskos kristalai, augalai sunkiau auga, dėl pažeistos vandens absorbcijos. Net ir palaikant tinkamą dirvos drėgnumą pasėliai sunyksta, dėl nepakankamo vandens pasisavinimo [29]. Druskingumas neigiamai paveikia beveik visus augalų vystymosi etapus: daigumą, vegetatyvinį dauginimąsi, vystymąsi ir augimą, sukeldamas osmosinį stresą, maistinių medžiagų (natrio, kalcio, kalio, fosforo, geležies ir cinko) ir vandens nepasisavinimą, oksidacinį stresą [30, 31]. Pagrindinis dirvožemio druskingumo slopinimas yra atliekamas parenkant tinkamą drenažo sistemą, kad būtų išplautas druskų perteklius iš dirvos. Yra ir keletas kitų būdų, padedančių išvengti druskingumo didėjimo dirvožemyje, pavyzdžiui, drėkinimui naudoti gėlą vandenį, pridėti organinių medžiagų ir mėšlo į dirvą, kad būtų sulaukyta drėgmė, apdirbti žemę nenaudojant sunkiosios technikos, apsėti dengiamaisiais augalais paviršių ar nenaudoti gilaus žemės išdirbimo [32, 33].

1.3. Dirvožemio mikroorganizmai ir jų atliekamos funkcijos

Dirvožemio organinę dalį sudaro tiek gyvi, tiek negyvi augalai, gyvūnai ir mikroorganizmai. Paprastai kokybiškame dirvožemyje gausu biologinės įvairovės, o organinėje dalyje randama apie 70 % mikroorganizmų, 22 % makrofaunos ir 8 % augalų šaknų [34]. Dirvožemio mikrobioma yra svarbi dirvožemio mitybos tinklo, kuris palaiko kitus organizmus, pradžia. Mikroorganizmai dirvoje dalyvauja maistinių medžiagų cikle, skaidydami organines medžiagas bei pernešdami jas augalams, prisideda prie humuso sintezės, dirvožemio agregacijos ir stabilizavimo [35].

Dirvožemyje ir jo sluoksniuose mikroorganizmai pasiskirsto labai netolygiai, nes jų augimui ir gyvybingumui įtakos turi vandens, anglies ir kitų maistinių medžiagų prieinamumas, mechaninis aplinkos poveikis bei įvairūs edafiniai veiksniai: dirvožemio tekstūra, tūrinis tankis, pH, drėgmė, temperatūra (1.2 pav.) [34, 35]. Mažiausias kiekis mikroorganizmų yra randamas paviršiniame 1–2 mm gylio dirvožemio sluoksnyje, dėl neigiamo aplinkos poveikio. Tokiame gylyje mikroorganizmus

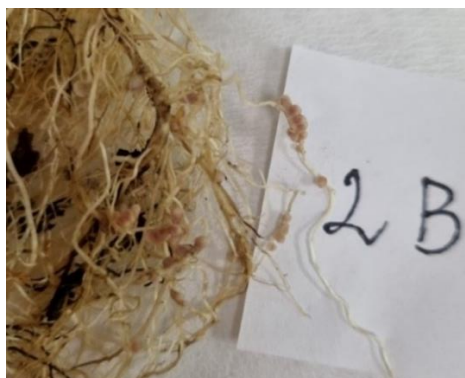
intensyviai veikia UV spinduliuotė, randama mažai maistinių ir mineralinių medžiagų, dirvožemio pH ir temperatūra būna nestabilūs, vyraujantis lietus ir vėjas sukelia neigiamą mechaninį poveikį. Didžiausia mikroorganizmų gausa ir įvairovė yra aptinkama 10–20 cm gylyje, kur vyrauja augalų šaknys. Čia yra daugiausia organinių ir maistinių medžiagų, pakankamas kiekis deguonies ir drėgmės, beveik nėra mechaninio poveikio, dirvožemio edafiniai veiksniai išlieka stabilūs [36, 37]. Didėjant dirvožemio gyliui, dažniausiai nuo 30 cm, mikroorganizmų kiekis pradeda mažėti, kadangi retėja augalų šaknys, padidėja dirvožemio tūrinis tankis, dėl kurio pradeda trūkti maisto medžiagų ir deguonies, sulaikomas vanduo [35]. Be dirvožemio gylio, mikroorganizmų gausumas ir sudėtis priklauso nuo augalų šaknų. Mikroorganizmai pagal pasiskirstymą ir paplitimą dirvožemyje aplink augalo šaknis yra skirstomi į dvi atskiras sritis – rizosferos ir rizoplanos zonos mikroorganizmus [36].



1.2 pav. Mikroorganizmų pasiskirstymas [42]

Rizosfera yra siaura dirvožemio zona, esanti aplink augalų šaknis, kuri pasižymi intensyviu biologiniu aktyvumu ir nuo kurios priklauso augalo šaknų mityba ir augimas. Augalai vykdydami fotosintezę sintetina įvairius organinius junginius, kuriuos vėliau išskiria per šaknis į dirvožemį skysčiais [38]. Šios augalų šaknų išskiriamos išskyros yra vadinamos eksudatais, kurie gali arba paskatinti, arba slopinti mikroorganizmų gyvybingumą ir aktyvumą. Augalų šaknys paprastai išskiria nuo 20 % iki 40 % cukrų (fruktozės, galaktozės, gliukozės, ribozės, ksilozės, arabinozės, maltozės), organinių rūgščių (acto, citrinos, maleino, piruvo, gintaro, valerijono, propiono), aminorūgščių (alanino, cisteino, glicino, histidino, lizino, metionino), fermentų (amilazių, invertazių, proteazių, fosfatazių), fenolinių rūgščių (ferulio, vanilino, kofeino, salicilo), augimo faktorių (auksino, biotino, cholino, niacino) ir kitų junginių, tokių kaip flavononai, riebalų rūgštys, baltymai, steroidai, lipidai, aromatinės ir alifatinės medžiagos [39]. Visus šiuos augalų eksudatus ir mirusias augalų dalis mikroorganizmai naudoja kaip maisto šaltinį ir verčia į paprastesnius junginius, kuriuos vėliau gali pasisavinti augalai. Rizosferoje, lyginant su kitomis dirvožemio zonomis, yra aptinkama daugiausiai mikroorganizmų. Iš bakterijų vyrauja *Bacillus*, *Micrococcus*, *Myxobacterium* ir *Pseudomonas* gentys,

taip pat heterotrofinės bakterijos (*Azotobacter*, *Azospirillum* ir *Rhizobium*), kurios fiksuoja didelius kiekius azoto. Kol augalai yra jauni, dominuoja *Pseudomonas* genties bakterijos, vėliau augalams bręstant bakterijos persigrupuoja ir atsiranda daugiau celiuliozę skaidančių ir sporinių bakterijų. Iš mikroskopinių grybų aptinkama daugiausia *Aspergillus*, šiek tiek mažiau *Penicillium* ir *Fusarium* genčių. Taip pat randama dumblių, mielių, virusų, pirmuonių, oomicetų ir archėjų [40, 41]. Be rizosferos, kartais yra išskiriama ir kita zona – rizoplanas. Rizoplanas yra apibūdinamas kaip medialinė zona, esanti šaknies paviršiuje, prie kurios prisitvirtina mikroorganizmai, naudodami savo paviršiaus struktūras, tokias kaip fimbrijos arba žvyneliai. Riba tarp rizosferos ir rizoplano yra labai siaura, todėl dažnai yra laikoma kaip bendra rizosferos zona. Rizoplano zonai yra būdingi praktiškai tokie patys mikroorganizmai, kaip ir rizosferos zonai: *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Rhizobium* genties bakterijos, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* genties grybai, mielės ir dumbliai, tačiau išskirtinai rizoplano zonai yra būdingi savitieji *Sclerocystis* genties grybai [42]. Mikroorganizmų, esančių rizosferos ir rizoplano zonose, simbiozė su augalais dažniausiai yra mutualistinė. Mutualizmas būna tada, kai du skirtingi individai gyvena kartu ir vienas kitam teikia naudą [43]. Tokie santykiai yra pastebimi tarp mikroorganizmų ir augalų, pavyzdžiui, *Rhizobium* genties bakterijos kolonizuoja ankštinius augalus, kad susidarytų šaknų mazgeliai (1.3 pav.), kuriuose atmosferos azotas, naudojant fermentus, yra paverčiamas amonio jonais arba amoniaku, kuriuos gali per šaknis pasisavinti augalas. Tuo tarpu augalas aprūpina bakterijas organiniais junginiais, pagamintais fotosintezės metu [44].



1.3 pav. *Rhizobium* genties bakterijų sudaryti mazgeliai ant žirnių šaknų

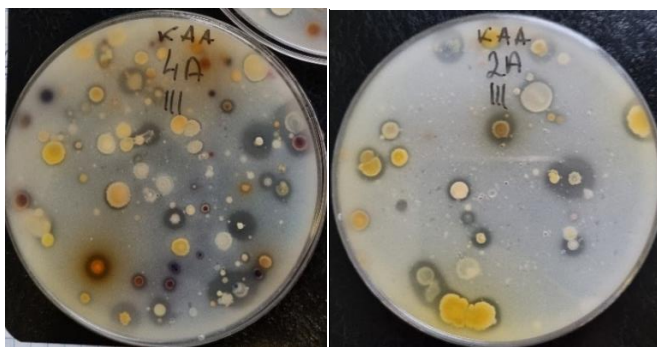
Dar vienas svarbus mutualistinis ryšys yra pastebimas tarp augalų šaknų ir grybų – mikorizė. *Sclerocystis* genties grybams sudarius mikorizę su augalų šaknimis, grybai yra aprūpinami organinėmis medžiagomis, o grybų gaminamos aktyviosios medžiagos, tokios kaip vitaminai ar augimą skatinančios medžiagos padeda augalams bręsti ir apsisaugoti nuo ligų. Mikorizės metu taip pat augalai lengviau aprūpinami vandeniu ir mineralinėmis medžiagomis [45]. Dirvožemyje, be naudą duodančių augalams mikroorganizmų, taip pat sutinkami ir įvairūs patogenai. Šie mikroorganizmai gali gyventi tiek dirvožemyje, tiek augale-šeimininke ir taip parazituoti augalus. Nuolatos dirvožemyje gyvenantys patogenai paprastai veikia gyvų augalų šaknų sistemas, todėl yra apibrėžiami kaip šaknų patogenai. Šaknų patogenų įvairovė yra didelė ir apima bakterijas, chromistus, pirmuonis ir grybus. Daugelis šių patogenų veikia ir kaip virusų pernešėjai. Iš augalų šaknų patogenų dažniausiai yra sutinkamos bakterijos, priklausančios *Pectobacterium*, *Ralstonia*, *Dickeya* ir *Agrobacterium* gentims, o tarp grybų dominuoja *Fusarium* gentis [46, 47].

1.3.1. Bakterijos

Bakterijos sudaro didžiausią ir gausiausią dirvožemio mikroorganizmų grupę. Jų skaičius viename grame dirvožemio gali siekti 10^{10} KSV, o apskaičiuota rūšių įvairovė dažniausiai kinta tarp $4 \cdot 10^3$ ir

$5 \cdot 10^4$ rūšių. Dirvožemyje bakterijos būna įvairių formų (rutulinės, lazdelinės, spiralinės ir siūlinės), dydžių (nuo 0,2 iki 3 μm) ir atlieka svarbias funkcijas (skaidymas, azoto fiksavimas, nitrifikacija, denitrifikacija ir fosfatų tirpinimas) [48]. Kaip skaidytojos, bakterijos minta negyvais arba yrančiomis augalų ir gyvūnų organinėmis medžiagomis ir naudojant fermentus, kuriuos pačios susintetina, jas perdirba į įvairias paprastesnes formas, tokias kaip anglies ir azoto turintys junginiai, cukrus ar kitos maistinės medžiagos. Daugiausiai dirvožemyje vyrauja negyva augalų biomasė, kurioje gausu celiuliozės, hemiceliuliozės ir lignino. Šiuos sudėtingus junginius bakterijos, išskirdamos celiulazes, hemiceliulazes, ksilanazes, peroksidazes, lakazes ar katalazes, geba dirvožemyje suskaidyti. Tarp skaidytojų yra sutinkamos *Cellulomonas*, *Proteobacteria*, *Bacillus*, *Pseudomonas* genties bakterijos [49, 50].

Dirvožemyje augantiems augalams labai svarbus elementas yra azotas, kuris yra pagrindinis chlorofilo, svarbaus pigmento fotosintezėi, komponentas. Azotas taip pat įeina į aminorūgščių, nukleorūgščių ir ATP sudėtį. Nors azotas ir yra vienas iš gausiausiai sutinkamų elementų, daugiausiai jo būna dujiniu pavidalu, o tokio azoto augalai pasisavinti ir panaudoti negali. Azotą fiksuojančios ir nitrifikaciją vykdančios bakterijos padeda dirvožemį praturtinti azotu ir azotą turinčiais junginiais (1.4 pav.) [51].



1.4 pav. Azotą fiksuojančios bakterijos mėšlu ir kompostu tręštuose dirvožemiuose

Pirmiausiai azotą fiksuojančios bakterijos, priklausančios *Azotobacter*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Rhizobium* ir *Klebsiella* gentims, fiksuodamos atmosferos azotą paverčia amoniaku arba amonio jonais, naudojant fermentą azotogenazę [52]. Toliau yra vykdoma nitrifikacija, susidedanti iš dviejų etapų. Nitrifikacijoje dalyvaujančios bakterijos skirstomos į amoniaką oksiduojančias bakterijas (AOB) ir nitritus oksiduojančias bakterijas (NOB). AOB yra priskiriamos *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira* gentims priklausančios bakterijos, o NOB – *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* genties bakterijos. Pirmame etape, dalyvaujant AOB, amoniakas ir amonio jonai yra oksiduojami iki tarpinio junginio hidroksilamino, naudojant fermentą amoniako monooksigenazę, kuris vėliau yra oksiduojamas iki nitritų, naudojant fermentą hidroksiloamino oksidoreduktazę. Antrame etape, NOB oksiduoja nitritus iki nitratų, naudojant fermentą nitrito oksidoreduktazę [53]. Paprastai po nitrifikacijos vyksta kitas bakterijų vykdomas procesas – denitrifikacija. Šio proceso metu nitratų yra redukuojami iki dujinio azoto, per tarpinius junginius – azoto oksidą ir diazoto oksidą, dalyvaujant azoto oksidoreduktazėms. Susidaręs dujinis azotas lengvai pasišalina iš dirvožemio ir vėl grįžta į atmosferą. Būtent dėl šios priežasties žemės ūkyje denitrifikacija yra neigiamas procesas. Dažniausiai denitrifikacija dirvožemyje įvyksta kai mikroorganizmams pradeda trūkti deguonies. Tuomet nitrifikacijos metu susidarę neorganiniai azoto junginiai yra sunaudojami kaip elektronų akceptoriai mikroorganizmų anaerobiniame kvėpavime. Denitrifikaciją vykdo

Thiobacillus denitrificans, *Micrococcus denitrificans* bakterijos, bei kai kurios *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter* gentys [53, 54].

Be azoto, jaunų augalų vystymuisi taip pat svarbus ir kitas elementas – fosforas. Fosforas yra viena iš pagrindinių maisto medžiagų augalams, jis yra augalų ląstelių sudedamoji dalis ir be jo nevyktų ląstelių dalijimasis. Paprastai dirvožemis fosforu papildomas naudojant chemines fosfatų pavidalo trąšas, tačiau didelė dalis tokio tirpaus neorganinio fosfato yra greitai imobilizuojama ir augalams tampa nepasiekiamu. Augalų rizosferos zonoje yra aptinkama nemažai fosfatų tirpinančių bakterijų (PSB), gebančių ištirpinti neorganinį fosforą iš netirpių junginių [55]. Pagrindinis PSB mechanizmas yra pagrįstas organinių rūgščių (acto, skruzdžių, oksalo, gintaro, gliukono, 2-keto gliukono) išskyrimu į dirvožemį, dėl ko sumažinamas dirvožemio pH ir fosfatinė uoliena pradeda tirpti [56]. Kartu su organinėmis rūgštimis PSB į dirvožemį išskiria ir įvairius fermentus (fosfatazė, fosfohidrolazė, fosfonatazė), kurių pagalba palengvinamas fosfato išlaisvinimas iš organinių fosforą turinčių junginių. Fosfatų tirpinančioms bakterijoms priklauso *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Flavobacterium* ir *Gluconobacter* gentys. Būtent šios bakterijos atlieka pagrindinį vaidmenį prisidedant prie augalų mitybos, papildant dirvožemį augalams prieinamu tirpiu fosforu, o tiksliau ortofosfato formomis (PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} ir H_2PO_4^-), kurios kartu su vandeniu patenka į augalą per šaknis [57].

1.3.2. Mikroskopiniai grybai

Antroji pagal gausumą ir įvairovę dirvožemyje sutinkama mikroorganizmų grupė yra mikroskopiniai grybai. Tai eukariotiniai, heterotrofiniai mikroorganizmai, kurie gali būti vienaląsčiai arba labai sudėtingi daugialąsčiai. Paprastai dauguma grybų auga kaip hifai, kurių skersmuo 2–10 μm , o ilgis iki 2 cm. Hifai būna cilindrinės, siūlinės formos, auga viršūnėlėse. Mikroskopiniai grybai yra skiriami į dvi pagrindines grupes, pagal morfologinę formą: pelėsinius grybus ir mieles [58]. Mielės yra sudarytos iš pavienių ląstelių, kurios dauginasi sudarydamos pumpurus, o pelėsiniai grybai auga kaip hifai. Įprastai mielių ilgis siekia 3–4 μm , kai kuriais atvejais gali išaugti iki 40 μm , plotis 1–10 μm ; forma gali būti sferinė, kiaušinio ar net siūlinė [59]. Mielės geba augti įvairaus tipo dirvožemiuose, įskaitant itin rūgščius, šarminius, vulkaninius ar net kriogeninius dirvožemius. Pačioje dirvoje mielių skaičius dažniausiai nesiekia tūkstančio ląstelių viename grame. Organinėmis medžiagomis praturtintame dirvožemyje mielių skaičius didėja, didesnis mielių kolonijų gausumas yra aptinkamas tręšiamuose, žemės ūkio paskirties dirvožemiuose [59, 60]. Mielių skaičius pradeda mažėti didėjant dirvožemio gyliui, dėl mažėjančio maistinių ir organinių medžiagų kiekio. Paprastai dirvos mielės retai aptinkamos, kai gylis siekia 20–30 cm, nors yra išimčių. *Lipomyces tetrasporus* mielės geba išlikti gyvybingomis, net 100–200 cm gylyje. Mielės dirvoje prisideda prie organinių medžiagų mineralizacijos, anglies ir energijos paskirstymo po dirvožemio ekosistemą, dirvožemio struktūros palaikymo ir agregatų formavimo. Dirvožemio mielės taip pat dažnai būna maisto šaltinių įvairiems dirvožemio plėšrūnams, tokiems kaip bakterijos ar protistai. Dirvožemyje dažniausiai sutinkamos *Sporobolomyces*, *Rhodotorula*, *Lipomyces* ir *Rhodospiridiobolus* genčių mielės [61].

Dirvožemyje mikroskopiniai grybai taip pat yra labai svarbi sudedamoji dalis dėl biocheminio aktyvumo, dalyvavimo maistinių medžiagų cikle ir sudaromos simbiozės su augalais. Grybai, kaip ir bakterijos, geba skaidyti negyvus arba pūvančius augalus ir gyvūnus, vykdyti nitrifikaciją ir tirpinti fosfatus (*Aspergillus*, *Penicillium* genties grybai). Būtent dėl šių savybių grybai padeda gerinti dirvožemio derlingumą ir prisideda prie degradacijos sumažinimo [62, 63]. Mikroskopiniai grybai dominuoja drėgname, vėsiam ir šiek tiek rūgščiame dirvožemyje. Apie 80–90 % augalų sudaro

simbiotinius mikorizinius ryšius su mikroskopiniais grybais, suformuojant hifų tinklą mikorizę. Šių hifų pagalba augalai yra aprūpinami azotu, fosforu, mikroelementais ir vandeniu, suteikiamas didesnis atsparumas ligoms, padeda lengviau toleruoti didesnius sunkiųjų metalų kiekius. Mikorizinių hifų tinklai sudaro gijinį kūną, dėl kurio padidėja augalų šaknų paviršiaus plotas. Sudarytas tinklas sąveikaujant su dirvožemio dalelėmis, uolienomis ir augalų šaknimis padeda ieškoti maistinių medžiagų. Tinklai pasižymi gebėjimu išskirti įvairius fermentus į dirvą ir suskaidyti sudėtingas molekules, kurias vėliau vėl sugeria [45, 64]. Pagrindinis baltymas, kurį mikoriziniai grybai išskiria į dirvožemį yra glomulinas. Glomulino pagalba dirvai neleidžiama susislėgti, didinamos anglies ir azoto atsargos dirvožemyje, išlaikomas jo porėtumas ir mažinama erozija [65]. Dauguma mikorizinių hifų yra baltos arba geltonos spalvos, todėl dažnai yra netinkamai identifikuojami kaip augalų šaknys [45, 64]. Dažniausiai dirvožemyje yra sutinkami *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* genties grybai, o tarp patogeninių labiausiai paplitę *Fusarium*, *Verticillium* ir *Rhizoctonia* grybai (1.5 pav.) [66].



1.5 pav. Kompostu tręštame dirvožemyje išaugę mikroskopiniai grybai

1.3.3. Aktinomicetai

Aktinomicetai dirvožemyje sudaro daugiau nei 30 % visos mikroorganizmų populiacijos ir jų kiekis viename grame gali kisti nuo 10^6 iki 10^9 KSV. Aktinomicetai (dar vadinami aktinobakterijomis) yra vienaląsčiai, gramteigiami, sporas sudarantys ir grybieną formuojantys prokariotai. Šių mikroorganizmų ląstelė dažniausiai būna plona ir ilga, jai būdingas siūlinis ir šakotas augimas, dėl kurio susiformuoja didelės kolonijos arba micelis. Kai kurių rūšių micelis gali suirti ir suformuoti lazdelės arba koto formas [67, 68]. Aktinomicetai dėl savo sandaros yra laikomi tarpiniais mikroorganizmais tarp bakterijų ir grybų: kaip ir bakterijų, aktinomicetų ląstelės sienelė sudaryta iš peptidoglikano, bet joje nėra chitino ir celiuliozės, o kaip grybai, aktinomicetai neturi diferencijuoto branduolio, formuoja micelį ir geba daugintis sporomis [68, 69]. Aktinomicetai dirvožemyje yra svarbūs organinių medžiagų cikle, geba slopinti augalų patogenų augimą rizosferoje dėl sintetinamų antibiotikų, skaido įvairius sudėtingus junginius (celiuliozę, chitiną, baltymus, riebalus, angliavandenius) ir dalyvauja humuso formavimo procesuose [70]. Viena išskirtiniausių aktinomicetų atliekamų funkcijų yra antibiotikų sintezė. Dauguma žinomų antimikrobinį poveikį turinčių medžiagų pirmiausia buvo išskirtos iš dirvožemyje gausiai paplitusios *Streptomyces* genties: neomicinas, chloromicetinas, streptomycinas, kanamicinas ir teramicinas. Iš viso 64 % natūraliai gaminamų antibiotikų yra gaunami aktinomicetų pagalba [71]. Be antibiotikų, aktinomicetai gamina ir į dirvožemį išskiria daugiau galutinių medžiagų apykaitos produktų, pavyzdžiui, geosminą, kuris suteikia ką tik sukastos šviežios dirvos kvapą [70]. Didžioji dalis dirvožemyje esančių aktinomicetų yra nepavojingi gyvūnams ir augalams, tačiau sutinkama ir patogeninį poveikį turinčių rūšių.

Streptomyces scabiei yra labiausiai paplitęs augalų patogenas dirvožemyje, sukkeliantis pažeidimus bulvių ir burokų augimo metu šaknyse ir audiniuose [72].

1.3.4. Mikrodumbliai

Tarp dirvožemio mikroorganizmų taip pat sutinkami ir mikrodumbliai, kurie būdingi itin drėgnam, nuolat patvinstančiam arba šalia vandens telkinių esančiam dirvožemiui. Mikrodumbliai (dar vadinami mikrofitais) yra akimi nematomi mikroskopiniai organizmai, dažniausiai vienaląščiai ir fotosintetinantys. Gebėjimą vykdyti fotosintezę lemia fotosintetinių pigmentų buvimas. Nors dauguma mikrodumblių yra vienaląščiai, kai kurie geba sudaryti smulkias siūlines arba sferines kolonijas su tomis pačiomis rūšimis. Mikrodumbliai pasižymi įvairiomis spalvomis – žalia, raudona, ruda, kurias suteikia ląstelėje vyraujantys pigmentai [73, 74]. Kadangi mikrodumbliai apima plačią mikroorganizmų grupę yra skirstomi į klases: melsvadumbliai (*Cyanophyceae*), žalieji dumbliai (*Chlorophyceae*), geltonai žali dumbliai (*Xanthophyceae*), raudonieji dumbliai (*Rhodophy*), rudieji dumbliai (*Phaeophyceae*), auksadumbliai (*Chrysophyceae*), diatomės (*Bacillariophyceae*), dinoflagelatai (*Dinophyceae*) ir „pikoplanktonai“ (*Prasinophyceae* ir *Eustigmatophyceae*) [73]. Mikrofitai dirvožemyje turi įtakos medžiagų apykaitai, nes prisideda prie organinių medžiagų skilimo ir maistinių medžiagų formavimo oksidacijos ir nitrifikacijos būdu bei anglies ir azoto fiksavimo. Mikrodumbliai taip pat geba išskirti į dirvožemį įvairias veikliąsias medžiagas (baltymus, karotinoidus, riebalų rūgštis, augalų hormonus, vitaminus, antibiotikus ir tarpląstelinius polisacharidus), kurios skatina pasėlių augimą, pagerina derlingumą ir padeda apsaugoti augalus nuo kenkėjų [75, 76]. Mikrodumbliai išsiskiria iš kitų mikroorganizmų gebėjimu greitai daugintis, intensyviu augimu ir didele sintetinamų produktų išeiga. Dėl turimų specifinių savybių mikrodumbliai buvo pradėti naudoti kaip dirvožemio biotrašos [77]. Mikrobumbliai žemės ūkyje yra naudojami ir kaip natūralūs biopesticidai patogenų, tokių kaip bakterijos, grybai ir nematodai augimo ir dauginimosi slopinimui. Augimas kontroliuojamas sintetinant biocidinius junginius: benzenkarboksirūgštį ar hidrolizinius fermentus [78].

1.3.5. Pirmuonys

Drėgname arba netoli vandens telkinių esančiame dirvožemyje neretai aptinkama ir dar viena mikroorganizmų rūšis – pirmuonys. Tai vienaląščiai, eukariotiniai, heterotrofiniai organizmai, kurie skirstomi į 4 pagrindinius tipus: žvynelinius, blakstienėles, amebas ir parazitinius sporozoanus [79]. Dirvožemis pirmuonims yra tinkama terpė gyventi, nes tenkina jų egzistavimui svarbiausius veiksnius: turi porėtą erdvinę struktūrą, prieinamą vandens tiekimą ir jame galimos tarprūšinės sąveikos. Pirmuonys pasižymi mažu kūno dydžiu (3–50 μm), kūno formų įvairove ir gebėjimu gaminti apsaugines cistas, kuriomis naudojasi, kai atsiranda nepalankios aplinkos sąlygos. Dirvožemyje gyvenantys pirmuonys minta bakterijomis, dumbliais ar net kitais pirmuonimis [80]. Tiek aktyvių, tiek cistų formoje esančių pirmuonių kiekis dirvožemyje yra didelis – siekia 10^3 – 10^5 KSV viename grame. Pirmuonys dirvoje reguliuoja bakterijų populiacijas, palaiko jų fiziologinę būseną ir palaiko bakterijų buvimą aktyvioje augimo fazėje. Tokiu būdu yra padidinamas bakterijų greitis skaidant negyvas organines medžiagas. Pirmuonys taip pat geba išskirti azotą amonio pavidalu ir fosforą ortofosfato pavidalu, kaip savo metabolizmo produktus [81]. Dėl galimybės greitai augti, trumpai gyventi ir turimų specifinių išorinių membranų, pirmuonys greičiau reaguoja į aplinkos pokyčius, nei bet kuris eukariotinis organizmas. Būtent dėl šios savybės pirmuonys naudojami biologiniuose tyrimuose ar kaip ankstyvo įspėjimo sistema [80].

1.4. Dirvožemio kokybė ir derlingumas, jų gerinimas

Dirvožemio derlingumas – dirvožemio potencialas sukurti palankias fizines, chemines ir biologines sąlygas augalams augti ir aprūpinti juos būtiniausiomis maistinėmis medžiagomis – mikro ir makroelementais [82]. Dirvožemyje esančios mineralinės maistinės medžiagos nėra tiesioginis augalų maistas, kadangi augalai maistą pasigamina patys fotosintezės metu, bet yra papildas, kuris suteikia daugiau energijos augalo vystymuisi [83]. Derlingame dirvožemyje yra išlaikomas vidutinis arba didelis kiekis maistinių medžiagų, kurios sustiprina augalų imuninę sistemą, pagreitina augimą, padidina jų derlingumą ir tvirtumą viso vystymosi ciklo metu. Dirvožemio derlingumui įtakos turintys veiksniai yra skirstomi į tiesioginius (drėgmė, organinių ir mineralinių medžiagų kiekis, aeracija, pH, temperatūra) ir netiesioginius (biologinis aktyvumas, dirvos dirbimo būdai) [82]. Dažniausiai derlingumas yra proporcingas dirvožemyje esančio humuso kiekiui, kadangi jame yra augalams reikalingų maistinių medžiagų, tokių kaip azotas ir fosforas. Humusas taip pat padeda sukurti tinkamą pasėlių vystymuisi mikroklimatą su pakankamu oro ir drėgmės kiekiu bei palankia temperatūra. Pačio humuso kokybė yra nusakoma huminių ir fulvo rūgščių bei jų druskų kiekiu santykiu – kuo didesnis kiekis šių rūgščių ir jų druskų, tuo humusas geresnis [84]. Tanki dirvožemio tekstūra, kurioje vyrauja smulkios dalelės, veikia kaip talpykla maisto medžiagoms, tačiau tokia dirvos struktūra trukdo augalų šaknims pasiekti ir įsisavinti vandenyje ištirpusias maistines medžiagas. Dirvos derlingumas labai priklauso ir nuo vyraujančio drėgmės kiekio, kadangi augalai maistines medžiagas pasisavina tiesiogiai iš vandens, o ne iš kietosios dirvožemio fazės. Tačiau per didelis drėgmės kiekis gali paskatinti augalų ligų plitimą. Augalų šaknims išgyventi ir klestėti dirvožemyje yra reikalingas deguonis, todėl aeracija yra vienas iš esminių derlingumo veiksnių. Deguonis dirvožemyje reikalingas ne tik augalų šaknims, bet ir aerobinių mikroorganizmų gyvybinei veiklai [82, 85]. Nuo dirvožemio temperatūros priklauso maistinių medžiagų tirpumas, jų pasisavinimas ir naudingų bakterijų veikla. Visiems šiems procesams tinkamiausia yra 18–24 °C temperatūra. Esant žemai dirvos temperatūrai sulėtėja visi dirvožemyje vykstantys procesai, tačiau esant per aukštai temperatūrai greičiau dauginasi kenkėjai ir patogenai, o augalai pradeda džiūti [82].

Dirvožemio derlingumas pradeda mažėti, kai iš jo pašalintų maistinių medžiagų kiekis pradeda viršyti įterptą kiekį. Tokiu atveju augalai pasisavina medžiagas iš dirvožemyje esančių atsargų iki kol atsargos pilnai išnaudojamos ir nebelieka augalų vystymuisi reikalingų išteklių [86]. Norint tiesiogiai įvertinti bendrą dirvožemio kokybę ir jo derlingumą yra reikalingi dirvožemio tyrimai. Dirvos derlingumo analizė suteikia informacijos apie dirvožemio rūšį, sudėtį, mineralų kiekį, pH ir parodo trūkstamus elementus, kuriais papildytas dirvožemis gali vėl tapti kokybiškas ir produktyvus. Derlingumą galima išsaugoti arba pagerinti taikant sėjomainą, mišrų sodinimą, tręšiant cheminėmis ar žaliosiomis trąšomis, mulčiuojant, pūdant, papildant dirvožemį mikroorganizmais ir sliekais, apsodinant dirvožemio kokybę gerinančiais augalais [86, 87].

1.4.1. Cheminės trąšos

Dirvožemio derlingumo ir pasėlių produktyvumo gerinime, jau nuo senų laikų, esminį vaidmenį vaidina cheminės trąšos. Cheminės trąšos – sintetinės medžiagos, kurios yra įterpiamos į dirvožemį arba tiesiogiai į pasėlius, siekiant padidinti augalų augimui ir vystymuisi reikalingą maistinių medžiagų kiekį. Tokių trąšų sudėtyje dažniausiai būna dideli kiekiai svarbiausių mineralų – azoto, fosforo arba kalio bei mažesni kiekiai papildomų maistinių medžiagų, pavyzdžiui įvairių uolienu miltai ar kiti mineralai [88]. Šiuolaikiniuose ūkiuose dirvožemis vis dar yra tręšiamas neorganinėmis arba sintetinėmis trąšomis dėl paprasto naudojimo, lengvo prieinamumo, užtikrinto efektyvumo ir

įpratimo. Cheminės trąšos yra skirstomos į tris grupes: azoto, fosforo ir kalio trąšos. Didelį kiekį azoto sudėtyje turinčios trąšos yra reikalingiausios vidurinėse augalo vystymosi ciklo fazėse, kad augalas augtų, formuotų lapus ir išlaikytų žalumą, todėl tokios trąšos dažnai naudojamos auginant žolę ar augalus, kuriuose lapų augimas yra svarbesnis nei žydėjimas. Tokio tipo trąšos paprastai naudojamos sezono pradžioje ir viduryje, retais atvejais ir visą pasėlio augimo laiką. Per didelis kiekis azotą turinčių trąšų gali sukelti augalo nudeginimą, kuris pradžioje pasireiškia lapų pokyčiais, o pabaigoje augalas žūva [89]. Europos šalyse yra naudojamos dvi azoto pagrindu pagamintos trąšų rūšys – amonio nitratas (AN), dar žinomas kaip azoto rūgštis, ir kalcio amonio nitratas (CAN). Kitose šalyse yra naudojamas karbamidas su karbamido amonio nitrato (KAN) tirpalu vandenyje [90]. Trąšos, kuriose yra didelis kiekis fosforo, yra svarbios visuose augalo vystymosi ciklo etapuose, nes sustiprina jų stiebus ir šaknis. Fosforo turinčios trąšos taip pat skatina augalų žydėjimą, vaisių augimą ir sėklų formavimą. Tačiau, fosforo trąšų perteklius sutrikdo kitų būtinų maistinių medžiagų įsisavinimą ir slopina šaknų augimą, dėl kurio augalai tampa jautresni sausroms ir ligoms [91]. Europos žemės ūkyje naudojamos įvairios fosforo turinčios trąšos: superfosfatas (SSP), trigubas superfosfatas (TSP), amonio divandenilio fosfatas (ADP), diamonio fosfatas (DAP) ir skystas amonio polifosfatas (APP) [90]. Kalio pagrindu pagamintos trąšos skatina augalų šaknų vystymąsi, padeda palaikyti fotosintezę, sustiprina gebėjimą apsisaugoti nuo ligų ir padeda judėti augaluose vandeniui bei ištirpusioms maistinėms medžiagoms. Kadangi kalis skatina šaknų vystymąsi, tokias trąšas rekomenduojama naudoti kuo arčiau augalo šaknų. Visgi tręšiant dideliais kalio kiekiais dirvožemyje yra sumažinamas magnio, kalcio ir azoto prieinamumas, atsiranda šių elementų trūkumas [92]. Europoje, kaip kalio turinčios trąšos, yra naudojamas kalio chloridas, dar žinomas, kaip kalio muriatas (MOP), kalio sulfatas (SOP) ir kalio nitratas [90]. Pagrindinių maistinių medžiagų kiekiai trąšose yra pateikti 1.1 lentelėje. Šiuolaikiniame žemės ūkyje neretai yra naudojamos sudėtinės cheminės trąšos, kuriose yra visi trys svarbiausi pasėliams mineralai – NPK. Dirvožemiuose, kuriuose derlingumas yra sumažėjęs, yra naudojamas NPK santykis 10:10:10, o dirvožemiuose, kurių sudėtyje yra smėlio, žvyro ar molio, naudojamas didesnis NPK santykis – 15:15:15 [93].

1.1 lentelė. Dažniausiai Europos žemės ūkyje naudojamos cheminės trąšos [90]

Trąša	Trąšų trumpinys	Pagrindiniu maistinių medžiagų kiekis
Amonio nitratas	AN	33,5 % azoto
Kalcio amonio nitratas	CAN	27 % azoto
Amonio nitrosulfatas	ANS	26 % azoto; 14 % sieros
Kalcio nitratas	CN	15,5 % azoto
Amonio sulfatas	AS	21 % azoto; 24 % sieros
Monoamonio fosfatas	MAP	11 % azoto; 52 % fosforo
Diamonio fosfatas	DAP	18 % azoto; 46 % fosforo
Azotas fosforas kalis	NPK	15 % azoto; 15 % fosforo; 15 % kalio
Trigubas superfosfatas	TSP	48 % fosforo
Kalio muriatas	MOP	60 % kalio

Trąšos, kartu su pagrindiniais maistiniais elementais, būna papildytos ir antrinėmis maistinėmis medžiagomis, tokiomis kaip sierra, magnis ir kalcis. Sierra paprastai papildoma azoto rūgšties ar karbamido trąšos, o papildomi sieros trąšų tipai apima superfosfatą, kalio sulfatą ir kalio magnio sulfatą (PMS). Populiariausios magnio turinčios trąšos yra magnio sulfato monohidratas, dar žinomas kaip kizeritas. Siekiant papildyti dirvožemį kalciumu, trąšos maišomos su kalcio karbonatu ar kalcio

sulfatu. Trąšos taip pat gali būti papildomos ir nedideliais kiekiais mikroelementų: geležimi, molibdenu, manganu, boru, chloru, cinku ir variu [88, 90].

Cheminių trąšų naudojimas turi ne tik teigiamą, bet ir neigiamą poveikį dirvožemiui, mikroorganizmams, augalams ir pačiai aplinkai. Dažnas trąšų naudojimas gali sutankinti dirvožemį, sukelti maisto medžiagų disbalansą ir dėl turimo natūralaus rūgštingumo, gali paskatinti dirvožemio rūgštėjimą. Bėgant laikui, dėl šių priežasčių sumažėja derlingumas ir pasėlių kiekis bei padidėja dirvožemio erozijos rizika. Neigiamas poveikis aplinkai pasireiškia, kai maistinių medžiagų perteklius, dažniausiai nitrato ir fosfato, esantis trąšose, patenka į vandens telkinius ir sukelia eutrofikaciją [94]. Padidėjus vandenyje maistinių medžiagų kiekiui yra paskatinamas mikroorganizmų ir įvairių dumblių augimas. Kadangi dumbliai paprastai vystosi vandens paviršiuje, suprastėja ir saulės šviesos pralaidumas, dėl kurio sunkiau auga ir vystosi aukštesnieji augalai. Intensyviai augantys dumbliai sunaudoja visą vandenyje esantį deguonį ir dėl deguonies trūkumo tiek aukštesnieji augalai, tiek įvairūs vandens gyvūnai miršta [95]. Nuolatinis trąšų naudojimas sumažina dirvožemio organinių medžiagų, maistinių medžiagų ir humuso kiekį, pakeičia dirvožemio pH ir sukietina dirvą, todėl kartu yra slopinamas ir mikroorganizmų aktyvumas bei rūšių įvairovė [96].

1.4.2. Kompostas

Dažniausiai žemės ūkyje ir sodininkystėje kompostas nėra naudojamas kaip tiesioginė trąša, o naudojamas kaip papildas, siekiant pagerinti dirvožemio fizines, chemines ir biologines savybes. Kompostavimas – biologinis procesas, kurio metu mikroorganizmai skaido organines medžiagas ir atliekas aerobinėmis arba anaerobinėmis sąlygomis. Kompostavimo metu susidaro biologiškai stabilus ir humifikuotas pagrindinis galutinis produktas – kompostas. Kompostavimo žaliava gali būti maisto likučiai, žemės ūkio atliekos, komunalinės nuotekos, nuotekų dumblas, gyvulininkystės atliekos, popierius [97, 88]. Pagal proceso sąlygas, kompostavimas skirstomas į aerobinį ir anaerobinį kompostavimą. Aerobinį kompostavimą vykdo mikroorganizmai, kuriems yra reikalingas deguonis. Aerobinio skilimo metu, kaip šalutiniai produktai išsiskiria anglies dioksidas, dideli kiekiai metano ir vanduo bei susidaro šiluma (temperatūra pakyla iki 70 °C). Išsiskyrusi šiluma pagreitina riebalų, baltymų, celiuliozės ir kitų junginių skaidymo procesus komposto krūvose, sumažina patogeninių mikroorganizmų kiekį ir sunaikina piktžolių sėklas. Kadangi šiam kompostavimo būdai yra reikalingas deguonis, komposto masė privalo būti aeruojama perkasant krūvas, jas maišant specialiose talpose ar tiekiant orą perforuotais vamzdžiais [98]. Aerobiniame kompostavime, dėl skirtingų temperatūrų, dalyvauja įvairių tipų bakterijos: psichrofilinės, mezofilinės ir termofilinės. Pirmiausia procesas prasideda nuo žemesnėse temperatūrose augančių psichrofilinių bakterijų, kurių aktyvumui didėjant susidaro šiluma. Išsiskyrusi šiluma paskatina termofilinių bakterijų skaidymą, kol temperatūrai pasiekus 40 °C suaktyvėja ir prie proceso prisijungia termofilinės bakterijos [99]. Anerobiniame kompostavime dalyvauja mikroorganizmai, kuriems nėra reikalingas deguonis. Šiame kompostavime išsiskiria mažesnis kiekis šilumos, todėl temperatūra nepakyla aukščiau 40 °C. Tokio šilumos kiekio nepakanka patogeninių mikroorganizmų ir piktžolių sėklų sunaikinimui. Kadangi procesas vyksta esant deguonies trūkumui ir žemesnėse temperatūrose, komposto masės susiformavimas gali užtrukti iki 1–2 metų ar net ilgiau [100].

Tinkamai paruoštas kompostas neturi nemalonaus kvapo, o jo sudėtyje randama iki 2 % azoto, 0,5–1 % fosforo ir apie 2 % kalio. Komposto masėje esantis azotas pasižymi lėtu išsiskyrimu, dėl kurio sumažėja išplovimo rizika ir padidėja prieinamumas visą pasėlių augimo sezoną. Kompostas gali būti įterptas į dirvožemį arba mulčiuotas paviršiuje, o kadangi komposto sudėtyje yra nedaug maistinių

medžiagų, įprastai naudojami dideli jo kiekiai [88]. Kompostas padeda geriau augti pasėliams, subalansuodamas dirvožemio tankį, pagerina dirvos gebėjimą išlaikyti maisto medžiagas, tiekia augalams azotą, fosforą, kalį, sureguliuoja pH, sugeria vandenį, taip apsaugodamas augalus nuo išdžiūvimo, suteikia atsparumą ligoms ir kenkėjams bei turi didelę mikroorganizmų įvairovę. Tačiau, komposto nauda dirvožemiui ir pasėlių derliui dažniausiai pasireiškia tik po kelerių metų [101].

1.4.3. Durpės

Kaip natūrali alternatyva cheminėms trąšoms yra naudojamos durpės. Tai degi, organinės kilmės, nuosėdinė uoliena, kuri susidaro dalinai mineralizuojantis organinėms medžiagoms, esant vandens pertekliui ir deguonies trūkumui. Durpių formavimuisi yra reikalingas didelis kiekis vandens, todėl pagal pelkes yra skirstomos į žemapelkines, tarpines, aukštapelkines bei raistines, plynines ir plynraistines durpes [102]. Durpėms būdinga juoda, ruda, gelsva spalvos, jų sudėtyje yra 80–90 % vandens, džiūdamos gali susitraukti nuo 2,5 iki 7 kartų, poringumas siekia 70–80 %, o vandens sugėrimas 400–1800 %. Pagal struktūrą, durpės gali būti amorfinės gerai susiskaidžiusios arba plaušinės mažai susiskaidžiusios. Durpių sudėtyje daugiausia yra randama organinės anglies, kurios kiekis gali siekti 24–60 %, 30–35 % sudaro huminės ir fulvinės rūgštys, taip pat aptinkama 3–20 % bitumo, 4–10 % celiuliozės, 2–6 % lignino ir 12–14 % vandenyje ištirpusių elementų, pavyzdžiui, 0,15 % fosforo, 2,8 % azoto, 0,22 % kalio [102, 103]. Durpės dirvožemio tręšimui dažnai naudojamos dėl gerų vandens sugėrimo ir išlaikymo savybių, ypač sausrų metu ar regionuose, kuriems yra būdingas karštas klimatas. Smėlinguose dirvožemiuose durpės naudojamos drėgmės išlaikymui, o molinguose – siekiant padidinti vandens įsiskverbimo greitį. Skirtingai nuo įprasto dirvožemio, durpės taip lengvai nesutankėja veikiant jų paviršių sunkiasvore žemės ūkio technika ar vaikstant žmonėms ir gyvūnams. Durpės lengvai susimaišo su viršutiniu dirvožemio sluoksniu, smėliu ar net moliu ir tankiose dirvose padidina deguonies prieinamumą augalams [104]. Priešingai nei neapdorotas kompostas ar mėšlas, durpės yra sterilesnės. Net ir neapdorotose durpėse paprastai nebūna piktžolių sėklų, kenksmingų cheminių medžiagų ir patogeninių mikroorganizmų. Dėl šios savybės durpės yra palanki terpė daiginti sėkloms ir auginti jauniems augalams, kurie jautrūs ligoms ir parazitams. Dar viena durpių savybė – rūgštumas ir galimybė jomis lengvai reguliuoti bendrą dirvožemio pH. Kai kurios augalų rūšys, tokios kaip mėlynės, šilauogės ar azalijos, auga tik parūgštintame dirvožemyje, o natūraliausias būdas parūgštinti dirvos pH yra įmaišant į dirvožemį durpių. Durpės taip pat gali padėti neutralizuoti per daug šarminį dirvožemį, tačiau, rūgščiuose dirvožemiuose gali pabloginti dirvožemio kokybę, jį dar labiau parūgštinant [105]. Vis dėlto, durpės turi ir aktualių neigiamų aspektų. Pirmiausia, durpės yra neatsinaujinantis išteklius, kurio susiformavimas gali trukti net kelis tūkstančius metų. Siekiant išgauti durpes naudojimui, atsiranda ir aplinkosauginių problemų: išgavimo metu į orą išsiskiria dideli kiekiai metano ir CO₂ dujų, kurios prisideda prie šiltnamio efekto. Dar keli durpių naudojimo trūkumai yra išliekanti didelė kaina ir dirvos paviršiaus įtrūkimo rizika, durpėms išdžiūvus [106].

1.4.4. Mėšlas

Mėšlas, kaip ir kompostas, naudojamas žemės ūkio tręšimui jau nuo labai senų laikų. Daugelis tradicinių ūkių iki šiol naudoja mėšlą kaip tvarų tręšimo būdą, kad palaikyti dirvožemio produktyvumą ekologiniuose ūkiuose, kuriuose cheminės trąšos yra draudžiamos. Mėšlas yra apibūdinamas kaip organinės trąšos, kurios gaunamos iš arklidžių ar gyvulių tvartų atliekų ir gali būti maišomos su kraiku, pavyzdžiui, šiaudų, durpių, komposto, šieno [107]. Mėšle aptinkami svarbiausi augalams ir dirvožemiui azoto, fosforo ir kalio mineralai, kurių kiekiai procentais siekia 0,5:0,25:0,5.

Maistinės medžiagos mėšle dažniausiai yra nemineralizuotos formos, todėl augalai negali jų pasisavinti tiesiogiai. Norint suskaidyti organines medžiagas iki mineralizuotų maistinių medžiagų, prieinamų augalams yra reikalingi mikroorganizmai. Lyginant su cheminėmis trąšomis, jos iškart būna mineralizuotoje formoje ir augalai gali pasisavinti tiesiogiai [88]. Mėšlas yra skirstomas į dvi rūšis – kietą kraikinį ir skystą bekraikį mėšlą. Mėšlas laikomas kietu, kai jo sudėtyje yra daugiau nei 15 % sausųjų medžiagų [108]. Šviežią mėšlą, maišytą su kraiku, paprastai sudaro 25 % sausųjų medžiagų, 0,5 % azoto, 0,25 % fosforo oksido, 0,6 % kalio oksido, 0,15 % magnio oksido, 0,25 % kalcio oksido ir kitos medžiagos. Maistinių medžiagų kiekis priklauso nuo naudojamo kraiko, pavyzdžiui, su durpėmis maišytame mėšle randama daugiau azoto, nei su šiaudais [109]. Mėšlo veikimo efektyvumas priklauso nuo paruošimo būdo, laikymo sąlygų, suirimo laipsnio (šviežias, papuvęs, perpuvęs) ir suslėgimo (suslėgtas ir nesulėgtas). Supuvęs mėšlas susiformuoja, kai 70 % jo masės suyra, toks tinkamiausias tręšti daržoves, šiltnamių gruntą, mulčiuoti pasėlius. Šviežias ir pradėjęs pūti mėšlas yra tinkamas drėgniems dirvožemiams, o perpuvęs – sausiems. Nemaišytas su kraiku mėšlas būna skystas arba pusiau skystas [108]. Pusiau skystame bekraikiame mėšle būna 10–15 % sausųjų medžiagų, o skystame mažiau nei 5 %. Skystas mėšlas gaunamas valant patalpas vandeniui, todėl skystame mėšle maisto medžiagų kiekis yra mažesnis, nei kietame. Pusiau skystas mėšlas gaunamas laikant skystą bekraikį mėšlą specialiuose rezervuaruose, kuriuose jis išsisluoksniuoja į skystą ir kietą frakcijas [108, 110].

Mėšlu dirvožemis yra tręšiamas norint papildyti maistinėmis ir organinėmis medžiagomis bei humusu, siekiant pagerinti dirvos struktūrą, vandens sugėrimą ir jo kaupimą, palaikyti fizikines ir chemines savybes, sukurti palankias sąlygas mikroorganizmams [111]. Mėšlas, kaip trąša, tinkamiausias naudoti kaupiamiesiems augalams, todėl sumaišomas su dirvožemiu rudenį, prieš gilųjį suarimą. Tinkamai į viršutinį dirvožemio sluoksnį įterptas mėšlas sumažina stipraus lietaus sukeltos erozijos riziką ir sulėtina vandens garavimą nuo paviršiaus [88]. Nors mėšlas yra gera alternatyva sintetinėms trąšoms, tačiau netinkamas jo paruošimas ir naudojimas gali turėti trūkumų. Nekompostuotame ar kitaip neapdorotame mėšle dažnai būna piktžolių sėklų, parazitinių kirmėlių, kaspinočių ir patogeninių bakterijų, tokių kaip *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria* ar *Clostridium* [112]. Netinkamai naudojamas ar tvarkomas mėšlas, kaip ir bet kokios kitos trąšos, gali patekti į paviršinius ar požeminius vandenis. Dėl patogenų buvimo galimybės, nacionaliniai ekologiniai standartai įpareigoja mėšlą naudoti likus ne mažiau kaip 90–120 dienų iki derliaus nuėmimo, priklausomai nuo to, ar nuimama pasėlių dalis liečiasi su žeme. Mėšlui, kuris buvo apdorotas kompostuojant aerobinėmis sąlygomis 55–77 °C temperatūroje, tręšimo laikas nėra ribojamas [113].

1.4.5. Bioaktyvios trąšos

Vis daugiau dėmesio šiuolaikinėje žemės ūkio praktikoje yra skiriama tvarumui ir ekologijai. Vienas iš naujausių būdų pagerinti dirvožemio kokybę natūraliomis priemonėmis yra biologinių trąšų naudojimas. Biotrąšos – biologinės kilmės, veiksmingų ir gyvybingų mikroorganizmų preparatai, kurie neturi neigiamo poveikio aplinkai. Mikroorganizmai šiose trąšose yra kultivuojami nešiklyje, kuriuo gali būti kviečių sėlenos, ryžių sėlenos, medžio anglis, žaliavinių šiaudų kompostas, talkas, molis, durpės ar lignino milteliai. Priešingai nei cheminės trąšos, biotrąšos nėra tiesioginis maistinių medžiagų ir mineralų šaltinis. Platesnis palyginimas su cheminėmis trąšomis pateikiamas 1.2 lentelėje. Biologiškai aktyvios trąšos padidina dirvožemio produktyvumą, skatina augalų augimą, įveda į dirvožemį naudingus mikroorganizmus, padeda susiformuoti prieinamoms augalams maistinėms medžiagoms ir mineralams, padeda atkurti natūralų maistinių medžiagų ciklą, kaupia organines medžiagas ir prisideda prie taršos mažinimo [114, 115]. Iš bakterijų gaminamos

bioaktyvios trąšos yra skirstomos į keturias grupes: laisvai gyvenančios azotą fiksuojančios bakterijos, pavyzdžiui *Azotobacter spp.* ir *Rhodospirillum spp.*; laisvai gyvenančios azotą fiksuojančios cianobakterijos, tokios kaip *Anabaena spp* ir *Nostoc spp.*; asociatyvios azotą fiksuojančios *Azospirillum* genties bakterijos ir simbiotinės azotą fiksuojančios bakterijos – *Rhizobium* ir *Frankia* genties. Biotrąšos su *Rhizobium* genties bakterijomis yra tinkamiausios naudoti ankštiniams augalams, *Azotobacter* – kviečiams, kukurūzams, garstyčioms, medvinei, bulvėms ir kitoms daržovėms, *Azospirillum* gentį rekomenduojama naudoti soroms, cukranendrėms, kukurūzams, kviečiams, o cianobakterijos dažniausiai naudojamos žaliaviniams augalams [116, 117].

Šiais laikais didelis dėmesys yra skiriamas ir mikrodumblių panaudojimui biotrąšose. Pasėlių augimo skatinimui tinkamiausios biotrąšos, kuriose yra žaliųjų mikrodumblių ir melsvadumblių, tokių kaip *Acutodesmus dimorphus*, *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* ir *Scenedesmus dimorphus*. Papildomai pridėjus į trąšas *Sargassum spp.* ir *Gracilaria verrucosa* rūšių dumblių, galima padidinti derlingumą labai smėlinguose ir molinguose dirvožemiuose, sureguliuoti pH, pagerinti organinių medžiagų kiekį ir sumažinti C/N santykį. Bioaktyviose trąšose mikrodumbliai yra tinkami naudoti dėl gebėjimo sustabdyti maistinių medžiagų praradimą lėtai išskiriant azotą, fosforą ir kalį, o jų biomasė gali būti naudojama tiesioginei inokuliacijai į dirvožemį. Jie taip pat pasižymi gebėjimu atkurti pažeistą dirvožemį, pavyzdžiui, druskingą, dykumuotą ar šarmingą [77, 78].

1.2 lentelė. Cheminių trąšų palyginimas su bioaktyviomis trąšomis

Charakteristikos	Cheminės trąšos	Bioaktyvios trąšos		
		Bakterijos	Mikroskopiniai grybai	Mikrodumbliai
Neigiamas poveikis aplinkai	+	-	-	-
Simbiotinis ryšys	-	+	+	+
Dalyvavimas azoto cikle	-	+	+	+
Fosforo tirpinimo skatinimas	-	+	+	+
Dirvožemio derlingumo gerinimas	±	+	+	+
Lėtas maistinių medžiagų išskyrimas	-	+	+	+
Augalo augimo skatinimas	-	+	-	+
Šiltnamio efekto mažinimas	-	-	-	+
Pramoninė gamyba	+	+	-	-
Platus naudojimas žemės ūkyje	+	+	-	-

1.4.6. Žalioji trąša

Dirvožemio kokybė gali būti palaikoma ir gerinama panaudojant pačius augalus, kaip žaliąsias trąšas. Žaliosioms trąšoms yra priskiriami augalai, kurie natūraliai papildo dirvožemį maistinėmis medžiagomis ir mineralais. Kaip žalioji trąša sėjomainose naudojami tarpiniai pasėliai, kurie yra skirstomi į įsėlinius, posėlinius ir žieminius. Dažniausiai šie augalai yra auginami kartu su pasėliais ir jiems užaugus dirva perkasama su žaliaja trąša, kad pūvant natūraliai patretų dirvožemį. Tręšimui žaliąją trąša nėra apribojimų, kaip tręšimo su mėšlu atveju: ją galima naudoti visą derliaus augimo laikotarpį, nuo ankstyvo pavasario iki vėlyvo rudens. Dažniau žaliosios trąšos tarpiniai pasėliai yra sėjami žiemą, o pavasarį perkasami ir sumaišomi su dirvožemiu [118, 88]. Žalioji trąša padidina derlingumą, pagerina dirvožemio struktūrą, aeraciją, sumažina erozijos riziką, padidina maistinių

medžiagų ir humuso kiekį bei sumažina jų išplovimą iš dirvožemio, suaktyvina mikroorganizmų veiklą [88]. Pagal augalų rūšis žaliosios trąšos yra skirstomos į ankštines kultūras, maistinių medžiagų turinčius ir neankštinius dengiamuosius augalus. Didžiausią dalį žaliųjų trąšų sudaro ankštiniai augalai, kurių šaknų zonoje vyrauja azotą fiksuojančios bakterijos. Pašarinės pupos, sojų pupelės, avinžirniai ir žirniai yra dažniausiai naudojamos ankštinės kultūros, kurios tinkamos agurkams, pomidorams, svogūnams, salierams ir kitoms daržovėms. Paprastai sėjami rudenį arba pavasarį, nes papildoma dirvožemį azotu ir išaugina didelį kiekį biomasės. Raudonasis dobilas taip pat pasižymi dideliu biomasės kiekiu, geba kaupti azotą ir fosforą, tačiau yra dvimetis augalas. Tinka sėti pavasarį arba rudenį aplink daugiamečius augalus, tokius kaip šparagai. Panašiomis savybėmis pasižymi baltasis dobilas, kuris priešingai nei raudonasis, yra daugiametis. Baltasis dobilas tinkamiausias sėti pavasarį arba vėlyvą vasarą. Dar vienas svarbus ankštinis augalas yra vikiai. Nors jie ir vienmečiai, gali būti sėjami vėlyvą rudenį kaip dengiamieji augalai, o pavasarį sumaišomi su dirvožemiu. Pasižymi azoto sulaikymu ir erozijos stabdymu, tinkamiausi rugiams, avižoms ir pupoms [119, 120]. Daug maistinių ir mineralinių medžiagų turi dilgėlės, kurios paprastai yra užauginamos atskirai nuo pasėlių ir tik vėliau sumaišomos su dirvožemiu. Tręšimui taip pat yra gaminami ir dilgėlių koncentratai, kuriais laistyti augalus galima viso augalų ciklo laikotarpiu. Dilgėlių lapuose yra randama daug mineralų (azotas, fosforas, kalis, magnis, natris, siera, silicis, chloras, geležis), vitaminų B ir K, taninų, glikozidų, karotinų, rūgščių (sviesto, acto, skruzdžių, askorbo) ir chlorofilo. Skystos dilgėlių trąšos yra naudingos lapinėms daržovėms, ypač lapiniams kopūstams ir špinatams, taip pat bulvėms, rabarbarams, moliūgams ir cukinijoms [121]. Tarp neankštinių dengiamųjų augalų yra sutinkamos žieminės avižos, kurios paprastai auginamos ne sezono metu ir pavasarį suariamos su dirvožemiu. Avižos gerai ir greitai įsitvirtina dirvoje ir sukuria mažai pralaidų sluoksnį piktžolėms, todėl yra tinkamos sėti tarp pasėlių, jos taip pat mažina erozijos riziką. Dar vienas dengiamasis augalas, naudojamas kaip žaliosios trąšos yra grikiis. Grikiai pasižymi greitu augimu, geru dirvožemio dengimu, piktžolės slopinančiomis savybėmis ir greitu suirimu, kurio metu į dirvožemį išskiria daug maistinių medžiagų, ypač fosforo. Tinkamiausi auginti vėsioje, drėgnoje aplinkoje, nėra tinkami karštos vasaros sezonu ir yra jautrūs šalčiui. Žemo derlingumo arba per daug naudojamuose žemės plotuose grikiiai naudojami kaip pirminis pasėlis, dirvožemio atnaujinimui. Grikiai pasižymi gausiu ir smulkiu šaknynu, todėl viršutinis dirvožemis tampa purus net ir po minimalaus žemės įdirbimo, o gilesniuose sluoksniuose esančios maistinės medžiagos ir vanduo tampa prieinamos kitiems augalams. Panašiomis savybėmis taip pat pasižymi garstyčios, rapsai, ridikėliai ir facelijos [122, 123].

Tačiau, kaip ir kitos anksčiau minėtos trąšos, augalų kaip trąšų naudojimas taip pat turi trūkumų. Dažnai viena žaliosios trąšos rūšis negali pilnai patenkinti poreikių, todėl yra naudojami kultūrų mišiniai, dėl kurių atsiranda sunkumas suderinant augalus tarpusavyje, o po jų derliaus nuėmimo neretai yra reikalinga sėjomaina. Kadangi, tai pačiai šeimai priklausantys augalai yra jautrūs tokioms pačioms ligoms, kenkėjams ir patogenams, yra svarbu tinkamai parinkti augalą, pavyzdžiui, jeigu bus auginami kopūstai, kaip žalioji trąša nėra tinkamos garstyčios ar rapsai. Jeigu žaliosios trąšos yra auginamos kartu su kitais augalais arba kaip tarpiniai pasėliai, svarbu tinkamas drėgmės kiekis, kad neribotų tikslinių augalų augimo. Taip pat reikėtų atsižvelgti ir į konkurenciją su maisto pramone [88, 119].

Taigi, dirvožemio kokybė ir derlingumas gali būti gerinami naudojant tiek tradicinius, tiek inovatyvius metodus, tačiau visi jie šalia teigiamų, turi ir neigiamų savybių, todėl nevisada yra tinkami. Siekiant sumažinti agresyvėjančios klimato kaitos ir didėjančios aplinkos taršos daromą neigiamą įtaką dirvožemiui ir derlingumui, išsaugoti dirvožemio mikrobiotą arba ją pakreipti

naudinga linkme yra svarbu laiku imtis tinkamų priemonių. Geriausias sprendimas tam – turėti pakankamai žinių apie dirvožemio biologinę įvairovę, pasiskirstymą ir veiksnius lemiančius mikrobiotos kompoziciją – t.y. dirvožemio analizė, kurios pagalba galima nustatyti trūkstamas medžiagas dirvožemyje, įvertinti dirvožemio būklę, mikroorganizmų populiacijas ir jų gyvybingumą bei parinkti tinkamiausią tręšimo būdą. Todėl šiuo metu atliekama daug dirvožemio būklės tyrimų, o alternatyvių kontrolės priemonių paieškoms skiriamas didelis mokslinių tyrimų dėmesys.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

Mikrobiologinė analizė

Dirvožemio mikroorganizmai buvo tirti naudojant standartizuotą mikrobiologinį metodą – apskaičiuojant kolonijas sudarančių vienetų (KSV/g) skaičių viename grame dirvožemio. Bendras bakterijų skaičius nustatytas sėjant giluminiu būdu į terpę PCA (*Plate count agar, Liofilhem*), mielių ir pelėsinių grybų skaičius nustatytas sėjant giluminiu būdu į terpę PDA (*Potato dextrose agar, Liofilhem*), sporinių bakterijų ir aktinomicetų skaičius nustatytas sėjant paviršiniu būdu ant baltyminės agarų terpės su peptonu (X₃), o azotą fiksuojančių bakterijų – ant krakmolo ir amoniako agarų (KAA).

CLPP analizė

CLPP analizei naudotos Biolog ekoplokštelės (EcoPlates™) su 31 anglies šaltiniu. Biolog sistemos veikimo principas paremtas mikroorganizmų auginimu 96 ekoplokštelių šulinėliuose su skirtingais anglies šaltiniais ir cheminiais junginiais. Kiekvienoje ekoplokštelėje yra 3 anglies šaltinių ir kontrolinių šulinėlių pakartojimai. Naudodamas anglies šaltinius iš skirtingų ekoplokštelės šulinėlių, mikroorganizmas kvėpuoja ir dėl to redukuojasi tetrazolio dažai, esantys kartu su anglies šaltiniais. Redukuojantis dažams, šulinėliuose spalva keičiasi į violetinę. Galutinis rezultatas – kombinacija nuspalvintų ir bespalvių šulinėlių. Spalvų pokytis (absorbicija arba vadinamasis optinis tankis – OD) nuskaitoma kaip absorbicija kas 24 valandas naudojant „Microstation“ („MicroLog MSystem“, „Biolog Inc.“) prie 590 nm bangos ilgio 4 dienas iš eilės. Duomenys surenkami naudojant Microlog Data Collection Software 1.2 (Biolog Inc.).

2.1. Dirvožemio mikroorganizmų skaičiaus nustatymas

Metodo esmė: Nustatyti bendrą bakterijų, mielių ir pelėsinių grybų, aktinomicetų, sporinių bei azotą fiksuojančių bakterijų skaičių dirvožemio mėginiuose. Mikroorganizmų kiekis tiriamajame mėginyje yra nusakomas kolonijas sudarančiais vienetais 1 grame (KSV/g).

Naudotos medžiagos:

1. Mitybos terpė PCA (*Plate count agar, Liofilhem, Italija*);
2. Mitybos terpė PDA su chloramfenikoliu (*Potato dextrose agar with chloramphenicol, Liofilhem, Italija*);
3. Mitybos terpė X₃ (baltyminė agarų terpė su peptonu, pagaminta laboratorijoje iš atskirų komponentų);
4. Mitybos terpė KAA (krakmolo ir amoniako agaras, gamintas laboratorijoje iš atskirų komponentų);
5. Skiediklis (sterilus fiziologinis vanduo išpilstytas į buteliukus ir mėgintuvėlius).

Komercinės terpės PCA ir PDA ruoštos pagal gamintojų nurodytus reikalavimus. Baltyminė agarų terpė su peptonu (X₃) bei krakmolo ir amoniako agarų terpė (KAA) ruoštos pagal laboratorijoje turimą receptūrą iš komponentų.

Mitybos terpė X₃:

peptonas - 10 g,
Na₂HPO₄ - 2 g,
MgSO₄ - 0,5 g,

FeCl₃ – 0,005 g,
CaCO₃ - 0,1 g,
KH₂PO₄ – 0,1 g,
agaras - 18 g,
distiliuoto vandens iki 1 l.

Mitybos terpė KAA:

(NH₄)₂SO₄ - 2 g,
K₂HPO₄ - 1 g,
MgSO₄ - 1 g,
NaCl - 1 g,
CaCO₃ - 3 g,
tirpus krakmolai - 10 g,
agaras - 18 g,
distiliuoto vandens iki 1 l.

Terpių ruošimas:

Visi pasverti terpės komponentai ištirpinami vandenyje. Prieš autoklavavimą terpė išpilstoma į mažesnius butelius ir jų pilnai neužsukus autoklavuojama 121 °C + 1 °C temperatūroje 15 minučių. Po autoklavavimo terpė atvėsinama iki 50 °C temperatūros ir, išpilsčius į sterilias Petri lėkšteles po 12 ml., paliekama sustingti.

Tyrimo eiga:

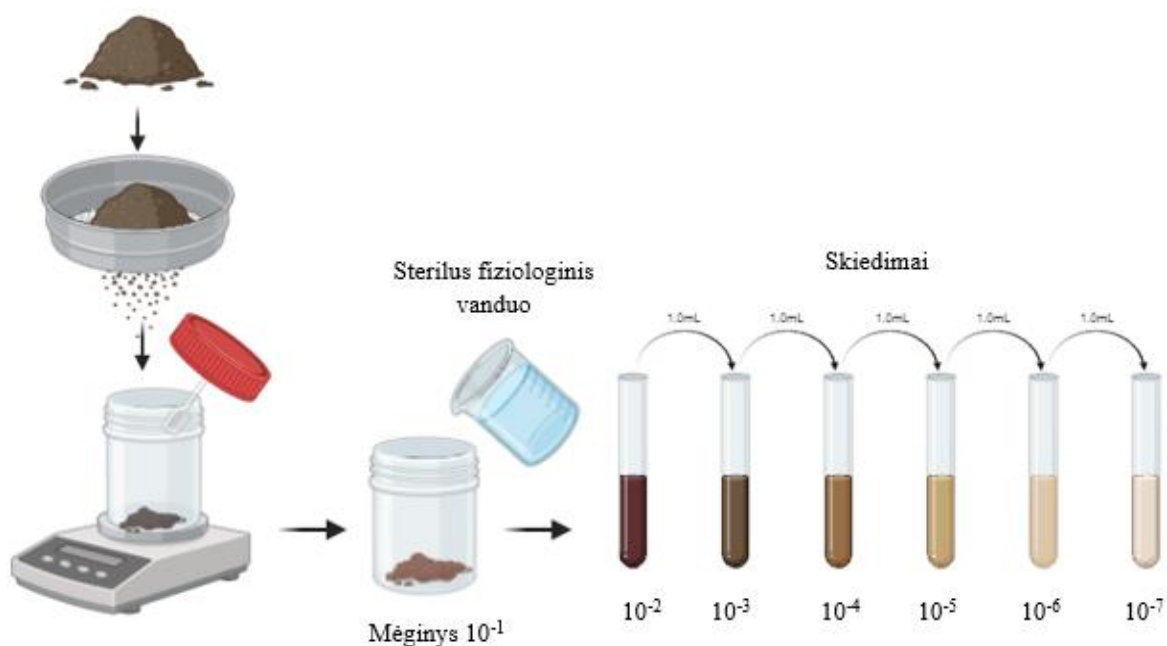
Dirvožemio mėginių ėmimas. Tyrimams buvo naudojami penkių skirtingų tręšimų dirvožemio mėginiai:

- 1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,
- 2 – dirvožemis tręštas kompostu,
- 3 – dirvožemis tręštas durpėmis,
- 4 – dirvožemis tręštas mėšlu,
- 5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis.

Mėginiai paimti iš Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centrui priklausančių laukų, esančių Dotnuvoje. Dirvožemio mėginiai buvo imami iš 5–10 cm gylio naudojant specialius įrankius ir sudėti į sterilius plastikinius indelius. Laboratorijoje, dirvožemis buvo homogenizuotas, prasijojant jį per 2,5 mm tankumo sietus.

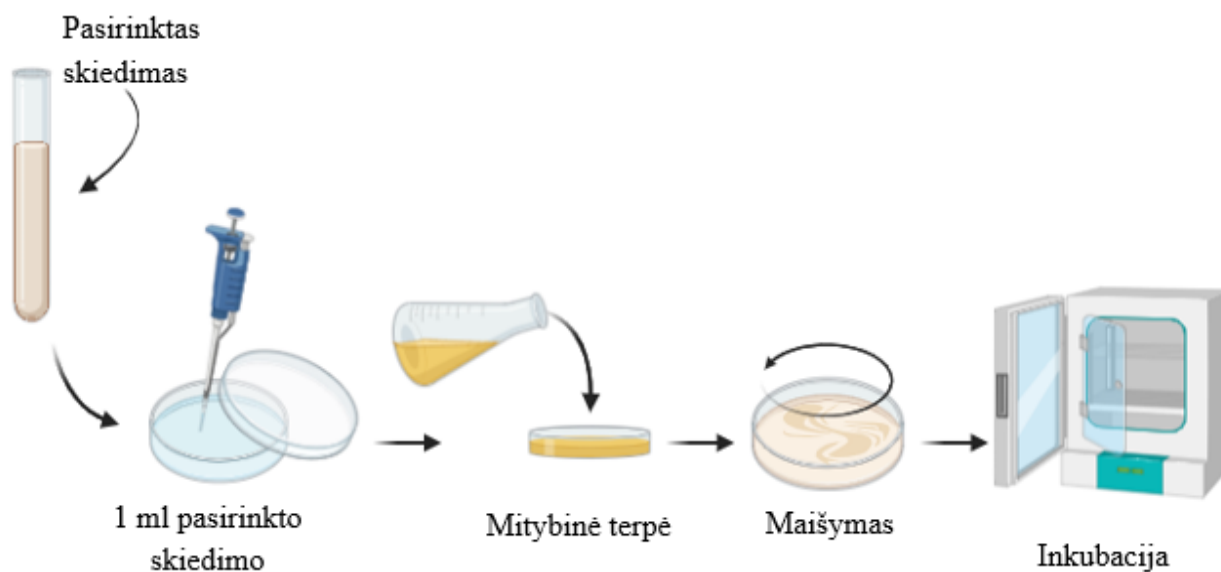
Mikrobiologinei analizei atlikti ruošiami dešimtkarčiai skiedimai. Į sterilų vienkartinį indelį pasveriamas 10 g dirvožemio mėginio ir užpilama 90 ml sterilaus fiziologinio vandens, mišinys homogenizuojamas. Gaunamas skiedimas 10⁻¹, iš kurio toliau yra daromi kiti dešimtkarčiai skiedimai: pipete pritraukiamas 1 ml pradinės suspensijos ir supilamas į mėgintuvėlį su 9 ml fiziologinio vandens (skiediklio), suspensija gerai išmaišoma naudojant Vortex purtyklę, gaunamas 10⁻² skiedimas. Skiedimai ruošiami iki 10⁻⁶: bendram bakterijų skaičiui nustatyti naudojami 10⁻⁵ ir 10⁻⁶ skiedimai, pelėsinų grybų ir mielių skaičiui – 10⁻³ ir 10⁻⁴, bendram aktinomicetų ir sporinių bakterijų skaičiui – 10⁻⁴ ir 10⁻⁵, o bendram azotą fiksuojančių bakterijų skaičiui – 10⁻³ ir 10⁻⁴. Atitinkami skiedimai sėjami į terpę giluminiu (bakterijoms, pelėsiniams grybams ir mielėms) ir

paviršiniu (aktinomicetams, sporinėms ir azotą fiksuojančioms bakterijoms) būdais. Visi sėjimai atliekami su trimis pakartojimais.



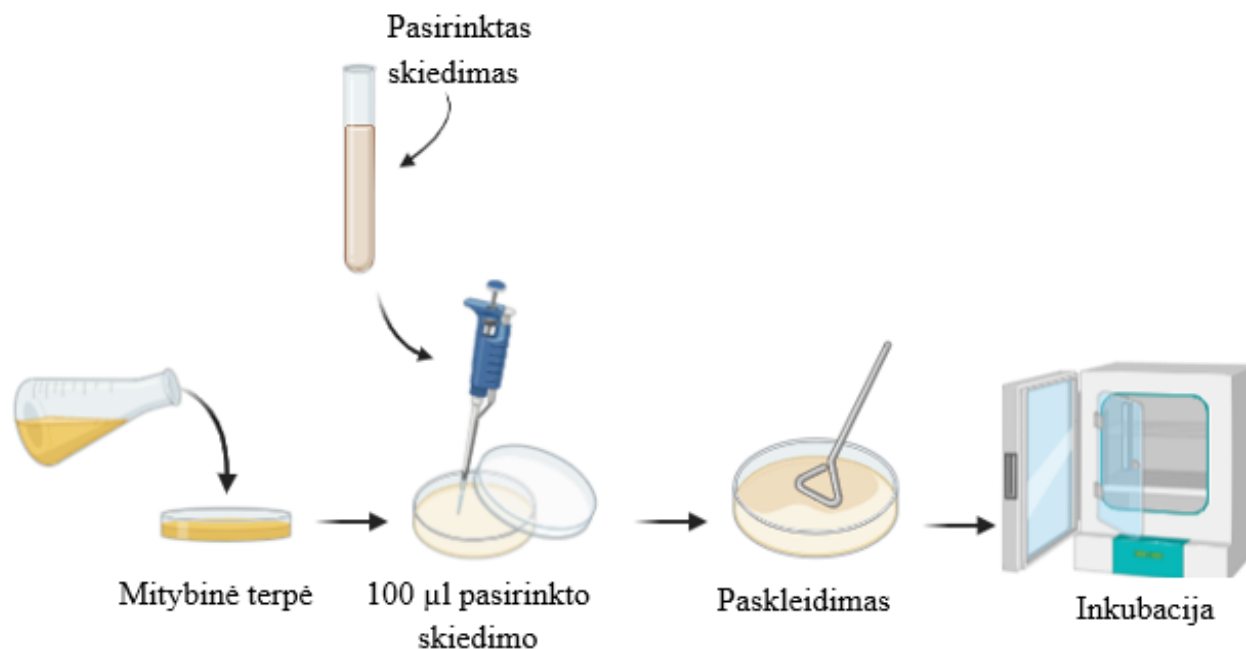
2.1 pav. Dirvožemio mėginių paruošimas sėjimui į mitybines terpes

Giluminis sėjimas. Giluminiu būdu sėjimai atliekami pilant į Petri lėkštelę 1 ml pasirinkto skiedinio ir užpilant 12–15 ml atvėsintos iki 47 ± 1 °C temperatūros terpės. Lėkštelėje esantis turinys sumaišomas lėkšteles stumdant horizontaliai, vertikaliai, sukant prieš ir pagal laikrodžio rodyklę bei paliekama ant horizontalaus paviršiaus sustingti. Terpei sustingus, lėkštelės apverčiamos ir inkubuojamos termostatuose: bakterijoms 72 ± 3 val. 30 ± 2 °C, pelėsiniams grybams ir mielėms 120 ± 3 val. 25 ± 2 °C temperatūroje.



2.2 pav. Giluminio sėjimo schema

Paviršinis sėjimas. Vykdam sėjimą paviršiniu būdu, pirmiausia atvėsinta iki 50 ± 2 °C temperatūros terpė yra išpilstoma į Petri lėkšteles po 12–15 ml ir paliekama ant horizontalaus paviršiaus sustingti. Sustingus terpei, ant agarų paviršiaus sėjama 100 µl pasirinkto skiedinio ir naudojant Drigalskio skleistuvą atsargiai sklaidoma po visą agarų paviršių, kol skiedinys visiškai įsigeria į terpę. Lėkštelės apverčiamos ir inkubuojamos termostate 30 ± 2 °C temperatūroje.



2.3 pav. Paviršinio sėjimo schema

Rezultatų vertinimas. Atrenkamos lėkštelės, kuriose išaugo 5–300 kolonijų. 1 ml (g) tiriamosios medžiagos, kolonijas sudarantys vienetai apskaičiuojami pagal formulę:

$$N = \frac{\sum C}{V \cdot [n_1 + (0,1 \cdot n_2)] \cdot d}; \quad (2.1)$$

čia $\sum C$ – kolonijų suma; n_1 – pirmojo skiedimo vertinamų lėkštelių skaičius; n_2 – antrojo skiedimo vertinamų lėkštelių skaičius; d – skiedimo koeficientas.

2.2. Mikroorganizmų bendruomenės lygio fiziologinio profiliavimo analizė (CLPP)

Metodo esmė: Įvertinti mikroorganizmų bendrijų fiziologinius profilius skirtingo tręšimo dirvožemio mėginiuose prieš sėjant žirnius ir po žirnių derliaus nuėmimo, tuo pačiu įvertinant ir žirnių sėklų apdorojimo *Rhizobium* genties bakterijomis įtaką. Dirvožemio mikroorganizmų bendruomenės lygio fiziologinis profiliavimas atliekamas naudojant Biolog EcoPlates™ technologiją. Ekoplokšteles sudaro 96 šulinėliai, kuriose yra 31 skirtingas anglies šaltinis ir 1 vandens kontrolė. Anglies šaltinių ir vandens kontrolės išdėstymas plokštelėje yra parodytas 2.1 lentelėje. Kiekvienas anglies šaltinis ir vandens kontrolė turi po tris pakartojimus, kad būtų galima kontroliuoti kiekvieno mėginio inokuliacijos kitimą. Plokštelėse esantys anglies šaltiniai yra suskirstyti į šešias kategorijas (2.2 lentelė) [124, 125].

2.1 lentelė. Anglies substratai Biolog ekoplokštelių šulinėliuose ir skirtingos anglies substratų grupės [124]

Vanduo	β -metil-D-gliukozidas	D-galaktoninės rūgšties γ -laktonas	L-argininas
Piruvo rūgšties metilo esteris	D-ksilozė	D-galakturono rūgštis	L-asparaginas
Tvinas 40	i-eritritolis	2-hidroksibenzenkarboksirūgštis	L-fenilalaninas
Tvinas 80	D-manitolis	4-hidroksibenzenkarboksirūgštis	L-serinas
α -ciklodekstrinas	N-acetil-D-gliukozaminas	γ -hidroksisviesto rūgštis	L-treoninas
Glikogenas	D-gliukozamino rūgštis	Itakoninė rūgštis	L-glutamino rūgštis
D-celobiozė	gliukozė-1-fosfatas	α -ketosviesto rūgštis	Feniletilaminas
α -D-laktozė	D,L- α -glicerolio fosfatas	D- obuolių rūgštis	Putrescinas

2.2 lentelė. Anglies substratų, esančių Biolog ekoplokštelių šulinėliuose, kategorijos [125]

Kategorija ir substratų skaičius	Anglies substratas	Maistinė medžiaga
Polimerai (4)	Tvinas 40, Tvinas 80, α -ciklodekstrinas, Glikogenas	Anglis
Angliavandeniai (10)	D-celobiozė, α -D-laktozė, β -metil-D-gliukozidas, D-ksilozė, i-eritritolis, D-manitolis, N-acetil-D-gliukozaminas, gliukozė-1-fosfatas, D,L- α -glicerolio fosfatas, D-galaktoninės rūgšties γ -laktonas	Anglis, anglis ir azotas, anglis ir fosforas
Karboksirūgštys (7)	Piruvo rūgšties metilo esteris, D-gliukozamino rūgštis, D-galakturono rūgštis, γ -hidroksisviesto rūgštis, itakoninė rūgštis, α -ketosviesto rūgštis, D- obuolių rūgštis	Anglis ir azotas, anglis
Aminorūgštys (6)	L-argininas, L-asparaginas, L-fenilalaninas, L-serinas, L-treoninas, L-glutamino rūgštis	Anglis ir azotas
Aminai (2)	Feniletilaminas, putrescinas	Anglis ir azotas
Fenoliniai junginiai (2)	2-hidroksibenzenkarboksirūgštis, 4-hidroksibenzenkarboksirūgštis	Anglis

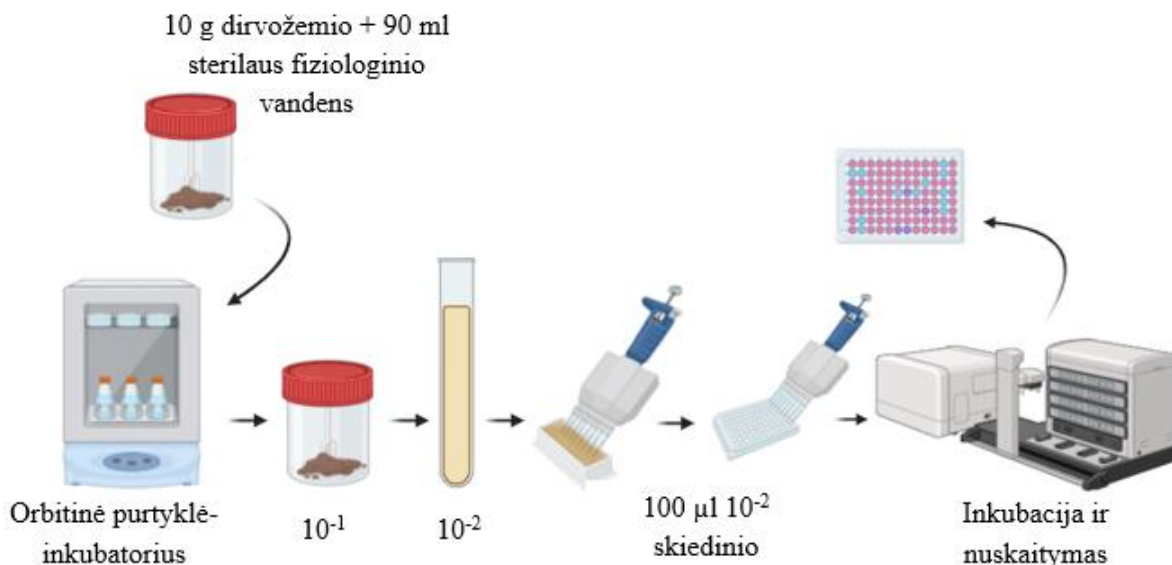
Kiekvienoje plokštelės duobutėje taip pat yra tetrazolio dažų. Augantys mikroorganizmai oksiduoja plokštelių duobutėse esančius substratus, kartu redukuojant bespalvius tetrazolio dažus iki violetinės spalvos formazano. Spalvų pokytis kiekybiškai įvertinamas nuskaitant absorbciją kas 24 valandas, naudojant spektrofotometrą.

Naudotos medžiagos:

1. EcoPlates™ plokštelės (Biolog Inc., Hayward, CA., JAV);
2. Sterilus fiziologinis vanduo;
3. Dirvožemio mėginiai (1, 2, 3, 4, 5, 1A, 2A, 3A, 4A, 5A, 1B, 2B, 3B, 4B, 5B);

Tyrimo eiga: Į sterilius vienkartinius indelius pasveriami 10 g dirvožemio mėginio ir užpilama 90 ml sterilaus fiziologinio vandens. Suspenduotas dirvožemio mėginys purtomas 1 valandą orbitinėje purtyklėje-inkubatoriuje (GFL 3033) 180 aps./min. greičiu, 20±1 °C temperatūroje, po to, mėginiai paliekami nusistovėti 30 min. Analizės atlikimui yra paruošiamas skiedinys 10⁻²: pipete paimami 2 ml pradinės dirvožemio suspensijos 10⁻¹ ir sumaišoma su 18 ml sterilaus fiziologinio vandens. Maišymui naudojama purtyklė Vortex. Pipete į kiekvieną EcoPlate plokštelės duobutę yra įpilama po 100 μ l 10⁻² skiedimo suspensijos ir inkubuojama aerobinėmis sąlygomis termostate 28±1 °C temperatūroje. Spalvos kitimas duobutėse yra nustatomas nuskaitant EcoPlate plokštelių absorbciją

po 0 val., 24 val., 48 val., 72 val., 96 val. ir po 120 val., 26 ± 1 °C temperatūroje, naudojant fotometrą Microstation (MicroLog MSystem, Biolog Inc., Hayward, Calif.), esant 590 nm bangos ilgiui. Duomenims rinkti yra naudojamas Microlog Data Collection Software 1.2 (Biolog Inc.).



2.4 pav. Mėginių paruošimas ir CLPP analizė

Gauti plokštelių duomenys po 48 valandų inkubacijos yra naudojami apskaičiuoti vidutinį šulinėlių spalvos intensyvumą (AWCD), mikroorganizmų sodrumą (R), Šenono (Shannon-Weaver) įvairovės indeksą (H) ir Simpsono (Simpson) indeksą (D). Kiekvieno šulinėlio optinis tankis OD yra apskaičiuojamas iš substrato šulinėlio optinio tankio atimant kontrolinio šulinėlio optinį tankį. Prieš atliekant skaičiavimus, duomenys, gauti skirtingais inkubacijos laikais yra pertvarkomi:

- atimami nulinės valandos rezultatai, kad pašalinti galimą drumstumo poveikį;
- atimama kiekvieno substrato kontrolinės duobutės absorbcija;
- visi neigiami rodmenys normalizuojami iki nulio.

Vidutinis šulinėlių spalvos intensyvumas parodo mikroorganizmų aktyvumą, jiems sunaudojant substratą. Yra priimta, kad mėginiai, kuriuose AWCD pokytis yra didesnis, pasižymi didesniu anglies šaltinio panaudojimo pajėgumu ir turi didesnę mikroorganizmų gausą. AWCD yra apskaičiuojamas pagal formulę:

$$AWCD = \frac{\sum(Ci-R)}{n}; \quad (2.1)$$

čia R – kontrolinio šulinėlio optinio tankio rodmuo, C – šulinėlio, kuriame yra anglies šaltinis optinis tankis; n – substratų skaičius (n = 31 EcoPlates™ plokštelėse).

Mikroorganizmų sodrumas R parodo, mikroorganizmų rūšių skaičių bendruomenėje. R reikšmės nurodomos kaip skaičius panaudotų anglies substratų šulinėlių, kurių OD > 0,25.

Kiekvieno šulinėlio optinis tankis (angl. optical density OD) apskaičiuojamas iš substrato šulinėlio OD atėmus kontrolinio (be anglies šaltinio) šulinėlio OD.

Naudojant Šenono indeksą H yra apskaičiuojama substrato panaudojimo įvairovė (DSU). Šiame indekse yra atsižvelgiama į mikroorganizmų rūšių skaičių ir į jų gausumą. H reikšmė parodo

mikroorganizmų bendruomenės gebėjimą suardyti tam tikrą skaičių anglies šaltinių, taip apibūdinant mikroorganizmų bendruomenės fiziologinę įvairovę. Bendruomenės, kurios geba suskaidyti daugiau substratų arba juos suskaido panašiu efektyvumu, pasižymi didesnėmis Šenono indekso H vertėmis. Šis indeksas yra apskaičiuojamas:

$$H = - \sum_{i=1}^n p_i \cdot (\ln p_i); \quad (2.2)$$

čia p_i – santykinis šulinėlio spalvos išsivystymas, lyginant su bendru kiekvieno šulinėlio spalvos išsivystymu.

Simpsono įvairovės indeksas (D) naudojamas mikroorganizmų esamų rūšių įvairovei išmatuoti tam tikroje aplinkoje. Jis atspindi labiausiai paplitusias bendruomenės rūšis ir dažnai naudojamas mikroorganizmų bendruomenės dominavimo laipsniui įvertinti. D indeksas apskaičiuojamas:

$$D = \ln \sum_{i=1}^n (p_i^2). \quad (2.3)$$

Simpsono indekso reikšmės svyruoja nuo 0 iki 1, kur 0 reiškia begalinę įvairovę ir mažą dominavimą, o 1 – įvairovė maža, bet didelis dominavimas. Todėl kuo didesnė D reikšmė, tuo mažesnė įvairovė, bet didesnis tos bendruomenės dominavimas [126, 127].

2.3. *Rhizobium* genties bakterijų ir skirtingo tręšimo įtakos žirnių augimui įvertinimas

Metodo esmė: Ištirti, kokią įtaką žirnių augimui turi skirtingo tręšimo dirvožemiai ir papildomas sėklų apdorojimas *Rhizobium* genties bakterijomis.

Naudotos medžiagos:

1. Žirnių sėklos (*Respectr*, Lietuva);
2. *Rhizobium* genties bakterijos žirnių sėklų inokuliavimui Ž1 (LAMMC ŽI, Mikrobiologijos laboratorijos kolekcija);
3. Sterilus distiliuotas vanduo;
4. 3 % hipochlorito tirpalas
5. Žirnių agarų terpė (gaminta laboratorijoje iš atskirų komponentų);
6. Dirvožemio mėginiai (1, 2, 3, 4, 5).

Tyrimo eiga:

Žirnių agaras ruoštas pagal laboratorijoje turimą receptūrą iš šių komponentų:

K_2HPO_4 - 1 g,

$MgSO_4$ - 0,2 g,

sacharozė – 20 g,

agaras - 15 g,

žirniai – 100 g

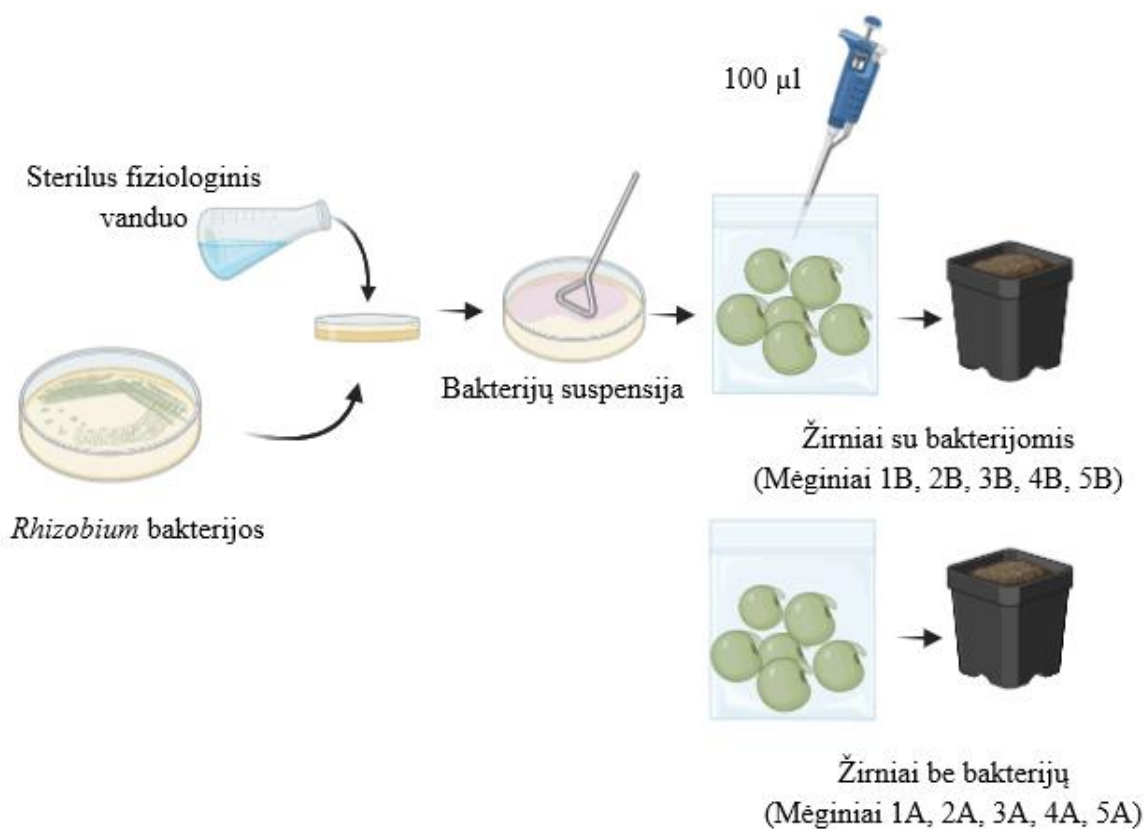
distiliuotas vanduo – 1 l.

Terpės ruošimas:

Visi terpės komponentai pasveriami, žirniai supilami į distiliuotą vandenį ir pavirus 30–40 minučių, nukošiami. Visi likę komponentai ištirpinami gautame žirnių nuovire (1 l). Prieš autoklavavimą terpė išpilstoma į mažesnius butelius ir jų pilnai neužsukus autoklavuojama 121+1°C temperatūroje 15

minučių. Po autoklavavimo terpė atvėsinama iki 50 °C temperatūros ir, išpilsčius į sterilias Petri lėkšteles po 12 ml., paliekama sustingti.

Žirnių sėklų inokuliavimui reikalinga mikroorganizmų kultūra – *Rhizobium* (Ž1) imta iš LAMMC mikrobiologijos laboratorijos kolekcijos, laikomos -80 °C temperatūroje ir atgaivinama auginant ant šviežiai paruoštos žirnių agarų terpės, inkubuojant 30±2 °C temperatūros termostate 1–2 paras. Išauginta gryna kultūra nuplaunama steriliu distiliuotu vandeniu, kad gautųsi 10⁶ KSV/ml. Skleistuvu paskleidžiama ant terpės paviršiaus po 100 µl šviežiai pagamintos bakterijų suspensijos ir persėjama ant naujų petri lėkštelių su žirnių agaru. Petri lėkštelės inkubuojamos 30±2 °C temperatūros termostate 1–2 paras, po to išaugusios bakterijos nuplaunamos steriliu distiliuotu vandeniu, kad bakterijų ląstelių tankis suspensijoje siektų 10⁸–10⁹ KSV/ml. Šia bakterijų suspensija inokuliuojamos žirnių sėklos. Prieš žirnių sėklų inokuliavimą bakterijomis, sėklos yra praplaunamos steriliu distiliuotu vandeniu ir sterilizuojamos 3 % hipochlorito tirpale 5 minutes, kad pašalinti ant sėklų paviršiaus esančius pašalinius mikroorganizmus. Po sterilizavimo, sėklos 3 kartus praplaunamos steriliu distiliuotu vandeniu ir paliekamos išdžiūti laminare ant sterilaus filtravimo popieriaus. Pusė taip paruoštų žirnių sėklų inokuliuojama šviežiai paruošta *Rhizobium* bakterijų suspensija. Tam atlikti, žirnių sėklos sudedamos į sterilius maišelius po 15 vienetų (kiekvienam dirvožemio variantui), į kuriuos pipete įpilama po 100 µl bakterijų suspensijos. Visos sėklos apveliamos suspensija ir paliekamos 1 valandą kambario temperatūroje. *Rhizobium* bakterijomis inokuliuotų žirnių sėklos ir žirnių sėklos be bakterijų po 5 vienetus sėjamos atskirai į vazonėlius su skirtingais dirvožemiais. Sėjama 2,5–3 cm gylyje, paliekant nemažesnius nei 5 cm tarpus tarp sėklų.



2.5 pav. Žirnių sėklų inokuliavimas *Rhizobium* genties bakterijomis

Įtakos žirnių augimui tyrimas vykdomas laboratorinėmis sąlygomis palaikant 25–30 °C temperatūrą ir laistant distiliuotu vandeniu vieną kartą per dieną. Jokios papildomos trąšos auginimo metu nėra naudojamos. Auginimas atliekamas iki normalios brandos (69 BBCH) (2.3 lentelė), vertinant vizualiai bakterijų ir dirvožemio įtaką žirnių sudygimui, augimui, brandimo greičiui, aukščiui ir žiedų formavimui. Tyrimai atliekami 3 pakartojimais [128, 129].

2.3 lentelė. Žemės ūkio augalų vystymosi tarpsnių BBCH kodų paaiškinimai [129]

Kodas	Apibūdinimas	Kodas	Apibūdinimas
Pagrindinis augimo etapas 0: daigumas		63	Išsiskleidžia 30 % žiedų
00	Sausa sėkla	64	Išsiskleidžia 40 % žiedų
01	Sėklų įsisavinimo pradžia	65	Visiškas žydėjimas: 50 % žiedų
03	Sėklų įsisavinimo pabaiga	67	Žydėjimas mažėja
05	Šaknelės sėkloje susiformavimas	69	Žydėjimo pabaiga
07	Šaknelės išlindimas pro sėklos apvaskalą	Pagrindinis augimo etapas 7: vaisių vystymasis	
08	Ūgliai auga link dirvos paviršiaus	71	10 % ankščių pasiekė tipinį ilgį
09	Ūgliai prasiskverbia per dirvos paviršių	72	20 % ankščių pasiekė tipinį ilgį
Pagrindinis augimo etapas 1: lapų vystymasis		73	30 % ankščių pasiekė tipinį ilgį
10	Matomas lapų pumpuras	74	40 % ankščių pasiekė tipinį ilgį
11	Išsiskleidęs pirmasis lapas	75	50 % ankščių pasiekė tipinį ilgį
12	Išsiskleidęs antrasis lapas	76	60 % ankščių pasiekė tipinį ilgį
13	Išsiskleidęs trečiasis lapas	77	70 % ankščių pasiekė tipinį ilgį
19	Išsiskleidę 9 ir daugiau lapų	79	Žirniai visiškai susiformavę
Pagrindinis augimo etapas 3: stiebo pailgėjimas		Pagrindinis augimo etapas 8: sėklų nokinimas	
30	Stiebo ilgėjimo pradžia	81	10 % prinokusių sėklų,
31	Vienas matomas išsiplėtęs mazgas	82	20 % prinokusių sėklų
32	Du matomi išsiplėtę mazgai	83	30 % prinokusių sėklų
33	Trys matomi išsiplėtę mazgai	84	40 % prinokusių sėklų
39	Matomi 9 ar daugiau išsiplėtusių mazgų	85	50 % prinokusių sėklų
Pagrindinis augimo etapas 5: žiedyno atsiradimas		86	60 % prinokusių sėklų
51	Matomi pirmieji žiedo pumpurai už lapų	87	70 % prinokusių sėklų
55	Atskiri pumpurai, matomi lapų išorėje	88	80 % prinokusių sėklų
59	Pirmieji žiedlapiai, bet dar neprasiskleidę	89	Visos ankštys išdžiūvo, sėklos sausos, kietos
Pagrindinis augimo etapas 6: žydėjimas		Pagrindinis augimo etapas 9: senėjimas	
60	Atsiskleidžia pirmieji žiedai	97	Augalas negyvas ir išdžiūvęs
61	Žydėjimo pradžia: išsiskleidžia 10 % žiedų	99	Nuimtas produktas
62	Išsiskleidžia 20 % žiedų		

2.4. Žirnių biomasės tyrimai

Metodo esmė: Atlikti užaugintos iki normalios brandos (69 BBCH) žirnių biomasės matavimus. Prieš išraunant užaugusius žirnių daigus, buvo vertinamas:

- sėklų daigumas;
- išaugusių daigų skaičius

- augimo greitis;
- išvaizda.

Po žirnių išrovimo, vertintas:

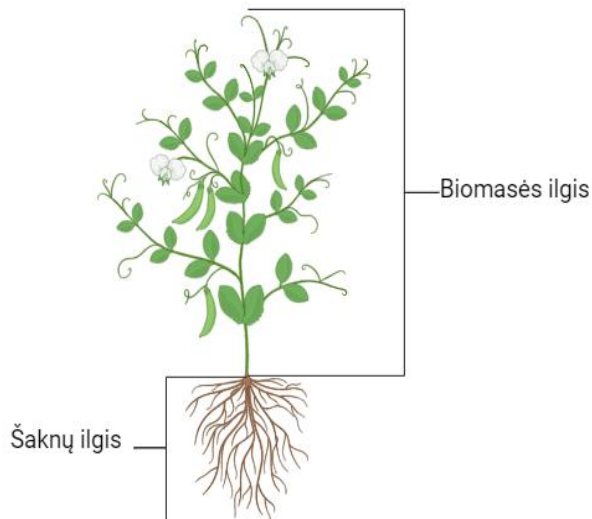
- stiebų ilgis;
- šaknų ilgis;
- išrautų augalų masė;
- išdžiovintų augalų masė;
- sausų medžiagų kiekis.

Naudotos medžiagos:

1. Dirvožemio mėginiai
2. Vanduo

Tyrimo eiga:

Išaugę žirniai atsargiai išimami iš vazonėlių, pašalinamas dirvožemio perteklius, o likutis, esantis aplink šaknis nuplaunamas vandeniu. Augalas švelniai nuvalomas minkštu popieriniu rankšluosčiu, kad pašalinti papildomą drėgmę. Sverti reikia kuo greičiau, nes augalai savo sudėtyje turi didelį kiekį vandens, kuris po kurio laiko gali išdžiūti ir duoti netikslius rezultatus. Augalų vandens lygis labai priklauso nuo aplinkoje esančio vandens kiekio, todėl sauso svorio matavimas yra patikimesnis. Žirnių biomasė yra džiovinama džiovykloje 37±1 °C temperatūroje, tol kol pilnai išdžius. Norint nustatyti, ar mėginys yra sausas, iš džiovyklos išimta biomasė pasverama ir gražinama džiovinti. Jeigu po kelių valandų pakartotinai pasvėrus biomasę svoris nekinta, mėginys yra išdžiovintas iki pastovaus svorio. Pilnai išdžiovinus, mėginiai atvėsunami vėsioje ir sausoje aplinkoje, kad nesugertų aplinkoje esančios drėgmės ir nepadidėtų svoris. Atvėsusios biomasės svoris yra sveriamas 3 kartus.



2.6 pav. Augalo ilgio matavimas

Sausų medžiagų kiekis % yra apskaičiuojamas:

$$\frac{\text{išdžiovintos biomasės svoris}}{\text{šviežios biomasės svoris}} \cdot 100 \% . \tag{2.4}$$

2.5. Dirvožemio mėginių pH nustatymas

Metodo esmė: Nustatyti dirvožemio mėginių pH, kuris parodo dirvos rūgštingumo ir šarminumo laipsnį. Pagal pH intervalo reikšmes (nuo 0 iki 14), dirvožemiai būna rūgštūs, šarminiai arba neutralūs, o įprastas dirvožemio pH svyruoja nuo 4,5 iki 7,5.

Naudotos medžiagos:

1. Dirvožemio mėginiai
2. KCl milteliai
3. Distiliuotas vanduo

Tyrimo eiga:

KCl tirpalo pagaminimui yra pasveriami 74,5 g KCl miltelių ir užpilama 1 l vandens. Toliau, į specialius stiklinius indelius yra pasveriami 10 g dirvožemio ir sumaišoma su 50 ml pagaminto KCl tirpalu ir purtoma purtyklėje (GFL 3033) 150 aps./min. greičiu, kambario temperatūroje 1 valandą. Pasibaigus purtymui, mėginiai išimami ir palaikomi keletą minučių, kad nusėstų dirvožemis. Prieš matavimą, pH ir laidžio matuoklis (PC 8 + DHS) yra sukalibruojamas ir patikrinamas su buferiniu tirpalu. Mėginiai matuojami kambario temperatūroje, o elektrodas yra nuplaunamas ir nusausinamas servetėle prieš kiekvieną matavimą. Kiekvieno mėginio matavimas kartojamas 2 kartus.

2.6. Matematinė statistinė analizė

Gauti rezultatai apdoroti naudojant Microsoft Office Excel 2021 programinį paketą ir grafinį vaizdavimą, schemas braižytos naudojant BioRender programą.

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

3.1. Bendro mikroorganizmų skaičiaus nustatymas

Atliekant mikrobiologinius dirvožemio tyrimus, dažniausiai yra naudojamas standartizuotas metodas bendram bakterijų, pelėsinų grybų ir mielių, sporinių bakterijų, aktinomicetų bei azotą fiksuojančių bakterijų skaičiui nustatyti. Šis metodas nereikalauja specialios įrangos ir suteikia pakankamai informacijos apie dirvožemyje vyraujančias mikroorganizmų grupes. Šiuo metodu gauti rezultatai (KSV/g) buvo perskaičiuoti į $KSV/g(\log_{10}) \pm$ standartinis nuokrypis ir pateikti 3.1 lentelėje.

3.1 lentelė. Bendras mikroorganizmų skaičius, KSV/g (\log_{10}) \pm standartinis nuokrypis

Mėginio kodas	Bakterijos	Mikroskopiniai grybai	Sporinės bakterijos	Aktinomicetai	Azotą fiksuojančios bakterijos
1	7,13 \pm 0,17	4,71 \pm 0,10	5,47 \pm 0,02	5,46 \pm 0,15	5,68 \pm 0,04
1A*	5,53 \pm 0,13	4,08 \pm 0,07	5,84 \pm 0,03	5,45 \pm 0,21	6,22 \pm 0,14
1B**	6,08 \pm 0,04	3,95 \pm 0,10	6,08 \pm 0,07	5,83 \pm 0,13	5,77 \pm 0,12
2	7,34 \pm 0,04	4,58 \pm 0,03	6,84 \pm 0,01	5,60 \pm 0,02	6,25 \pm 0,07
2A	5,55 \pm 0,2	3,69 \pm 0,13	5,70 \pm 0,07	4,31 \pm 0,05	5,75 \pm 0,02
2B	6,02 \pm 0,18	4,56 \pm 0,07	6,03 \pm 0,05	5,70 \pm 0,29	5,10 \pm 0,09
3	6,84 \pm 0,08	4,36 \pm 0,23	5,99 \pm 0,13	6,78 \pm 0,03	5,67 \pm 0,09
3A	6,08 \pm 0,07	4,34 \pm 0,06	6,29 \pm 0,06	5,48 \pm 0,04	5,74 \pm 0,04
3B	6,01 \pm 0,08	3,84 \pm 0,06	5,63 \pm 0,31	5,69 \pm 0,09	5,04 \pm 0,15
4	6,87 \pm 0,05	4,68 \pm 0,06	5,95 \pm 0,05	5,60 \pm 0,07	5,26 \pm 0,28
4A	6,16 \pm 0,11	4,67 \pm 0,04	6,31 \pm 0,05	5,47 \pm 0,06	5,88 \pm 0,08
4B	6,00 \pm 0,04	4,28 \pm 0,05	5,74 \pm 0,13	5,57 \pm 0,15	4,67 \pm 0,02
5	6,93 \pm 0,06	4,31 \pm 0,15	5,47 \pm 0,04	5,91 \pm 0,19	6,13 \pm 0,13
5A	6,17 \pm 0,06	4,04 \pm 0,04	6,15 \pm 0,08	5,59 \pm 0,11	5,80 \pm 0,07
5B	6,09 \pm 0,09	4,35 \pm 0,07	5,00 \pm 0,04	5,89 \pm 0,11	5,93 \pm 0,04

1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,

2 – dirvožemis tręštas kompostu,

3 – dirvožemis tręštas durpėmis,

4 – dirvožemis tręštas mėšlu,

5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis,

skaičius be raidės – dirvožemio mėginys prieš eksperimentą,

*A – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, neinokuliuotų rizobakterijomis, auginimo,

**B – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, inokuliuotų rizobakterijomis, auginimo.

Didžiausias bendras bakterijų skaičius prieš atliekant augalų auginimo eksperimentą, gautas 2 mėginyje – 7,34 KSV/g (\log_{10}), kuriame dirvožemis buvo tręštas kompostu. Mažiausias bakterijų skaičius nustatytas po derliaus nuėmimo 1A mėginyje (5,53 KSV/g(\log_{10})) – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis po žirnių auginimo, kurių sėklos nebuvo inokuliuotos rizobakterijomis. Didžiojoje dalyje, po derliaus nuėmimo tirtų mėginių A ir B variantuose, bendras bakterijų skaičius mažėjo panašiai, tačiau iš jų išsiskyrė 1A ir 1B, 2A ir 2B mėginiai. Šių mėginių A variantuose (sėklos nebuvo inokuliuotos rizobakterijomis) nustatytas bendras bakterijų skaičius (5,53 ir 5,55 KSV/g (\log_{10})) buvo mažesnis nei B variantuose (sėklos inokuliuotos rizobakterijomis) (6,08 ir 6,02 KSV/g

(log10)). Visais atvejais, didesniu bendru bakterijų skaičiumi pasižymėjo pradiniai dirvožemio mėginiai, nes visuose tirtuose dirvožemiuose po derliaus nuėmimo bakterijų skaičius žymiai sumažėjo.

Didžiausiu bendru pelėsinių grybų ir mielių skaičiumi pasižymėjo 1 mėginys – 4,71 KSV/g (log10), kurio tręšimui buvo naudotos cheminės trąšos. Truputį mažesnis pelėsinių grybų ir mielių skaičius nustatytas 4 mėginyje (4,68 KSV/g (log10)), kuris tręštas mėšlu. Mažiausiai pelėsinių grybų ir mielių turėjo niekuo netręštas 5 (kontrolinis dirvožemis) mėginys. Beveik visuose mėginiuose, didesnis bendras pelėsinių grybų ir mielių skaičius gautas pradinuose dirvožemio mėginiuose, prieš ekperimentą su žirnių auginimu, išskyrus 5 mėginį, kurio 5B variante (sėklos inokuliuotos rizobakterijomis), pelėsinių grybų ir mielių skaičius, buvo didesnis po derliaus nuėmimo – 4,35 KSV/g (log10), nei pradžioje (4,31 KSV/g (log10)).

Atlikus bendro sporinių bakterijų skaičiaus nustatymą, daugiausiai jų aptikta kompostu tręštame pradiniam 2 mėginyje – 6,84 KSV/g (log10). Šio mėginio A ir B variantuose, gautuose po derliaus nuėmimo, sporinių bakterijų skaičius sumažėjo: 2A siekė 5,70 KSV/g (log10), 2B – 6,03 KSV/g (log10). Analizuojant visus mėginius, matomas ir sporinių bakterijų padidėjimas po derliaus nuėmimo gautuose variantuose – 3A, 4A ir 5A, kuriuose žirniai buvo auginti be inokuliacijos *Rhizobium* genties bakterijomis. 3B, 4B ir 5B mėginiuose, sporinių bakterijų skaičius po derliaus nuėmimo sumažėjo, lyginant su pradiniais rezultatais. Sporinių bakterijų skaičius padidėjo 1 mėginio abiejuose variantuose (1A ir 1B). Mažiausiai sporinių bakterijų nustatyta kontroliniame netręštame 5B mėginyje (5,00 KSV/g (log10)), kuriame žirniai buvo auginti inokuliacijos azotą fiksuojančiomis bakterijomis.

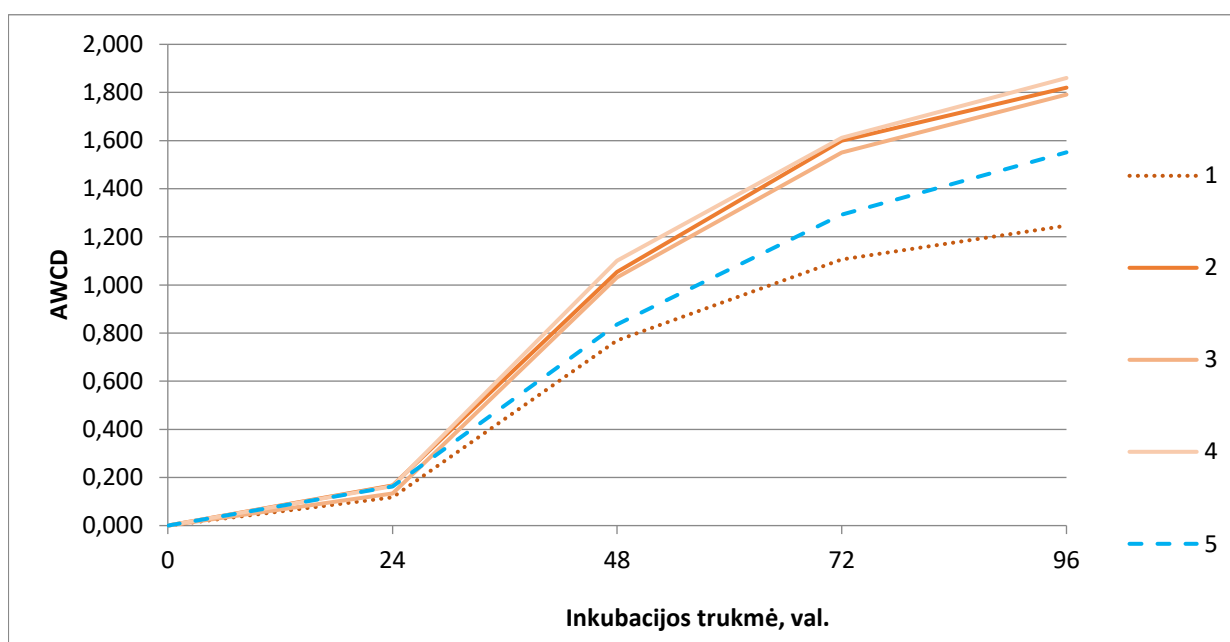
Didžiausias bendras aktinomicetų skaičius gautas 3 mėginyje – 6,78 KSV/g (log10), kurio tręšimui buvo naudotos durpės. Mažiausias bendras aktinomicetų skaičius nustatytas kompostu tręštame 2A mėginyje (4,31 KSV/g(log10)), kuriame žirniai auginti be inokuliacijos *Rhizobium* genties bakterijomis. Lyginant su pradiniais rezultatais, didesnis aktinomicetų skaičius po derliaus nuėmimo buvo užfiksuotas 1B ir 2B mėginiuose. Visais kitais atvejais, aktinomicetų skaičius sumažėjo. Analizuojant po derliaus nuėmimo gautus variantus bei lyginant A ir B pastebėta, kad aktinomicetų skaičius intensyviau mažėjo A variantuose, kuriuose žirniai buvo auginti be inokuliacijos *Rhizobium* genties bakterijomis.

Didžiausias bendras azotą fiksuojančių bakterijų skaičius nustatytas kompostu tręštame 2 mėginyje prieš eksperimentą su žirnių auginimu – 6,25 KSV/g (log10). Šiek tiek mažesnis skaičius – 6,22 KSV/g (log10) gautas 1A mėginyje - dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis, po derliaus nuėmimo, kai žirnių sėklos nebuvo inokuliuotos *Rhizobium* genties bakterijomis. Mažiausiai azotą fiksuojančių bakterijų rasta 4B mėginyje (4,67 KSV/g(log10)), kurio tręšimui buvo naudotas mėšlas, o žirniai auginti inokuliacijos *Rhizobium* genties bakterijomis. Daugelyje mėginių, po derliaus nuėmimo gautuose variantuose buvo nustatyti didesni azotą fiksuojančių bakterijų skaičiai, nei pradinuose dirvožemių mėginiuose. Azotą fiksuojančių bakterijų skaičius padidėjo 1A, 1B, 3A ir 4A mėginiuose (be inokuliacijos *Rhizobium* genties bakterijomis). 2B, 3B ir 4B variantuose, kuriuose žirniai auginti inokuliacijos *Rhizobium* genties bakterijomis, pastebėtas intensyviausias azotą fiksuojančių bakterijų skaičiaus mažėjimas.

3.2. Mikroorganizmų bendruomenės lygio fiziologinio profiliavimo analizė (CLPP)

Bendruomenės lygio fiziologiniai profiliai (CLPP) nuo seno naudojami kaip ekologiniai rodikliai, nes jie nustato mikroorganizmų bendruomenių fiziologinį ir metabolinį potencialą bei parodo gebėjimą pritaikyti jų metabolizmą prie aplinkos sąlygų pokyčių. Šulinėlių spalvos intensyvumas vystosi pagal sigmoidinę kreivę. Visų dirvožemio mėginių AWCD indekso vidurkis (3.1 pav.) buvo didžiausias po 96 h inkubacijos.

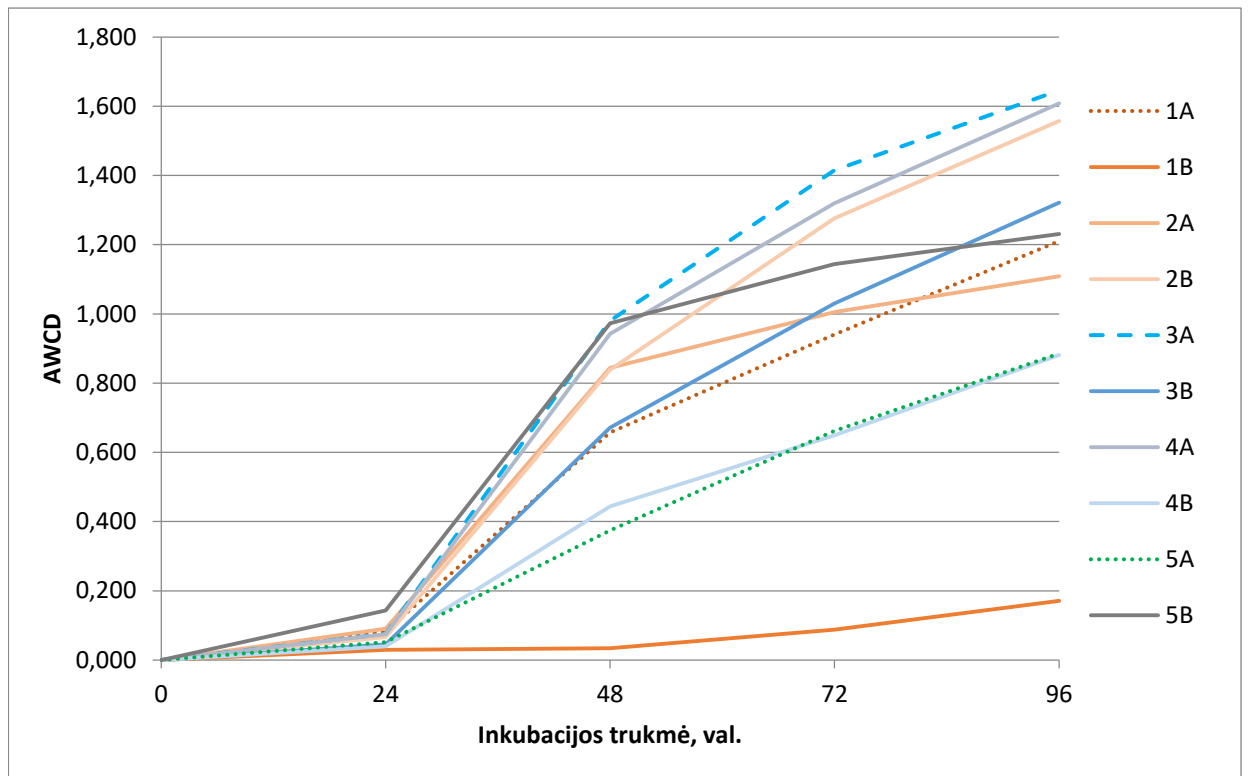
3.2.1. Vidutinis šulinėlių spalvos intensyvumo kitimas (AWCD)



3.1 pav. Pradinių dirvožemio mėginių vidutinio šulinėlių spalvos intensyvumo kitimas laike

- 1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,
- 2 – dirvožemis tręštas kompostu,
- 3 – dirvožemis tręštas durpėmis,
- 4 – dirvožemis tręštas mėšlu,
- 5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis.

Norint įvertinti visus tyrimo ekoplokštelės duomenis, kaip atskaitos taškas pasirenkamas konkretus inkubacijos laiko taškas. Absorbcijos verčių skirtumų (arba svyravimų) padidėjimas rodo duomenų rinkinyje esančios informacijos kiekio padidėjimą. Naudojant absorbcijos vertes, užfiksuotas ankstyvuoju inkubaciniu laiku, gaunama mažai informacijos, nes ankstyvose augimo stadijose (tarp 0–24 h (3.1 pav. ir 3.2 pav.)) skirtumas tarp šulinėlių absorbcijos verčių yra per mažas, kad būtų gauta naudinga informacija. Naudojant absorbcijos vertes, paimtas vėlesniu inkubacijos metu, galima gauti daugiau informacijos apie mėginio inokuliatą CLPP, jei reikšmės neviršija 2.



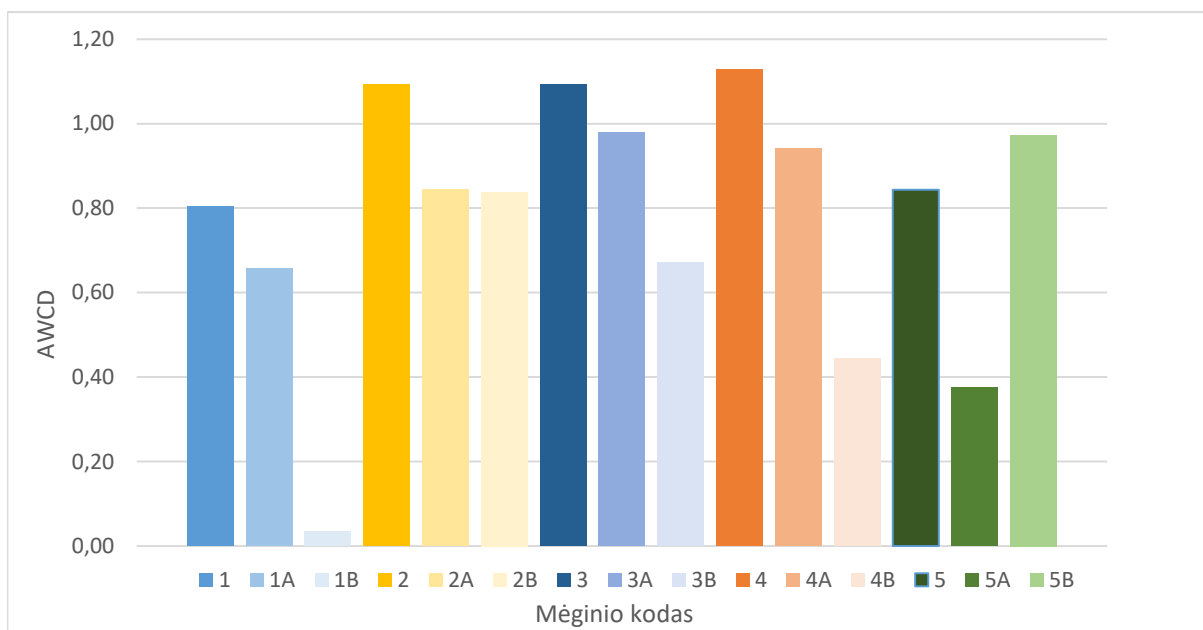
3.2 pav. Po derliaus nuėmimo gautų dirvožemio mėginių vidutinio šulinėlių spalvos intensyvumo kitimas laike

- 1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,
- 2 – dirvožemis tręštas kompostu,
- 3 – dirvožemis tręštas durpėmis,
- 4 – dirvožemis tręštas mėšlu,
- 5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis,

A – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, neinokuliuotų rizobakterijomis, auginimo,
 B – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, inokuliuotų rizobakterijomis, auginimo.

Iš aukščiau pateiktų grafikų (3.1 ir 3.2 pav.), galima matyti, kad intensyviausias vidutinis šulinėlių spalvos kitimas vyko tarp 24–48 val., vėliau kitimas mažėjo. Analizuojant pradinis mėginius (3.1 pav.), per pirmąsias 24 inkubacijos valandas, visų mėginių šulinėlių spalva kito tolygiai. Po 48 valandų, intensyviausiai kito 4 mėginio šulinėlių spalva, kurio AWCD pokytis po 96 valandų inkubacijos taip pat buvo didžiausias. Mažiausiu šulinėlių spalvos pokyčiu per visą inkubacijos laikotarpį pasižymėjo 1 mėginys (dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis). Nagrinėjant po derliaus nuėmimo gautus mėginius (3.2 pav.), per pirmas 24 valandas, labiausiai kito 5B mėginio (kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis, kuriame augo žirniai, inokuliuoti *Rhizobium* genties bakterijomis) šulinėlių spalvos, kurių AWCD kitimas po 48 valandų pradėjo mažėti. Visų kitų mėginių AWCD pirmosiomis valandomis kito panašiai. Po 48 valandų inkubacijos, intensyviausias spalvos pokytis užfiksuotas 3A (dirvožemis tręštas durpėmis, po žirnių auginimo, neinokuliuotus *Rhizobium* genties bakterijomis) ir 5B mėginiuose. Per visą inkubacijos laiką labiausiai pakito 3A ir 4B (dirvožemis tręštas mėšlu, kuriame augo žirniai, inokuliuoti *Rhizobium* genties bakterijomis) mėginių šulinėlių spalvos, o mažiausiai kito 1B mėginys (dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis, kuriame augo žirniai, inokuliuoti *Rhizobium* genties bakterijomis). Mėginiai, kurie turi didesnę pajėgumą panaudoti anglies šaltinį ir turi didesnę mikroorganizmų gausumą. Pradiniuose mėginiuose didžiausiu mikroorganizmų gausumu pasižymėjo 4 dirvožemio mėginys, kuris buvo tręštas mėšlu, o po derliaus auginimo pakitusiuose dirvožemiuose, gausiausiai

mikroorganizmų buvo užregistruota 3A mėginyje, kurio tręšimui buvo naudotos durpės. Lyginant visus mėginius tarpusavyje, didesniu mikroorganizmų gausumu visais atvejais pasižymėjo pradiniai dirvožemio mėginiai, kas patvirtino standartinio kolonijas sudarančių vienetų skaičiavimo rezultatus.



3.3 pav. Visų mėginių AWCD pokytis, po 48 valandų inkubacijos

1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,

2 – dirvožemis tręštas kompostu,

3 – dirvožemis tręštas durpėmis,

4 – dirvožemis tręštas mėšlu,

5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis,

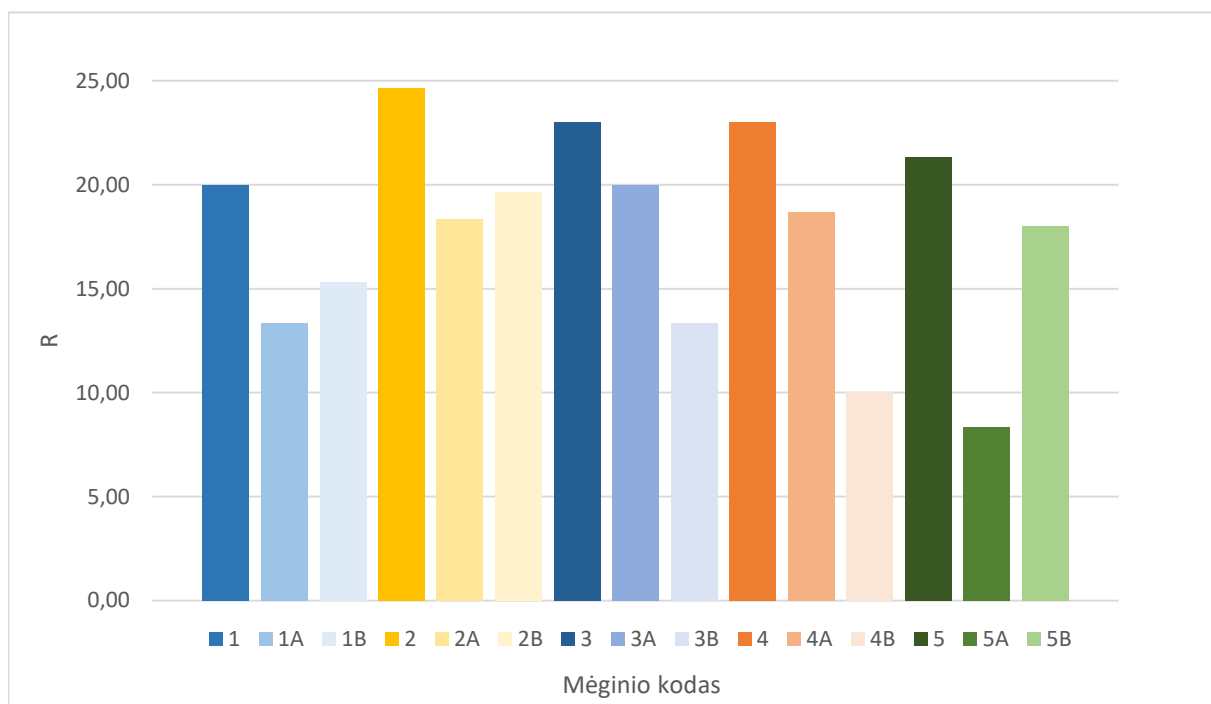
skaičius be raidės – dirvožemio mėginys prieš eksperimentą,

A – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, neinokuliuotų rizobakterijomis, auginimo,

B – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, inokuliuotų rizobakterijomis, auginimo.

Lyginant visus mėginius tarpusavyje (3.3 pav.), po 48 valandų inkubacijos, didžiausiu AWCD pokyčiu pasižymėjo 4 bandinys – 1,13. Šiek tiek mažesnę pokytį turėjo 2 ir 3 mėginiai, abiejų AWCD siekė 1,09. Visi trys mėginiai, kurių AWCD pokytis didžiausias, buvo tiriami prieš derliaus sėjimą. Po derliaus auginimo ir nuėmimo, didžiausi AWCD pokyčiai buvo užfiksuoti 3A ir 5B mėginiuose, kuriuose siekė 0,98 ir 0,97. Visuose mėginiuose, išskyrus 5B, prieš derlių AWCD pokyčiai buvo didesni, nei po derliaus nuėmimo gautuose mėginiuose. Mažiausiai AWCD pakito 4B (0,44) ir 5A (0,37) mėginiuose, o ypač mažas pokytis buvo užregistruotas 1B mėginyje – 0,03.

3.2.2. Mikroorganizmų rūšių skaičius bendruomenėje



3.4 pav. Visų mėginių sodrumas (R), po 48 valandų inkubacijos

1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,

2 – dirvožemis tręštas kompostu,

3 – dirvožemis tręštas durpėmis,

4 – dirvožemis tręštas mėšlu,

5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis,

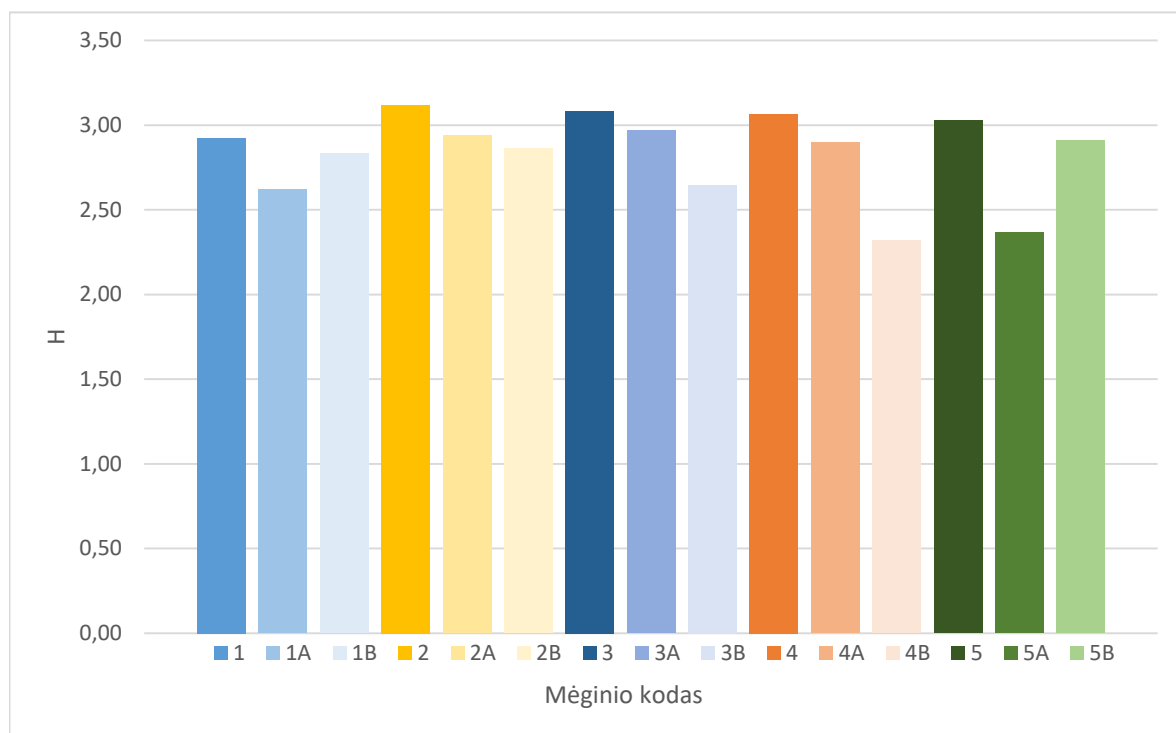
skaičius be raidės – dirvožemio mėginys prieš eksperimentą,

A – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, neinokuliuotų rizobakterijomis, auginimo,

B – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, inokuliuotų rizobakterijomis, auginimo.

Mikroorganizmų sodrumas (R) parodo mikroorganizmų rūšių skaičių bendruomenėje. Po 48 valandų inkubacijos (3.4 pav.), visais atvejais, didesnę mikroorganizmų sodrumą turėjo pradiniai dirvožemio mėginiai (1, 2, 3, 4, 5). Didžiausias mikroorganizmų rūšių skaičius bendruomenėje gautas 2 mėginyje – 24,67, kuriame dirvožemis buvo tręštas kompostu. Šiek tiek mažesnis rūšių skaičius užfiksuotas 3 ir 4 mėginiuose, kuriuose siekė 23,00 (3 mėginys buvo tręštas durpėmis, o 4 – mėšlu). Mažiausias mikroorganizmų sodrumas gautas 5A mėginyje, kuriame žirniai buvo auginami netręštame dirvožemyje, be azotą fiksuojančių *Rhizobium* genties bakterijų. Lyginant tarpusavyje mėginius, gautus po derliaus nuėmimo, didesniu sodrumu pasižymėjo 1B, 2B ir 5B mėginiai, kuriuose žirniai buvo auginami su *Rhizobium* genties bakterijomis, tačiau didžiausia R reikšmė užfiksuota 3A mėginyje – 20.

3.2.3. Mikroorganizmų bendruomenės fiziologinė įvairovė



3.5 pav. Visų mėginių fiziologinės įvairovės indeksas (H), po 48 valandų inkubacijos

1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,

2 – dirvožemis tręštas kompostu,

3 – dirvožemis tręštas durpėmis,

4 – dirvožemis tręštas mėšlu,

5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis,

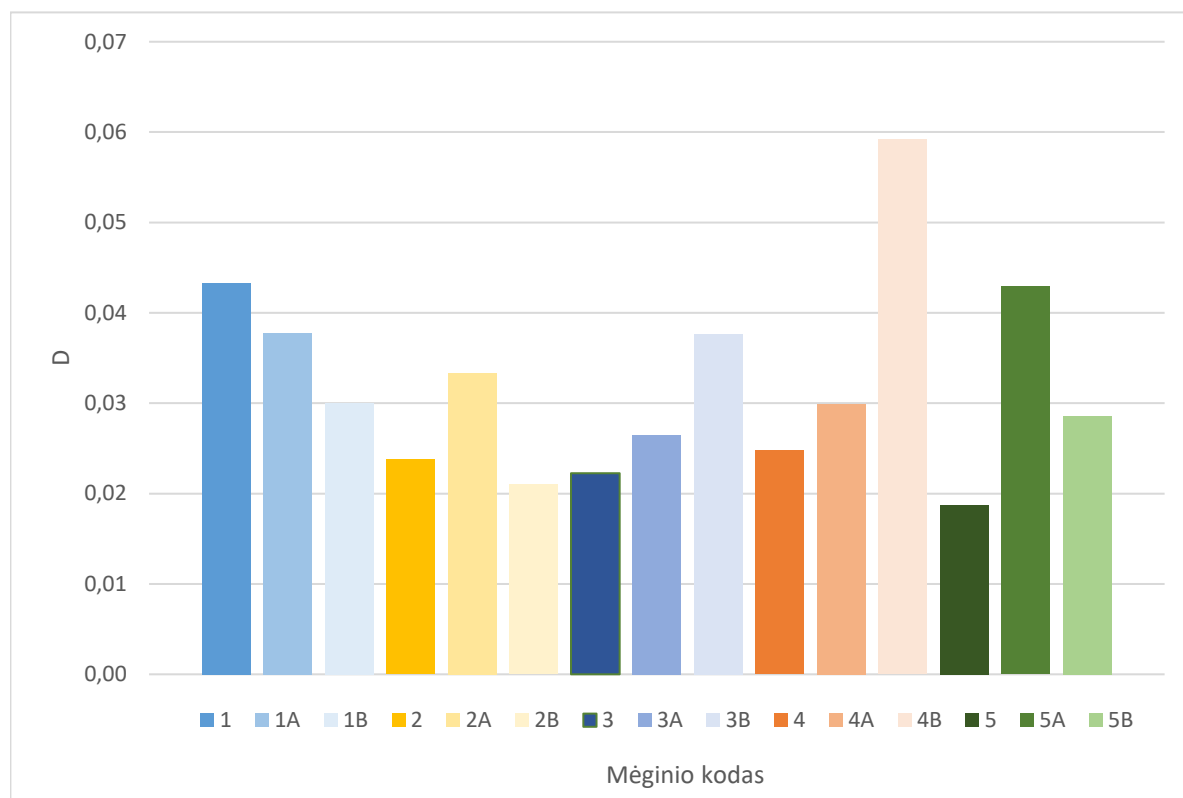
skaičius be raidės – dirvožemio mėginys prieš eksperimentą,

A – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, neinokuliuotų rizobakterijomis, auginimo,

B – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, inokuliuotų rizobakterijomis, auginimo.

Šenono indeksas (H) parodo mikroorganizmų bendruomenės fiziologinę įvairovę, pagal jų gebėjimą suardyti tam tikrą skaičių anglies šaltinių. Didesnės indekso reikšmės parodo mikroorganizmų bendruomenės gebėjimą suskaidyti daugiau anglies substratų arba jų suskaidymo efektyvumo panašumą. Didžiausia substrato panaudojimo įvairovė gauta su kompostu tręštame 2 mėginyje – 3,12 (3.5 pav.). Mažesni už 2 mėginio Šenono indeksai pastebėti 3 (3,08) ir 4 (3,07) mėginiuose, tręštuose durpėmis ir mėšlu. Visais atvejais, pradiniai dirvožemių mėginiai pasižymėjo didesnėmis H indekso vertėmis, nei dirvožemių variantai, gauti po derliaus nuėmimo. Mažiausia mikroorganizmų fiziologinė įvairovė užfiksuota su mėšlu tręštame 4B mėginyje, kuriame žirniai buvo auginami su *Rhizobium* genties bakterijomis. Taip pat mažas Šenono indeksas stebimas ir kontroliniame 5A mėginyje, kuriame žirnių auginimui nebuvo naudojamos šios genties bakterijos. Lyginant tarpusavyje po derliaus gautus A ir B variantus, daugeliu atveju, didesnė mikroorganizmų fiziologinė įvairovė gauta A variantuose.

3.2.4. Mikroorganizmų bendruomenės rūšių dominavimas



3.6 pav. Visų mėginių Simpsono indeksas (D), po 48 valandų inkubacijos

1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,

2 – dirvožemis tręštas kompostu,

3 – dirvožemis tręštas durpėmis,

4 – dirvožemis tręštas mėšlu,

5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis,

skaičius be raidės – dirvožemio mėginys prieš eksperimentą,

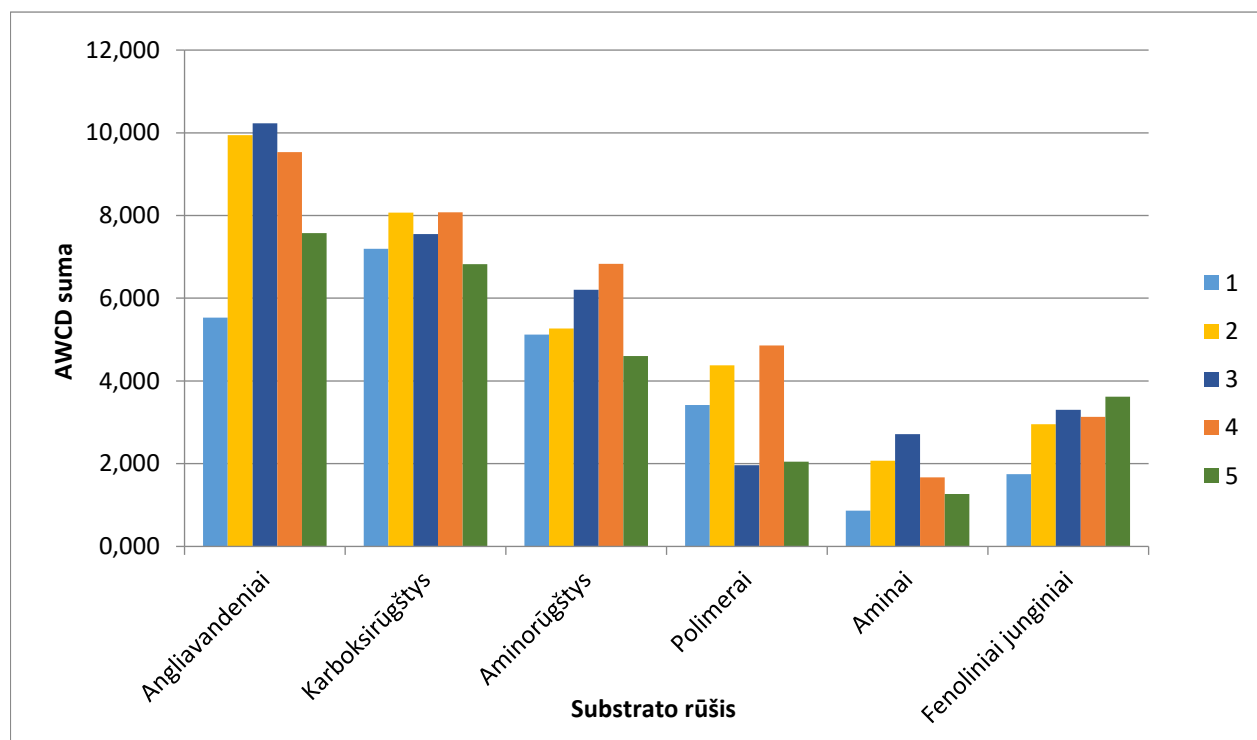
A – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, neinokuliuotų rizobakterijomis, auginimo,

B – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, inokuliuotų rizobakterijomis, auginimo.

Simpsono įvairovės indeksas (D) parodo labiausiai paplitusias bendruomenės rūšis ir naudojamas mikroorganizmų bendruomenės dominavimo laipsniui įvertinti. Šio indekso reikšmės kinta nuo 0 iki 1, kur 0 reiškia begalinę įvairovę ir mažą dominavimą, o 1 – įvairovė maža, bet didelis jos dominavimas. Todėl kuo didesnė D reikšmė, tuo mažesnė įvairovė, bet didesnis tos bendruomenės dominavimas. Dažnai Simpsono indeksas naudojamas Šenono indeksui papildyti. Didžiausia mikroorganizmų bendruomenės įvairovė gauta kontroliniame 5 mėginyje (0,019), kuris nebuvo tręštas. Šiame mėginyje užfiksuotas mažiausias bendruomenių dominavimas. Panašūs rezultatai gauti ir 2B mėginyje – 0,021, kurio tręšimui buvo naudotas kompostas, o žirniai auginti kartu su rizobakterijomis. Mažiausia įvairovė apskaičiuota su mėšlu tręštame 4B mėginyje (0,059), kuriame naudotos *Rhizobium* genties bakterijos. Šio mėginio mikroorganizmų bendruomenės dominavimo laipsnis didžiausias. Lyginant mėginių A ir B variantus, įvairovė ir dominavimas labai skiriasi – 1A (tręšta su cheminėmis trąšomis) ir 2A (tręšta su kompostu) mėginiuose įvairovė mažesnė, o dominavimas didesnis nei 1B ir 2B mėginiuose (žirnių auginimui naudotos augimą skatinančios bakterijos). Likusiuose mėginiuose – 3A (tręšta su durpėmis), 4A (tręšta su mėšlu) ir 5A (kontrolinis netręštas mėginys) įvairovė didesnė, o dominavimas mažesnis, nei B variantuose.

Simpsono indekso rezultatus lyginant su Šenono indekso rezultatais galima pastebėti tendenciją. Tiek didžiausi fiziologinės įvairovės, tiek didžiausi bendruomenės rūšių įvairovės indeksai abejais atvejais gauti 2, 3 ir 5 mėginiuose. Mažiausios įvairovės pastebėtos 4B ir 5A mėginiuose.

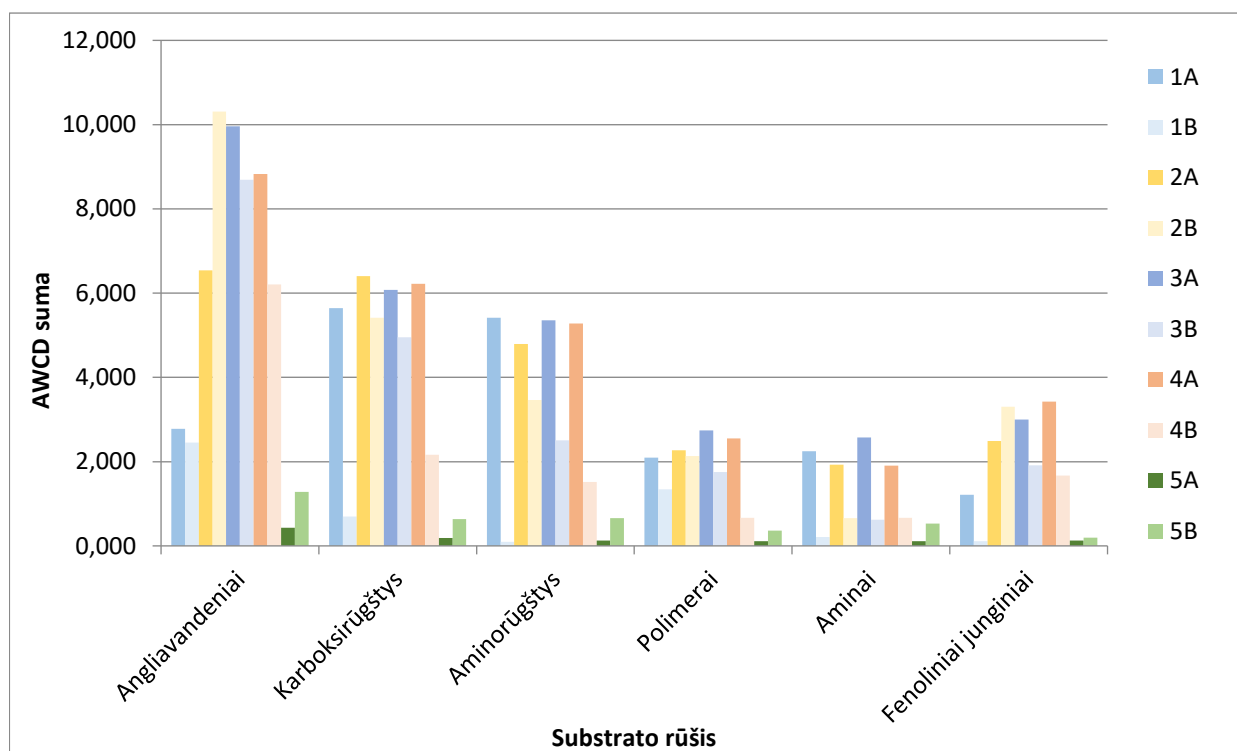
3.2.5. Mikroorganizmų pasiskirstymas pagal anglies substrato rūšį



3.7 pav. Pradiniuose mėginiuose esančių mikroorganizmų pasiskirstymas pagal substrato rūšį

- 1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,
- 2 – dirvožemis tręštas kompostu,
- 3 – dirvožemis tręštas durpėmis,
- 4 – dirvožemis tręštas mėšlu,
- 5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis.

Po 48 valandų inkubacijos nustatytas pradiniuose dirvožemio mėginiuose esančių mikroorganizmų pasiskirstymas pagal anglies substrato rūšį (3.7 pav.). Nagrinėjant visus mėginius, galima matyti, kad vyrauja mikroorganizmai, kurie naudoja angliavandenius kaip savo substratus. Mažiausiai aptikta aminos naudojančių mikroorganizmų. 1 dirvožemio mėginyje, kurio tręšimui buvo naudotos cheminės trąšos, užfiksuota, kad daugiausia mikroorganizmų sunaudoja karboksirūgštis, likusiuose mėginiuose – angliavandenius. 3 mėginyje, kuris tręštas su durpėmis, mažiausiai kaip substratai buvo naudojami polimerai, kai kituose mėginiuose – aminai. Pradinių mėginių pilnas mikroorganizmų pasiskirstymas pagal 31 anglies substratą, esantį šulinėliuose, pateiktas 1 priede.

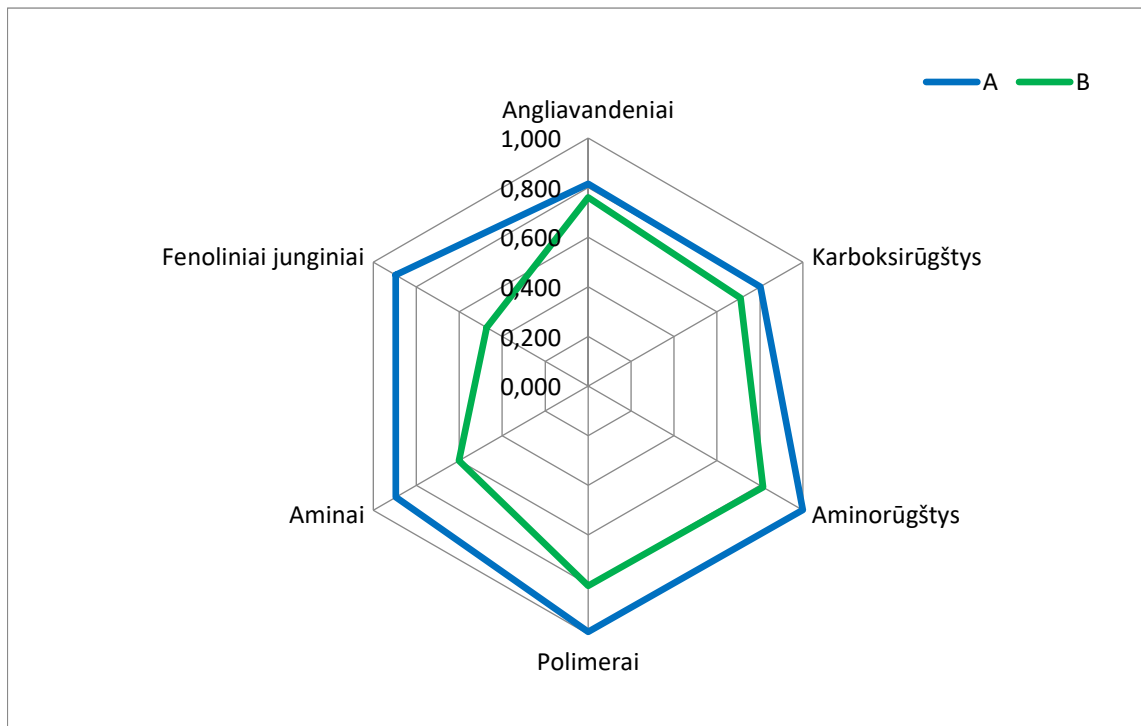


3.8 pav. Mikroorganizmų pasiskirstymas pagal substrato rūšį mėginiuose, gautuose nuėmus derlių

- 1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,
- 2 – dirvožemis tręštas kompostu,
- 3 – dirvožemis tręštas durpėmis,
- 4 – dirvožemis tręštas mėšlu,
- 5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis,

A – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, neinokuliuotų rizobakterijomis, auginimo,
 B – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, inokuliuotų rizobakterijomis, auginimo.

Dirvožemio mėginiuose, gautuose nuėmus derlių, galima matyti, kad po 48 valandų inkubacijos, taip pat dominuoja angliavandenius kaip substratus naudojančios mikroorganizmai (3.8 pav.). Mažiausiai rasta mikroorganizmų, naudojančių aminų ir polimerų substratus. Su cheminėmis trąšomis tręštame dirvožemio variante 1A matomas išsiskyrimas iš kitų mėginių – mikroorganizmai daugiausia sunaudojo karboksirūgščių ir aminorūgščių, o mažiausiai fenolinių junginių. Lyginant mėginių A ir B variantus, mikroorganizmai pagal substratus pasiskirstė skirtingai: A variantuose užfiksuoti didesni mikroorganizmų kiekiai prie visų substrato rūšių. Po derliaus nuėmimo tirtų mėginių pilnas mikroorganizmų pasiskirstymas pagal 31 anglies substratą, esantį šulinėliuose, pateiktas 2 priede.



3.9 pav. Dirvožemio mėginių A ir B variantų vidurkinis pasiskirstymas pagal substrato rūšį, po 48 val.

A – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, neinokuliuotų rizobakterijomis, auginimo,

B – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, inokuliuotų rizobakterijomis, auginimo.

Tam, kad būtų galima palyginti po derliaus nuėmimo gautų mėginių A ir B variantus tarpusavyje, papildomai buvo išvesti kiekvieno dirvožemio mėginio mikroorganizmų pasiskirstymo pagal visas substratų rūšis vidurkiai. Rezultatai grafiškai pateikiami 3.9 pav. Aukščiau pateiktame grafike galima matyti, kad abejais atvejais mikroorganizmų pasiskirstymas pagal angliavandenių grupės substratų suvartojimą yra panašus. Labiausiai išsiskiria pasiskirstymas pagal fenolinius junginius – A variantuose (0,896) mikroorganizmai fenolinius junginius vartojo beveik dvigubai intensyviau, nei B variantuose (0,472). Tiek A, tiek B variantų mikroorganizmai daugiausiai pasiskirstė pagal aminorūgščių ir polimerų grupės substratus, tačiau B variantuose užfiksuotas mažesnis kiekis mikroorganizmų (0,815 ir 0,805), nei A variantuose (1,000 ir 0,991).

3.3. Išskirtos *Rhizobium* genties ir skirtingo paruošimo dirvožemių įtakos žirnių augimui įvertinimas

3.2 lentelė. Žirnių daigumo įvertinimas

Mėginio kodas	6 para	7 para	8 para	9 para	10 para	11 para	12 para	13 para	14 para	15+ para
1A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2A					+					
2B	+									
3A					+					
3B			+							
4A								+		
4B			+							
5A										+
5B			+							

1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,

2 – dirvožemis tręštas kompostu,

3 – dirvožemis tręštas durpėmis,

4 – dirvožemis tręštas mėšlu,

5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis,

A – žirnių sėklos neinokuliuotos rizobakterijomis,

B – žirnių sėklos inokuliuotos rizobakterijomis.

Sėklų daigumo įvertinime (3.2 lentelė), greičiausiai sudygo sėklos, inokuliuotos *Rhizobium* genties bakterijomis kompostu tręštame 2B dirvožemyje. Šiame dirvožemyje pirmieji daigeliai išdygo po 6 parų. Vertinant sėklų daigumą po 8 parų, daigai aptikti kituose dirvožemiuose, į kuriuos pasėtos sėklos buvo inokuliuotos *Rhizobium* genties bakterijomis – 3B (tręštas durpėmis), 4B (tręštas mėšlu) ir 5B (netręštas) mėginiuose. Vėliausiai sudygo neinokuliuotos sėklos, pasėtos 4A ir 5A dirvožemiuose (dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis ir netręštas dirvožemis). Vertinant mėginių A ir B variantus tarpusavyje, galima matyti, kad visais atvejais greičiau sudygo sėklos, kurios buvo inokuliuotos *Rhizobium* genties bakterijomis. Dirvožemio mėginiuose 1A ir 1B, kurie buvo tręšti cheminėmis trąšomis, žirniai nesudygo iš viso, nepriklausomai ar sėklos buvo inokuliuotos, ar ne. Taip įvykti galėjo dėl intensyvaus tręšimo cheminėmis trąšomis, kurios sukelia maisto medžiagų disbalansą, sutankina ir parūgština dirvožemį. Daugiausiai daigų išaugo 5B (dirvožemis tręštas kompostu, sėklos inokuliuotos *Rhizobium* genties bakterijomis) ir 4A (dirvožemis tręštas mėšlu, sėklos neinokuliuotos) mėginiuose. Žirnių augalo augimo greitis buvo nevienodas – pradžioje greičiau augo *Rhizobium* genties bakterijomis inokuliuoti B variantai, tačiau po kurio laiko jų augimas visiškai sustojo. Bakterijomis neinokuliuoti A variantai augo lėčiau, bet tolygiai. Augalo išvaizda visuose mėginiuose panaši – būdinga sodri žalia spalva, panašus lapų kiekis, jų dydis ir forma.

3.3 lentelė. Žirnių augimo įvertinimas ± standartinis nuokrypis

Mėginio kodas	Šaknų ilgis, cm	Biomasės ilgis, cm	Šviežios biomasės svoris, g	Išdžiovintas svoris, g	Sausų medžiagų kiekis, %
1A	-	-	-	-	-
1B	-	-	-	-	-
2A	11,5±0,70	13,5±0,35	1,2±0,40	0,2±0,01	16,6±0,20
2B	16,5±0,52	40,5±2,68	8,7±0,85	0,9±0,30	10,4±0,58
3A	12,0±0,47	27,5±1,05	3,1±0,35	0,6±0,20	19,4±0,28
3B	10,8±0,26	17,0±0,80	1,6±0,42	0,3±0,15	18,8±0,29
4A	13,2±0,15	30,5±2,10	7,2±0,85	1,1±0,35	15,3±0,60
4B	6,50±0,26	20,0±1,95	0,8±0,20	0,2±0,10	25,0±0,15
5A	17,5±0,49	19,5±1,10	2,0±0,35	0,3±0,01	15,0±0,18
5B	15,0±0,20	32,0±2,00	2,8±0,35	0,5±0,30	17,9±0,33

1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,

2 – dirvožemis tręštas kompostu,

3 – dirvožemis tręštas durpėmis,

4 – dirvožemis tręštas mėšlu,

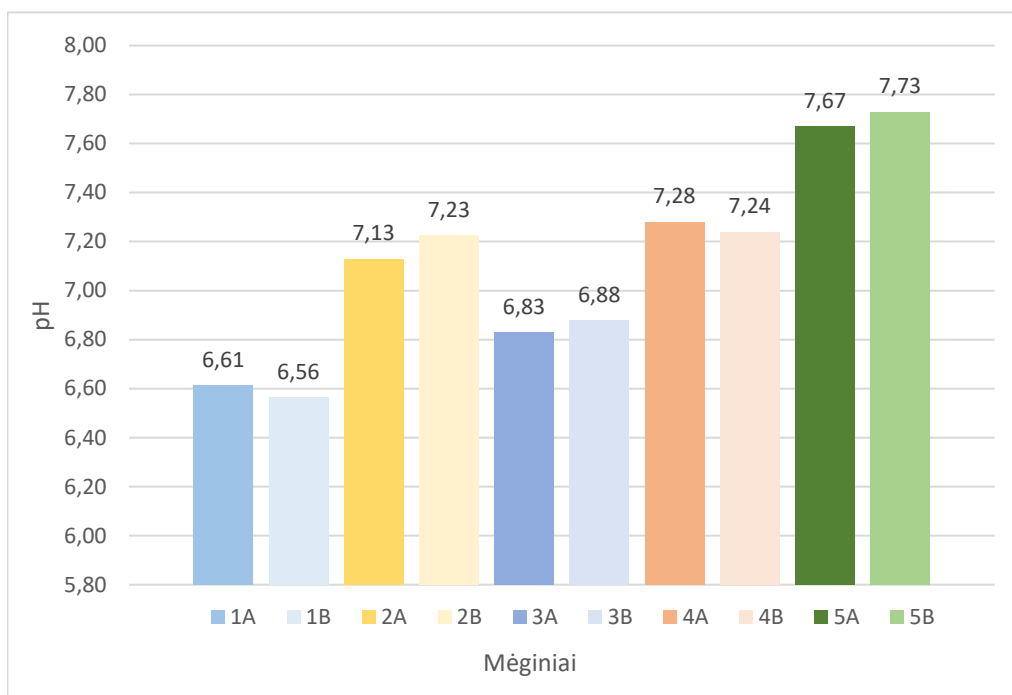
5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis,

A – žirnių sėklos neinokuliuotos rizobakterijomis,

B – žirnių sėklos inokuliuotos rizobakterijomis.

Šaknys yra svarbi augalo dalis, per kurią yra sugeriamas vanduo ir jame ištirpusios maistinės medžiagos iš dirvožemio. Dažnu atveju, gilesnės šaknys (didesnis ilgis ir tankumas) padeda augalui stabiliau įsitvirtinti dirvožemyje, lengviau pasisavinti vandenį ir išgyventi sausras. Užaugintų iki normalios brandos (69 BBCH) žirnių šaknų ilgis ir kiti išmatuoti parametrai pateikiami 3.3 lentelėje. Ilgiausios šaknys užaugo netręštame 5A dirvožemyje, kuriame žirniai auginti sėklų neinokuliuavus *Rhizobium* genties bakterijomis. Šiame dirvožemyje užaugintų žirnių šaknų ilgis siekė 17,5 cm. Nagrinėjant šio mėginio biomasės ilgį galima matyti, kad žirnių daigai ilgesni už šaknis vos dviem centimetrais – 19,5 cm. Šviežios (2,0 g) ir išdžiovintos (0,3 g) biomasės svoriai taip pat maži, o sausų medžiagų kiekis siekia 15 %. Taip pat ilgos šaknys išmatuotos žirnių, išaugusių kompostu tręštame 2B dirvožemyje – 16,5 cm, kuriame žirniai auginti inokuliuavus *Rhizobium* genties bakterijomis. Šiame mėginyje užfiksuotas ilgiausias išaugusių žirnių ilgis – 40,5 cm ir didžiausias šviežios biomasės svoris (8,7 g). Tačiau, po džiovavimo gautas sausų medžiagų kiekis mažiausias iš visų mėginių – 10,4 %. Mažiausias šaknų ilgis gautas 4B dirvožemyje (6,5 cm), kurio tręšimui buvo naudotas mėšlas, o žirniai auginti inokuliuavus augimą skatinančiomis bakterijomis. Šio mėginio žirnių augalų ilgis siekė 20,0 cm. Šviežios biomasės svoris nedidelis – 0,8 g, tačiau po džiovavimo apskaičiuotas sausų medžiagų kiekis buvo didžiausias – 25 %. Lyginant tarpusavyje A ir B variantus, didžiausias augalų ilgio skirtumas matomas 2A ir 2B mėginiuose – neinokuliuotuose ir inokuliuotuose žirniuose, išaugusiųose dirvožemyje tręštame kompostu.

3.4. Dirvožemio mėginių pH



3.10 pav. Mėginių, po derliaus nuėmimo, pH reikšmės

- 1 – dirvožemis tręštas cheminėmis trąšomis,
- 2 – dirvožemis tręštas kompostu,
- 3 – dirvožemis tręštas durpėmis,
- 4 – dirvožemis tręštas mėšlu,
- 5 – kontrolinis mėginys – netręštas dirvožemis,

A – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, neinokuliuotų rizobakterijomis, auginimo,
B – dirvožemio mėginiai po eksperimento su žirnių sėklų, inokuliuotų rizobakterijomis, auginimo.

Neišaugus žirniams 1A ir 1B variantuose, buvo papildomai išmatuotas dirvožemio pH visuose, po derliaus nuėmimo gautuose mėginiuose (rezultatai pateikiami 3.10 pav.). Didžiausios pH reikšmės užfiksuotos 5 mėginyje, kuriame dirvožemis buvo netręštas. Šiame mėginyje dirvožemis neutralus, šiek tiek į šarminę pusę. Mažiausias pH nustatytas 1 mėginyje, jame dirvožemis rūgščiausias. Šis dirvožemis buvo intensyviai tręšiamas cheminėmis trąšomis, kurios galėjo paskatinti dirvožemio rūgštėjimą. Rūgštesnis dirvožemis taip pat nustatytas ir 3 mėginyje, kuris buvo tręštas durpėmis, kurios pasižymi natūraliu rūgštingumu. Tarpusavyje lyginant A ir B variantus didelių skirtumų nepastebėta.

Atlikus visus tyrimus ir juos lyginant tarpusavyje buvo pastebėta, kad pradiniame, su cheminėmis trąšomis tręštame dirvožemio mėginyje (Nr. 1) buvo daugiausiai pelėsių grybų ir mielių, lyginant su kitais mėginiais. Išmatavus šio mėginio pH gautas didžiausias rūgštingumas. Atliekant žirnių augimo tyrimą, šiame mėginyje nesudygo nei vienas žirnis – taip įvykti galėjo dėl intensyvaus tręšimo cheminėmis trąšomis, kurios sukelia maisto medžiagų disbalansą, sutankina ir parūgština dirvožemį. Ištyrus šio dirvožemio mėginius po žirnių auginimo eksperimento (1A ir 1B), buvo gautas sumažėjęs bendras bakterijų, pelėsių grybų ir mielių skaičius. Sporinių ir azotą fiksuojančių bakterijų bei aktinomicetų kiekiai šiuose mėginiuose padidėjo. Atlikus CLPP analizę 1B mėginyje nustatytas itin mažas mikroorganizmų gausumas. Visi kiti šios analizės parametrai (rūšių skaičius bendruomenėje ir fiziologinė įvairovė) taip pat sumažėjo. Šiame mėginyje buvo pastebėtas didelis išsiskyrimas iš kitų

mėginių ties substrato rūšimis – mikroorganizmai daugiausia sunaudojo karboksirūgščių ir aminorūgščių, o mažiausiai fenolinių junginių. Galima daryti išvadą, kad per didelis cheminių trąšų naudojimas neigiamai paveikia mikroorganizmų populiacijas ir tiesiogiai mažina žirnių derlingumą.

Lyginant su kitais pradiniais dirvožemio mėginiais dirvožemio mėginį Nr. 2 (tręštą kompostu), jame gautas didžiausias bendras bakterijų, sporas formuojančių ir azotą fiksuojančių bakterijų skaičius bei užfiksuotas didžiausias mikroorganizmų rūšių skaičius ir didžiausia mikroorganizmų bendruomenės fiziologinė įvairovė. Atliekant žirnių augimo tyrimą, 2B variante buvo užfiksuotas greičiausias sėklos sudygimas – po 6 parų. Šiame, su rizobakterijomis inokuliuotame variante taip pat išmatuotas ilgiausias žirnių augalo ilgis ir didžiausias šviežios biomasės svoris. Lyginant tarpusavyje 2A ir 2B variantus pastebėta, kad 2B variante užaugę žirniai žymiai ilgesni už 2A. Nustačius bendrą azotą fiksuojančių bakterijų skaičių po derliaus nuėmimo, didesnis jų skaičius aptiktas 2A variante. Tačiau, vizualiai vertinant 2B varianto žirnių šaknis, pastebėtas didelis kiekis mazgelių, kurie būdingi *Rhizobium* genties bakterijoms (1.3 pav.). Atlikus kolonijas sudarančių vienetų nustatymą po derliaus nuėmimo gautuose dirvožemio variantuose, gauta, kad 2B variante bendras bakterijų, pelėsinų grybų ir mielių, sporinių bakterijų kiekis sumažėjo mažiau, nei 2A variante bei padidėjo aktinomicetų skaičius. Atlikus CLPP analizę, didesni indeksai užfiksuoti pradinuose mėginiuose, nei po derliaus nuėmimo, bet variantai 2A ir 2B pakito labai panašiai. Galima daryti išvadą, kad su kompostu tręštas dirvožemis geriausiai tinka mikroorganizmų gyvybingumo palaikymui derliaus augimo metu ir yra tinkamas priedas tręšiant žirnius.

Ištyrus durpėmis tręšto dirvožemio mėginį (Nr. 3), jame buvo nustatytas didžiausias bendras aktinomicetų skaičius. Visų kitų mikroorganizmų kiekiai, lyginant su kitais tirtais dirvožemio mėginiais, šiame mėginyje neišsiskyrė. Nagrinėjant CLPP analizės metu gautus pradinius duomenis buvo apskaičiuotas didelis mikroorganizmų gausumas, bendruomenės fiziologinė įvairovė ir rūšių skaičius bendruomenėje. Visi šie parametrai sumažėjo po derliaus auginimo ir nuėmimo. Mėginys labiausiai išsiskiria iš kitų pradinių mėginių, tuo, kad mažiausiai kaip substratai buvo naudojami polimerai, o ne aminai. Atliekant žirnių augimo tyrimą, buvo pastebėta, kad 3B variante, kuriame žirniai inokuliuoti rizobakterijomis, sėklos sudygo taip pat gana greitai – po 8 parų. Lyginant tarpusavyje 3A ir 3B variantus, šaknų ilgis ir sausų medžiagų kiekis buvo panašūs, bet A varianto žirniai ilgesni. Vizualiai vertinant užaugintą biomasę, 3B variante aptiktas didesnis kiekis žiedų. Apskaičiavus bendrą mikroorganizmų kiekį po derliaus nuėmimo gauta, kad 3A mėginyje padidėjo azotą fiksuojančių ir sporas formuojančių bakterijų kiekis. Lyginant su kitais mėginiais, gautais po derliaus nuėmimo, 3A mėginyje buvo nustatytas didžiausias mikroorganizmų gausumas, mikroorganizmų rūšių skaičius bendruomenėje ir fiziologinė įvairovė. Durpės pasižymi natūraliu rūgštingumu, tai atspindi ir pH matavimuose, bet ne visiems augalams rūgštus dirvožemis yra tinkamas. Taigi, durpių, kaip trąšų, naudojimas yra tinkamas žirnių auginimui ir yra palankus mikroorganizmų (ypač aktinomicetų) populiacijoms.

Analizuojant pradinį dirvožemio mėginį Nr. 4, kurio tręšimui buvo naudotas mėšlas, gauti rezultatai panašūs į 2 ir 3 mėginių rezultatus. Pradinuose mėginiuose būdingi didesni mikroorganizmų kiekiai, taip pat ir didesni CLPP analizės rodikliai. Šis mėginys išsiskiria iš kitų pradinių dirvožemio mėginių didžiausiu mikroorganizmų gausumu. Žirnių auginimo tyrime, sudygimas taip pat buvo greičiausias inokuliuojant žirnius su rizobakterijomis, jo trukmė – 8 paros. Šio dirvožemio 4B variante, žirniai pasižymėjo trumpiausiomis šaknimis, tačiau išdžiovintų sausų medžiagų kiekis buvo didžiausias iš visų mėginių. Po derliaus nuėmimo, kaip ir kituose mėginiuose, bakterijų, pelėsinų grybų ir mielių kiekis sumažėjo, bet 4A variante padidėjo azotą fiksuojančių ir sporinių bakterijų. 4B variante,

kuriame žirniai buvo inokuliuoti rizobakterijomis, pastebimas azotą fiksuojančių bakterijų sumažėjimas. Tai įrodo ir biomasės ilgio skirtumai – 4A variante žirniai išaugo žymiai ilgesni už 4B variantą. Taigi, mėšlo poveikis žirniams ir dirvožemio mikroorganizmams yra panašiausias į durpių. Kadangi mėšle yra pakankamai maži kiekiai svarbiausių augalams elementų – N, K ir P, norint geresnių rezultatų reikėtų tręšti didesniais kiekiais.

Atliekant visus tyrimus kaip kontrolinis mėginys buvo naudojamas visai netręštas dirvožemis (Nr. 5). Pradiniuose tyrimuose, kaip ir kituose mėginiuose, buvo užfiksuotas didesnis bendras mikroorganizmų skaičius ir didesni CLPP analizės metu apskaičiuoti rodikliai. Labiausiai išsiskiria po derliaus nuėmimo gautas 5B variantas, kuriame mikroorganizmų gausumas padidėjo. Atliekant žirnių augimo ir dygimo įvertinimą, greičiausias dygimas pastebėtas 5B variante, kuriame naudotos *Rhizobium* genties bakterijos. Lyginant 5A ir 5B variantų žirnių biomasės ilgį, galima matyti, kad 5B variante žirniai žymiai ilgesni, būdingas didesnis svoris ir sausų medžiagų kiekis bei daugiausiai aktinomicetų. 5A variante išmatuotas didžiausias šaknų ilgis ir didžiausias bendras bakterijų skaičius, lyginant su visais, po derliaus nuėmimo gautais dirvožemio mėginiais. Galima daryti išvadą, kad ne visada dirvožemio kokybės gerinimas ir palaikymas naudojant įvairias trąšas yra tinkamiausias metodas ir ne visada per trumpą laiką duoda išskirtinių rezultatų. Dirvožemis yra sudarytas iš mikrobiomos, kurios pagalba gali pats atsinaujinti ir užauginti derlių.

4. Rekomendacijų dalis

Šio tyrimo metu buvo nustatyta keturių skirtingų tręšimų (cheminėmis trąšomis, kompostu, durpėmis ir mėšlu) įtaka dirvožemio mikroorganizmams ir žirnių augimui bei augimą skatinančių rizobakterijų poveikis žirnių daigumui ir augimui. Norint visapusiškai pagrįsti šio tyrimo rezultatus, rekomenduojama žirnių dygimo ir augimo tyrimą pakartoti lauko sąlygomis. Darbo metu buvo naudoti trąšų mišiniai, todėl būtų tikslinga tyrimą praplėsti naudojant atskiras neorganines trąšas (azoto, fosforo ir kalio), taip pat naudojant atskirai aerobinėmis ir anaerobinėmis sąlygomis susidariusį kompostą, kietą kraikinį ir skystą bekrakį mėšlą, žaliąsias trąšas ir biotąšas.

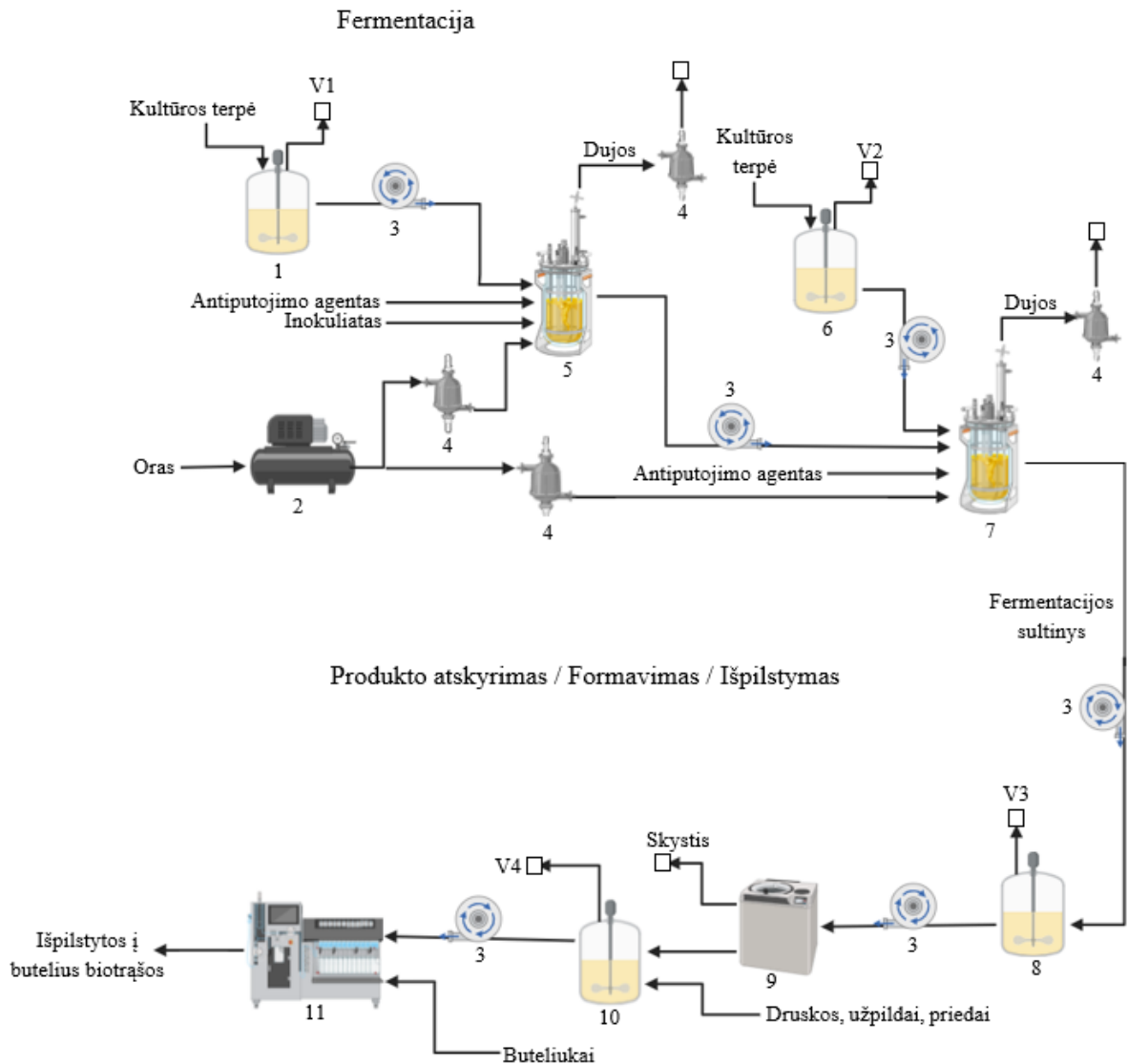
Norint nustatyti, kokios tręšimo priemonės yra tinkamiausios Lietuvos dirvožemių kokybės ir derlingumo išsaugojimui, rekomenduojama ištirti skirtingose Lietuvos vietovėse esančius dirvožemių tipus, kaip juos paveikia skirtingos trąšos ir kokios jų koncentracijos bei tręšimo dažnumas yra tinkamiausi. Atliekant mikrobiologinės sudėties analizes, rekomenduojama atlikti ir patogeninių mikroorganizmų ir jų paplitimo nustatymą. Tyrime taip pat gali būti tiriamos ir kitos Lietuvos žemės ūkiui aktualios augalų rūšys – javai, kukurūzai, rapsai, įvairios daržovės.

Šio tyrimo metu buvo planuota nustatyti žirnių biomasės elementinę sudėtį, tačiau, įrangai sugedus to padaryti nepavyko. Todėl, tęsiant toliau tą patį tyrimą, rekomenduojama nustatyti augalo elementinę sudėtį, tam, kad įvertinti rizobakterijų įtaką pačiam augalui, jo derliui ir azoto pasisavinimui.

Kadangi, papildomai inokuliuotos rizobakterijos neturėjo didelės įtakos žirnių augimui, būtų tikslinga atlikti tolimesnius tyrimus naudojant kitas augimą skatinančias bakterijas (pavyzdžiui, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*) ar jų mišinį. Šiais laikais didelis dėmesys yra skiriamas įvairių mikroorganizmų panaudojimui skatinant sėklų daigumą, augalų augimą ir derlingumą, todėl galima ištirti įvairių mikorizinių grybų ir mikrodumblių poveikį.

4.1 lentelė. Biotąšų aparatūrinės schemos žymėjimai

Nr.	Įranga	Charakteristikos	Kiekis
1	Kultūrinės terpės rezervuaras	Su maišykle	1
2	Kompresorius	Išcentrinis, be alyvos	1
3	Siurblys	Reguliuojamo greičio, išcentrinis (geriausia peristaltinis)	6
4	Filtrai	0,2 μm	4
5	Fermentatorius	Vertikalus, cilindrinis, su maišykle, 50 l	1
6	Terpės rezervuaras	Su maišykle	1
7	Pramoninis fermentatorius	Vertikalus, cilindrinis, su maišykle, 350 l	1
8	Fermentacijos sultinio rezervuaras	Vertikalus, cilindrinis, su maišykle, 600 l	1
9	Diskinė centrifūga	Nuskaidrintuvas, nuosėdų šalinimas	1
10	Produkto rezervuaras	Vertikalus, cilindrinis, su maišykle, 600 l	1
11	Produkto išpilstymo įrenginys	Automatinis, 5 buteliukai/min.	1
V1–V4	Vožtuvas	Automatinis	4



4.1 pav. Supaprastinta skystų biotrašų gamybos proceso aparatūrinė schema [130]

Pagal naujausius tyrimus, biotrašų gamybai tinkamiausia yra *Azospirillum brasilense* bakterija. Ši bakterija geba fiksuoti didelius kiekius azoto ir efektyviai tirpinti fosfatus bei išskiria augimą skatinančius hormonus, tokius kaip: auksinas, citokinas ir giberelinas, kurie padidina augalų derlingumą net 35 %. *Azospirillum brasilense* bakterija taip pat turi didelį atsparumą kintančioms aplinkos sąlygoms. Įprastai, skystųjų biotrašų gamybos procesas susideda iš trijų etapų. Pirmasis etapas – bakterijų padauginimas. Šio etapo metu, bakterijos kultivuojamos skirtingo tūrio talpose su specifine auginimo terpe (OAB), kol pasiekama norima ląstelių koncentracija, dažniausiai 10^9 ląstelių/ml. Pasiekus reikiamą ląstelių koncentraciją, skystoji kultūra kartu su gyvomis ląstelėmis yra perkeliama į didesnio tūrio talpas, su šviežia auginimo terpe (BTB-2), kuriose yra palaikoma 32 °C temperatūra, maišoma 250 aps./min., pH 6,0. Tuo metu, kol vyksta bakterijų dauginimas, fermentatoriuose paruošiama auginimo terpė, kuri vėliau užsėjama paruoštomis ląstelėmis. Dažniausiai naudojamas 5 l sėjimo tūris, kuris perkeliamas į fermentatorių su 20 l specifinės, prieš tai sterilizuotos terpės. Fermentacija paprastai trunka nuo 24 iki 55 valandų, kol gaunama didesnė nei 10^9 ląstelių/ml koncentracija, fermentacijos sąlygos: 30 ± 2 °C temperatūra, 400 aps./min., pH 6,0, aeracijos greitis 1,0 l/l/min. Baigus šį etapą, ląstelių suspensija persėjama į pramoninį fermentatorių, kuriame yra 225 l sterilizuotos terpės. Pramoninė fermentacija vykdoma 30 ± 2 °C temperatūroje, esant

600 aps./min., pH 6,2, aeracijos greitis 1,5 l/min., trukmė nuo 3 iki 4 parų. Po fermentacijos prasideda trečiasis etapas – produkto atskyrimas/formavimas/išpilstymas. Gautas fermentacijos sultinys atvėsinaamas ir perkeliamas į diskinę centrifugą, kurioje ląstelės atskiriamos, o gautas supernatantas pašalinamas. Produkto rezervuare, biomasė papildoma įvairiais priedais ir maišoma 300 aps./min. greičiu apie 6 valandas. Dažniausiai naudojami priedai apima sacharozę, glicerolį, NaH_2PO_4 ir $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$, kurie prailgina skysto produkto galiojimo laiką, apsaugo ląstelių suspensiją nuo temperatūros ar pH pokyčių bei mechaninio poveikio ir pagerina ląstelių veiksmingumą dirvožemyje. Po 6 valandų maišymo skystis tiekiamas į automatinį išpilstymo įrenginį, kuriame išpilstomas į plastikinius butelius po 1,5 l. Rekomenduojama tokius butelius iki naudojimo laikyti 10 °C temperatūroje [130].

Išvados

1. Ištyrus skirtingo tręšimo dirvožemio mėginius, didžiausias bendras bakterijų, sporas formuojančių ir azotą fiksuojančių bakterijų skaičius nustatytas 2 mėginyje – dirvožemyje, kuris buvo tręštas kompostu. CLPP analizės būdu šiame mėginyje taip pat nustatytas didžiausias mikroorganizmų rūšių skaičius ir didžiausia mikroorganizmų bendruomenės fiziologinė įvairovė. Didžiausias pelėsinių grybų skaičius buvo nustatytas cheminėmis trąšomis tręštame dirvožemyje Nr. 1. Didžiausias aktinomicetų skaičius nustatytas durpėmis tręštame dirvožemio mėginyje Nr. 3. Atlikus CLPP analizę, didžiausiu mikroorganizmų gausumu pasižymėjo mėšlu tręštas dirvožemis Nr. 4.
2. Nustatyta, kad žirnių sėklų inokuliacija *Rhizobium* genties bakterijomis didžiausią poveikį turėjo sėklų daigumui ir pradiniam augimo greičiui. Visais tirtais atvejais daug greičiau sudygo sėklos, kurios buvo inokuliuotos rizobakterijomis. Greičiausiai sudygo bakterijomis inokuliuotos žirnių sėklos, pasėtos kompostu tręštame dirvožemyje 2B, kuriame buvo nustatytas didžiausias mikroorganizmų rūšių skaičius ir didžiausia mikroorganizmų bendruomenės fiziologinė įvairovė. Šiame mėginyje taip pat užfiksuotas ilgiausias žirnių augalo ilgis ir didžiausias šviežios biomasės svoris. Ilgiausios šaknys užaugo netręštame 5A dirvožemyje, kuriame žirniai auginti sėklų neinokuliacijos *Rhizobium* genties bakterijomis. Po džiovinimo didžiausias apskaičiuotas sausų medžiagų kiekis buvo augalų, inokuliuotų rizobakterijomis ir augintų mėšlu tręštame dirvožemyje 4B. Dirvožemio mėginiuose kurie buvo tręšti cheminėmis trąšomis žirniai nesudygo, nepriklausomai ar sėklos buvo inokuliuotos, ar ne. Taip įvykti galėjo dėl intensyvaus tręšimo cheminėmis trąšomis, kurios sukelia maisto medžiagų disbalansą, sutankina ir parūgština dirvožemį.
3. Ištyrus skirtingo tręšimo dirvožemio mėginius iš karto po derliaus nuėmimo nustatyta, kad bendras mikroorganizmų skaičius beveik visuose dirvožemio mėginiuose sumažėjo. Didžiausias bendras bakterijų skaičius po derliaus nuėmimo nustatytas netręštame 5A dirvožemyje, o didžiausias pelėsinių grybų skaičius – mėšlu tręštame 4A dirvožemyje. Abiejuose variantuose žirnių augimas nebuvo skatinamas rizobakterijomis. Didžiausias mikroorganizmų gausumas, mikroorganizmų rūšių skaičius bendruomenėje ir fiziologinė įvairovė nustatyti 3A mėginyje – durpėmis tręštame dirvožemyje, kuriame žirniai auginti be rizobakterijų. Lyginant visus tirtus mėginius tarpusavyje nustatyta, kad didesne mikroorganizmų gausa, mikroorganizmų rūšių skaičiumi bendruomenėje ir fiziologine įvairove visais atvejais pasižymėjo pradiniai dirvožemio mėginiai prieš augalų auginimą.

Literatūros sąrašas

1. RAZA, A., et al. Impact of Climate Change on Crops Adaptation and Strategies to Tackle its Outcome: A Review. *Plants*, 2019, vol. 8, no. 2 ISSN 2223-7747. [žiūrėta 2023-11-10]. Prieiga per: DOI 10.3390/plants8020034.
2. HAMIDOV, A., et al. Impacts of Climate Change Adaptation Options on Soil Functions: A Review of European Case-Studies. *Land Degradation & Development*, 20180530, Aug, 2018, vol. 29, no. 8. pp. 2378-2389 ISSN 1099-145X; 1085-3278; 1085-3278. [žiūrėta 2024-02-17]. Prieiga per: DOI 10.1002/ldr.3006.
3. KANNOJIA, P., SHARMA, P.K. and SHARMA, K. Climate Change and Agricultural Ecosystems K.K. CHOUDHARY, A. KUMAR and A.K. SINGH eds., Woodhead Publishing, 2019 *Chapter 3 - Climate Change and Soil Dynamics: Effects on Soil Microbes and Fertility of Soil*, pp. 43-64. [žiūrėta 2024-04-03]. Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128164839000037> ISBN 9780128164839. DOI 10.1016/B978-0-12-816483-9.00003-7.
4. SCHLOTTER, M., NANNIPIERI, P., SØRENSEN, S.J. and VAN ELSAS, J.D. Microbial Indicators for Soil Quality. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, vol. 54, no. 1. pp. 1-10. [žiūrėta 2022-11-25]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1007/s00374-017-1248-3> ISSN 1432-0789. DOI 10.1007/s00374-017-1248-3.
5. ASGHAR, W., et al. New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering H.B. SINGH and A. VAISHNAV eds., Elsevier, 2022 *Chapter 1 - Alternative Strategies to Synthetic Chemical Fertilizers: Revitalization of Soil Quality for Sustainable Agriculture using Organic-Based Approaches*, pp. 1-30. [žiūrėta 2023-01-18] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323855815000033> ISBN 9780323855815. DOI 10.1016/B978-0-323-85581-5.00003-3.
6. SPOSITO, G. Encyclopedia Britannica, 2024 *Soil*. [žiūrėta 2024-02-15] Prieiga per: <https://www.britannica.com/science/soil>.
7. SCHLÜTER, S. and KOESTEL, J. Encyclopedia of Soils in the Environment (Second Edition) M.J. GOSS and M. OLIVER eds., Oxford: Academic Press, 2023 *Soil Structure*, pp. 1-7. [žiūrėta 2024-03-27] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128229743001348> ISBN 9780323951333. DOI 10.1016/B978-0-12-822974-3.00134-8.
8. RAI, R.K., SINGH, V.P. and UPADHYAY, A. Planning and Evaluation of Irrigation Projects R.K. RAI, V.P. SINGH and A. UPADHYAY eds., Academic Press, 2017 *Chapter 17 - Soil Analysis*, pp. 505-523. [žiūrėta 2024-03-27] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128117484000170> ISBN 9780128117484. DOI 10.1016/B978-0-12-811748-4.00017-0.
9. PEREZ LUCAS, G., VELA, N., AATIK, A. and NAVARRO, S., 2018 *Environmental Risk of Groundwater Pollution by Pesticide Leaching through the Soil Profile* ISBN 978-953-51-7998-6. DOI 10.5772/intechopen.82418. [žiūrėta 2024-04-15] Prieiga per: <https://www.intechopen.com/chapters/64602>.
10. NEEDELMAN, B. A. Nature Education, 2013, *What are soils?* Prieiga per: <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/what-are-soils-67647639/>
11. DE MELO, W.J., et al. Soil Management and Climate Change M.Á MUÑOZ and R. ZORNOZA eds., Academic Press, 2018 *Chapter 13 - Nitrogen Dynamic in Agricultural Soils Amended with*

- Sewage Sludge*, pp. 189-205. [žiūrēta 2022-12-02] Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128121283000136> ISBN
 9780128121283. DOI 10.1016/B978-0-12-812128-3.00013-6.
12. MAXIMILLIAN, J., BRUSSEAU, M.L., GLENN, E.P. and MATTHIAS, A.D. *Environmental and Pollution Science (Third Edition)* M.L. BRUSSEAU, I.L. PEPPER and C.P. GERBA eds., Academic Press, 2019 *Chapter 25 - Pollution and Environmental Perturbations in the Global System*, pp. 457-476. [žiūrēta 2022-12-15] Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128147191000252> ISBN
 9780128147191. DOI 10.1016/B978-0-12-814719-1.00025-2.
13. SIMS, G.K. *Soil Degradation*. New York: McGraw Hill, 2023 [žiūrēta 2024-05-03] Prieiga per:
<https://www.accessscience.com/content/article/a757375> DOI 10.1036/1097-8542.757375.
14. NUNES, F.C., et al. *Climate Change and Soil Interactions* M.N.V. PRASAD and M. PIETRZYKOWSKI eds., Elsevier, 2020 *Chapter 9 - Soil as a Complex Ecological System for Meeting Food and Nutritional Security*, pp. 229-269. [žiūrēta 2024-05-03] Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128180327000096> ISBN
 9780128180327. DOI 10.1016/B978-0-12-818032-7.00009-6.
15. SCANES, C.G. *Animals and Human Society* C.G. SCANES and S.R. TOUKHSATI eds., Academic Press, 2018 *Chapter 18 - Impact of Agricultural Animals on the Environment*, pp. 427-449. [žiūrēta 2023-07-29] Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128052471000253> ISBN
 9780128052471. DOI 10.1016/B978-0-12-805247-1.00025-3.
16. HATFIELD, J.L., SAUER, T.J. and CRUSE, R.M. Chapter One - Soil: The Forgotten Piece of the Water, Food, Energy Nexus. *Advances in Agronomy*, 2017, vol. 143. pp. 1-46. [žiūrēta 2023-08-06] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065211317300044> ISSN 0065-2113. DOI 10.1016/bs.agron.2017.02.001.
17. LONGJUN, C. *Encyclopedia of Environmental Health (Second Edition)* J. NRIAGU ed., Oxford: Elsevier, 2019 *UN Convention to Combat Desertification* ☆, pp. 238-251. [žiūrēta 2023-06-30] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124095489117579> ISBN 9780444639523. DOI 10.1016/B978-0-12-409548-9.11757-9.
18. LOTHAN, G. and RODRIGUEZ, E. *Encyclopedia Britannica*, 2024 *Erosion*. [žiūrēta 2024-02-17] Prieiga per: <https://www.britannica.com/science/erosion-geology>.
19. MCIVOR, I., et al. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems* N.K. VAN ALFEN ed., Oxford: Academic Press, 2014 *Agroforestry: Conservation Trees and Erosion Prevention*, pp. 208-221. [žiūrēta 2023-05-28] Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444525123002473> ISBN
 9780080931395. DOI 10.1016/B978-0-444-52512-3.00247-3.
20. DÖRING, J., et al. *Improving Sustainable Viticulture and Winemaking Practices* J.M. COSTA, S. CATARINO, J.M. ESCALONA and P. COMUZZO eds., Academic Press, 2022 *Chapter 5 - Soil Management in Sustainable Viticultural Systems: An Agroecological Evaluation*, pp. 85-103. [žiūrēta 2023-10-18] Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323851503000165> ISBN
 9780323851503. DOI 10.1016/B978-0-323-85150-3.00016-5.

21. GOULDING, K. W. T. Soil Use and Management, 2016 *Soil acidification and the importance of liming agricultural soils with particular reference to the United Kingdom*, vol. 32,3 pp. 390-399. [žiūrēta 2024-04-09] Prieiga per: <https://doi.org/10.1111/sum.12270>
22. PRESCOTT, C.E., KATZENSTEINER, K. and WESTON, C. Soils and Landscape Restoration J.A. STANTURF and M.A. CALLAHAM eds., Academic Press, 2021 *Chapter 11 - Soils and Restoration of Forested Landscapes*, pp. 299-331. [žiūrēta 2024-04-09] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128131930000114> ISBN 9780128131930. DOI 10.1016/B978-0-12-813193-0.00011-4. [3] <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-14034-1.00009-5>
23. BUI, E.N. *Causes of Soil Salinization, Sodification, and Alkalinization*. Oxford University Press, 2017 [žiūrēta 2024-04-10] Prieiga per: <https://oxfordre.com/environmentalscience/view/10.1093/acrefore/9780199389414.001.0001/acrefore-9780199389414-e-264> DOI 10.1093/acrefore/9780199389414.013.264.
24. MSIMBIRA, L.A. and SMITH, D.L. The Roles of Plant Growth Promoting Microbes in Enhancing Plant Tolerance to Acidity and Alkalinity Stresses. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2020, vol. 4. [žiūrēta 2024-03-16] Prieiga per: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fsufs.2020.00106> ISSN 2571-581X.
25. NEINA, D. The Role of Soil pH in Plant Nutrition and Soil Remediation. *Applied and Environmental Soil Science*, 2019, vol. 2019. pp. 5794869. [žiūrēta 2024-02-27] Prieiga per: <https://doi.org/10.1155/2019/5794869> ISSN 1687-7667. DOI 10.1155/2019/5794869.
26. KOUKOUZAS, N., et al. Handbook of Fly Ash K.K. KAR ed., Butterworth-Heinemann, 2022 *15 - Soil Stabilization*, pp. 475-500. [žiūrēta 2024-02-25] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128176863000049> ISBN 9780128176863. DOI 10.1016/B978-0-12-817686-3.00004-9.
27. SINGH, A. Soil Salinization Management for Sustainable Development: A Review. *Journal of Environmental Management*, 2021, vol. 277. pp. 111383. [žiūrēta 2024-03-12] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479720313086> ISSN 0301-4797. DOI 10.1016/j.jenvman.2020.111383.
28. ARTIOLA, J.F., WALWORTH, J.L., MUSIL, S.A. and CRIMMINS, M.A. Environmental and Pollution Science (Third Edition) M.L. BRUSSEAU, I.L. PEPPER and C.P. GERBA eds., Academic Press, 2019 *Chapter 14 - Soil and Land Pollution*, pp. 219-235. [žiūrēta 2024-04-04] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128147191000148> ISBN 9780128147191. DOI 10.1016/B978-0-12-814719-1.00014-8.
29. IMADI, S.R., et al. Plant Metal Interaction P. AHMAD ed., Elsevier, 2016 *Chapter 18 - Phytoremediation of Saline Soils for Sustainable Agricultural Productivity*, pp. 455-468. [žiūrēta 2024-01-15] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128031582000187> ISBN 9780128031582. DOI 10.1016/B978-0-12-803158-2.00018-7.
30. SHRIVASTAVA, P. and KUMAR, R. Soil Salinity: A Serious Environmental Issue and Plant Growth Promoting Bacteria as One of the Tools for its Alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2015, vol. 22, no. 2. pp. 123-131. [žiūrēta 2024-01-30] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X14001715> ISSN 1319-562X. DOI 10.1016/j.sjbs.2014.12.001.

31. BRITO, F.A.L., et al. Sustainable Crop Productivity and Quality Under Climate Change F. LIU, et al ed., Academic Press, 2022 *Chapter 5 - Crop Exposure to Salinity Stress Under Elevated CO₂: Responses in Physiological, Biochemical, and Molecular Levels*, pp. 73-89. [žiūrēta 2024-04-17] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978032385449800004X> ISBN 9780323854498. DOI 10.1016/B978-0-323-85449-8.00004-X.
32. MACHADO, R.M. and SERRALHEIRO, R.P. Soil Salinity: Effect on Vegetable Crop Growth. Management Practices to Prevent and Mitigate Soil Salinization. *Horticulturae*, 2017, vol. 3, no. 2 ISSN 2311-7524. [žiūrēta 2024-05-12] Prieiga per: DOI 10.3390/horticulturae3020030.
33. ONDRASEK, G. and RENGEL, Z. Environmental Salinization Processes: Detection, Implications & Solutions. *Science of the Total Environment*, 2021, vol. 754. pp. 142432. [žiūrēta 2023-10-19] Prieiga per: [ISSN 0048-9697. DOI 10.1016/j.scitotenv.2020.142432.](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142432)
34. SIMPSON, M.J. and SIMPSON, A.J. Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Third Edition) J.C. LINDON, G.E. TRANTER and D.W. KOPPENAAL eds., Oxford: Academic Press, 2017 *NMR of Soil Organic Matter*, pp. 170-174. [žiūrēta 2023-11-11] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124095472121699> ISBN 9780128032244. DOI 10.1016/B978-0-12-409547-2.12169-9.
35. JINGJIE, H., et al. The Effects of Soil Depth on the Structure of Microbial Communities in Agricultural Soils in Iowa (United States). *Applied and Environmental Microbiology*, 2021, vol. 87, no. 4. pp. 2673. [žiūrēta 2023-11-25] Prieiga per: <https://doi.org/10.1128/AEM.02673-20> DOI 10.1128/AEM.02673-20.
36. RCHIAD, Z., et al. Soil Depth significantly Shifted Microbial Community Structures and Functions in a Semiarid Prairie Agroecosystem. *Frontiers in Microbiology*, 2022, vol. 13. [žiūrēta 2023-10-19] Prieiga per: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.815890> ISSN 1664-302X.
37. ZHAO, M., et al. Soil Microbial Abundance was More Affected by Soil Depth than the Altitude in Peatlands. *Frontiers in Microbiology*, 2022, vol. 13. [žiūrēta 2023-19-24] Prieiga per: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.1068540> ISSN 1664-302X.
38. TRIVEDI, P., et al. Plant–microbiome Interactions: From Community Assembly to Plant Health. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, vol. 18, no. 11. pp. 607-621. [žiūrēta 2023-09-17] Prieiga per: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1> ISSN 1740-1534. DOI 10.1038/s41579-020-0412-1.
39. DE SENA, A., MOSDOSSY, K., WHALEN, J.K. and MADRAMOOTOO, C.A. Encyclopedia of Soils in the Environment (Second Edition) M.J. GOSS and M. OLIVER eds., Oxford: Academic Press, 2023 *Root Exudates and Microorganisms*, pp. 343-356. [žiūrēta 2023-12-17] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128229743001257> ISBN 9780323951333. DOI 10.1016/B978-0-12-822974-3.00125-7.
40. TALWAR, H. K. and CHATLI, A. S. International Journal of Advanced Research (IJAR), 2018, pp. 1502-1520. [žiūrēta 2023-11-19] Prieiga per: <https://www.journalijar.com/article/25601/microflora-of-soil:-a-review/>. ISSN 2320-5407. DOI 10.21474/IJAR01/7960.
41. MENDES, R., GARBEVA, P. and RAAIJMAKERS, J.M. The Rhizosphere Microbiome: Significance of Plant Beneficial, Plant Pathogenic, and Human Pathogenic Microorganisms.

- FEMS Microbiology Reviews*, 2013, vol. 37, no. 5. pp. 634-663. [žiūrēta 2024-04-14] Prieiga per: <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028> ISSN 0168-6445. DOI 10.1111/1574-6976.12028.
42. GOEL, R., et al. Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives: Volume 1: Fundamental Mechanisms, Methods and Functions D.P. SINGH, H.B. SINGH and R. PRABHA eds., Singapore: Springer Singapore, 2017 *Root-Associated Bacteria: Rhizosphere and Endosphere*, pp. 161-176. [žiūrēta 2024-03-16] Prieiga per: https://doi.org/10.1007/978-981-10-5813-4_9 ISBN 978-981-10-5813-4. DOI 10.1007/978-981-10-5813-4_9.
 43. BAI, B., LIU, W., QIU, X., et al. Journal of Integrative Plant Biology, 2022 *The root microbiome: Community assembly and its contributions to plant fitness*. [žiūrēta 2024-03-25] Prieiga per: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jipb.13226>.
 44. FERNANDES, C. and RAVI, L. Microbial Symbionts D. DHARUMADURAI ed., Academic Press, 2023 *Chapter 18 - Screening of Symbiotic Ability of Rhizobium Under Hydroponic Conditions*, pp. 327-341. [žiūrēta 2024-03-25] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323993340000372> ISBN 9780323993340. DOI 10.1016/B978-0-323-99334-0.00037-2.
 45. LEWIS, J.D. Encyclopedia of Evolutionary Biology R.M. KLIMAN ed., Oxford: Academic Press, 2016 *Mycorrhizal Fungi, Evolution and Diversification Of*, pp. 94-99. [žiūrēta 2024-04-12] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128000496002511> ISBN 9780128004265. DOI 10.1016/B978-0-12-800049-6.00251-1.
 46. AL-ANI, L.K.T. and FURTADO, E.L. Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture V. SHARMA, R. SALWAN and L.K.T. AL-ANI eds., Academic Press, 2020 *Chapter 4 - the Effect of Incompatible Plant Pathogens on the Host Plant*, pp. 47-57. [žiūrēta 2024-03-18] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128184691000043> ISBN 9780128184691. DOI 10.1016/B978-0-12-818469-1.00004-3.
 47. TERMORSHUIZEN, A.J. Interactions in Soil: Promoting Plant Growth J. DIGHTON and J.A. KRUMINS eds., Dordrecht: Springer Netherlands, 2014 *Root Pathogens*, pp. 119-137. [žiūrēta 2023-02-18] Prieiga per: https://doi.org/10.1007/978-94-017-8890-8_6 ISBN 978-94-017-8890-8. DOI 10.1007/978-94-017-8890-8_6.
 48. AYNAUD, X. and NUNAN, N. Spatial Ecology of Bacteria at the Microscale in Soil. *Plos One*, 2014, vol. 9, no. 1. pp. e87217. [žiūrēta 2023-08-15] Prieiga per: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087217>.
 49. LÓPEZ-MONDÉJAR, R., et al. Cellulose and Hemicellulose Decomposition by Forest Soil Bacteria Proceeds by the Action of Structurally Variable Enzymatic Systems. *Scientific Reports*, 2016, vol. 6, no. 1. pp. 25279. [žiūrēta 2023-06-17] Prieiga per: <https://doi.org/10.1038/srep25279> ISSN 2045-2322. DOI 10.1038/srep25279.
 50. ZHAN, Y., et al. Fertilization Shapes a Well-Organized Community of Bacterial Decomposers for Accelerated Paddy Straw Degradation. *Scientific Reports*, 2018, vol. 8, no. 1. pp. 7981. [žiūrēta 2023-07-17] Prieiga per: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26375-8> ISSN 2045-2322. DOI 10.1038/s41598-018-26375-8.
 51. GAYATHRI, G., GOMATHI, S., AMBIKAPATHY, V. and PANNEERSELVAM, A. Plant-Microbe Interaction - Recent Advances in Molecular and Biochemical Approaches P. SWAPNIL, et al ed., Academic Press, 2023 *Chapter 13 - Improvement of Soil Fertility through Plant Microbial Interaction*, pp. 281-301. [žiūrēta 2023-05-30] Prieiga per:

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323918756000050> ISBN 9780323918756. DOI 10.1016/B978-0-323-91875-6.00005-0.
52. LOTHAN, G., AUGUSTYN, A., ROGERS, K., et al. Encyclopedia Britannica, 2024 *Nitrogen-fixing bacteria*. [žiūrēta 2024-03-13] Prieiga per: <https://www.britannica.com/science/nitrogen-fixing-bacteria>
53. RANA, A., PANDEY, R.K. and RAMAKRISHNAN, B. Smart Bioremediation Technologies P. BHATT ed., Academic Press, 2019 *Chapter 3 - Enzymology of the Nitrogen Cycle and Bioremediation of Toxic Nitrogenous Compounds*, pp. 45-61. [žiūrēta 2023-04-29] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128183076000032> ISBN 9780128183076. DOI 10.1016/B978-0-12-818307-6.00003-2.
54. QASIM, W., et al. The Potential Importance of Soil Denitrification as a Major N Loss Pathway in Intensive Greenhouse Vegetable Production Systems. *Plant and Soil*, 2022, vol. 471, no. 1. pp. 157-174. [žiūrēta 2023-04-17] Prieiga per: <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05187-2> ISSN 1573-5036. DOI 10.1007/s11104-021-05187-2.
55. TIAN, J., et al. Roles of Phosphate Solubilizing Microorganisms from Managing Soil Phosphorus Deficiency to Mediating Biogeochemical P Cycle. *Biology*, 2021, vol. 10, no. 2 ISSN 2079-7737. [žiūrēta 2023-06-14] Prieiga per: DOI 10.3390/biology10020158.
56. DWIVEDI, M. Beneficial Microbes in Agro-Ecology N. AMARESAN, et al ed., Academic Press, 2020 *Chapter 25 - Gluconobacter*, pp. 521-544. [žiūrēta 2024-01-06] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128234143000253> ISBN 9780128234143. DOI 10.1016/B978-0-12-823414-3.00025-3.
57. PRABHU, N., BORKAR, S. and GARG, S. Advances in Biological Science Research S.N. MEENA and M.M. NAIK eds., Academic Press, 2019 *Chapter 11 - Phosphate Solubilization by Microorganisms: Overview, Mechanisms, Applications and Advances*, pp. 161-176. [žiūrēta 2024-02-22] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128174975000112> ISBN 9780128174975. DOI 10.1016/B978-0-12-817497-5.00011-2.
58. SYKES, J.E. and RANKIN, S.C. Canine and Feline Infectious Diseases J.E. SYKES ed., Saint Louis: W.B. Saunders, 2014 *Chapter 4 - Isolation and Identification of Fungi*, pp. 29-36. [žiūrēta 2023-02-28] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781437707953000041> ISBN 9781437707953. DOI 10.1016/B978-1-4377-0795-3.00004-1.
59. ZAKHARTSEV, M. and REUSS, M. Cell Size and Morphological Properties of Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* in Relation to Growth Temperature. *FEMS Yeast Research*, 2018, vol. 18, no. 6. pp. foy052. [žiūrēta 2023-07-25] Prieiga per: <https://doi.org/10.1093/femsyr/foy052> ISSN 1567-1356. DOI 10.1093/femsyr/foy052.
60. MATTHIAS, M. and GAUR, A. Encyclopedia Britannica, 2024 *Yeast*. [žiūrēta 2024-01-11] Prieiga per: <https://www.britannica.com/science/yeast-fungus>.
61. YURKOV, A. M. Yeast, 2018 *Yeasts of the soil – obscure but precious*, vol. 35,5, pp. 369-378. [žiūrēta 2024-05-01] Prieiga per: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29365211/>. DOI: 10.1002/yea.3310.
62. ROSAS-MEDINA, M., MACIÁ-VICENTE, J.G. and PIEPENBRING, M. Diversity of Fungi in Soils with Different Degrees of Degradation in Germany and Panama. *Mycobiology*, 2020, vol. 48, no. 1. pp. 20-28. [žiūrēta 2023-08-19] Prieiga per:

63. HIMALINI, S. and RAZIA, M. Jetir, 2019 *Role of fungi in soil health*, vol. 6, no. 1. [žiūrēta 2024-03-18] Prieiga per: <https://www.jetir.org/papers/JETIR1901154.pdf>. ISSN 2349-5162.
64. BERTINI, S.C.B. and AZEVEDO, L.C.B. Microbiome Under Changing Climate A. KUMAR, J. SINGH and L.F.R. FERREIRA eds., Woodhead Publishing, 2022 *Chapter 3 - Soil Microbe Contributions in the Regulation of the Global Carbon Cycle*, pp. 69-84. [žiūrēta 2023-06-24] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323905718000031> ISBN 9780323905718. DOI 10.1016/B978-0-323-90571-8.00003-1.
65. HAYES, M.H.B., MYLOTTE, R. and SWIFT, R.S. Chapter Two - Humin: Its Composition and Importance in Soil Organic Matter. *Advances in Agronomy*, 2017, vol. 143. pp. 47-138. [žiūrēta 2024-01-22] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065211317300019> ISSN 0065-2113. DOI 10.1016/bs.agron.2017.01.001.
66. FRĄC, M., HANNULA, S.E., BEŁKA, M. and JEŃDRYCZKA, M. Fungal Biodiversity and their Role in Soil Health. *Frontiers in Microbiology*, 2018, vol. 9. [žiūrēta 2024-01-26] Prieiga per: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.00707> ISSN 1664-302X.
67. RODRIGUEZ, E. et al. Encyclopedia Britannica, 2024 *Actinomycete*. [žiūrēta 2024-02-15] Prieiga per: <https://www.britannica.com/science/actinomycete>
68. SILVA, G.d.C., KITANO, I.T., Ribeiro, Iron Amoreli de Figueiredo and LACAVA, P.T. The Potential use of Actinomycetes as Microbial Inoculants and Biopesticides in Agriculture. *Frontiers in Soil Science*, 2022, vol. 2. [žiūrēta 2024-03-24] Prieiga per: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fsoil.2022.833181> ISSN 2673-8619.
69. LI, Q., CHEN, X., JIANG, Y. and JIANG, C. Actinobacteria Dharumadurai Dhanasekaran and Yi Jiang eds., Rijeka: IntechOpen, 2016 *Morphological Identification of Actinobacteria*, pp. Ch. 3. [žiūrēta 2022-11-15] Prieiga per: <https://doi.org/10.5772/61461> DOI 10.5772/61461.
70. BHATTI, A.A., HAQ, S. and BHAT, R.A. Actinomycetes Benefaction Role in Soil and Plant Health. *Microbial Pathogenesis*, 2017, vol. 111. pp. 458-467. [žiūrēta 2023-02-24] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401017305880> ISSN 0882-4010. DOI 10.1016/j.micpath.2017.09.036.
71. MAST, Y. and STEGMANN, E. Actinomycetes: The Antibiotics Producers. *Antibiotics*, 2019, vol. 8, no. 3 ISSN 2079-6382. [žiūrēta 2022-12-28] Prieiga per: DOI 10.3390/antibiotics8030105.
72. ISMAIL, S., et al. Investigation of Streptomyces Scabies Causing Potato Scab by various Detection Techniques, its Pathogenicity and Determination of Host-Disease Resistance in Potato Germplasm. *Pathogens*, 2020, vol. 9, no. 9 ISSN 2076-0817. [žiūrēta 2023-05-11] Prieiga per: DOI 10.3390/pathogens9090760.
73. SANKARAN, R., SHOW, P.L., NAGARAJAN, D. and CHANG, J. Waste Biorefinery T. BHASKAR, et al ed., Elsevier, 2018 *Chapter 19 - Exploitation and Biorefinery of Microalgae*, pp. 571-601. [žiūrēta 2023-11-28] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444639929000197> ISBN 9780444639929. DOI 10.1016/B978-0-444-63992-9.00019-7.
74. SPAIN, O. and FUNK, C. Detailed Characterization of the Cell Wall Structure and Composition of Nordic Green Microalgae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, vol. 70, no. 31.

- pp. 9711-9721. [žiūrēta 2023-07-15] Prieiga per: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c02783> ISSN 0021-8561. DOI 10.1021/acs.jafc.2c02783.
75. SONG, X., et al. Potential Applications for Multifunctional Microalgae in Soil Improvement. *Frontiers in Environmental Science*, 2022 [žiūrēta 2023-07-15] , vol. 10. Prieiga per: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2022.1035332> ISSN 2296-665X.
76. ALVAREZ, A.L., et al. Microalgae, Soil and Plants: A Critical Review of Microalgae as Renewable Resources for Agriculture. *Algal Research*, 2021, vol. 54. pp. 102200. [žiūrēta 2023-07-15] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926421000199> ISSN 2211-9264. DOI 10.1016/j.algal.2021.102200.
77. AMMAR, E.E., et al. Algae as Bio-Fertilizers: Between Current Situation and Future Prospective. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2022, vol. 29, no. 5. pp. 3083-3096. [žiūrēta 2024-02-14] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X22001759> ISSN 1319-562X. DOI 10.1016/j.sjbs.2022.03.020.
78. OSORIO-REYES, J., et al. Microalgae-Based Biotechnology as Alternative Biofertilizers for Soil Enhancement and Carbon Footprint Reduction: Advantages and Implications. *Marine Drugs*, 2023, vol. 21, no. 2 ISSN 1660-3397. [žiūrēta 2024-01-18] DOI 10.3390/md21020093.
79. FOISSNER, W. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences Elsevier, 2014 *Protozoa* ☆. [žiūrēta 2024-01-18] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124095489091302> ISBN 9780124095489. DOI 10.1016/B978-0-12-409548-9.09130-2.
80. WARREN, A. and ESTEBAN, G.F. Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates (Fourth Edition) D.C. ROGERS and J.H. THORP eds., Boston: Academic Press, 2019 *Chapter 2 - Protozoa*, pp. 7-42. [žiūrēta 2024-02-15] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123850249000022> ISBN 9780123850249. DOI 10.1016/B978-0-12-385024-9.00002-2.
81. LAYBOURN-PARRY, J. E. M., DIAZ, J. M., Encyclopedia Britannica, 2024 *Protozoan*. [žiūrēta 2024-03-03] Prieiga per: <https://www.britannica.com/science/protozoan/Form-and-function>.
82. FREYER, B., ELLSSEL, P., FRIEDEL, J.K. and MÖLLER, K. Encyclopedia of Soils in the Environment (Second Edition) M.J. GOSS and M. OLIVER eds., Oxford: Academic Press, 2023 *The Contribution of Organic Farming Systems to Soil fertility—A Systems Perspective*, pp. 135-145. [žiūrēta 2024-02-15] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128229743002408> ISBN 9780323951333. DOI 10.1016/B978-0-12-822974-3.00240-8.
83. SNELL, E. E., CARPENTER, K. and TRUSWELL, A. S., Encyclopedia Britannica, 2024 *Nutrition in plants*. [žiūrēta 2024-03-03] Prieiga per: <https://www.britannica.com/science/nutrition/Nutrition-in-plants>.
84. ABELLA, J., ANDERSON, M., Encyclopedia Britannica, 2024 *Humus*. [žiūrēta 2024-03-03] Prieiga per: <https://www.britannica.com/science/humus-soil-component>.
85. BANSAL, M. Food Safety in the 21st Century R.K. GUPTA, Dudeja and Singh Minhas, eds., San Diego: Academic Press, 2017 *Chapter 43 - Organic Farming: Is it a Solution to Safe Food?*, pp. 515-525. [žiūrēta 2024-05-01] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128017739000431> ISBN 9780128017739. DOI 10.1016/B978-0-12-801773-9.00043-1.

86. DE CORATO, U. Towards New Soil Management Strategies for Improving Soil Quality and Ecosystem Services in Sustainable Agriculture: Editorial Overview. *Sustainability*, 2020, vol. 12, no. 22 ISSN 2071-1050. [žiūrēta 2024-04-16] DOI 10.3390/su12229398.
87. WHITE, C. And BARBERCHECK, M., PennState Extension, 2017, *Managing Soil Health: Concepts and Practises*. [žiūrēta 2024-03-29] Prieiga per: <https://extension.psu.edu/managing-soil-health-concepts-and-practises>.
88. STEWART, R. E., Encyclopedia Britannica, 2024, *Fertilizer*. [žiūrēta 2024-03-03] Prieiga per: <https://www.britannica.com/topic/fertilizer>.
89. SELLARS, S. and Nunes, v., farmoc daily, Department of Agricultural and Consumer Economics, University of Illinois at Urbana-Champaign, 2021, *Synthetic Nitrogen Fertilizer in the U.S.*, (11):24. [žiūrēta 2024-04-28] Prieiga per: <https://farmdocdaily.illinois.edu/2021/02/synthetic-nitrogen-fertilizer-in-the-us.html>.
90. EUROPEAN COMMISSION, EU Agricultural Markets and Briefs, 2019 *Fertilisers in the EU, Prices, trade and use*. [žiūrēta 2024-05-02] Prieiga per: https://agriculture.ec.europa.eu/system/files/2019-07/market-brief-fertilisers_june2019_en_0.pdf.
91. BINDRABAN, P.S., DIMKPA, C.O. and PANDEY, R. Exploring Phosphorus Fertilizers and Fertilization Strategies for Improved Human and Environmental Health. *Biology and Fertility of Soils*, 2020, vol. 56, no. 3. pp. 299-317. [žiūrēta 2024-01-14] Prieiga per: <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01430-2> ISSN 1432-0789. DOI 10.1007/s00374-019-01430-2.
92. MURRELL, T.S. and PITCHAY, D. *Evaluating Plant Potassium Status*. MURRELL, T. Scott, et al ed., Cham: Springer International Publishing, Crops, 2021 [žiūrēta 2024-01-27] ISBN 978-3-030-59197-7.
93. YAHAYA, S.M., MAHMUD, A.A., ABDULLAHI, M. and HARUNA, A. Recent Advances in the Chemistry of Nitrogen, Phosphorus and Potassium as Fertilizers in Soil: A Review. *Pedosphere*, 2023, vol. 33, no. 3. pp. 385-406. [žiūrēta 2024-02-15] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1002016022000807> ISSN 1002-0160. DOI 10.1016/j.pedsph.2022.07.012.
94. PAHALVI, H.N., et al. Microbiota and Biofertilizers, Vol 2: Ecofriendly Tools for Reclamation of Degraded Soil Environs G.H. DAR, R.A. BHAT, M.A. MEHMOOD and K.R. HAKEEM eds., Cham: Springer International Publishing, 2021 *Chemical Fertilizers and their Impact on Soil Health*, pp. 1-20. [žiūrēta 2024-04-18] Prieiga per: https://doi.org/10.1007/978-3-030-61010-4_1 ISBN 978-3-030-61010-4. DOI 10.1007/978-3-030-61010-4_1.
95. LEMLEY, D.A. and ADAMS, J.B. Encyclopedia of Ecology (Second Edition) B. FATH ed., Oxford: Elsevier, 2019 *Eutrophication*, pp. 86-90. [žiūrēta 2023-11-25] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124095489109571> ISBN 97804444641304. DOI 10.1016/B978-0-12-409548-9.10957-1.
96. DINČÁ, L.C., GRENNI, P., ONET, C. and ONET, A. Fertilization and Soil Microbial Community: A Review. *Applied Sciences*, 2022, vol. 12, no. 3 ISSN 2076-3417. [žiūrēta 2024-01-05] DOI 10.3390/app12031198.
97. TASSWAR, T., et al. Compost and Chemical Fertilizer Triggered Pedospheric Compartment's Varied Response and Phyto-Morphological Alterations in Helianthus Annuus. *Journal of King Saud University - Science*, 2023, vol. 35, no. 11. pp. 102985. [žiūrēta 2024-03-05] Prieiga per:

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018364723004470> ISSN 1018-3647. [žiūrēta 2024-01-23] DOI 10.1016/j.jksus.2023.102985.
98. MCKENZIE, I., SEECHARRAN, D., JAIKISHUN, S. and ANSARI, A. Comparative Review of Aerobic and Anaerobic Composting for the Reduction of Organic Waste. *Agricultural Reviews*, 2022 [žiūrēta 2024-01-24] DOI 10.18805/ag.R-191.
 99. MEENA, A., KARWAL, M., RAGHAVENDRA, K.J. and NARWAL, E. *Aerobic Vs Anaerobic Composting: Differences and Comparison.* , 2021 [žiūrēta 2024-03-17] DOI 10.13140/RG.2.2.21424.69125.
 100. ACHINAS, S., ACHINAS, V. and EUVERINK, G.J.W. Bioreactors L. SINGH, A. YOUSUF and D.M. MAHAPATRA eds., Elsevier, 2020 *Chapter 2 - Microbiology and Biochemistry of Anaerobic Digesters: An Overview*, pp. 17-26. [žiūrēta 2024-01-29] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128212646000024> ISBN 9780128212646. DOI 10.1016/B978-0-12-821264-6.00002-4.
 101. POTTIPATI, S., CHAKMA, R., HAQ, I. and KALAMDHAD, A.S. Advanced Organic Waste Management C. HUSSAIN and S. HAIT eds., Elsevier, 2022 *3 - Composting and Vermicomposting: Process Optimization for the Management of Organic Waste*, pp. 33-43. [žiūrēta 2024-05-01] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323857925000150> ISBN 9780323857925. DOI 10.1016/B978-0-323-85792-5.00015-0.
 102. Coal and Peat Fires: a Global Perspective G.B. STRACHER, A. PRAKASH and G. REIN eds., Boston: Elsevier, 2015 *Chapter 2 - Peat: Its Origins, Characteristics, and Geological Transformations*, pp. 13-38. [žiūrēta 2022-12-19] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444595102000021> ISBN 9780444595102. DOI 10.1016/B978-0-444-59510-2.00002-1.
 103. UDDIN, M.K., et al. Peat-Based Organo-Mineral Fertilizer Improves Nitrogen use Efficiency, Soil Quality, and Yield of Baby Corn (*Zea Mays* L.). *Sustainability*, 2023, vol. 15, no. 11 ISSN 2071-1050. [žiūrēta 2024-02-27] DOI 10.3390/su15119086.
 104. KOPP, O. C., Encyclopedia Britannica, 2024, *Peat*. [žiūrēta 2024-03-15] Prieiga per: <https://www.britannica.com/technology/peat>.
 105. OSMAN, K.T. Management of Soil Problems K.T. OSMAN ed., Cham: Springer International Publishing, 2018 *Peat Soils*, pp. 145-183. [žiūrēta 2024-02-28] Prieiga per: https://doi.org/10.1007/978-3-319-75527-4_7 ISBN 978-3-319-75527-4. DOI 10.1007/978-3-319-75527-4_7.
 106. CHE AZMI, N.A., MOHD APANDI, N. and RASHID, A.S.,A. Carbon Emissions from the Peat Fire Problem—a Review. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, vol. 28, no. 14. pp. 16948-16961. [žiūrēta 2024-03-19] Prieiga per: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12886-x> ISSN 1614-7499. DOI 10.1007/s11356-021-12886-x.
 107. NAKAMURA, K. and PETRUZZELLO, M., Encyclopedia Britannica, 2024, *Manure*. Prieiga per: <https://www.britannica.com/topic/manure>.
 108. LIU, Z. and WANG, X. Animal Agriculture F.W. BAZER, G.C. LAMB and G. WU eds., Academic Press, 2020 *Chapter 26 - Manure Treatment and Utilization in Production Systems*, pp. 455-467. [žiūrēta 2024-01-12] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128170526000264> ISBN 9780128170526. DOI 10.1016/B978-0-12-817052-6.00026-4.

109. HUANG, J. et al., National Center for Biotechnology Information, 2017, *Chemical structures and characteristics of animal manures and composts during composting and assessment of maturity indices*, 12(6). [žiūrēta 2024-01-15] Prieiga per: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5467826/>. DOI 10.1371/journal.pone.0178110.
110. WAN, J., et al. Livestock Manure Type Affects Microbial Community Composition and Assembly during Composting. *Frontiers in Microbiology*, 2021, vol. 12. [žiūrēta 2024-01-12] Prieiga per: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2021.621126> ISSN 1664-302X.
111. FAISSAL, A., et al. Impact of Fertilization by Natural Manure on the Microbial Quality of Soil: Molecular Approach. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2017, vol. 24, no. 6. pp. 1437-1443. [žiūrēta 2024-03-03] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X17300050> ISSN 1319-562X. DOI 10.1016/j.sjbs.2017.01.005.
112. BLACK, Z., et al. The Fate of Foodborne Pathogens in Manure Treated Soil. *Frontiers in Microbiology*, 2021, vol. 12. [žiūrēta 2024-01-12] Prieiga per: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2021.781357> ISSN 1664-302X.
113. AUGUSTIN, C. and RAHMAN, S., North Dakota State University, 2022, *Composting Animal Manures: A guide to the process and management of animal manure*. [žiūrēta 2024-01-25] Prieiga per: <https://www.ndsu.edu/agriculture/extension/publications/composting-animal-manures-guide-process-and-management-animal-manure-compost>.
114. KAUR, J. and Vishnu. Rhizosphere Engineering R.C. DUBEY and P. KUMAR eds., Academic Press, 2022 *Chapter 8 - Bacterial Inoculants for Rhizosphere Engineering: Applications, Current Aspects, and Challenges*, pp. 129-150. [žiūrēta 2024-02-13] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323899734000041> ISBN 9780323899734. DOI 10.1016/B978-0-323-89973-4.00004-1.
115. MAAN, P.K. and GARCHA, S. Biofertilizers A. RAKSHIT, et al ed., Woodhead Publishing, 2021 *Chapter 3 - Production Technology, Properties, and Quality Management*, pp. 31-43. [žiūrēta 2024-02-28] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128216675000130> ISBN 9780128216675. DOI 10.1016/B978-0-12-821667-5.00013-0.
116. DASGUPTA, D., et al. Recent Advancement in Microbial Biotechnology S. DE MANDAL and A.K. PASSARI eds., Academic Press, 2021 *Chapter 1 - Microbial Biofertilizers: Recent Trends and Future Outlook*, pp. 1-26. [žiūrēta 2024-03-03] Prieiga per: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012822098600001X> ISBN 9780128220986. DOI 10.1016/B978-0-12-822098-6.00001-X.
117. YAKHIN, O.I., LUBYANOV, A.A., YAKHIN, I.A. and BROWN, P.H. Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Frontiers in Plant Science*, 2017, vol. 7. [žiūrēta 2024-01-27] Prieiga per: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2016.02049> ISSN 1664-462X.
118. LYNGE, M., KRISTENSEN, H. L., GREVSEN, K. and SORENSEN, J. N., Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2022, *Strategies for high nitrogen production and fertilizer value of*

- plant-based fertilizers.* [žiūrēta 2024-02-18] Prieiga per: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jpln.202200031>. DOI 10.1002/jpln.202200031.
119. MEENA, R. S. et al. Springer Singapore, 2018, *Legumes for Soil Health and Sustainable Management*. DOI <https://doi.org/10.1007/978-981-13-0253-4> [žiūrēta 2024-02-17] Prieiga per: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-981-13-0253-4> ISBN 978-981-13-0253-4.
120. KEBEDE, E. Contribution, Utilization, and Improvement of Legumes-Driven Biological Nitrogen Fixation in Agricultural Systems. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, vol. 5. [žiūrēta 2024-04-04] Prieiga per: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fsufs.2021.767998> ISSN 2571-581X
121. MARIČIĆ, B., et al. Stinging Nettle (*Urtica Dioica* L.) as an Aqueous Plant-Based Extract Fertilizer in Green Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) Sustainable Agriculture. *Sustainability*, 2021, vol. 13, no. 7 ISSN 2071-1050. [žiūrēta 2024-04-04] DOI 10.3390/su13074042.
122. HARUNA, S. I., et al. Agrosystems, Geosciences, Environment, 2020, *Improving soil physical properties through the use of cover crops: A review*. [žiūrēta 2024-02-14] Prieiga per: <https://doi.org/10.1002/agg2.20105>.
123. BLANCO-CANQUI, H., Soil Science Society of America Journal, 2019, *Do Grass and Legume Cover Crops Improve Soil Properties in Long Term?* [žiūrēta 2024-02-19] Prieiga per: <https://doi.org/10.2136/sssaj2019.02.0055>.
124. MUÑIZ, S., et al. Analysis of the Diversity of Substrate Utilisation of Soil Bacteria Exposed to Cd and Earthworm Activity using Generalised Additive Models. *PLoS One*, 20140108, Jan 8, 2014, vol. 9, no. 1. pp. e85057 ISSN 1932-6203; 1932-6203. [žiūrēta 2024-05-02] DOI 10.1371/journal.pone.0085057.
125. XU, W., GE, Z. and POUDEL, D. R., MATEC Web of Conferences 22, 2015, *Application and Optimization of Biolog EcoPlates in Functional Diversity Studies of Soil Microbial Communities*. [žiūrēta 2023-05-18] Prieiga per: https://www.matec-conferences.org/articles/mateconf/pdf/2015/03/mateconf_iceta2015_04015.pdf DOI 10.1051/mateconf/20152204015.
126. CHINTHALAPUDI, D.P.M., et al. Exploring the Synergistic Impacts of Cover Crops and Fertilization on Soil Microbial Metabolic Diversity in Dryland Soybean Production Systems using Biolog EcoPlates. *Applied Biosciences*, 2023, vol. 2, no. 3. pp. 346 ISSN 2813-0464. [žiūrēta 2023-05-18] DOI 10.3390/applbiosci2030022.
127. ZHAO, M., et al. Diversity of Soil Microbial Community Identified by Biolog Method and the Associated Soil Characteristics on Reclaimed *Scirpus Mariqueter* Wetlands. *SN Applied Sciences*, 2019, vol. 1, no. 11. pp. 1408. [žiūrēta 2023-15-19] Prieiga per: <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1443-y> ISSN 2523-3971. DOI 10.1007/s42452-019-1443-y.
128. SCHIELER, M., et al. SIMONTO-Pea: Phenological Models to Predict Crop Growth Stages in BBCH of Grain and Green Peas (*Pisum Sativum*) for Temporal Pest Management. *Agriculture*, 2024, vol. 14, no. 1 ISSN 2077-0472. [žiūrēta 2024-01-01] DOI 10.3390/agriculture14010015.
129. MEIER, U., OPEN AGRAR, 2018, Growth stages of mono- and dicotyledonous plants BBCH Monograph. [žiūrēta 2024-02-11] Prieiga per: https://www.openagrar.de/receive/openagrar_mods_00042351. ISBN: 978-3-95547-071-5. DOI 10.5073/20180906-074619.
130. SEGURA SILVA, R. and PÉREZ SÁNCHEZ, A. Techno-Economic Evaluation and Conceptual Design of a Liquid Biofertilizer Plant. *Revista Colombiana De Biotecnología*, 2018, vol. XX. pp. 6-18. [žiūrēta 2024-02-10].

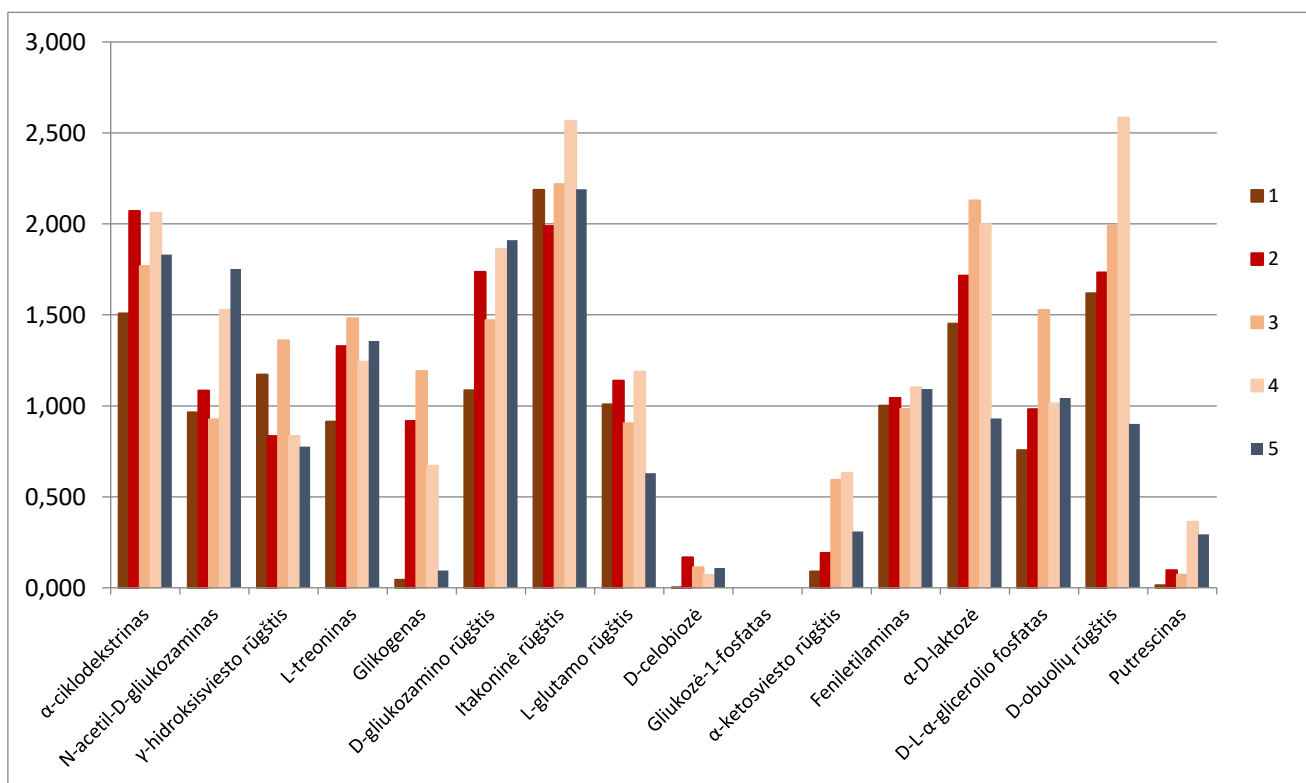
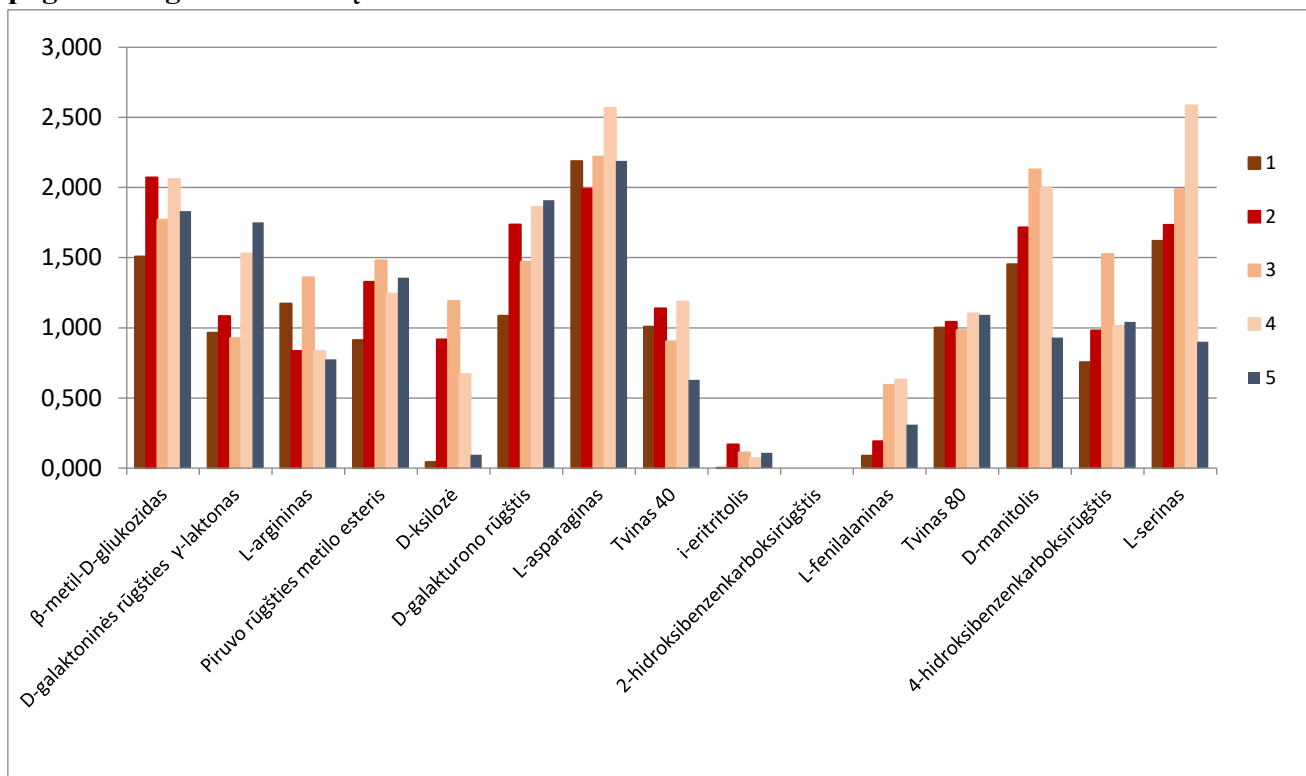
Publikacijų sąrašas

Šiame darbe atlikti tyrimai buvo pristatyti tarptautinėje mokslinėje konferencijoje:

1. STONYTĖ, G., ŽVIRDAUSKIENĖ, R., The Influence Of Organic Fertilizers On The Activity Of Soil Microorganisms. 20th International Conference Of Young Scientists On Energy And Natural Sciences Issues „CYSENI 2024“.

Priedai

1 priedas. Pradiniuose mėginiuose (1, 2, 3, 4, 5) esančių mikroorganizmų pasiskirstymas pagal 31 anglies substratą



2 priedas. Po derliaus nuėmimo gautuose mėginiuose (1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, 4A, 4B, 5A, 5B) esančių mikroorganizmų pasiskirstymas pagal 31 anglies substratą

