https://visegrad.permakultura.sk/polycultures/

ОЦІНЮВАННЯ ЕКОСИСТЕМНИХ ПОСЛУГ ПОЛІКУЛЬТУР: ҐРУНТ

Павло Арданов
pavlo.ardanov@gmail.com

Доброго дня! Мене звати Павло Арданов. Вітаю вас на вступних лекціях практичної частини курсу «Агробіорізноманіття та дизайн полікультур», де ми розглядатимемо методи оцінювання впливу полікультур на розмаїття екосистемних послуг. Я структурував ці лекції за середовищами, в яких ви будете досліджувати ці екосистемні послуги: ґрунт, поверхня ґрунту та власне рослина і все що відбувається над поверхнею ґрунту.

В цих лекціях я представлю загальні підходи до вимірювання розмаїття екосистемних послуг. Вони включатимуть як прості, менш інформативні методи, що не вимагають спеціальних інструментів та можуть виконуватися фермерами з використанням недорогих комерційних чи саморобних аналітичних наборів чи інструментів. Так і традиційні і сучасні методи лабораторного аналізу, де ми розглянемо загальні принципи їх роботи та які саме аспекти кожної екосистемної функції вони здатні досліджувати. Кожен метод має переваги та недоліки, і універсальних методів не існує. Тому обирайте ті, що підходять до задач вашого дослідження та наявних ресурсів. Навіть позірно прості методи вимагають ретельного планування та виконання протоколів вимірювань. Ці лекції не наводять окремих протоколів, тому я закликаю вас звертатися до оригінальних статей, що наведені в переліку використаних джерел наприкінці цієї презентації, а також проводити власний аналіз літератури для знаходження

найбільш для вас доцільних протоколів виконання окремих досліджень.

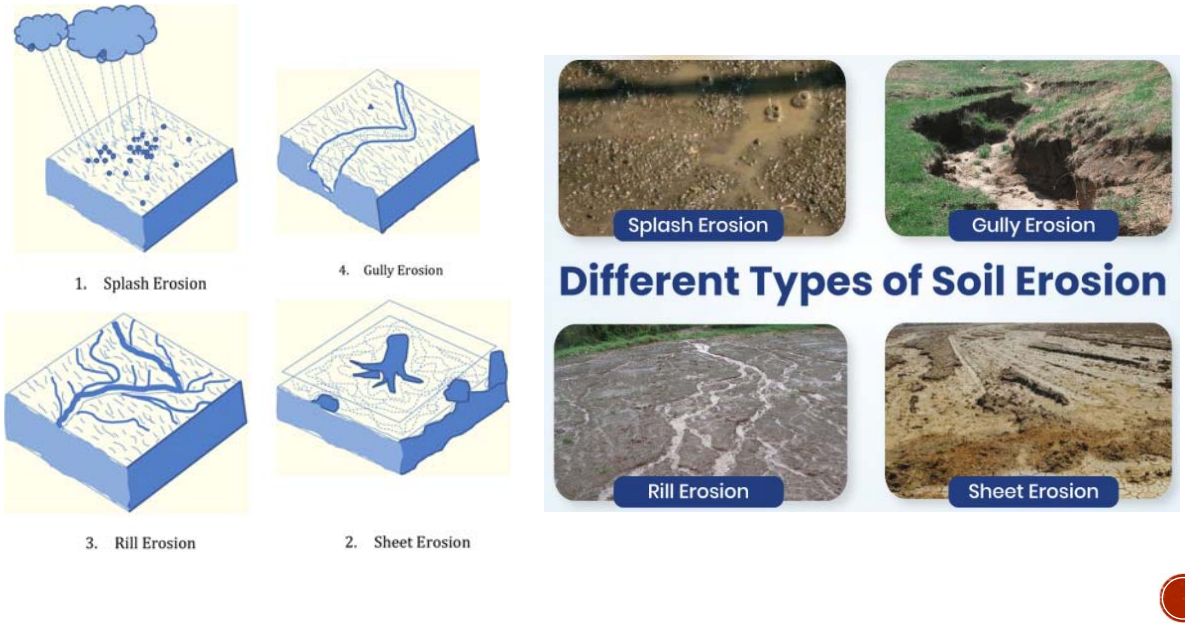
МЕТОДИ ОЦІНЮВАННЯ ЕКОСИСТЕМНИХ ПОСЛУГ

- Зменшення ерозії
- Покращення водопроникності ґрунту
- Розущільнення ґрунту
- Структурування ґрунту
- Збільшення мегафауни ґрунту
- Збільшення мезофауни ґрунту
- Збільшення ґрунтової мікробіоти та її активності
- Покращення мікоризації рослин
- Покращення колообігу поживних речовин
- Підвищення вмісту макронутрієнтів у ґрунті та зниження їх вмісту у водостоку
- Покращення зв'язування парникових газів
- Підвищення вмісту карбону в ґрунті

Отже, в цій лекції ми розглянемо методи оцінювання екосистемних функцій, що відбуваються у ґрунті, і на які можуть впливати полікультури. Це структурування та стабілізація ґрунту, що призводить до зменшення ерозії та зменшення забруднення водостоків з полів; підвищення кількості, розмаїття та активності різних груп ґрунтових організмів, що має наслідком покращення колообігу поживних речовин, а також роль полікультур у протидії зміні клімату, а саме зв'язування парникових газів та підвищення вмісту органічного карбону в ґрунті.

ЕРОЗІЯ

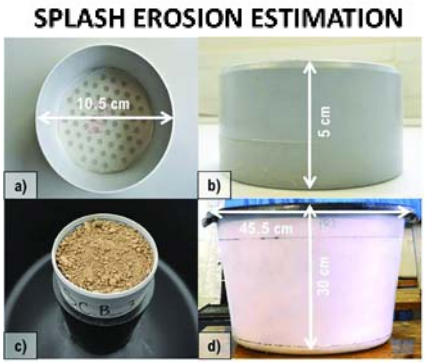
(Merz et al. 2009)



Полікультури здатні зменшувати ерозію ґрунту завдяки високій щільності кореневої системи (переважно завдяки культурам з мичкуватим корінням), ґрунтопокриву, що зменшує розмивання поверхневим водостоком та вивітрювання ґрунту, а також завдяки зменшенню кронами енергії дощових краплин. Причому вважається, що краплини, які стікають з листя рослин висотою понад 1 м зрушують більше часточок ґрунту, аніж неперехоплені рослинністю краплі дощу (тому важливим є ґрунтопокрив). А рослинність з розмаїтими типами кореневої системи краще утримує схили від ерозії. Важливу роль в протидії ерозії відіграє як жива рослинність, так і рослинні рештки.
Існують різні види ерозії та різні способи вимірювання її впливу на малих та великих ділянках. В помірному кліматі найбільшої шкоди завдає водна ерозія.

КРАПЛИННА ЕРОЗІЯ

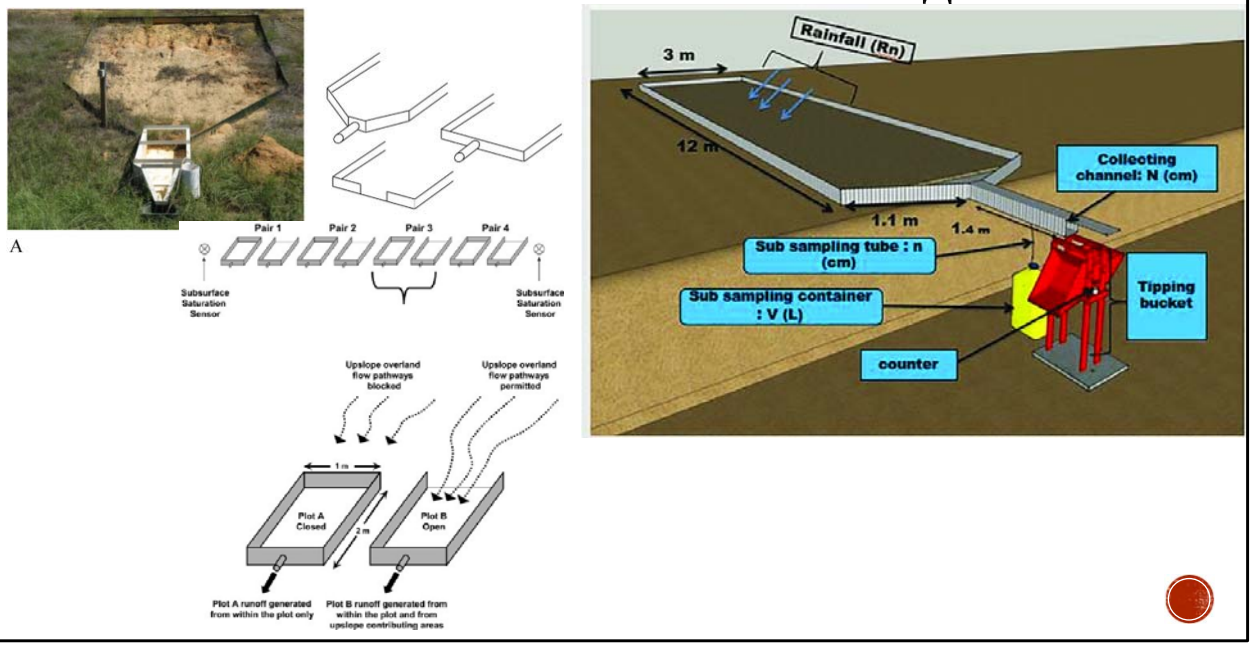
(Trogisch et al. 2017)



Краплинну ерозію досліджують за допомогою чашок розбризкування (splash cup). Їх є 2 різновиди: чашки, заповнені стандартним субстратом (напр. піском з гранулами розміром 125–200 µm), коли вимірюють втрату маси субчтрату з чашки після природного чи штучного дощу. Цей метод підходить для вимірювання ерозії попід кронами дерев різних видів, а також на різній віддалі від стовбурів. Інший спосіб, що підходить для трав'янистої рослинності – це вимірювання розбризкування на нижній обід чашки, що оточує периметрому ділянку вашої рослинності.

(Merz et al. 2009)

ЕРОЗІЯ – ВИВЧЕННЯ СТОКУ З МАЛИХ ДІЛЯНОК



Водостік можна вивчати на малих стандартних ділянках, наприклад, 40 на 40 см, огороджених бортиками з нержавіючої сталі, На цих ділянках фотографують зміну стану ґрунтопокриву і вимірюються водостік з ділянки у під’єднане до жолобу відро, а також кількість вимитого з ділянки ґрунту. У стічній воді можна вимірювати вміст макронутрієнтів (C, N, P), а на цій огородженій ділянці можна паралельно вивчати фауну встановивши ґрунтові пастки для дрібних тварин.

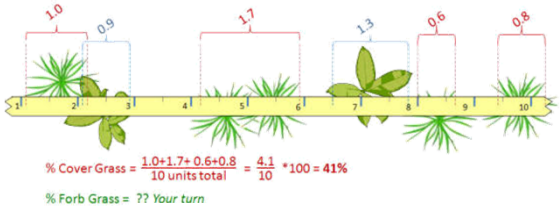
ЕРОЗІЯ - ПАТИЧКИ

(Merz et al. 2009)

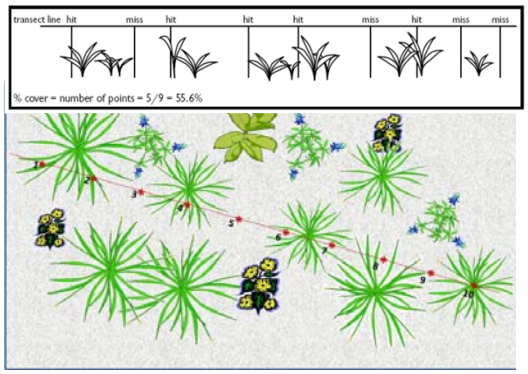
В довготривалих експериментах ерозію можна вимірювати за допомогою патичків, що встановлюють на стандартну глибину в 9 точках кожної експериментальної ділянки, Раз на рік вимірюють зміну їх висоти патичків над поверхнею ґрунту.

ЕРОЗІЯ – ОЦІНКА РОСЛИННОГО ПОКРИВУ

Квадрати



Лінійний перетин



Точковий перетин

(*WFSC 406/636 Midstory Vegetation Data Sheet*, no date; Floyd and Anderson, 1982)

Непрямим, але більш швидким способом вивчення рівня захисту полікультурами ґрунту від ерозії є оцінка рослинного пориву – відсотку та видового складу. Цей метод може бути доповнюючим до попередніх методів дослідження ерозії, аби встановити, яка рослинність та як само впливає на стабілізацію ґрунту. А відсоток та характер рослинного ґрунтопокриву є також показником для визначення росту рослин, ефективності поглинання світла та евапотранспірації

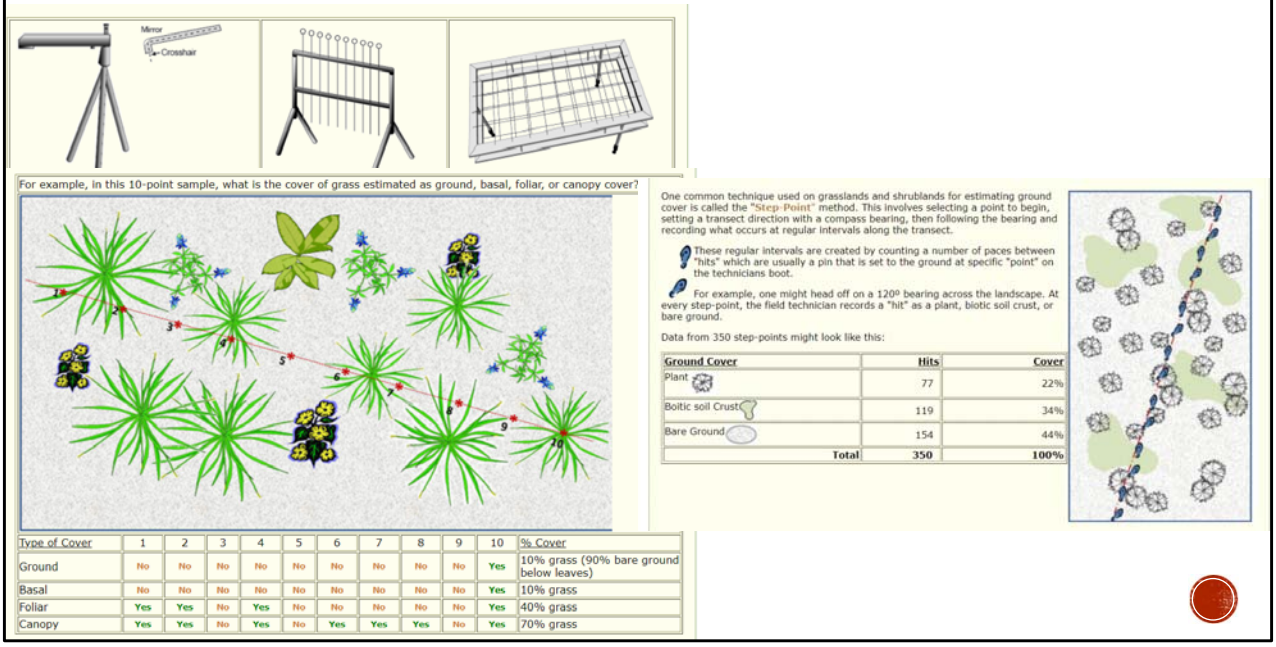
Методом квадратів можна вивчати площу проєкції крон рослин полікультури або окремих культур. А також підраховувати частку окремих культур в полікультурі відраховуючи кількість тих, що знаходяться на перетині ліній сітки. Це швидкий але не дуже точний метод.

За допомогою лінійки можна більш точно розраховувати відсоток ґрунтопокриву.

Спрощеним варіантом є точковий перетин, коли фіксуються ознаки рослинності в розмішених на однаковій відстані точках стрічки або вузлах мотузки.

ЕРОЗІЯ - ҐРУНТОПОКРИВ

(*Point Intercept Techniques to estimate cover*, no date)



Для вивчення лінійних та точкових проєкцій можна використовувати спеціальне обладнання, що пришвидшить роботу, або змайструвати прості саморобні засоби. На відносно великих ділянках можна навіть використовувати в якості одиниці довжину відстань власного кроку, фіксуючи щокроку ґрунтопокрив під ногами. Серед параметрів, які можна фіксувати цими методами, є, наприклад, відсоток «голого» ґрунту (причому можна ще окремо відзначати ґрунтову кірку, що формується мікроорганізмами), відсоток листового покриву, відсоток проєкцій крон та стовбурів або відсоток окремих видів рослин.

ЕРОЗІЯ - ҐРУНТОПОКРИВ

(Patrignani and Ochsner, 2015)

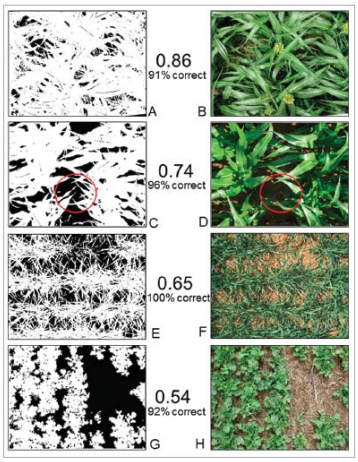
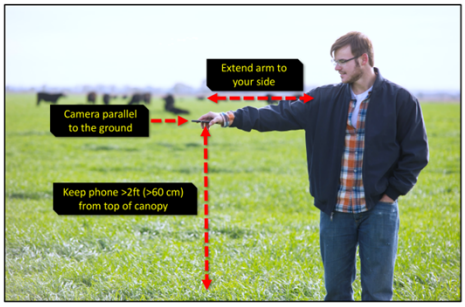


Fig. 3. From top to bottom, digital images of (A, B) no-till grain sorghum , (C, D) no-till corn, (E, F) conventional till wheat, and (G, H) no-till canola are shown after the digital image was analyzed (left) relative to the original image (right). Area in white represents green pixels selected by Canopeo. The fractional green canopy cover from Canopeo and the percent of correctly classified pixels relative to SamplePoint are shown between the images. Area within red circle shows lower leaves in the canopy.

www.canopeoapp.com

Комп'ютерна програма та мобільний додаток



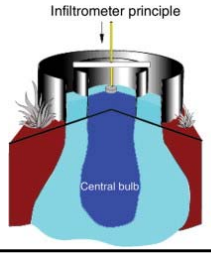
Ґрунтопокрив можна також визначати зі фотознімками з цифровим накладанням на них сітки. Важливо робити фотознімки за визначеною методологією для зменшення викривлення та уніфікації масштабів експериментальних ділянок на різних знімках.

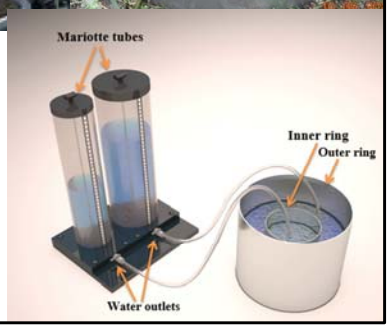
Існують також програми для цифрової обробки фотознімків – наприклад, Canopeo - що визначає поверхню живих рослин за співвідношенням кольорів пікселів: червоного до зеленого та блакитного до зеленого. Точність цього інструменту зменшується за присутності значної кількості відмерлих брунатних рослинних решток.

ВОДОПРОНИКНІСТЬ ҐРУНТУ - ІНФІЛЬТРОМЕТРИ

Інфільтрометр з одним циліндром

Інфільтрометр з двома циліндрами



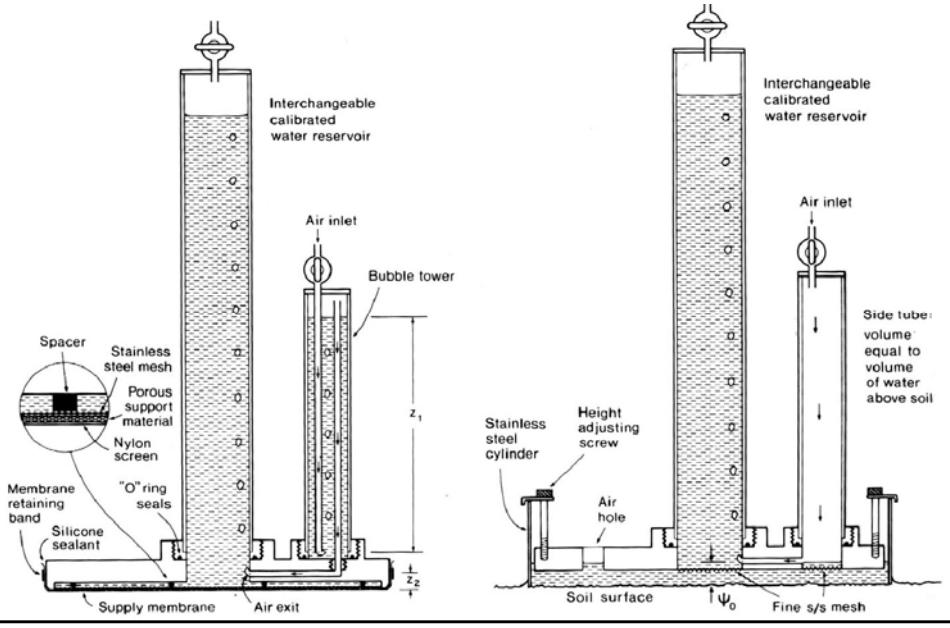


Полікультури можуть покращувати водопроникність ґрунту завдяки кореневим каналам та каналам ґрунтових організмів, а також завдяки водоутримуючим властивостям органічної речовини.

Для вимірювання водопроникності використовують інфільтрометри – вони бувають з одним та з двома циліндрами. В останньому методі вимірюється поглинання води у внутрішньому колі, тут поглинання переважно відбувається вертикально (а не вертикально та вбоки, як в методі з одним циліндром; як на картинці знизу праворуч), оскільки відбувається насичення ґрунту по периферії водою із зовнішнього циліндра. Оскільки в методі з двома циліндрами задіяна більша поглинаюча площа ґрунту, збільшується ймовірність похибок через рух води по великих каналах та тріщинах ґрунту. В обох методах можна або подавати відміряну кількість води та вимірювати час її повного поглинання або підтримувати постійний рівень води та фіксувати, коли відбудеться гідравлічне насичення ґрунту та припиниться поглинення води.
Проте поглинання води за умови підтоплення, що моделюється в інфільтрометрії, не повність відображає поглинання ґрунтом води під час дощу.

(Fiedler *et al.*, 2002)

Водопроникність – дисковий пермеаметр



Дискові пермеаметри дозволяють виміряти гідравлічну проникність ґрунту перед досягнення ним точки насичення. Завдяки можливості створення у пристрої негативного тиску води, можна окремо вивчати водопровідність мікропор ґрунту (і, відповідно, вплив рослинності на структуру мікропор) виключаючи потік води через макропори ґрунту. Всотування води через мікропори визначає швидкість початкового поглинання води сухим ґрунтом. Регулюючи рівень, і, відповідно, тиск води у трубках можна вивчати різні параметри водопроникності ґрунту.

(Halvorson, Gatto and McCool, 2003)

Щільність ґрунту - пенетрометр

Вимірювання щільності ґрунту є більш швидкими аніж інфільтрометрія та пермеаметрія і дозволяє опосередковано зробити висновок про водопроникність ґрунту. Також цій параметр дає інформацію про розущільнення ґрунту рослинами та про об’єм пор ґрунту. В простому варіанті можна вимірювати глибину, на яку можна занурити стрижень у землю, в більш технологічному – тиск, необхідний для заглиблення в землю стрижня стандартної довжини.

Також можна вимірювати загальну щільність ґрунту відбираючи циліндром стандартний об’єм ґрунту, а втрата води при висушування зразку ґрунту відповідатиме вмісту в ньому вологи

Стабільність мікроагрегатів ґрунту

(Díaz-Zorita, Perfect and Grove, 2002)

Biological, chemical and physical processes influenced by soil structure

Processes[a]
Biological
Microbial and mesofauna protection
Nutrient cycling and storage (denitrification, C sequestration, etc.)
Water imbibition by seeds and crop emergence
Shoot and root growth
Chemical
Sorption–desorption of inorganic and organic compounds
Solute transport
Physical
Wind and water erosion
Infiltration and water movement, aeration
Crusting
Soil water retention, evaporation

Structure quality	Ease of break up (moist soil)	Size and appearance of aggregates	Visible porosity	Roots	Appearance after break-up: various soils	Appearance after break-up: same soil different tillage	Distinguishing feature
Sq1 Friable (tends to fall off the spade)	Aggregates readily crumble with fingers	Mostly < 6 mm after crumbling	Highly porous	Roots throughout the soil			Fine aggregates
Sq2 Intact (retained as a block on the spade)	Aggregates easy to break with one hand	A mixture of porous, rounded aggregates from 2-70 mm. No clods present	Most aggregates are porous	Roots throughout the soil			High aggregate porosity
Sq3 Firm	Not difficult	A mixture of porous aggregates from 2mm -10 cm; less than 30% are <1 cm. Some angular, non-porous aggregates (clods) may be present	Macropores and cracks present. Some porosity within aggregates shown as pores or roots.	Most roots are around aggregates			Low aggregate porosity
Sq4 Compact	Quite difficult	Mostly large > 10 cm and sub-angular non-porous; horizontal/platy also possible; less than 30% are <7 cm	Few macropores and cracks	All roots are clustered in macropores and around aggregates			Distinct macropores
Sq5 Very compact	Difficult	Mostly large > 10 cm, very few < 7 cm, angular and non-porous	Very low; macropores may be present; may contain anaerobic zones	Few, if any, restricted to cracks			Grey-blue colour

Кореневі виділення рослин та секреція мікроорганізмів, а також діяльність ґрунтової мезофауни структурує ґрунт утворюючи мікорагрегати, пори та порожнини. Структурований ґрунт краще сприяє росту рослин, з ньому не відбувається закорковування, має кращу водопроникність та газообмін з атмосферою і загалом кращу мікробну активність, що забезпечує швидший розпад рослинних решток та гербіцидів, а також сповільнює мінералізацію карбону та денітрифікацію з органічної речовини, що знаходяться всередині ґрунтових часточок (і, відповідно, структурований ґрунт більше сприяє зв’язуванню карбону ґрунтом та меншому вимиванню поживних речовин). Також структурований ґрунт менше підпадає ерозії (зокрема спостерігається пряма кореляції між вітровою ерозією та вмістом в ґрунті часточок діаметром менших за 0,84 мм).

Стабільність мікроагрегатів ґрунту

(Díaz-Zorita, Perfect and Grove, 2002)

Глибина забору зразків ґрунту залежить від того, яке з явищ ви вивчаєте. Наприклад для вивчення вітрової ерозії беруть лише поверхневий шар ґрунту. Також при заборі зразків для вивчення структурної стабільності ґрунту варто уникати ущільнення, тому краще підійдуть спеціальні інструменти для забору колонки ґрунту (причому якомога більшого діаметру) чи лопата аніж бур. Первинне подрібнення ґрунту проводять вручну, гумовим молотом, або скидаючи зразок з певної висоти на руку. Причому важливо, щоб зразки мали однаковий вміст води, оскільки зволожений ґрунт має менш стабільні агрегати. Тому при зберіганні зразків ґрунту важливо контролювати температуру, вологість, та час зберігання зразків, а загалом структуру краще аналізувати у щойно висушених на повітрі зразках ґрунту.

Розділення агрегатів за розміром проводять за допомогою ротаційних або вібраційних сит різного діаметру, або шляхом просіюванням вручну.

Стабільність мікроагрегатів ґрунту

(Díaz-Zorita, Perfect and Grove, 2002)

Index	Equation number	Specific conditions
ΔMWD[a]	2	Dry and wet mean weight diameter
Henin index, I_s	3	Water, ethanol and benzene stable aggregates
Stability index	4	Water stable aggregates greater than 3.0 mm
WAS[b] and DCF[c]	4	Water stable aggregates and dispersible colloids
Stability index, SS	4	Water stable aggregates greater than 0.25 mm
Soil erodibility	4	Dry stable aggregates greater than 0.84 mm
Dry structural stability	2	Mass fraction distribution after 1 and 5 min of sieving
Stability constant, k	5	Ultrasonic dispersion

Вологе просіювання використовується для характеристики та розподілу стабільних до розмивання фрагментів ґрунту. Можна застосовувати повільне зволоження ґрунту, при якому агрегати повільно руйнуються, та швидке занурення у воду з більшим руйнуванням ґрунтових агрегатів.
Ультразвукове розділення ґрунту на агрегати дозволяє вивчати їх структуру без дії розчинників чи механічного руйнування ґрунту.
Частку агрегатів, отриманих різними методами, можна інтерпретувати використовуючи ряд індексів.

Стабільність мікроагрегатів ґрунту

(Herrick *et al.*, 2001)

Criteria for the assignment of crust fragments to stability classes

Stability class	Criteria for assignment to stability class (for Standard Characterization)[a]
0	Soil too unstable to sample (falls through sieve)[b]
1	**50%** of structural integrity lost within **5 s** of insertion in water
2	**50%** of structural integrity lost **5–30 s** after insertion
3	**50%** of structural integrity lost **30–300 s** fter insertion **or** **< 10%** of soil remains on sieve after five dipping cycles
4	**10–25%** of soil remains on sieve after five dipping cycles
5	**25–75%** of soil remains on sieve after five dipping cycles
6	**75–100%** of soil remains on sieve after five dipping cycles

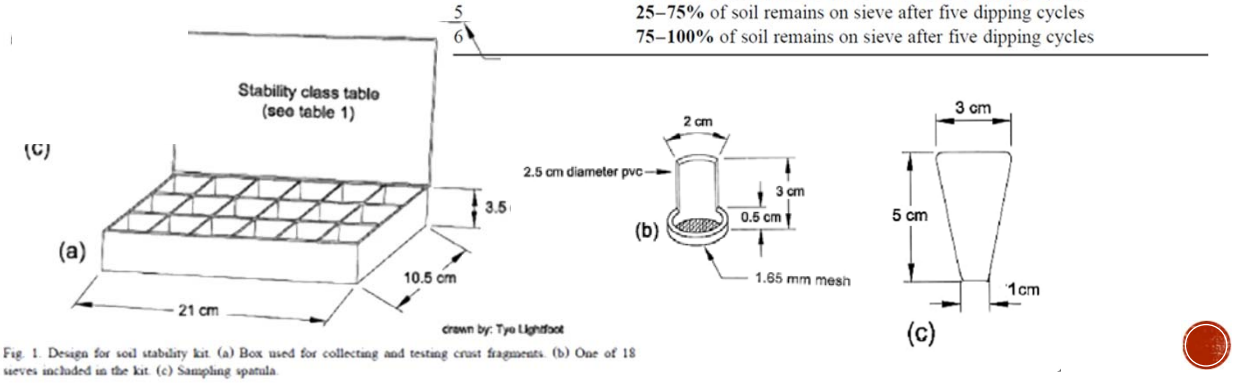


Fig. 1. Design for soil stability kit. (a) Box used for collecting and testing crust fragments. (b) One of 18 sieves included in the kit. (c) Sampling spatula.

Менш точним але швидшим методом оцінки стабільності агрегатів ґрунту може бути подібний саморобний набір комірок з сітчастим дном (використовувалась сітка діаметром 1,5 мм), коли візуально по шкалі від 1 до 6 оцінюється відсоток руйнування ґрунтових агрегатів та відсоток ґрунту, що залишився на сітчастому дні після 5 циклів занурення комірок зі зразками у воду.

(Singh, Singh and Vig, 2016)

Мегафауна ґрунту – дощові хробаки

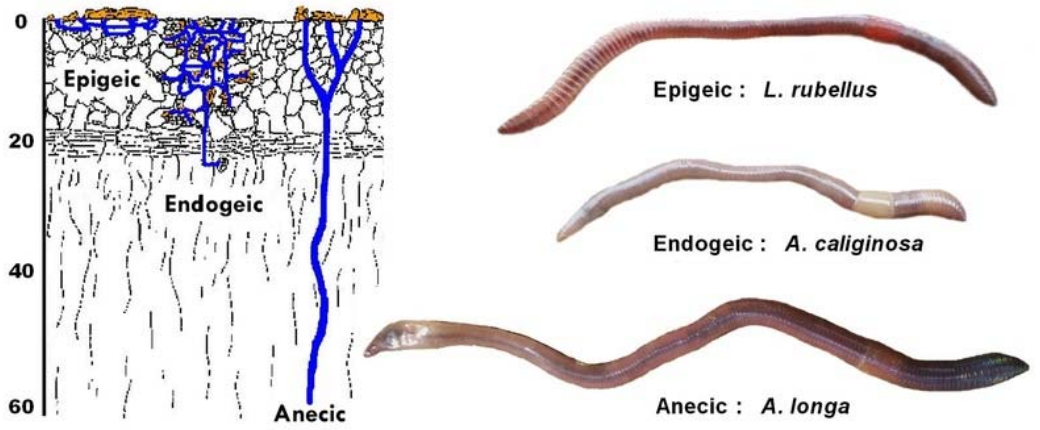


Diagram courtesy of the Science Learning Hub. Figure adapted from Fraser and Boag, photos of earthworms copyright Ross Gray.

Кількість дощових хробаків є простим опосередкованим способом судити про структуру ґрунту, а також про активність ґрунтової біоти, ефективність розпаду рештків та колообігу речовин.

Відповідно до активності в різних шарах ґрунту виділяють ендогейних, анеличних та епігейних хробаків. Ендогейні харчуються ґрунтом і живуть у багатих органікою та мінеральними речовинами шарах ґрунту, бувають різних розмірів та слабко забарвлені. Анеличні харчуються рослинними рештками і відіграють важливу роль у переміщенні поживних речовини із глибоких шарів ґрунту на поверхню з продуктами їх життєдіяльності - копролітами. Вони великі з пігментацією на обох кінцях тіла. Епігейні хробаки живуть на поверхні ґрунту харчуючись послідом та рештками. Вони дрібні, рівномірно забарвлені та краще витримують коливання температури

(Singh, Singh and Vig, 2016)

Мегафауна ґрунту – дощові хробаки

Найпростішим методом є підрахунок хробаків у кубі землі викопуваним з глибини 20 см та сортування їх вручну, часто цей метод поєднують з викурюванням хробаків з ґрунту формаліном. Найкраще цей метод працює для хробаків масою понад 200 мг, тобто ендогенних та молодих анцестичних хробаків. Дорослі анцестичні хробаки як правило встигають втікти. Також метод важко застосовувати на глинистому ґрунті.

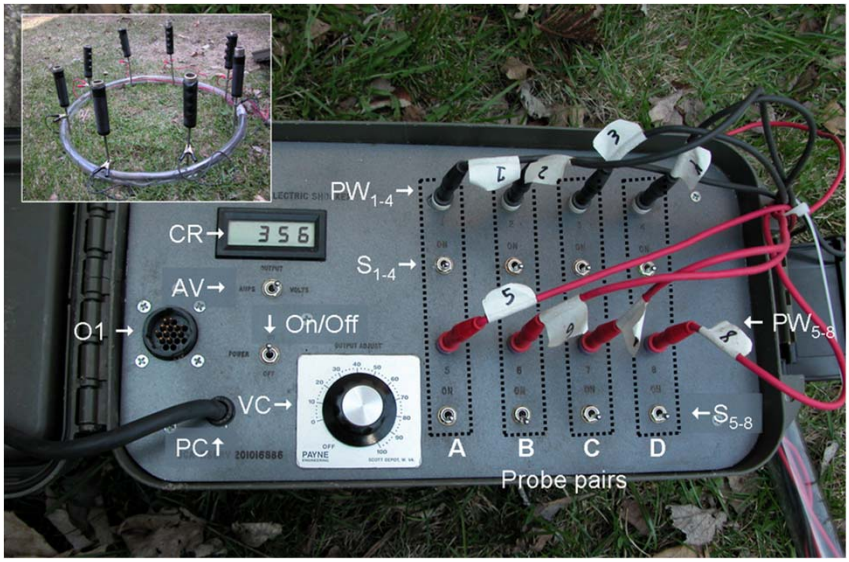
Мегафауна ґрунту – дощові хробаки

(Singh, Singh and Vig, 2016)

Екстакція або викурювання хробаків з ґрунту формаліном є швидшим та в 20 – 60 разів ефективнішим методом. Проте формалін токсичний та канцерогенний. В якості подразника можна також використовувати порошок або розчин гірчиці. Метод дозволяє враховувати хробаків з глибоких шарів ґрунту. Проте він є менш ефективним за ручне сортування при вивченні хробаків з поверхневих шарів і дає більше інформацію про кількість дорослих особин видів великого розміру. Цей метод є ефективнішим за використання розчину формаліну, при тому що гірчиця не токсична, проте може подразнювати слизову оболонку. Можна також використовувати екстракт цибулі, ефективність цього методу приблизно така ж, як і використання формальдегіду.

(Singh, Singh and Vig, 2016)

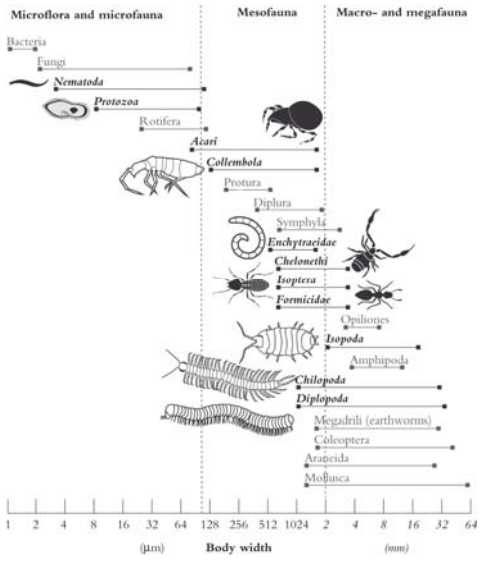
Мегафауна ґрунту – дощові хробаки



Екстракція хробаків електричним струмом низької напруги дозволяє краще вивчати анцестичні види, що живуть у глибоких шарах. Цей метод є недеструктивним для ґрунту на відміну від викопування і спричиняє мінімальний негативний вплив на хробаків, ґрунтову мезофауну та мікоризу. Проте цей метод найкраще працює на вологому теплому ґрунті, навесні та восени, коли хробаки є активними. Краще він працює на кислому ґрунті. Загалом методи хімічної чи електричної екстракції є менш ефективними для ендогейних видів, які переважно мігрують горизонтально, а не з глибини на поверхню.

Мезофауна ґрунту

(*Soil Macrofauna Field Manual - Technical level*, no date)



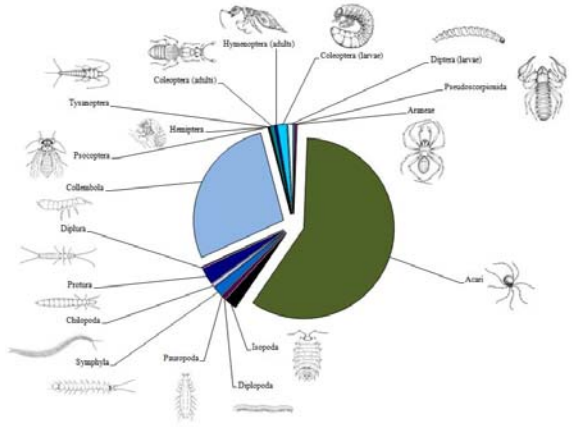
Меншою за розмірами групою ґрунтових організмів є мезофауна – це всі тварини розміром від 200 мкм до 10 мм. Сюди належать членистоногі, псевдоскорпіони, безвусикові, двохвости, ногохвістки, кліщі, дрібні багатоніжки і черви енхітреїди. Організми мезофауни мають обмежену здатність ритися і зазвичай живуть у порах ґрунту, харчуючись органічними рештками, мікрофлорою, мікрофауною та іншими безхребетними

(*Soil Macrofauna Field Manual - Technical level*, no date)

Мезофауна ґрунту

Table 2
A simplified scheme to calculate collembolan's EMI

Character	EMI score
(1) Clearly epigeous forms: middle to large size, complex pigmentation present, long, well-developed appendages, well developed visual apparatus (eye spot and eyes)	1
(2) Epigeous forms not related with grass, shrubs or trees well-developed appendages (possible), well-developed setae or protective cover of scales, well-developed visual apparatus	2
(3) Small size—though not necessarily—forms, usually limited to litter, with modest pigmentation, average length of appendages, developed visual apparatus	4
(4) Hemi-edaphic forms with visual apparatus still developed, not elongated appendages, cuticle with pigmentation	6
(5) Hemi-edaphic forms with reduced number of ommatidia, scarcely developed appendages, often short or absent furca, pigmentation present	8
(6) Eu-edaphic forms with no pigmentation, reduction or absence of ommatidia, furca present—but reduced	10
(7) Clearly eu-edaphic forms: no pigmentation, absent furca, short appendages, presence of typical structures such as pseudo-oculi, developed postantennal organs (character not necessarily present), apomorphic sensorial structures	20

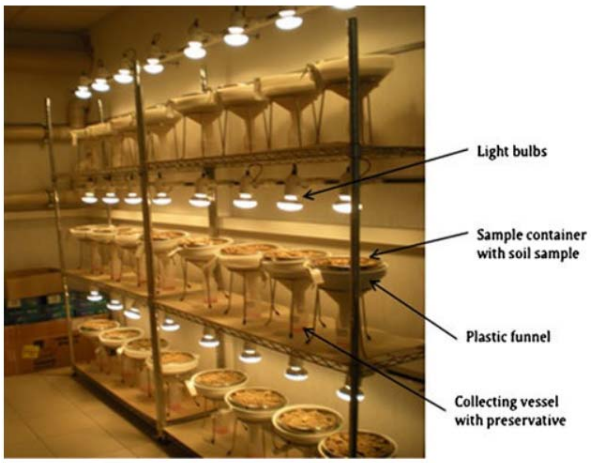


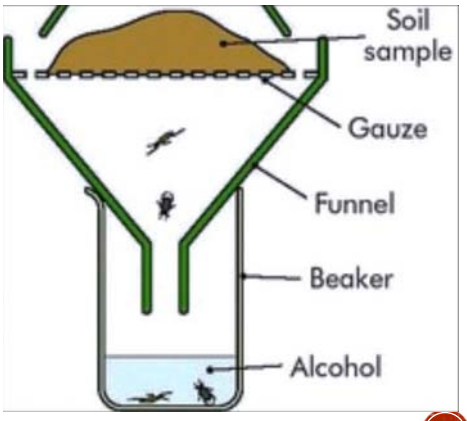
Orthoptera	In general Except for Grillidae family	EMI 1 Whose EMI is 20
Hemiptera	In general, mostly epigeous (above-ground) or root-feeding forms Cicada larvae	EMI 1 EMI 10
Coleoptera	Clearly epigeous forms	EMI 1
	Main adaptations to underground life that can be detected by direct examination of specimens are: (a) dimensions smaller than 2 mm points 4; (b) thin integument, often testaceous (tan-brown) color points 5; (c) hind wings highly reduced or absent points 5; (d) microphtalmy or anophtalmy points 5; For these forms, the EMI value is equal to the sum of points relative to the detected characters—e.g. if only (a) and (b) are present, then EMI score is = 1 + 4 + 5 = 10.	
Hymenoptera	In general Formicidae	EMI 1 EMI 5
Araneae	Small forms, scarcely pigmented Forms >5 mm	EMI 5 EMI 1
Diplopoda	Forms >5 mm Forms <5 mm	EMI 5 EMI 20
Chilopoda	Forms >5 mm, well-developed legs Other forms	EMI 10 EMI 20

На основі вивчення розмаїття ґрунтової мезофауни можна вирахувати індекс біологічної якості ґрунту, оскільки певні форми мезофауни (зокрема ті, що населяють товщу ґрунту) потребують для існування краще структурованого ґрунту. Характеристиками таких високочутливих організмів є менша або відсутня пігментація, обтічна форма тіла зі зменшенням кількості та довжини кінцівок, втрата здатності літати, стрибати та бігати, низький захист покривів тіла від висихання.

Мезофауна ґрунту

(*Soil Macrofauna Field Manual - Technical level*, no date)

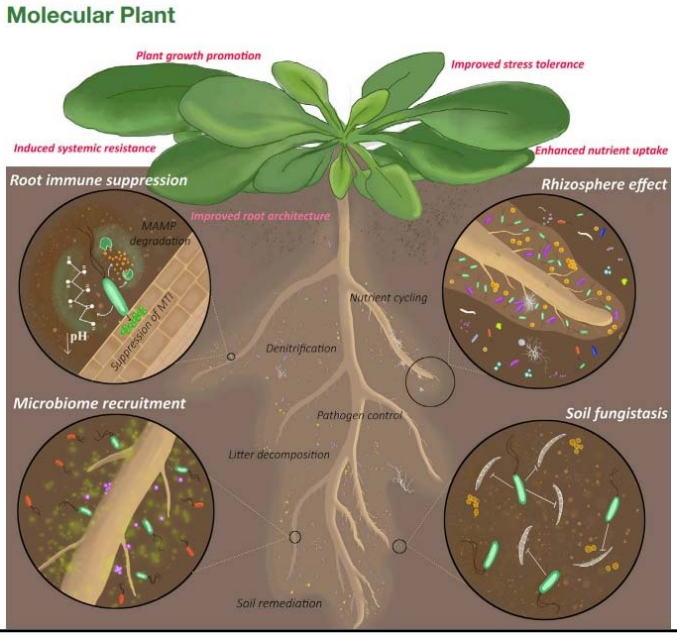




Ексатракцію мезофауни з ґрунту проводять за допомогою лійок Берлеза-Тугрена, я яких мезофауна втікає від висихання донизу під дією жарівки або хімічного подразника (наприклад, нафталінових кульок) потрапляючи через розтановану на дні лійки сітчасту мебрану до колби зі спритом чи іншим консервантом. Мікрофауну потім вивчають за допомогою бінокуляру.

Ґрунтова мікробіота

(Bakker *et al.*, 2020)



Завдяки структуруванню ґрунту, створенню сприятливого мікроклімату та постачанню поживних речовин з кореневими виділеннями та пожнивними рештками полікультури здатні підвищувати активність та розмаїття ґрунтових мікроорганізмів. Мікроорганізми в свою чергу відповідальні за підтримання колообігу речовин, в тому числі карбону, симбіотичну азотфіксацію а відтак підтримання родючості ґрунту і переведення надлишкових нітратів у біомасу та запобігання забрудненню водойм, а також за підтримання імунітету рослин та підвищенню їх стійкості до несприятливих факторів довкілля.

(Schloter *et al.*, 2018)

Методи дослідження ґрунтової мікробіоти

Table 1 Overview of methods for studying soil microbiomes (optimized from van Elsas and Boersma 2011)

Method	Specific for (species/community/system)	Major pitfall (interpretational)	Interpretation of results	Advantages (technical)	Disadvantages (technical)
Microbial biomass-direct microscopy	Community	Overall method	No information on specific soil microbial species or microbial groups	Easy, rapid	Low resolution
Microbial biomass-dilution plating	Species/community	Only culturable microorganisms visible (only 1% of community)	Estimate of the nature/diversity of a limited number of strains in the community	Easy, cheap, and ability to further analyze colonies	Low resolution. Not representative.
Microbial biomass-chloroform fumigation/extraction	Community	No information on community changes.	Estimate of microbial biomass. No information on microbial community, functional or phylogenetic changes.	Cheap and fast. Parameter sensitive to changes in the use of soil	Low specificity
Microbial biomass-SIR (substrate induced respiration)	Community	Relies on activity of microorganisms, which can be low	Information on active, dominant community responding to substrate	Easy and cheap	Low sensitivity
FISH (fluorescence in situ hybridization)	Species	Opaque nature of soil and relative low cell densities hamper in situ visualization	Information on active, dominant community members	in situ technique: interactions and location visible	Artifacts due to soil matrix. Low resolution and low-throughput
PCR/qPCR	Species/community	Reliant on existing primers	Proxies of organisms or genes amplified and/or quantified	Routine techniques of high sensitivity; allow detection and/or quantification	Several PCR biases and artifacts, i.e., inhibition, incomplete coverage
Microbiome fingerprinting-DGGE/TG-GE*	Phylogenetic (species/-community)	Only species > 1% abundance are visible.	Estimate of the structure of limited (dominant) microbiota in the community	Well optimized and easy, bands excised for identity check.	Inter-gel comparison difficult. Artifacts
	Functional (species/-community)	Limited information on functional genes hampers primer design	Information on functional genes, but not on activity of those genes.	Same as above; higher resolution than phylogenetic DGGE/TGGE	Same as above
Microbial enzyme activities	Community	Limited information	No information on specific soil microbial species or microbial groups.	Easy, rapid, and cheap	Low specificity; only some methods are standardized
Microbial activity patterns	Community	Indicator of the overall microbial activity	No information on specific soil microbial species or microbial groups	Easy, rapid, cheap, and extensive database	Low specificity
Phospholipid fatty acid analysis (PLFA)	Community	No information on community changes.	Microbial groups	Routine technique a sufficient sensitivity; detection and/or quantification	Intermediate specificity
Phylochip/geochip microarrays*	Species/community	Cross-hybridizations, difficult data analysis	Large amounts of information, information on function/activity if combined with RNA	All-in-once analysis in high-throughput. High potential for comparative studies	Costly, not possible to detect novel sequences
High-throughput sequencing*	Species/community	Interpretations affected by artifacts/sequencing errors	Large amounts of information on members of the community at sequence level. Provides bioindicators of soil quality	All-in-once analysis in high-throughput. High potential for comparative studies	Method is error-prone.

Biol Fertil Soils (2018) 54:1–10

Відповідно до розмаїття функцій ґрунтових мікроорганізмів були розроблені різні індикатори та методи дослідження окремий функцій мікробіоти, а також для характеристики окремих станів (наприклад, позаклітинна ДНК або плазміди характеризують дію стресових факторів та адаптацію до них, або наявність та активність мікроорганізмів, до руйнують певні види забрудників свідчать про забружнення ґрунто та перебіх процесів біоремедіації). Складність вивчення ґрунтової мікробіоти полягає у її надзвичайному розмаїття – так в 1 г ґрунту може бути понад 10 000 видів мікроорганізмів. Лише менше 1% цих організмів можна культивувати на поживних середовищах в лабораторії, а розмаїття генів відповідальних за окремі процеси знижує інформативність молекулярних методів. До того ж склад та активність мікроорганізмів змінюються в просторі та часі – зокрема, виділяють «гарячі зони» підвищеної активності мікроорганізмів – це ризосфера (зона навколо коріння), мікосфера (зона навколо гіфів грибів), дрілосфера (зона навколо каналів дощових хробаків) та детритосфера – зона навколо відмерлих решткв. Активність мікроорганізмів змінюється впродовж доби, а вплив окремої рослинної культури не обов’язково буде помітним на фоні існуючого розмаїття мікроорганізмів ґрунту.

Вивчати активність та розмаїття мікроорганізмів можна на різних рівнях: розмаїття генів, їх експресія (тобто синтез мРНК), продукування білків та

активність ферментів, або перебіг процесів, в яких приймають участь мікроорганізми. Універсального методу немає, тому потрібно застосовувати їх комбінацію залежно від задач дослідження та наявних ресурсів.

(Schloter *et al.*, 2018)

Маркерні гени мікроорганізмів для різних процесів

Table 2 Some molecular markers proposed for evaluating nutrient cycling functions in soil

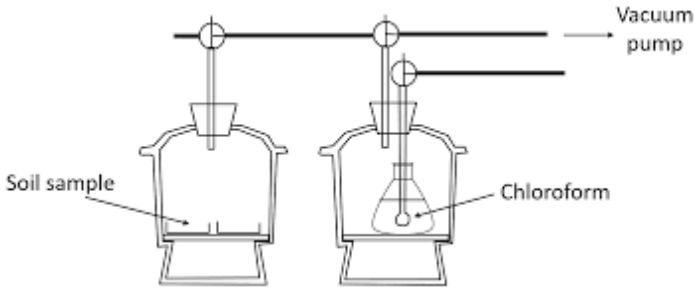
Soil function	Gene markers	Comments and references
Nitrogen fixation	*nif* genes, in particular *nifH*	Anand (2012)
Nitrification	*amo*A gene	Prosser (2012)
Denitrification	*nir* and *nor* genes	Philippot (2002)
N immobilization	Glutamine synthase-encoding Genes	Nannipieri and Paul (2009); respective enzyme-encoding genes proposed
N mineralization	Protease-encoding genes	Hydrolysis of proteins to peptides presumed to be limiting; Baraniya et al. (2016); Mrkonjic Fuka et al. (2008a, b)
Organic C mineralization	β-glucosidase-encoding genes	β-glucosidase activity catalyzes the (presumably) limiting rate of cellulose hydrolysis; cellulose is a main component of plant residues, together with lignin (Pathan et al. 2015)
Carbon dioxide fixation	RUBISCO-encoding genes	RUBISCO is an abundant enzyme in leaves and it is present in autotrophic soil microorganisms; abundance of enzyme as a proxy
Organic P mineralization	Acid and alkaline phosphomonoesterase	Tested in soil for the latter [but not the former] genes (Lagos et al 2016; Luo et al. 2017)-encoding genes

В плані дослідження полікультур нас можуть цікавити функційні риси, що відповідають за колообіг різних макроелементів, зокрема азотфіксацію (це переважно активність ризобій, азоспірил та пенібацил) та солюбілізацію або переведення в розчинну форму фосфатів; виробництво антибіотиків, чи інших сполук, що пригнічують патогентів або забезпучують конкуренцію з патогенами за ресурси (основними групами є бацили та псевдомонади), власне наявність ґрунтових патогенів (наприклад, фузарій), наявність «імунізаторів» росин та симбіотичних арбускулярних та ектомікоризних грибів. А також нас може зацікавити наявність мікроорганізмів, що вироблюють фітогормони (наприклад, гормон росту індолілоцтову кислоту чи ACC дезаміназу, що задіяна у виробництві етилену – гормону стресу рослин.

У цій таблиці наведено ряд маркерних генів для вивчення деяких з перелічений вище процесів молекулярними методами.

(Winding, Hund-Rinke and Rutgers, 2005; Inubushi and Nagano, 2017)

Біомаса мікроорганізмів – Фумігація хлороформом та екстракція

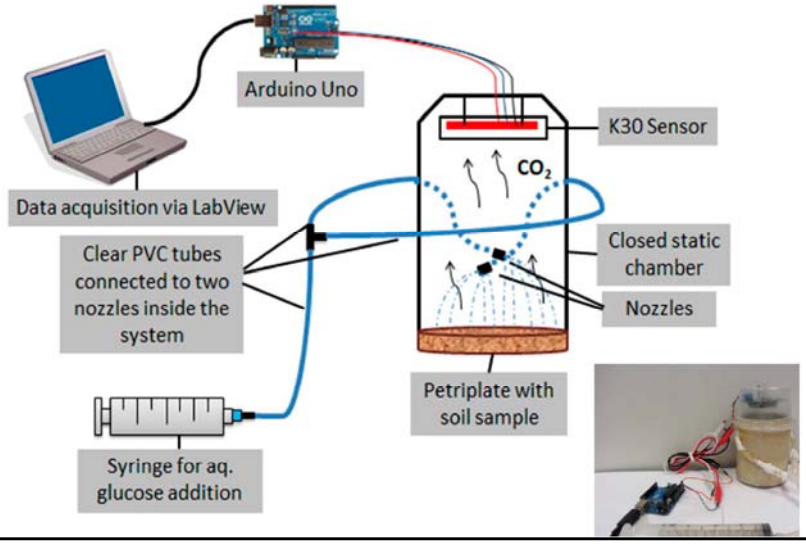


Загальна біомаса ґрунтових мікроорганізмів є непрямим показником родючості, вмісту органічної речовини ґрунту, швидкості розпаду органіки та мінералізації нітрогену. Від біомаси мікроорганізмів напряму залежить структура та стабільність ґрунту.

Основним методом непрямого визначення біомаси мікроорганізмів є фумігація хлороформом – він дозволяє визначити сумарну біомасу живих та відмерлих мікроорганізмів, хоча менш точно визначає біомасу спор. Хлороформ вбиває мікроорганізми, після чого визначається біомаса за видаленням вуглецю як результату споживання біомаси відмерлих мікроорганізмів грибками, що починають рости зі спор після фумігації. Або ж за масою екстрагованого карбону з органічної речовини ґрунту після фумігації

(Winding, Hund-Rinke and Rutgers, 2005; Kaur *et al.*, 2015)

Біомаса мікроорганізмів – Індуковане субстратом дихання



Іншим методом непрямого визначення біомаси мікроорганізмів ґрунту є індуковане субстратом дихання – тут визначається біомаса саме активних мікроорганізмів за їх диханням або виділенням вуглекислого газу після додавання глюкози – субстрату, що швидко метаболізується.

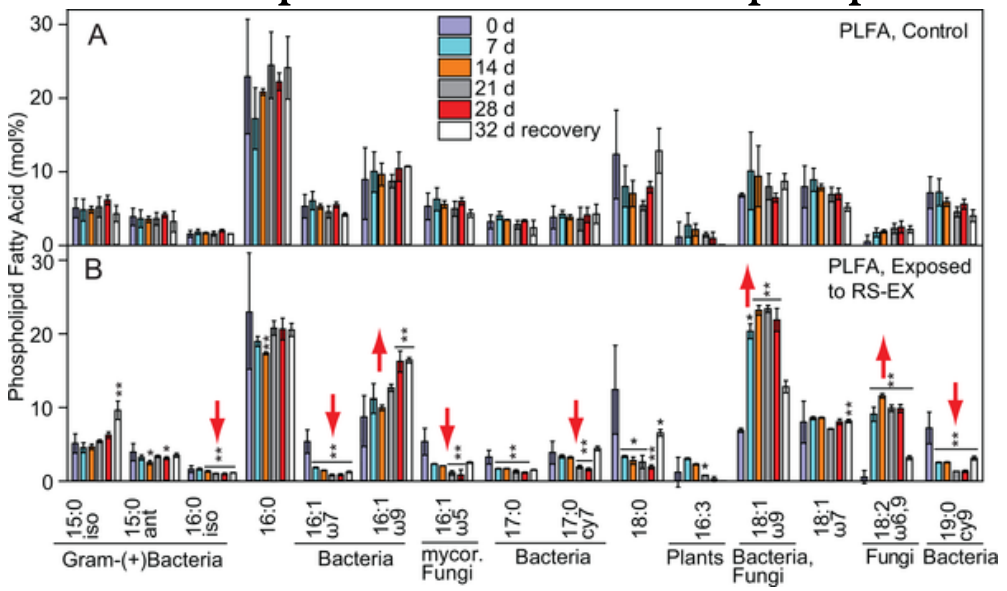
Дихання ґрунту

(Winding, Hund-Rinke and Rutgers, 2005; Kaur *et al.*, 2015)

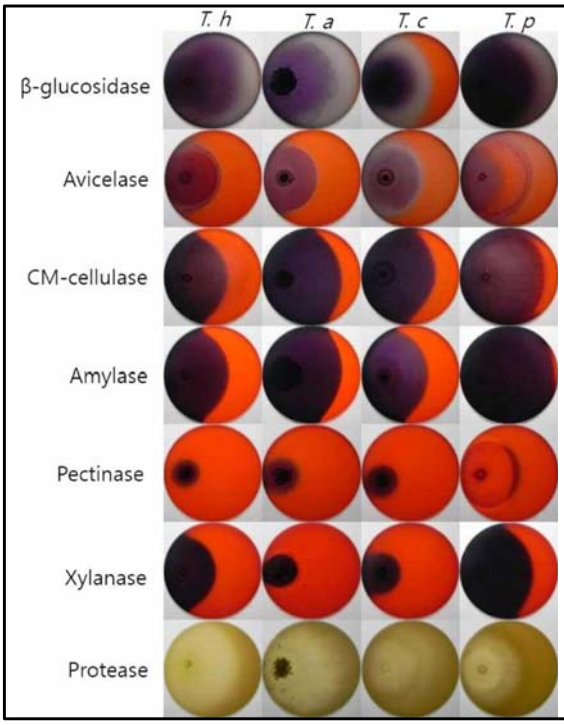
Власне дихання ґрунту, більшу частку якого становить дихання мікроорганізмів, є окремим параметром, що окрім біомаси та активності мікроорганізмів корелює зі вмістом органічного вуглецю в ґрунті, а також є показником токсичного впливу пестицидів та важких металів, які пригнічують дихання ґрунту. Вимірювати дихання ґрунту краще за виділенням вуглекислого газу аніж за поглинанням кисню, оскільки вміст першого в атмосфері є значно нижчим, тому легше вимірювати різницю в його концентрації. Також більш точними та уніфікованими будуть лабораторні аніж польові вимірювання дихання ґрунту, оскільки цей процес чутливий до температури, вологості, наявності поживних речовин та структури ґрунту.

(Winding, Hund-Rinke and Rutgers, 2005)

Грунтова мікробіота – аналіз фосфоліпідів



Фосфоліпіди є компонентами клітинних стінок більшості мікроорганізмів, і деякі фосфоліпіди притаманні лише окремим групам мікроорганізмів: грам-позитивним чи грам-нетативним бактеріям, метанотрофним бактеріям, грибкам, мікоризі або актиноміцетам. Тому профіль фосфоліпідів характеризує розмаїття підгруп мікроорганізмів, а також використовується для визначення співвідношення бактерій до грибків у мікробіоті (хоча при йому не враховуються ооміцети та дріжджові грибки, що не містять специфічних для інших грибків фосфоліпідів ергостеролів). Також профіль фосфоліпідів є індикатором забруднення ґрунту. Для визначення фосдоліпідів не потрібно культивувати мікроорганізми, оскільки фосфоліпіди екстрагуються безпосередньо зі зразка ґрунту та визначаються газовою хроматографією.



(Johansen *et al.*, 2005; Griffiths *et al.*, 2016; Hendriksen *et al.*, 2016)

Ґрунтові мікроорганізми – Аналіз позаклітинних ферментів (див. відео)

Ґрунтові ферменти продукуються переважно бактеріями та грибками. Вони відіграють важливу роль у розпаді багатьох органічних субстратів, а відтак у колообігу поживних речовин. Основні досліджувані ферменти включають целобіогідролазу та β-глюкозидазу, що розщеплюють целюлозу на прості цукри для живлення мікроорганізмів; фосфатазу, що мінералізує органічні сполуки фосфору роблячи його біодоступним для інших організмів; N-ацетилглюкозамінідазу, що розщеплює хітин грибків та членистоногих роблячи вуглець та азот хітину доступними для споживання мікроорганізмами; та арилсульфатазу, що відщеплює органічні сполуки сірки. Про споживання організмами цих субстратів судять за кольоровою реакцією – або вимірюючи діаметр зони на твердому поживному середовищі або у рідкому середовищі методом спектрофотометрії.

Мікоризація

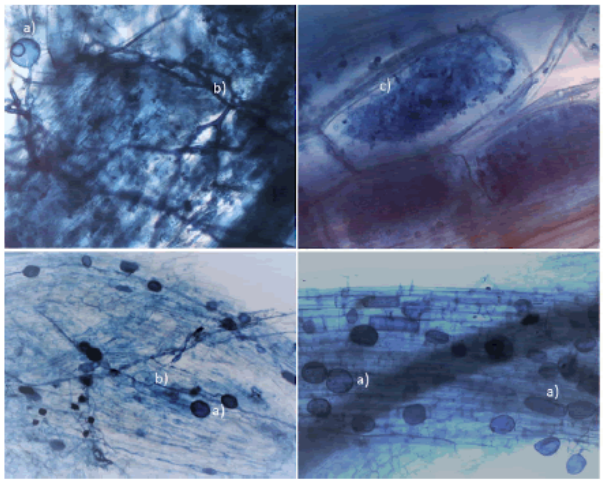
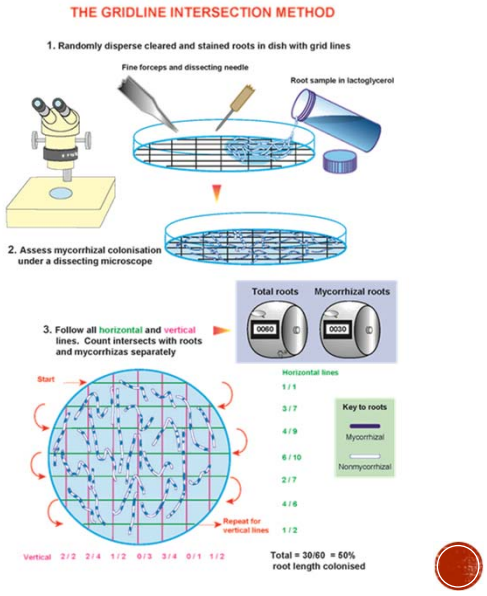


Figure 1: Roots of *J. brevifolia* seedling plants colonised by different mycorrhizal structures: (a) spores; (b) hyphae and (c) arbuscules.

(*Mycorrhiza Manual*, no date; GIOVANNETTI and MOSSE, 1980; Olsson, 1999; Mäder *et al.*, 2000; Richter *et al.*, 2021)

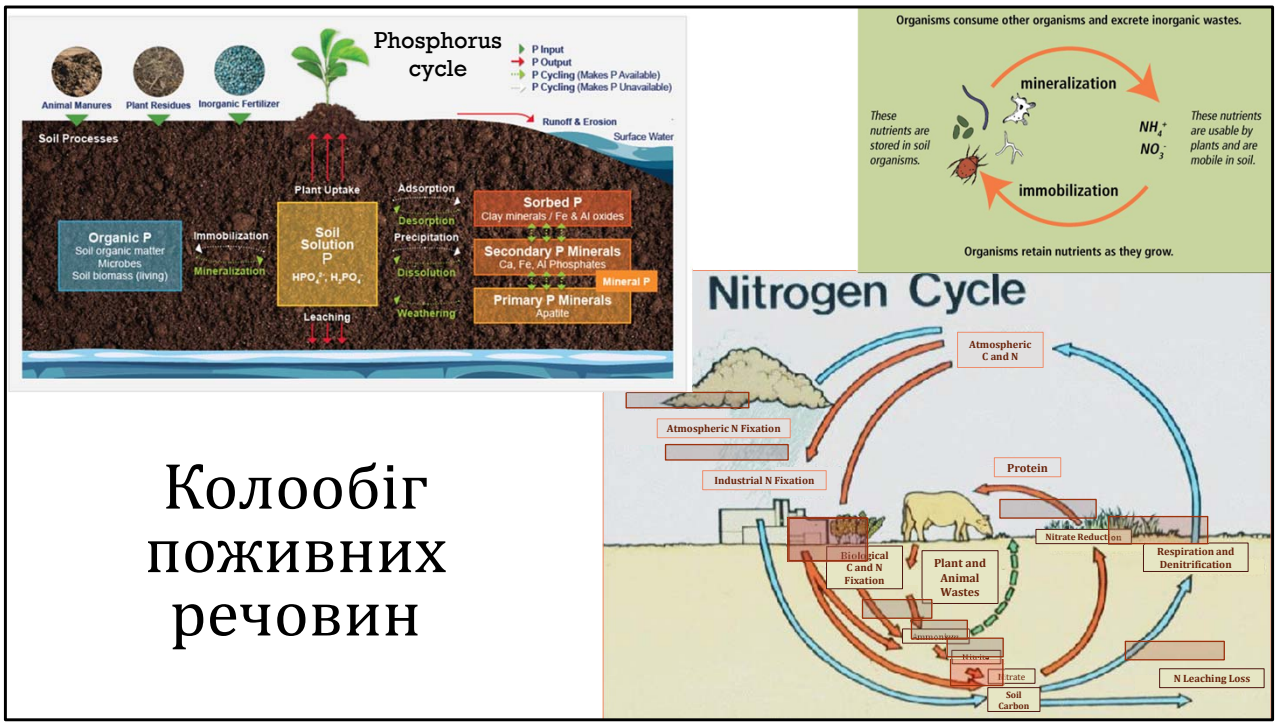


Полікультури можуть покращувати умови для мікоризації сусідніх рослин а також наступних культур у сівозміні (або ж навпаки пригнічувати мікоризацію). Симбіоз між рослинами та арбускулярними мікоризними грибами покращує поглинання води культурами та колообіг поживних речовин, зокрема фосфору. Мікоризація також зменшує вимивання поживних речовин з ґрунту, поживну цінність культур та їх стійкість до стресів і хвороб.

Можна визначати частку інфікованого мікоризою коріння або частку наявної на коренях тканини мікоризних грибів. Один з методів базується на зафарбуванні хітину, що міститься в клітинних стінках грибків, після хімічної трансформації хітину на глюкозамін, який в свою чергу фарбують триптаном блакитним або іншим барвником. Інший метод базується на виявленні природної жовтої пігментації, що формується в інфікованому корінні деяких видів рослин. Підрахунок можна проводити візуальною оцінкою відсотку зафарбованих корінців або підрахунком кількості перетинів корінців із лініями сітки, нанесеними на чашку Петрі чи предметне скельце методом мікроскопії. Оцінка зразків великого розміру (близько 100 корінців) дає більш точні результати, аніж ретельна оцінка невеликих зразків.

Мікоризацію можна також досліджувати кількісно та якісно з використанням молекулярних методів. Проте молекулярні методи не дозволяють розрізняти

кількість спор та кількість гіф мікоризи або визначати ступінь фактичної колонізації коріння грибами. Непрямою оцінкою є підрахунок кількості спор у ґрунті.
Також можна застосовувати біохімічні методи, зокрема профіль фосфоліпідів, який, як зазначалося раніше, є специфічним для різних груп мікроорганізмів, і зокрема за ним можна розрізняти ектомікоризні та арбускулярні мікоризні гриби, а також сапрофітні та паразитичні гриби. Окрім того, оскільки енергетичні резерви арбусклярних мікоризних грибів зберігаються переважно у формі ліпідів, за профілем фосфоліпідів можна оцінювати стан енергетичних запасів а відтак загальних стан мікоризи. Окрім того, фосфоліпіди швидко руйнуються після сметрі організмів і тому на відміну від хітину більшою мірою свідчать про кількість живих мікоризних грибів.



Колообіг поживних речовин

Полікультури можуть покращувати колообіг речовин та вміст поживних речовин у ґрунті. Завдяки переведенню розчинних форм поживних речовин у біомасу (як рослинну, так і мікробну) полікультури зменшують вимивання поживних речовин (в першу чергу нітратів) з ґрунту та забруднення поверхневих і ґрунтових вод, а також подовжують тривалість колообігу та утримання поживних речовин на ділянці. Завдяки кореневим виділенням та мікоризі полікультури можуть збільшувати біодоступність фосфору, а також збагачувати ґрунт азотом завдяки азотфіксації.

Вміст активного карбону	Розчинний фосфор ґрунту
Карбон, що окислюється перманганатами • Це найбільш мікробіологічно «активна» частка органічного карбону ґрунту – вона швидко змінюється залежно від культур та обробітку • Цей карбон доступний для споживання мікроорганізмами • Складається з мікробної біомаси та решток інших організмів, що розпадаються.	**Ортофосфати (метод Ольсена)** • Метод Ольсена визначає ортофосфати (або «реактивний фосфор»), що містяться в ґрунті або формуються з інших сполук фосфору в процесі виконання вимірювання. • Фосфор, що визначається цим методом, гарно корелює з біодоступним для рослин фосфором.

Карбон та фосфор можуть знаходитися в ґрунті в стабільній та лабільній, достіпній для споживання організмами формах. Вміст лабільних форм відносно швидко змінюється, і його можна вимірювати в експериментах з полікультурами.

pH та електропровідність ґрунту

Ґрунт та електропровідність

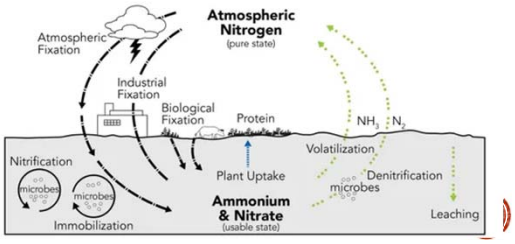
- pH - це основоположна змінна ґрунту, що визначає перебіг численних процесів. Визначається за концентрацією іонів H^+.
  - Ґрунти бувають кислими, нейтральними та лужними
- Електропровідність – це здатність ґрунту проводити електричний струм.
  - Оскільки електропровідність визначається концентрацією йонів у розчині, вона є показником як електропровідності, так і засолення.
  - Електропровідність не дає інформації про її причини або вміст конкретних поживних речовин.

Вміст неогранічного нітрогену

Амоній та нітрати

Нітроген присутній в ґрунті як в неорганічній, так і в органічній формах. В органічній формі (білки, амінокислоти) він недоступний для споживання рослинами.

- Вимірювання нітратів та амонію дає інформацію про вміст біодоступного для рослин нітрогену та про вміст нітрогену, що може вимиватися з ґрунту.



Колообіг нітрогену відбувається швидше, і нітрати на відміну від фосфатів швидко вимиваються з ґрунту і не переходять в мінеральну форму. До того ж у результаті процесу денітрифікації нітроген може переходити з ґрунту в атмосферу (і навпаки завдяки азотфіксації).

Біодоступність поживних речовин визначається кислотністю ґрунту. Культури не змінюють цю властивість ґрунту або мають місцевий вплив чи невеликий вплив в довготерміновій перспективі. Як правило, лабораторні пристрої чи польові сенсори, що вимірюють кислотність ґрунту, можуть вимірювати його електропровідність. Електропровідність залежить від вмісту йонів і може опосередковано свідчити про вміст поживних речовин, але за нею не можна визначити, які саме поживні речовини чи солі спричинили цей вплив.

Вміст поживних речовин у ґрунті

Вміст окремих поживних речовин у ґрунті чи воді можна визначати завдяки тестовим наборам або з використанням лабораторних методів, що базуються на хімічних реакціях зі зміною кольору. Для дослідження поглинання поживних речовин протягом певного проміжку часу використовують кореневі симулятори -іонообмінні мембрани: аніоннообміні в аеробних умовах для дослідження нітратів та катіоннообмінні а анаеробних умовах для дослідження амонію.

Азотфіксація бобовими культурами (Van Horn et al., 2011)

Conversion factors for estimating nitrogen content of selected cover crops

Crop common name	Scientific name	Factor
bell beans	*Vicia faba*	10
sesbania	*Sesbania* spp.	10
sunn hemp	*Crotalaria juncea*	11
blackeyed peas (cowpeas)	*Vigna unguiculata* ssp. *unguiculata*	12
berseem clover	*Trifolium alexandrinum*	13
woolypod vetch	*Vicia villosa* ssp. *varia*	16
purple vetch	*Vicia benghalensis*	16

The nitrogen content of this cover crop was estimated m the field using the materials shown

Fresh weight (lb) x Conversion factor = Nitrogen in cover crop (lb/ ac)

Для приблизної оцінки азотфіксації бобовими культурами оцінюють відсоток бобових культур в полікультурі, а для більш точної – біомасу на одиницю площі ділянки для разрахункової азотфіксації з використанням специфічних для кожної культури індексів.

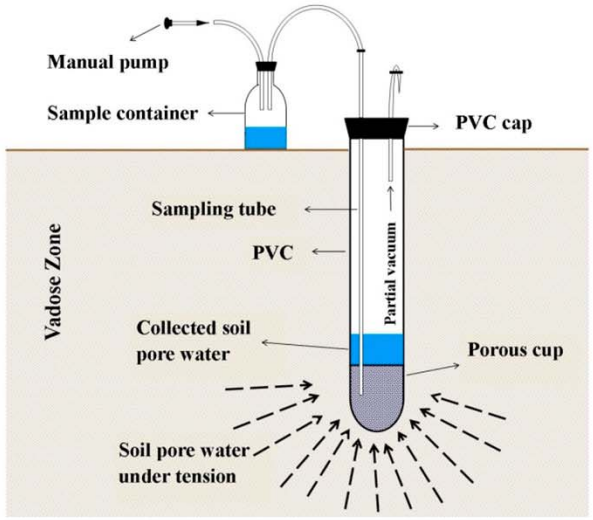
Вміст нутрієнтів у воді

(Heathwaite and Dils, 2000; Eekhout, Terink and De Vente, 2018; Richter *et al.*, 2021)

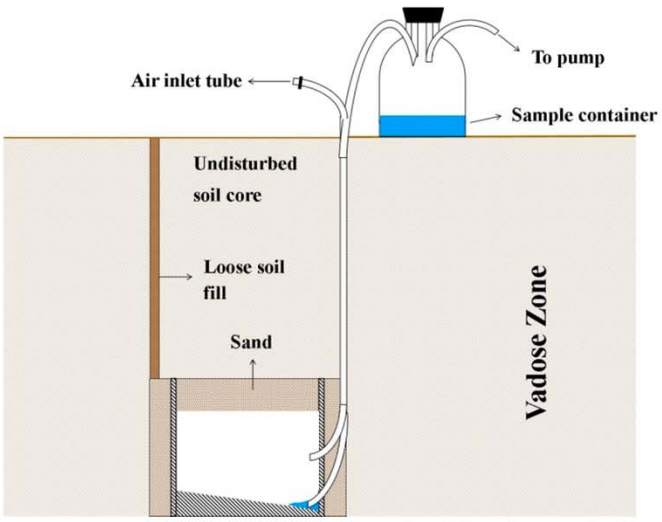
Основне вимивання поживних речовин відбувається з поверхневим водостоком під час великих злив та через підповерхневий латеральний потік (переважно на глибині до 15 см), що відбувається крізь макропори ґрунту або підземні дренажні труби.

Вміст нутрієнтів у воді

(Kalkhajeh *et al.*, 2019)



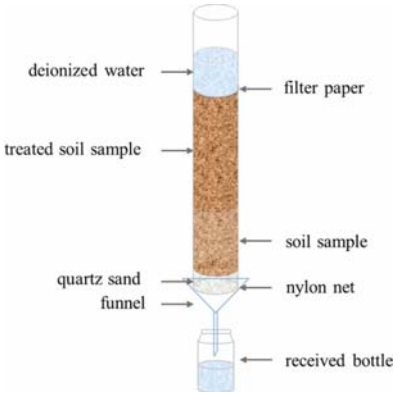
Tension/suction cup lysimeter



Zero-tension lysimeter

Відбір води для аналізу вимивання поживних речовин може відбуватися через дренажні труби або за допомогою лізиметрів. Лізиметри бувають двох типів: негативного тиску чи нульового тиску. В перші помпою засмоктують воду з ґрунтових пор, якщо не відбувається активного потоку води. В лізиметри нульового тиску просочування води відбувається через шар фільтрувального матеріалу, розташованого зверзу збиральної ємності, тому з їх допомогою можна виміряти концентрацію поживних речовин в одиниці об’єму розташованого поверх збиральної ємності ґрунту.

Вміст нутрієнтів у воді



Більш дешевим (порівняно з лізиметрією) хоча й менш точним способом є лабораторний аналіз вимивання поживних речовин з колонок ґрунту.

(Klaus *et al.*, 2018; Risch *et al.*, 2019)

Вміст нутрієнтів у воді

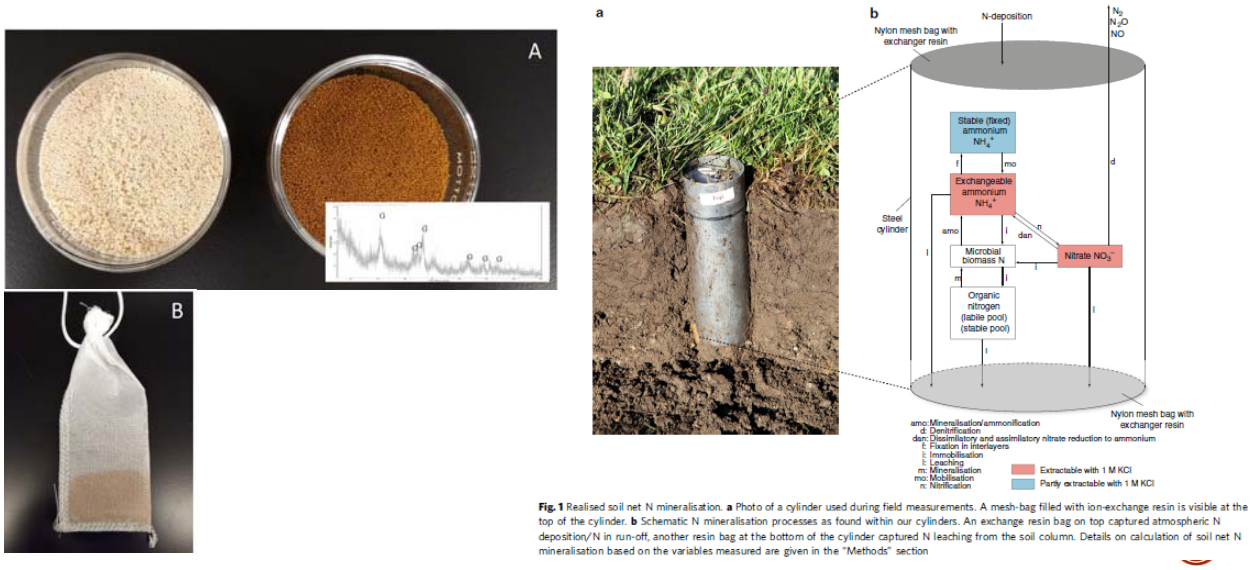
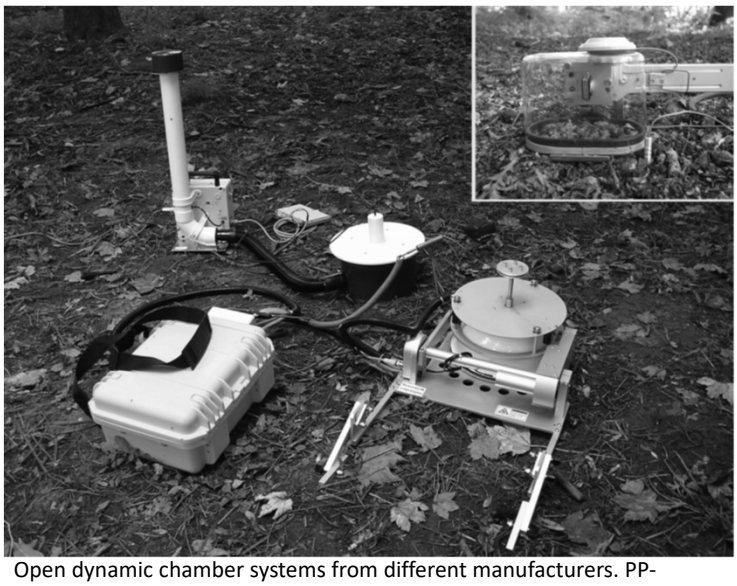


Fig. 1 Realised soil net N mineralisation. **a** Photo of a cylinder used during field measurements. A mesh-bag filled with ion-exchange resin is visible at the top of the cylinder. **b** Schematic N mineralisation processes as found within our cylinders. An exchange resin bag on top captured atmospheric N deposition/N in run-off, another resin bag at the bottom of the cylinder captured N leaching from the soil column. Details on calculation of soil net N mineralisation based on the variables measured are given in the "Methods" section

Вимивання поживних речовин з ґрунту можна також вимірювати за допомогою іоннообмінних гумових кульок, невеликі мішечки з якими закопують в ґрунт на глибину 20 см, де вони знаходяться протягом тривалого часу (наприклад, усього вегетаційного періоду) абсорбуючи фосфати, нітрати, іони амонію, калію, кальцію та магнію. Після чого абсорбовані іони різними способами екстрагують з поверхні кульок, і їх вміст визначають методами хроматографії та спектроскопії. Для вимірювання вимивання на одиницю поверхні ґрунту використовують циліндри заповнені ґрунтом ділянки, в які розміщують вищеописані іонообмінні мішечки як зверху – вони фіксують зв’язування нітрогену з атмосфери. Так і знизу циліндру - вони визначають вимивання поживних речовин з колонки місцевого ґрунту.

Зв’язування парникових газів – виділення CO_2 з ґрунту (Pumpanen, Longdoz and Kutsch, 2010)



Open dynamic chamber systems from different manufacturers. PP-Systems CFX-1 at the back and ADC SRS-1000 in the small figure. Automatic closed dynamic system Li-Cor Li-8100 chamber at the front is based on closed dynamic technique.

Eddy covariance system consisting of an ultrasonic anemometer and infrared gas analyzer.

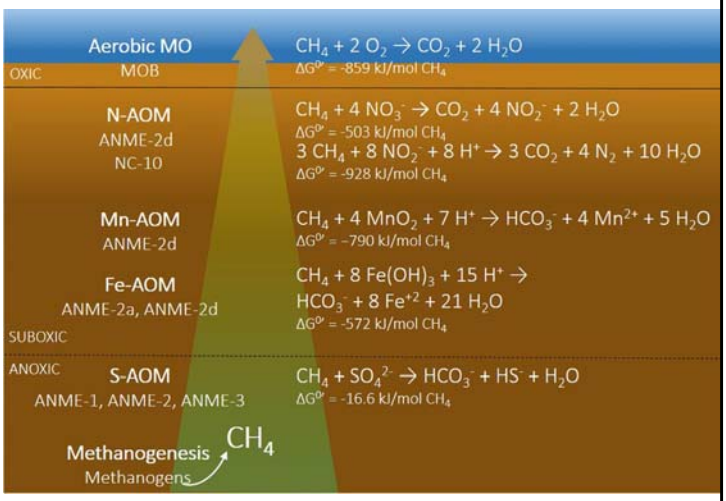
Полікультури можуть як зв’язувати вуглець в біомасі, так і збільшувати вміст органічного вуглецю ґрунту зокрема його стабільних форм в глибоких шарах ґрунту завдяки кореневим виділенням. В той же час вони можуть підвищувати активність ґрунтової мікробіоти, дихання та переведення вуглецю ґрунту у вуглекислий газ. Так само можуть спостерігатися різні впливи на вивільнення інших парникових газів: метану на монооксиду вуглецю.

Вивільнення вуглецю з ґрунту вимірюють у закритих або відкритих камерах за допомогою інфрачервоних газових аналізаторів. У відкритих камерах відбувається проточна циркуляція повітря і вимірюється різниця в концентрації CO2 на вході та виході з камери. У закритих камерах вимірюється накопичення CO2 з часом, тому цей метод краще підходить для швидких вимірів з великої кількості ділянок, але поступове накопичення вуглекислого газу в камері знижує з часом швидкість його дифузії з ґрунту. Тому в деяких варіантах закритих камер підтримується стабільна концентрація вуглекислого газу за рахунок хімічного зв’язування CO2 лужним розчином або натронним вапном (ця хімічна реакція, до речі, також ж простим методом вимірювання вивільнення вуглекислого газу, кількість якого визначається за зміною маси твердого реагенту або методом титрування розчинів лужних реагентів).

[] Ще одним методом польових вимірів є системи eddy covariance, що встановлюється на стовпах або стовбурах дерев без жодних ізолюючих камер, а концентрація вуглекислого газу, що визначається інфрачервоним газовим аналізатором, буде пропорційною до швидкості вертикального потоку повітря (який піднімається від землі), що вимірюється анемометром. Така система підходить для проведення довготермінових вимірів на великих ділянках у кілька квадратних метрів (порівняно з ділянками у кілька квадратних сантиметрів для камер). Проте цей метод є також найбільш вартісним. В цій системі не потрібно створювати герметичну камеру, тому висока рослинність та нерівна поверхня ділянки не є завадами.
Загалом на виділення та вимірювання CO2 впливає багато факторів, зокрема температура та вологість ґрунту, швидкість вітру та стебла розташованої нижче рослинності у системі eddy covariance або різниця тиску на вході та виході у відкритих камерах. Тому для отримання більш достовірних результатів вивільнення вуглекислого газу краще вимірювати динамічно на противагу разовим вимірам. До того ж показники, отримані різними техніками вимірювання, можуть різнитися наполовину.

(van den Bossche, Rose and De Wekker, 2017)

Парникові гази – вивільнення метану



Метан має в 25 разів більший парниковий ефект за CO2, і він може формуватися в анаеробних умовах, у випадку тривалого підтоплення ґрунту. Покращуючи аерацію та водопроникність ґрунту полікультури можуть також знижувати вивільнення метану. Різні групи ґрунтових мікроорганізмів можуть вивільняти (метаногени) або споживати метан (метанотрофи).

Метан можна вимірювати такими ж методами, як і вуглекислий газ. Окрім того, наявні бюджетні польові сенсори. Також можна вимірювати швидкість окислення метану у зразках ґрунту. Цей параметр є також чутливим до температури та вологості ґрунту, тому краще його вимірювати кілька разів протягом року.

(Bisutti, Hilke and Raessler, 2004)

Вміст карбону в ґрунті

	Symbol	Description
Organic carbon	OC	
Inorganic carbon	IC	
Liquid matrix		
Total carbon	TC	All carbon present in any particle and compound TC = TIC+TOC
Total inorganic carbon	TIC	All inorganic carbon present in form of carbonate, bicarbonate, dissolved carbon dioxide [11]. Quantity depending on pH, temperature and partial pressure of CO_2 [1]. TIC = DIC+PIC
Dissolved inorganic carbon	DIC	
Particulate inorganic carbon	PIC	Suspended particle material
Total organic carbon	TOC	All carbon from all organic sources covalently bound [11]. TOC = DOC+POC or TOC = NPOC + VOC
Dissolved organic carbon	DOC	All organic species that are soluble [2] or pass through a filter of 0.45 μm [11]. DOC = VOC + NPDOC
Particulate organic carbon	POC	Suspended particles, moieties that are kept back by a 0.2–10-μm filter [12]
Volatile organic carbon	VOC	Low boiling (<100°C) [13], low molecular weight compounds
Purgeable organic carbon	POC	OC released by sparging. Many authors use POC and VOC interchangeably
Acid released organic carbon	AROC	OC released by acid treatment [14]
Non-purgeable organic carbon	NPOC	Not removed by sparging [2]. NPOC = NPDOC + POC
Non-volatile organic carbon	NVOC	
Non-purgeable dissolved organic	NPDOC	
Non-volatile dissolved organic carbon	NVDOC	
Solid matrix	Solid	
Total carbon	TC	All in solid form TC = TIC + TOC
Total inorganic carbon	TIC	
Total organic carbon	TOC	
Volatile organic carbon	VOC	
Non-volatile organic carbon	NVOC	
Acid soluble organic carbon	ASOC	Can get lost during separation of the spent acid [15] up to 45%. Increases roughly with the percentage of $CaCO_3$ in the sample [16]
Acid insoluble organic carbon	AIOC	TOC = AIOC + ASOC [17]
Oxidizable carbon	OXC	Easily oxidizable OC, not stabilized in organic-mineral complexes [18]
Soil organic matter	SOM	Organic materials that accompany soil particles through a 2-mm sieve [6,8]

Formulas from Urbansky (2001) [2] if not otherwise specified. In the literature, POC and PIC can mean purgeable or particulate OC–IC. In the text, POC or PIC mean purgeable OC–IC if not otherwise specified.

Повертаючись до карбону, окрім вивчення поглинання вуглекислого газу можна також вивчати підвищення вмісту органічного вуглецю ґрунту. Ці виміри є взаємодоповнюючими, оскільки не весь вуглець, що зв'язується рослинами, переходить в інертну, стабілізовану на тривалий час форму у ґрунті. Водночас зміни вмісту карбону в ґрунті відбуваються дуже повільно, тому зміни можна побачити лише через кілька років. До того ж метод обробітку ґрунту може мати більш виражений вплив на вміст в ґрунті карбону аніж вирощування полікультур.

В ґрунті знаходяться різні форми органічного та неорганічного вуглецю. Для порівняння даних з іншими дослідженнями важливо усвідомлювати, яку саме форму ви вимірюєте. Органічний вуглець становить 48-60% маси органічної речовини і 18-85% від загального вмісту вуглецю в ґрунті, і буває гумусної або негумусної природи. Різні типи сполук відрізняються розчинністю та здатністю зв'язуватися з мінеральними сполуками ґрунту переходячи в більш хімічно стабільну форму, а також характером розподілу в різних шарах ґрунту.

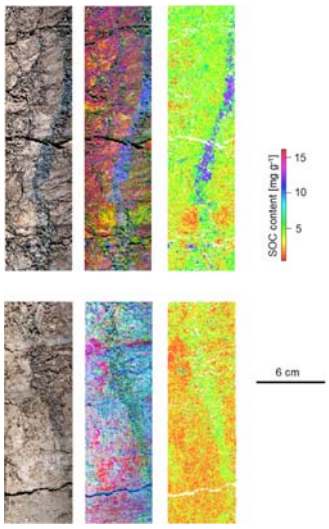
Основними методами визначення карбону є хімічне окислення, термічне окислення або спалювання усього карбону ґрунту, спалювання лише органічної речовини та обробка кислотами для вивільнення газоподібного CO2. Основною

проблемою вимірювання карбону органічної речовини ґрунту є розрізнення між карбоном органічного та мінерального походження. Відповідно, вимірювання бувають прямими або непрямими – в останніх потрібно математично віднімати частку неорганічного карбону від загального вмісту карбону в ґрунті, або позбавлятися від неорганічного карбону у зразку перед початком вимірювання (як цього, зокрема, потребує метод спалювання органічного карбону). Певні кислоти (наприклад, соляна, сірчана, ортофосфорна) діють переважно на неорганічний карбон вивільняючи з нього CO_2, тоді як певні окисники (нап. біхромати, персульфати) окислюють переважно органічний карбон. Органічний карбон вигоряє при нижчих температурах порядку 600 С ніж неорганічний. Вимірювати можна виділяння CO_2 (окрім попередньо згаданих інфрачервоних газових спектрометрів існують й інші методи), або зміну маси зразка через втрату ним карбону, що переходить у CO_2, або залишок окисника після окислення органічних сполук карбону.

Різні методи мають різні обмеження. Наприклад спалювання є досить точним і швидким методом, але потребує вартісного обладнання і працюєть із малими зразками, які буває важко зробити репрезентативними для ділянки. Спалювання лише органічної речовини потребує визначення індексів, що є специфічними для різних типів ґрунтів. Хімічне окислення органічного вуглецю (зокрема метод Волклея-Блека з використанням біхроматів та сірчаної кислоти) є високоточним, але не всі органічні сполуки повністю окислюються, тому результат залежатиме від типу ґрунту.

Вміст карбону в ґрунті

(O'Rourke and Holden, 2011; Hobley *et al.*, 2018)



Гіперсферична (спектроскопічна) візуалізація

Wet Chemistry Methodology

- Time consuming
- Labour-Intensive
- Expensive
- Environmentally aggressive

Vis-NIR Spectroscopic Methodology

Machine Learning

- Fast
- Automatic
- Cost effective
- Environmentally friendly

Сучасними, швидшими, дешевшими та екологічнішими методами вимірювання органічного карбону ґрунту є інфрачервона спектроскопія та гіперсферична візуалізація. В інфрачервоній спектроскопії зразки не потребують висушування та подрібнення, а вміст карбону вимірюється за електромагнітним поглинанням різних хімічних груп в інфрачервоному спектрі. Цим методом можна також вимірювати вміст різних органічних фракцій карбону, його вміст у ґрунтових агрегатах різного розміру та швидкість мінералізації карбону різних фракції та з різних агрегатів. Всі ці параметри важливі для визначення тривалості існування стабілізованого карбону у ґрунті.

Подібним до нього є метод спектроскопії продуктів лазерного розпаду сполук з поверхні зразку, коли сполуки переводять в атомарну форму під дією точкового лазеру.

Гіперсферична або спектроскопічна візуалізація працює з фотознімками профілів ґрунту, в яких аналізується спектральна інформація (що свідчить про хімічний склад ґрунту) з кожного пікселя зображення. Цим методом можна також визначати електропровідність ґрунту, вміст макроелементів та текстурних складових (піску, мулу та глини) у ґрунті.

Оскільки органічні сполуки карбону по різному розподілені по товщі ґрунту, і кореневі виділення мігрують навіть глибше за максимальну довжину коріння,

важливо визначитися, на якій глибині доцільно проводити виміри, або ж на усьому вертикальному перерізі ґрунту аж до материнської породи.

ПОСИЛАННЯ

- Bakker, P.A.H.M. *et al.* (2020) 'The Soil-Borne Identity and Microbiome-Assisted Agriculture: Looking Back to the Future', *Molecular Plant*. doi:10.1016/j.molp.2020.09.017.
- Bisutti, I., Hilke, I. and Raessler, M. (2004) 'Determination of total organic carbon - An overview of current methods', *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 23(10–11). doi:10.1016/j.trac.2004.09.003.
- van den Bossche, M., Rose, N.T. and De Wekker, S.F.J. (2017) 'Potential of a low-cost gas sensor for atmospheric methane monitoring', *Sensors and Actuators B: Chemical*, 238, pp. 501–509. doi:10.1016/J.SNB.2016.07.092.
- Díaz-Zorita, M., Perfect, E. and Grove, J.H. (2002) 'Disruptive methods for assessing soil structure', *Soil and Tillage Research*. doi:10.1016/S0167-1987(01)00254-9.
- Eekhout, J.P.C., Terink, W. and De Vente, J. (2018) 'Assessing the large-scale impacts of environmental change using a coupled hydrology and soil erosion model', *Earth Surface Dynamics*, 6(3). doi:10.5194/esurf-6-687-2018.
- Fiedler, F.R. *et al.* (2002) 'Hydrologic Response of Grasslands: Effects of Grazing, Interactive Infiltration, and Scale', *Journal of Hydrologic Engineering*, 7(4). doi:10.1061/(asce)1084-0699(2002)7:4(293).
- Floyd, D.A. and Anderson, J.E. (1982) 'A new point interception frame for estimating cover of vegetation', *Vegetatio*, 50(3). doi:10.1007/BF00364113.
- GIOVANNETTI, M. and MOSSE, B. (1980) 'AN EVALUATION OF TECHNIQUES FOR MEASURING VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZAL INFECTION IN ROOTS', *New Phytologist*, 84(3). doi:10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x.
- Griffiths, B.S. *et al.* (2016) 'Selecting cost effective and policy-relevant biological indicators for European monitoring of soil biodiversity and ecosystem function', *Ecological Indicators*, 69. doi:10.1016/j.ecolind.2016.04.023.
- Halvorson, J.J., Gatto, L.W. and McCool, D.K. (2003) 'Overwinter changes to near-surface bulk density, penetration resistance and infiltration rates in compacted soil', *Journal of Terramechanics*, 40(1). doi:10.1016/S0022-4898(03)00014-4.
- Heathwaite, A.L. and Dils, R.M. (2000) 'Characterising phosphorus loss in surface and subsurface hydrological pathways', *Science of the Total Environment*, 251–252. doi:10.1016/S0048-9697(00)00393-4.
- Hendriksen, N.B. *et al.* (2016) 'Soil exo-enzyme activities across Europe-The influence of climate, land-use and soil properties', *Applied Soil Ecology*, 97. doi:10.1016/j.apsoil.2015.08.012.
- Herrick, J.E. *et al.* (2001) 'Field soil aggregate stability kit for soil quality and rangeland health evaluations', *Catena*, 44(1). doi:10.1016/S0341-8162(00)00173-9.
- Hobley, E. *et al.* (2018) 'Hotspots of soil organic carbon storage revealed by laboratory hyperspectral imaging', *Scientific Reports*, 8(1). doi:10.1038/s41598-018-31776-w.
- Inubushi, K. and Nagano, H. (2017) 'Microbial Biomass and Functions in Paddy Soil', in *Microbial Biomass*. doi:10.1142/9781786341310_0004.
- Johansen, A. *et al.* (2005) 'Non-target effects of the microbial control agents Pseudomonas fluorescens DR54 and Clonostachys rosea IK726 in soils cropped with barley followed by sugar beet: A greenhouse assessment', *Soil Biology and Biochemistry*, 37(12). doi:10.1016/j.soilbio.2005.04.004.
- Kalkhajeh, Y.K. *et al.* (2019) 'Methods for sample collection, storage, and analysis of freshwater phosphorus', *Water (Switzerland)*. doi:10.3390/w11091889.
- Kaur, J. *et al.* (2015) 'Development of an NDIR CO2 sensor-based system for assessing soil toxicity using substrate-induced respiration', *Sensors (Switzerland)*, 15(3). doi:10.3390/s150304734.

ПОСИЛАННЯ

- Klaus, V.H. *et al.* (2018) 'Land use intensity, rather than plant species richness, affects the leaching risk of multiple nutrients from permanent grasslands', *Global Change Biology*, 24(7). doi:10.1111/gcb.14123.
- Mäder, P. *et al.* (2000) 'Arbuscular mycorrhizae in a long-term field trial comparing low-input (organic, biological) and high-input (conventional) farming systems in a crop rotation', *Biology and Fertility of Soils*, 31(2). doi:10.1007/s003740050638.
- Merz, A. *et al.* (2009) 'Plant-compositional effects on surface runoff and sediment yield in subalpine grassland', *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172(6), pp. 777–788. doi:10.1002/jpln.200800231.
- *Mycorrhiza Manual* (no date). Available at: https://www2.dijon.inrae.fr/mychintec/Protocole/protoframe.html (Accessed: 28 June 2022).
- O'Rourke, S.M. and Holden, N.M. (2011) 'Optical sensing and chemometric analysis of soil organic carbon - a cost effective alternative to conventional laboratory methods?', *Soil Use and Management*, 27(2). doi:10.1111/j.1475-2743.2011.00337.x.
- Olsson, P.A. (1999) 'Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil', *FEMS Microbiology Ecology*. doi:10.1016/S0168-6496(99)00021-5.
- Patrignani, A. and Ochsner, T.E. (2015) 'Canopeo: A powerful new tool for measuring fractional green canopy cover', *Agronomy Journal*, 107(6). doi:10.2134/agronj15.0150.
- *Point Intercept Techniques to estimate cover* (no date). Available at: https://www.webpages.uidaho.edu/veg_measure/Modules/Lessons/Module 8%28Cover%29/8_3_Points.htm (Accessed: 28 June 2022).
- Pumpanen, J., Longdoz, B. and Kutsch, W.L. (2010) 'Field measurements of soil respiration: Principles and constraints, potentials and limitations of different methods', in *Soil Carbon Dynamics: An Integrated Methodology*. doi:10.1017/CBO9780511711794.003.
- Richter, F. *et al.* (2021) 'A guide to assess and value ecosystem services of grasslands', *Ecosystem Services*, 52. doi:10.1016/j.ecoser.2021.101376.
- Risch, A.C. *et al.* (2019) 'Soil net nitrogen mineralisation across global grasslands', *Nature Communications*, 10(1). doi:10.1038/s41467-019-12948-2.
- Schloter, M. *et al.* (2018) 'Microbial indicators for soil quality', *Biology and Fertility of Soils*, 54(1). doi:10.1007/s00374-017-1248-3.
- Singh, J., Singh, S. and Vig, A.P. (2016) 'Extraction of earthworm from soil by different sampling methods: a review', *Environment, Development and Sustainability*. doi:10.1007/s10668-015-9703-5.
- *Soil Macrofauna Field Manual - Technical level* (no date). Available at: https://www.fao.org/publications/card/en/c/dd39ab90-fd45-51d6-abaf-c84874cd8b7c/ (Accessed: 28 June 2022).
- Trogisch, S. *et al.* (2017) 'Toward a methodical framework for comprehensively assessing forest multifunctionality', *Ecology and Evolution*, 7(24). doi:10.1002/ece3.3488.
- *WFSC 406/636 Midstory Vegetation Data Sheet* (no date). Available at: https://survey123.arcgis.com/share/61955448f73e417ea0c6ec44cd1ae824 (Accessed: 28 June 2022).
- Winding, A., Hund-Rinke, K. and Rutgers, M. (2005) 'The use of microorganisms in ecological soil classification and assessment concepts', *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(2 SPEC. ISS.). doi:10.1016/j.ecoenv.2005.03.026.