

# Punase ristiku kasvatamise mõju mulla mikroobide aktiivsusele ja orgaanilise süsiniku sisaldusele erinevates viljelusviisides

Jaan Kuht, Viacheslav Eremeev, Maarika Alaru, Anne Luik, Liina Talgre

Eesti Maaülikooli põllumajandus- ja keskkonnainstituudi taimekasvatuse ja taimebioloogia õppetool

**Abstract.** Kuht, J., Eremeev, V., Alaru, M., Luik, A., Talgre, L. 2020. The effect of red clover cultivation on the activity of soil microbes and the content of organic carbon in different farming systems. – *Agronomy* 2020.

The experiments were carried out at the Eerika test site of Rõhu experimental station of Institute of agricultural and environmental sciences, Estonian University of Life Sciences during 2014–2017. There were 3 crops in rotation: barley undersown with red clover, red clover and winter wheat. There were 5 cultivation systems in the experimental set-up (two conventional systems with chemical plant protection and mineral fertilizers, 3 organic systems which included winter cover crops and farm manure). The aim of the present research was to study the effect of cultivating the red clover and winter wheat on the soil microbial activity and the change in the content of organic carbon (Corg). Our results indicated that the cultivation of barley undersown with red clover had a positive impact on the content of soil microorganisms, by increasing their hydrolytic activity. The soil parameters in the soil of conventional fields (without fertilizers) after the cultivation of barley undersown with red clover were lower by 16.7%, compared to the soil in organic systems. After the cultivation of red clover the variation decreased by half (to 7.7%) and even more after the cultivation of wheat (to 6.9%). Therefore the cultivation of red clover enables to reduce the negative effect of pesticides on the microorganisms. Similar trend occurred concerning the Corg content, with the exception that on the winter wheat plot following red clover it increased again.

**Keywords:** cropping systems, organic farming, barley, soil microbial activity, soil organic carbon

## Sissejuhatus

Punane ristik on teada ja tuntud kui õhulämmastikku siduv ja mulda taimedele omastatava lämmastikuga rikastav põllukultuur. Ristikul on positiivne toime mulla füüsikalistele omadustele ja mulla keemilistele parameetritele (Russell, 1971; Christensen, 1996). Carter ja Kunelius (1993) leidsid, et oder koos allakülvatud ristikuga suurendas kogu juurte massi mullas 6–11 korda, võrreldes ainult odraga ja samas parandas ka mulla struktuuri. Skudiene ja Tomchuk (2015) leidsid, et järgneva aasta punase ristiku juurte mass suurenes võrreldes eelneva aasta juurte massiga kuni 6,5 korda ja maapealne mass kuni 4 korda. Pärast ristiku mulda kündmist on taimejäänuste lagunemine ja toitainete vabanemine (sealhulgas ka süsinik) juba mullamikroobide tegevusest. Seepärast pööratakse suurt tähelepanu ka mulla bioloogilistele näitajatele (sh. mikroobne ja ensümaatiline aktiivsus mullas). Üheks levinud viisiks mulla mikroorganismide kvantitatiivsete parameetrite hindamiseks on fluorestseini diatsetaadi hüdrolüüsi määramine (Fontvieille *et al.*, 1992), mis on leidnud laialdast kasutamist (Söderström, 1977; 1979). Võrreldes mulla füüsikalise-keemiliste

parameetritega, on mulla mikroobide aktiivsus muutuste suhtes oluliselt tundlikum (Oldare *et al.*, 2008; Oldare *et al.*, 2011).

Varasemalt on meil veel uuritud erinevate kultuuride kasvualade mulla bioloogiliste ja agrokeemiliste näitajate (mulla mikroobide aktiivsus, Corg, Ntot, jt) muutumist mahe ja tavaviljeluses talinisul (Eremeev *et al.*, 2019a), kartulil (Eremeev *et al.*, 2019b; 2020), odra alla külvatud punasel ristikul (Kuht *et al.*, 2018; 2019a; 2019b) ning punasel ristikul (Kuht *et al.*, 2019c). Kõik need uurimused on kinnitanud maheviljeluses kasutatud meetmete eeliseid tavaviljeluse ees.

Ei ole veel täielikult selge, mis ja kuidas mõjutab mikroobide aktiivsust ja mulla orgaanilise süsiniku (Corg) sisaldust tava- ja maheviljelussüsteemides. Käesolev uurimistöö püüab selgitada neid teemasid punase ristiku allakülvi, ristiku ja talinisu kasvualade mulla näitajate põhjal.

## Materjal ja meetodika

Eesti Maaülikooli Rõhu Katsejaama katsepõllule Eerikal rajati 2008. a. viieväljaline tava- ja maheviljeluse külvikord, järgnevusega - punane ristik, talinisu, hernes, kartul ja oder punase ristiku allakülviga. Katseala mullastik oli näivleetunud (Stagnic Luvisol WRB 2002 klassifikatsiooni järgi, Deckers *et al.*, 2002), lõimiselt kerge liivsavi huumuskihi tusedusega 20–30 cm (Reintam ja Köster, 2006).

Katsed rajati neljas korduses, katselappide suurus oli 60 m<sup>2</sup>. Käesolevas töös kasutatakse perioodil 2014–2018. a kogutud andmestikku. Uurimise all oli odra (sort ‘Anni’) alla külvatud punase ristiku (sort ‘Varte’) ja sellele järgnevate punase ristiku ning talinisu (sort ‘Fredis’) kasvualade mulla mikroobide aktiivsus (MMA) ja orgaanilise süsiniku (Corg) sisaldus. Kultuure kasvatati kahes erinevas viljelussüsteemis: traditsiooniline (Tava), milles kasutati mineraalväetisi (Tava I) ja keemilisi taimkaitsevaheneid (Tava 0 ja Tava I) ja mahe, milles kasutati haljasväetist kas talvise vahekultuuri või punase ristiku näol ning komposteeritud laudasõnnikut.

Tavaviljeluse süsteemis Tava 0 ei väetatud, kuid tehti keemilist taimekaitset. Tavasüsteemis Tava I anti allakülviga odra ja talinisu aladele ühesugune kogus fosforit (P 25 kg ha<sup>-1</sup>) ja kaaliumit (K 95 kg ha<sup>-1</sup>) ja väetati lämmastikuga (oder allakülviga N 120 kg ha<sup>-1</sup> ja talinisu N 150 kg ha<sup>-1</sup>). Mõlemas tavasüsteemis kasutati odra (ak) eelvilja (kartul) koristamise aasta sügisel glüfosaati sisaldavat Roundup Flexi normiga 3,0 l ha<sup>-1</sup> ja kasvuajal MCPA-750 normiga 1,0 l ha<sup>-1</sup>, nisu umbrohutõrjeks kasutati Sekator WG normiga 0,15 l ha<sup>-1</sup>. Seenhaiguste tõrjeks odral ja talinisul kasutati ka fungitsiide.

Maheviljeluses oli kolm erinevat süsteemi – talviste vahekultuurideta viljelussüsteem (Mahe 0), mis järgib ainult külvikorda; talviste vahekultuuridega viljelussüsteem (Mahe I) ning süsteem Mahe II, kus kasvatati talviseid vahekultuure ja lisaks anti kevadel teraviljadele 10 ja kartulile 20 t ha<sup>-1</sup> komposteeritud veisesõnnikut. Mahesüsteemides Mahe I ja Mahe II külvati kohe pärast kartuli koristust talviseks vahekultuuriks (enne ristiku allakülviga otra) talirukis, mis künti kevadel mulda.

Mulla mikroobide aktiivsust mullas määrati fluorestseiini diatsetaadi hüdrolüüsi kaudu (Schnürer, Rosswall, 1982). Selleks võeti 5–10 cm sügavuselt 500g

mullaproovid vastavalt ISO 10381-6 (1993) meetodikale ja sõeluti läbi 2 mm sõela (Reeuwijk, 2002). Reagentide ettevalmistamine järgneva MMA analüüsi jaoks toimus vastavalt Adam, Duncan (2001) kirjeldatud meetodil. Mulla orgaanilise süsiniku (Corg) määramine toimus Tjurini meetodi alusel (Vorobyova, 1998).

Kogutud andmete statistiline analüüs teostati programmiga Statistica 13 (Quest Software Inc), kasutades ühesuunalist dispersioonanalüüsi. Kultuuride vaheliste erinevuste võrdluseks kasutati Fisher LSD post-hoc testi ( $p = 0,05$ ).

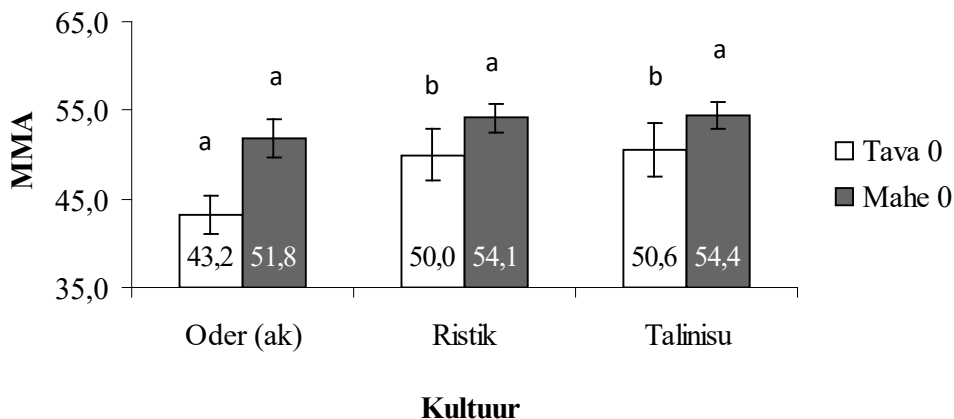
## Tulemused ja arutelu

Käesolevas töös vaadeldavad põllukultuurid moodustavad klassikalise viieväljalise külvikorra ühe lüli, mille mõju mulla viljakusele võib jagada kaheks: odra alla külvatud punane ristik ühes sellele järgneva ristiku taimestikuga on viljakust parandav, kuid neile järgnev talinisu on viljakuse kasvu tarbiv kultuur. Kuivõrd väetamata variandid Tava 0 ja Mahe 0 erinesid teineteisest vaid selle poolest, et neist esimeses kasutati keemilisi taimekaitsevahendeid, teises aga mitte, siis selleks, et selgitada välja nende mõju uuritavatele näitajatele (MMA ja Corg) on Tava 0 ja Mahe 0 tulemused parema selguse huvides toodud Tava I ning Mahe I ja II aladest eraldi joonistel.

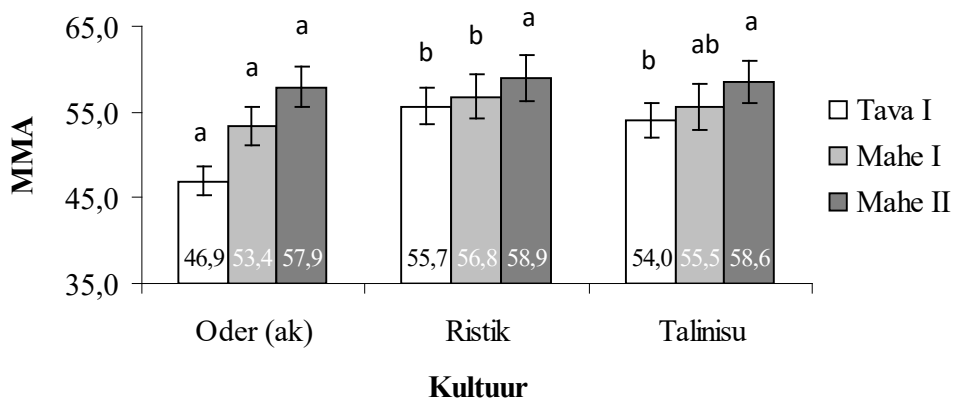
### Mulla mikroobide aktiivsus

Punase ristiku kasvatamine tõstis aastate keskmisena mulla mikroobide aktiivsust kõikides viljelussüsteemides (joonised 1 ja 2). Keemilise taimekaitsega tavaviljeluse (Tava 0) mullas olid MMA näitajad ristiku allakülviga odra järgselt 16,7% võrra madalamad võrreldes Mahe 0 mullaga (joonis 1). Pärast punase ristiku sissekännile järgneval kevadel võetud proovides vähenes aga see erinevus ligi poole võrra ning pärast talinisu vähenes see veelgi, 6,9% -ni. Madsen *et al.* (2016) täheldasid, et pestitsiidid suruvad alla mulla mikroobide aktiivsust ja glüfosaat võib koguneda looduslikku keskkonda ning olla toksiline mitte ainult taimedele, vaid ka loomadele ja bakteritele (Sviridov *et al.*, 2015). Ilmselt vähendas punase ristiku kasvatamine Tava 0 variandis taimekaitsevahendite (peamiselt glüfosaadi) kahjulikku toimet MMA-le.

Tava I süsteemis jäid mulla mikroobide aktiivsuse näitajad Mahe I ja Mahe II süsteemidest maha 12,0–12,6% võrra (joonis 2). Seega Tava I alade mineraalväetiste foonil väiksema mulda tagastavate taimejäänuste hulgaga ei suutnud võrreldes Tava 0-ga nimetamisäärselt parandada MMA näitajaid – vahe vähenemine võrdluses mahevariantidega vaid 4,1–4,6%. Pärast ristiku sissekündi võetud proovides mulla mikroobide aktiivsus suurenes Tava I variandis märgatavalt, 10,2% võrra, võrreldes sellele eelneva allakülviga. Punase ristiku foonil oli vahekultuuride ja laudasõnniku järeilmõju variandiga Mahe II MMA võrreldes Tava I variandiga vaid 5,5% võrra suurem ja näitab ristiku võimet tõsta mulla mikroobide aktiivsust ka tavaviljeluses.



**Joonis 1.** Mulla mikroobne aktiivsus ( $\mu\text{g}$  fluoreststeini  $\text{g}^{-1}$  kuiva mulla kohta  $\text{h}^{-1}$ ) väetamata ristiku ja talinisu kasvualade mullas 2014–2018 aastate keskmisena. Erinevad tähed märgivad statistiliselt olulist erinevust põllukultuuride vahel (Fisher LSD test,  $p < 0,05$ ). Vertikaaljooned joonisel näitavad viljelusviiside vahelist standardviga.

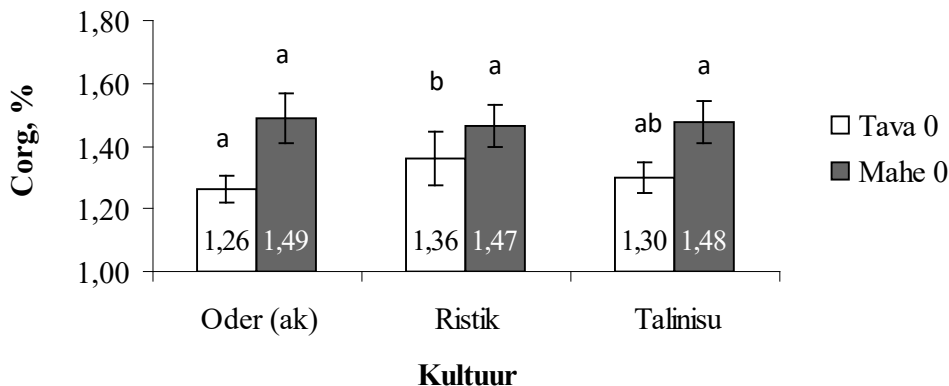


**Joonis 2.** Mulla mikroobne aktiivsus ( $\mu\text{g}$  fluoreststeini  $\text{g}^{-1}$  kuiva mulla kohta  $\text{h}^{-1}$ ) väetatud ristiku ja talinisu kasvualade mullas 2014–2018 aastate keskmisena. Erinevad tähed märgivad statistiliselt olulist erinevust põllukultuuride vahel (Fisher LSD test,  $p < 0,05$ ). Vertikaaljooned joonisel näitavad viljelusviiside vahelist standardviga.

Talinisu mullas aga suurenes see vahe Tava I ja Mahe II vahel jälle, kuni 7,7%-ni, Tava I MMA näitajate halvenemise tõttu. Selle põhjuseks võib olla Roundup Flexiga tehtud talinisu koristusjärgne umbrohutõrje, milles sisalduvad ained vähendavad mulla mikroobide tegevust süsiniku vabastamisel. Mulla bioloogiliste protsesside pärssimisel väheneb orgaaniliste ainete lagunemine ja seejärel toitainete eraldumine (Thornton *et al.*, 2010).

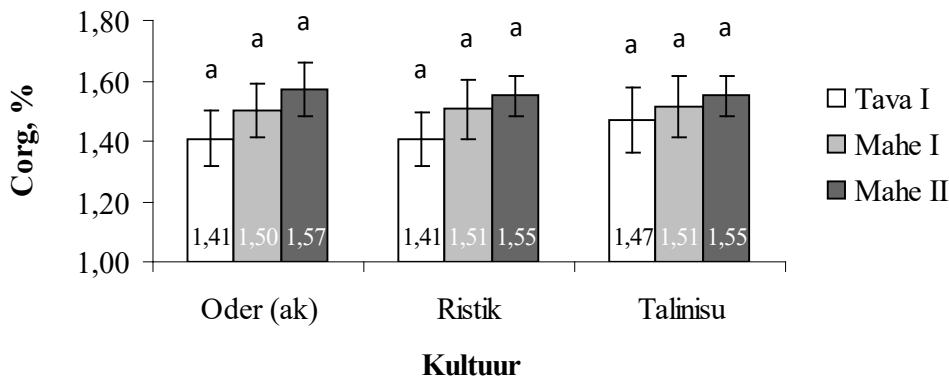
### Mulla orgaanilise süsiniku sisaldus

Tava 0 süsteemi mullas olid Corg näitajad madalamad võrreldes Mahe 0 süsteemi mullaga (joonis 3). Ristiku kasvatamine tõstis usutavalt Tava 0 ala Corg sisaldust, kuid selle vähenemise tendents talinisu kasvujärgses mullas näitab punase ristiku positiivse toime mõningast vähenemist (joonis 3).



**Joonis 3.** Mulla orgaanilise süsiniku sisaldus (Corg, %) väetamata ristiku ja talinisu kasvualade mullas 2014–2018 aastate keskmisena. Erinevad tähed märgivad statistiliselt olulist erinevust põllukultuuride vahel (Fisher LSD test,  $p < 0,05$ ). Vertikaaljooned joonisel näitavad viljelusviiside vahelist standardviga.

Tava I, Mahe I ja Mahe II alade mulla Corg sisalduses usutavaid erinevusi ei olnud (joonis 4).



**Joonis 4.** Mulla orgaanilise süsiniku sisaldus (Corg, %) väetatud ristiku ja talinisu kasvualade mullas 2014–2018 aastate keskmisena. Erinevad tähed märgivad statistiliselt olulist erinevust põllukultuuride vahel (Fisher LSD test,  $p < 0,05$ ). Vertikaaljooned joonisel näitavad viljelusviiside vahelist standardviga.

## Kokkuvõte

Uurimistulemustest selgus, et punase ristiku kasvatamine külvikorras avaldab soodsat mõju mikroorganismidele, tõstes mullamikroobide aktiivsust. Pestitsiididega töödeldud tavaviljelussüsteemides oli mulla mikroobide aktiivsus ja orgaanilise süsiniku sisaldus võrreldes maheüsteemidega madalam.

## Tänuavaldused

Uurimistöö on valminud ERA-NET Core organic projekti FertilCrop ja Eesti Maaülikooli projekti P180273PKTT toel.

## Kasutatud kirjandus

- Adam, D., Duncan, H. 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbiological activity using fluorescein diacetate (FDA) in range of soils. – *Soil Biology and Biochemistry* **33**, 943–951.
- Carter, M.R., Kunelius, H.T. 1993. Effect of undersowing barley with annual ryegrasses or red clover on soil structure in a barley-soybean rotation. – *Agriculture, Ecosystems & Environment* **43**, 245–254.
- Christensen, B.T. 1996. Matching measurable soil organic matter fractions with conceptual pools in simulation models of carbon turnover: Revision of model structure. In: Powlson, D.S., Smith, P., Smith, J.U. (eds.). – *Evaluation of Soil Organic Matter Models* Springer: Berlin, Germany, pp. 143–159.
- Deckers, J.A., Friessen, P., Nachtergaele, F.O.F., Spaargaren, O. 2002. World reference base for soil resources in a nutshell. In: Micheli, E., Nachtergaele, F.O., Jones, R.J.A., Montanarella, L. (eds.): – *Soil Classification 2001. European Soil Bureau Research Report No. 7*, EUR 20398 EN: 173–181.
- Eremeev, V., Kuht, J., Talgre, L., Alaru, M., Madsen, H., Loit, E., Luik, A. 2019a. Talinisu kasvuala mulla orgaanilise süsiniku, mikroobide aktiivsuse ja lämmastiku sisaldus erinevates viljelussüsteemides. Metspalu, L., Luik, A. (Toim.). – *Teaduselt mahepõllumajandusele*. Tartu: SA Eesti Maaülikooli Mahekeskus, lk. 15–21.
- Eremeev, V., Kuht, J., Tein, B., Talgre, L., Alaru, M., Runno-Paurson, E., Mäeorg, E., Loit, E., Luik, A. 2019b. Kartuli kasvatamise mõju mulla mikrobioloogilise aktiivsusele ja orgaanilise süsiniku ning lämmastiku sisaldusele erinevates viljelusviisides. Tupits, I., Tamm, S., Tamm, Ü., Toe, A. (Toim.). – *Agronomiam 2019* lk. 29–36.
- Eremeev, V., Talgre, L., Kuht, J., Mäeorg, E., Esmaeilzadeh-Salestani, K., Alaru, M., Loit, E., Runno-Paurson, E., Luik, A. 2020. The soil microbial hydrolytic activity, content of nitrogen and organic carbon were enhanced by organic farming management using cover crops and composts in potato cultivation. – *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil and Plant Science* **70** (1), 87–94.
- Fontvieille, D.A., Outaguerouine, A., Thevenot, D.R. 1992. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of microbial activity in aquatic systems: Application to activated sludges. – *Environmental Technology* **13**, 531–540.
- ISO 10381-6, 1993. Soil quality- Sampling. Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in laboratory. – *International Organization for Standardization*, Geneva, Switzerland.

- Kuht, J., Alaru, M., Ereemeev, V., Talgre, L., Loit, E., Luik, A. 2018. Muutused mulla mikroobide hüdrolüütilises aktiivsuses ja orgaanilise süsiniku sisalduses punase ristiku allakülviga odra kasvatamisel. Alaru, M. (Toim.). – *Agronoomia* 2018 lk. 8–14.
- Kuht, J., Ereemeev, V., Talgre, L., Alaru, M., Loit, E., Maeorg, E., Esmaeilzadeh-Salestani, K., Luik, A. 2019a. Changes in the soil microbial hydrolytic activity and the content of organic carbon and total nitrogen by growing spring barley undersown with red clover in different farming systems. – *Agriculture*, **9** (7).
- Kuht, J., Ereemeev, V., Alaru, M., Talgre, L., Loit, E., Luik, A. 2019b. Muutused mulla mikroobide hüdrolüütilises aktiivsuses ja lämmastiku sisalduses punase ristiku allakülviga odra kasvatamisel. Tupits, I., Tamm, S., Tamm, Ü., Toe, A. (Toim.). – *Agronoomia* 2019 lk. 22–28.
- Kuht, J., Ereemeev, V., Talgre, L., Alaru, M., Loit, E., Luik, A. 2019c. Punase ristiku mõju mulla orgaanilise süsiniku ja üldlämmastiku sisaldusele ning mikroobide aktiivsusele mahe- ja tavaviiljeluses. Metspalu, L., Luik, A. (Toim.). – *Teaduselt mahepõllumajandusele*. Tartu: SA Eesti Maaülikooli Mahekeskus, lk. 64–69.
- Madsen, H., Talgre, L., Ereemeev, V., Luik, A. 2016. Pestitsiidid suruvad alla mulla mikroobide hüdrolüütilist aktiivsust. Metspalu, L., Jõgar, K., Veromann, E., Mänd, M. (Toim.). – *Eesti Taimekaitse* 95, Ecoprint AS, lk 79–82.
- Oldare, M., Pell, M., Svensson, K. 2008. Changes in soil chemical and microbiological properties, during 4 years of application of various organic residues. – *Waste Management* **28**, 1246–1253.
- Oldare, M., Arthurson, V., Pell, M., Svensson, K., Nehrenheim, E., Abubaker, J. 2011. Land application of organic waste. Effects on the soil ecosystem. – *Applied Energy* **88**, 2210–2218.
- Reeuwijk, L.P. van. 2002 (ed.). Procedures for soil analysis. (6th ed). *Tech. Pap. 9*, ISRIC, Wageningen.
- Reintam, E., Köster, T. 2006. The role of chemical indicators to correlate some Estonian soils with WRB and soil taxonomy criteria. – *Geoderma* **136** (1), 99–209.
- Russell, E.W. 1971. Soil structure: Its maintenance and improvement. – *Journal of Soil Science* **22** (2), 137–150.
- Schnürer, J., Rosswall, T. 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. – *Applied and Environmental Microbiology* **43** (6), 1256–1261.
- Skudiene, R., Tomchuk, D. 2015. Root mass and root to shoot ratio of different perennial forage plants under western Lithuania climatic conditions. – *Romanian agricultural research* **35**, 209–219.
- Sviridov, A.V., Shushkova, T.V., Ermakova, I.T., Ivanova, E.V., Epiktetov, D.O., Leontievsky, A.A. 2015. Microbial degradation of glyphosate herbicides (Review). – *Applied Biochemistry and Microbiology* **51** (2), 183–190.
- Söderström, B.E. 1977. Vital staining of fungi in pure culture and in soil with fluorescein diacetate. – *Soil Biology and Biochemistry* **9**, 59–63.
- Söderström, B.E. 1979. Some problems in assessing the fluorescein diacetate-active fungal biomass in the soil. – *Soil Biology and Biochemistry* **11**, 147–148.
- Thornton, M., Miller, J., Hutchinson, P., Alvarez, J.M. 2010. Response of potatoes to soil-applied insecticides, fungicides, and herbicides. – *Potato Research* **53**, 351–358.
- Vorobyova, L.A. 1998. Chemical analysis of soils. Moscow: MSU, 271 pp.