

# Utjecaj suše na izdržljivost i elastičnost mikrobnih zajednica tla pri različitim biljnim pokrovima

---

Marković, Lucijana

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:950134>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-22**



**ODJEL ZA  
BIOLOGIJU**  
Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

[Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

ODJEL ZA BIOLOGIJU

Diplomski nastavnički studij biologije i kemije

Lucijana Marković

**UTJECAJ SUŠE NA IZDRŽLJIVOST I ELASTIČNOST MIKROBNIH ZAJEDNICA  
TLA PRI RAZLIČITIM BILJNIM POKROVIMA**

Diplomski rad

Osijek, 2016.

## **TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

**Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**

**Diplomski rad**

**Odjel za biologiju**

**Diplomski nastavnički studij biologije i kemije**

**Znanstveno područje: Prirodne znanosti**

**Znanstveno polje: Biologija**

### **UTJECAJ SUŠE NA IZDRŽLJIVOST I ELASTIČNOST MIKROBNIH ZAJEDNICA TLA PRI RAZLIČITIM BILJNIM POKROVIMA**

Lucijana Marković

**Rad je izrađen:** Odjel za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

**Mentor:** dr. sc. Goran Palijan, docent

#### **Kratak sažetak diplomskog rada:**

Provedeno je istraživanje utjecaja intenziteta sušenja (trajanja suše) na izdržljivost i elastičnost mikroorganizama tla u ovisnosti o biljnom pokrovu (tršćak, šuma i livada). Obavljena su dva eksperimenta različitog trajanja suše (4 dana i 28 dana) te istog perioda vlage tla (28 dana). U skladu s utjecajem suše na promatrane mikrobiološke parametre (dinamika broja bakterija, sposobnost stvaranja biofilma, aktivnost mikrobne dehidrogenaze u tlu i biofilmu) očekivale su se promjene i u mjerenim fizikalno – kemijskim parametrima (pH, električni konduktivitet, DW, AW, masa organske tvari u tlu, količina vlage). Utvrđen je signifikantan utjecaj vremena suše na promatrane zavisne varijable svih triju tipova biljnog pokrova tijekom oba eksperimenta. Tip biljnog pokrova ima značajan utjecaj na promatrane zavisne varijable, odnosno na okolišne čimbenike tla tijekom oba eksperimenta.

**Broj stranica: 105**

**Broj slika: 73**

**Broj tablica: 5**

**Broj literaturnih navoda: 60**

**Jezik izvornika: hrvatski**

**Ključne riječi:** suša, izdržljivost i elastičnost bakterija na stres, šumsko tlo, livadno tlo, tršćak,

**Datum obrane:** 28. 10. 2016.

#### **Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. Dr. sc. Goran Palijan, doc.
2. Dr. sc. Davorka Hackenberger, doc.
3. Dr. sc. Enrih Merdić, izv. prof.

**Rad je pohranjen u:** knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek**  
**Department of Biology**  
**Graduate Study of Biology and Chemistry in Education**

**MS thesis**

**Scientific Area:** Natural science

**Scientific Field:** Biology

### **THE DROUGHT IMPACT ON THE RESISTANCE AND RESILIENCE OF SOIL MICROBE COMMUNITIES IN SOILS WITH DIFFERENT VEGETATION**

Lucijana Marković

**Thisis performed at :** Institute for Quantitative Ecology, Department of Biology in Osijek

**Supervisor:** dr.sc. Goran Palijan, assistant prof.

#### **Short abstract:**

The research was conducted on intensity of drying (drought duration) on resistance and resilience of soil microorganisms, depending on vegetation (reeds, forests and meadows). Two experiments with different drought duration (4 days and 28 days) and the same period of soil moisture (28 days) were performed. In harmony with the impact of drought on the observed microbiological parameters (dynamics of bacteria, ability to produce biofilm, microbial dehydrogenase activity in soil and biofilm) are expected changes in the measurement of physical - chemical parameters (pH, electrical conductivity, DW, AW, the mass of organic matter in the soil, the amount of moisture). A significant impact of drought duration on the observed dependent variables was established for all three types of vegetation cover, during both experiments. Type of plant cover (reeds, forests, meadows) has a significant influence on the observed dependent variables, that is the environmental factors of soil, during both experiments.

**Number of page:** 105

**Number of figures:** 73

**Number of tables:** 5

**Number of reference:** 60

**Original in:** Croatian

**Key words:** drought, resistance and resilience of the microbial communities to stress, reeds, forests, meadows

**Date of the thesis defence:** 28.10.2016.

#### **Reviewers:**

1. Dr. sc. Goran Palijan, assistant prof.
2. Dr. sc. Davorka Hackenberger, assistant prof.
3. Dr.sc. Enrih Merdić, prof.

**Thesis deposited in:** Library of Department of Biology, University of J. J. Strossmayer in Osijek

*Zahvaljujem se mentoru, doc. dr. sc. Goranu Palijanu na prenesenom znanju, konstruktivnim savjetima i strpljenju tijekom izrade ovog diplomskog rada.*

*Hvala mojoj obitelji što mi je omogućila školovanje, vjerovala u mene i podržavala me.  
Hvala prijateljima i kolegama koji su doprinijeli izradi ovog diplomskog rada.*

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
1.1. Opće značajke tla.....	1
1.1.1. Tla Osječko- baranjske županije .....	2
1.1.2 Ritska crnica (humoglej) .....	3
1.2. Uloga mikroorganizama u tlu .....	5
1.3. Biotski i abiotski poremećaji, stabilnost, izdržljivost i elastičnost mikrobnih zajednica .....	5
1.4. Efekt suše i ponovno vlaženje tla .....	7
1.5. Prilagodba mikroorganizama tla na više stresova .....	9
1.6. Opis područja istraživanja .....	10
1.6.1. Pedološke značajke.....	10
1.6.2. Mikroorganizmi u tlu Kopačkoga rita .....	11
1. 7. Cilj istraživanja .....	12
2. MATERIJALI I METODE.....	13
2.1.Priprema eksperimenta i uzimanje uzoraka.....	13
2.1.1. Područje tršćaka .....	13
2.1.2. Područje šume .....	14
2.1.3. Područje livade .....	15
2.2. Fizikalno- kemijske analize tla .....	16
2.3. Standardizacija metode izolacije bakterija.....	16
2.4. Dizajn eksperimenta .....	17
2.5. Priprema suspenzije tla za ukupan broj bakterija (UBB) i BFA (Biofilm forming ability) test.....	18
2.5.1. BFA test (Biofilm forming ability test) i mjerenje absorbancije .....	18
2.5.2. Dehidrogenazna aktivnost biofilma (INT test).....	19
2.5.3. Priprema suspenzije tla za UBB .....	20
2.6. Bojanje bakterija.....	21
2.7. Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije formazana .....	21
2.8. Fizikalno- kemijske analize tla .....	22

2.8.1. Mjerenje količine vlage i sadržaja suhe tvari.....	22
2.8.2. Mjerenje količine pepela i sadržaja organske tvari u tlu.....	22
2.9. Obrada podataka.....	23
3. REZULTATI.....	24
3.1. PRVI EKSPERIMENT (NAKON 4 DANA SUŠE).....	24
3.1.1. Ukupan broj bakterija u 1 g tla (UBB).....	24
3.1.2. Sposobnost stvaranja biofilma (biomasa biofilma) .....	26
3.1.3. DHA u biofilmu .....	29
3.1.4. Aktivnost mikrobne dehidrogenaze (DHA).....	31
3.1.5. Masa suhe tvari u tlu (DW).....	34
3.1.6. Masa anorganske tvari u tlu (AW).....	37
3.1.7. Maseni udio vode u tlu.....	40
3.1.8. Maseni udio organske tvari (OM).....	42
3.1.9. pH suspenzije tla.....	44
3.1.10. Električni konduktivitet tla .....	46
3.2. DRUGI EKSPERIMENT (NAKON 28 DANA SUŠE) .....	49
3.2.1. Ukupan broj bakterija u 1 g tla (UBB).....	49
3.2.2. Sposobnost stvaranja biofilma .....	51
3.2.3. DHA biofilma.....	53
3.2.4. Aktivnost mikrobne dehidrogenaze (DHA).....	55
3.2.5. Masa suhe tvari u tlu (DW).....	57
3.2.6. Masa anorganske tvari u tlu (AW).....	59
3.2.7. Maseni udio vode u tlu.....	62
3.2.8. Maseni udio organske tvari (OM).....	64
3.2.9. pH suspenzije tla.....	67
3.2.10. Električni konduktivitet tla .....	69
3.3. Permanova .....	71
3.3.1. PCO ordinacijski dijagrami nakon 4 dana suše tla .....	72

3.3.2. PCO ordinacijski dijagrami nakon 28 dana suše tla .....	74
4. RASPRAVA.....	77
4.1. Dinamika ukupnog broja bakterija .....	77
4.2. Sposobnost stvaranja biofilma .....	79
4.3. Aktivnost mikrobne dehidrogenaze .....	80
4.4. Sadržaj organske tvari (OM) u tlu.....	81
4.5. pH suspenzije tla i električni konduktivitet (EC) tla .....	82
4.6. Permanova i PCO .....	84
5. METODIČKI DIO .....	86
6. GLAVNI REZULTATI I ZAKLJUČAK .....	98
7. LITERATURA.....	99



# 1. UVOD

Zakon o zaštiti okoliša, članak 10. (NN 110/07) glasi:

*„Tlo je neobnovljivo dobro i mora se koristiti održivo uz očuvanje njegovih funkcija. Nepovoljni učinci na tlo moraju se izbjegavati u najvećoj mogućoj mjeri.“*

Tlo, najvažniji i najveći prirodni resurs čovjeka, danas je pod sve većim pritiskom okoliša pri čemu se mijenja njegov kapacitet obavljanja osnovnih uloga ekosustava. Budući da je tlo vrlo dinamičan ekosustav, koji se neprestano mijenja, ono na taj način održava svoju strukturu i osigurava elemente koji su neophodni za život.

Vrlo je važno da tlo zadrži svoje ključne funkcije i produktivnost koje u velikoj mjeri ovise o mikrobiološkoj aktivnosti u tlu. Mikroorganizmi imaju ključnu ulogu u mnogim funkcijama tla, kao što je biogeokemijsko kruženje dušika, ugljika, fosfora i sumpora, nakupljanje i razgradnja organskih tvari, oksidaciji i redukciji mineralnih elemenata, a isto tako utječu i na neke temeljne karakteristike kao što su plodnost i struktura (Menta, 2012). Sve nabrojane funkcije ovise o brojim okolišnim faktorima kao što je temperatura, pH, vlažnost tla, vrsta tla, tip ekosustava, struktura tla te o količini organske tvari.

Uloga mikroorganizama za pravilan razvoj i funkciju tla kao ekosustava je od ključne važnosti, a istraživanja o njihovoj aktivnosti će nam dati informacije o potencijalu tla da podržava osnovne biogeokemijske procese (Subhani i sur, 2001).

## 1.1. Opće značajke tla

Tlo je prirodno tijelo koje je nastalo od čvrste ili rastresite stijene pod zajedničkim utjecajem pedogenetskih činitelja kao što su klima, reljef, vrijeme, organizmi, matični supstrat te pedogenetskih procesa koji obuhvaćaju trošenje primarnih minerala, sinteza i razgradnja organske tvari (Lončarić, 2014). Tlo je sustav sastavljen od krute, tekuće i plinovite faze (Slika 1.), unutar kojeg se nalaze čimbenici njegove plodnosti (voda, zrak, toplina, biotski čimbenici).



Slika 1. Sastav tla: čvrstu sastavnicu čine mineralna i organska tvar (humus), tekuću sastavnicu čini voda, dok plinovitu sastavnicu čini zrak tla. Prikazani postotci odnose se na tlo pri optimalnim uvjetima (Web 1)

Sastav i udio ovih faza znatno utječe na fizikalna i kemijska svojstva tla (McCauley i sur., 2005), dok fizikalna i kemijska svojstva tla direktno utječu na broj i vrstu organizama nastanjenih u tlu. Također fizikalna i kemijska svojstva utječu i na dostupnost nutrijenata, aeraciju i retencijski kapacitet. Fizikalna svojstva su: tekstura, poroznost, struktura, boja tla i konzistencija. Kemijska svojstva tla određena su kemijskim sastavom, reakcijom pH otopine tla, sorpcijom te salinitetom.

### 1.1.1. Tla Osječko- baranjske županije

Tipovi tala koje možemo naći na području Slavonije i Baranje, odnosno na području Osječko - baranjske županije čine ovaj dio Slavonije i Baranje najkvalitetnijim dijelom hrvatske panonske žitnice (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Na području Osječko- baranjske županije javlja se čak 18 tipova tala koje se na temelju kemijskog sastava vode tla i karaktera vlaženja svrstavaju u četiri glavne grupe. To su subakvalna, halomorfna, hidromorfna i automorfna tla. Kao što se može predvidjeti, najzastupljeniji tipovi tla (Lončarić, 2014) su lesivirano tlo (17.70 %) te močvarno glejno tlo (30.75 %), dok humoglej, odnosno ritska crnica, koja je korištena u izradi ovoga rada, zahvaća oko 5 % ukupne površine (Slika 2.).



Slika 2. Pedološka karta Osječko - baranjske županije (izrez iz OPKH)

Izvor: Husnjak, Bogunović, 2002., Agronomski fakultet Zagreb.

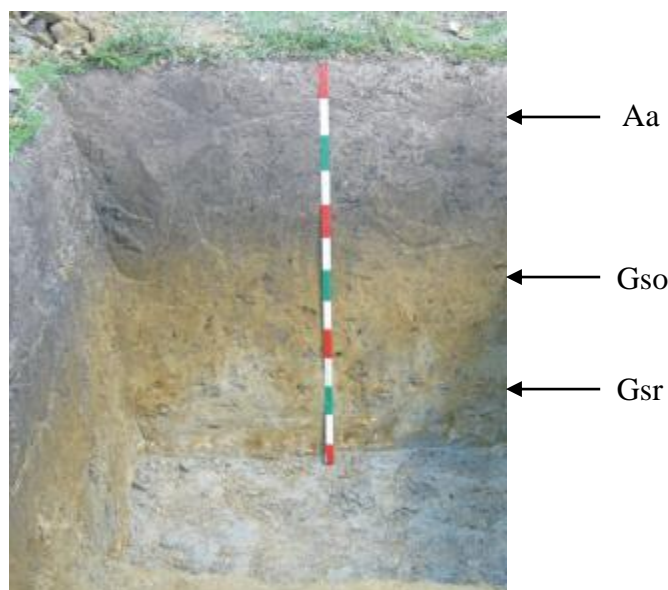
### 1.1.2 Ritska crnica (humoglej)

Ritska crnica spada u skupinu hidromornih tala, klasi glejnih tala. Glejna tla su vlažna tla, koja su nastala zbog prekomjernog vlaženja oborinskom vodom ili podzemnim, poplavnim ili cijednim vodama. Glejna tla karakterizira žućkasto-rđasta boja na površini agregata, dok se unutar agregata javljaju sivkasto - plave boje. Nastanak ritske crnice može se povezati sa područjem pružanja naših velikih rijeka, ritova, depresija i riječnih terasa gdje razina podzemnih voda ovisi o vodostaju rijeke (Vukadinović i Vukadinović, 2014). Ritsku crnicu usko povezujemo sa područjima na kojim se nalaze šumske zajednice hrasta lužnjaka i običnog graba (*Fraxineto - Quercetum roboris*) (Pekeč i sur., 2015). Budući da su rijetko plića od 150 cm, ubrajaju se u vrlo duboka tla. Razvija se na različitim fluvijalnim nanosima čija je struktura ilovasta ili glinasta, ali i na drugim matičnim susstratima kao što su eolski pijesci i pretaloženi les.

Prema karbonatnosti, ritska crnica može se podijeliti na 3 podskupine (Lončarić, 2014):

- Karbonatna ritska crnica
- Nekarbonatna ritska crnica
- Nekarbonatna vertična ritska crnica

Glavnina ritske crnice je ilovaste do glinasto - ilovaste strukture. Sklop profila (Slika 3.) ritske crnice je Aa – Gso - Gr (Aa - humusno akumulativni horizont moličnog karaktera (blag, suh i krhak u suhom stanju), Gso - glejni horizont sa znakovima oksidacije, Gr - glejni horizont sa znakovima redukcije) (Husnjak i sur., 2009).



Slika 3. Pedološki profil ritske crnice (Husnjak, 2008)

Zbog kolebanja podzemnih voda, čija amplituda se kreće od površine pa do dubine od 150 cm, dolazi do izmjene aerobnih i anaerobnih uvjeta tijekom godine. Ritska crnica zapravo ima nepovoljna fizikalna svojstva, a zbog glinaste strukture (postotak gline je 30 - 40 %) te male količine velikih pora u tlu, voda se vrlo sporo procjeđuje. Nepovoljnim fizikalnim svojstvima pripisuje se i nepovoljan toplinski režim, pa se ritska crnica klasificira kao hladno tlo. pH u vodi ritskih crnica vrlo je visok, od 7.5 do 8.5.

Unatoč negativnim fizikalnim svojstvima, produktivnost ritske crnice je vrlo dobra, a prinosi mogu biti veći od onih na černozemima (Vukadinović i Vukadinović, 2014) ukoliko se obave neki hidrotehnički i agrotehnički zahvati, kao što je odvodnja viška vode, zaštita od poplava, te poboljšanje vodozračnog režima rahljenjem i dubokom obradom tla.

## **1.2. Uloga mikroorganizama u tlu**

Kao što je prije naglašeno, mikroorganizmi u tlu ključne su strukture u mnogim njegovim funkcijama te su ključni za integritet svih ekosustava Zemlje. Bakterije i Archaeae sadrže većinu dušika i fosfora, a čak polovicu ugljika pohranjenog u živim organizmima (Whitman i sur., 1998). Mikroorganizmi koji žive u tlu mogu bit vrlo brojni, s  $10^{10}$  stanica (Gans i sur., 2005) i raznoliki s  $10^4$  vrsta (Curtis i sur., 2002) po gramu tla. Unatoč njihovom velikom doprinosu u funkcioniranju svih ekosustava, zbog svoje brojnosti i raznolikosti nisu čest predmet istraživanja. Zbog toga su najčešće promatrani kao konstanta, čime je njihov efekt na ekosustav zanemaren. Međutim, oni utječu, na direktan ili indirektan način, na kruženje nutrijenata, kvalitetu usjeva, te održivost tla. Mikroorganizmi tla značajno utječu na otpornost agroekoloških sustava na stres i abiotičke poremećaje. Promjene u količini, bioraznolikosti i aktivnost mikroorganizama u tlu najbrži su indikatori poremećaja u tlu, stoga su mikroorganizmi tla sve češći predmet proučavanja. Zbog složenosti i promjenjivosti tla vrlo je teško odrediti ulogu mikroorganizama u otpornosti tla na poremećaje i stres, a razumijevanje osnovnih uzročno posljedičnih veza je vrlo slabo. Tlo možemo promatrati kao ekosustav, a mikroorganizme kao njegove članove koji mogu biti izloženi poremećajima raznolike prirode. Stabilnost zajednice i poremećaj koji na nju djeluje usko su povezani. Stabilnost je način odgovora zajednice na poremećaj (Rykel, 1985).

## **1.3. Biotski i abiotski poremećaji, stabilnost, izdržljivost i elastičnost mikrobnih zajednica**

Postoje mnoge definicije poremećaja, općeprihvaćena definicija je ona koju je predložio Rykel (1985), koja kaže da je poremećaj biotski ili abiotski činitelj koji rezultira perturbacijom, odnosno narušavanjem ustaljenog reda ili rezultira stresom, odnosno fiziološkim odgovorom pojedinca na poremećaj. Rykel (1985) tvrdi kako poremećaj može promijeniti okoliš, što može imati posljedice na životne zajednice u njemu, ili može direktno promijeniti samu zajednicu. Neki autori odvajaju pojam stres i poremećaj, navodeći kako je stres kroničan izazov za zajednicu, a uzrokuje fiziološke promjene unutar nje (suša, toksini), dok poremećaj definiraju kao događaj koji uzrokuje fizičke promjene unutar zajednice, a najčešće uzrokuje mortalitet (poplave, požari, žetve). Ako dođe do pojave poremećaja / stresa

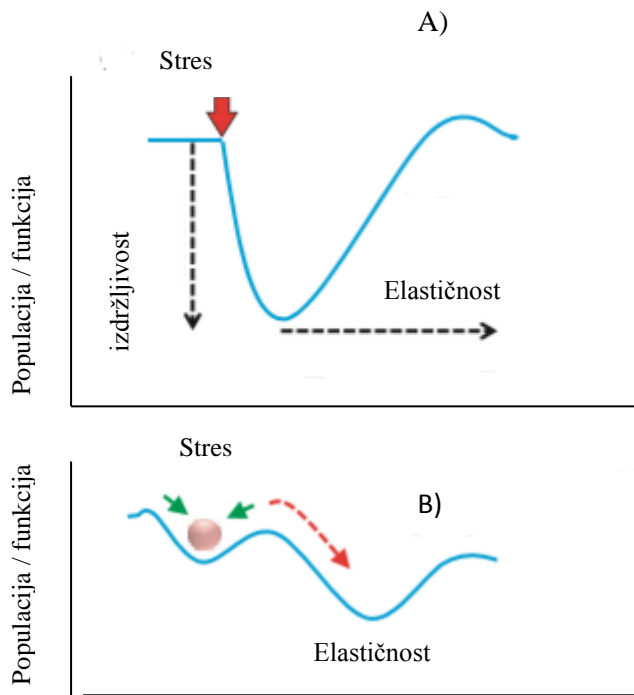
unutar ekosustava, životne zajednice unutar njega pokazuju svoju stabilnost. Prema Pimmu (1984), McNaughtonu (1994) postoje dva parametra koji određuju stabilnost sustava:

- Izdržljivost (engl. resistance): sposobnost sustava da se odupre poremećaju
- Elastičnost (engl. resilience): sposobnost regeneracije zajednice nakon poremećaja

Generalno gledajući, svaka zajednica je osjetljiva na poremećaj, odnosno može ga registrirati. Poremećaj može uzrokovati mortalitet čitave zajednice ili promjenu u broju članova zajednice (Rykel, 1985). Ako su organizmi unutar zajednice tolerantni na poremećaj, zajednica je izdržljiva. Na primjer, neke mikrobne zajednice pokazuju visoku stopu fiziološke i metaboličke fleksibilnosti na promjene uvjeta u ekosustavu. Dokazano je i da postoji brza adaptacija kroz horizontalni prijenos gena koja omogućuje da se osjetljiviji mikroorganizmi prilagode promijenjenim uvjetima u zajednici prilikom čega njihova struktura ostaje jednaka onoj u inicijalnoj zajednici (Allison i Martiny, 2008).

Ukoliko organizmi ne mogu pratiti brzinu promjena koje izaziva poremećaj u zajednici, znači da nisu izdržljivi. Tada pokazuju svoje drugo svojstvo, sposobnost regeneracije ili elastičnost (engl. resilience).

Pojam elastičnosti najčešće je tumačen na dva načina. Ukoliko se struktura i funkcija zajednice nakon pretrpljenog stresa vrata u inicijalno stanje, kažemo da je to inženjerska elastičnost (engl. engineering resilience). Druga vrsta otpornosti opisuje koliku količinu stresa zajednica može apsorbirati, a da pri tome ostane u inicijalnom stanju, prije nego što prijeđe u novo, alternativno stabilno stanje. U alternativnom stabilnom stanju struktura i funkcije zajednice su izmijenjene u odnosu na one u inicijalnom stanju (engl. ecological resilience). Druga vrsta elastičnosti najčešće se prikazuje modelom „lopta i uleknučće“ (engl. „ball and cup“) što je prikazano na Slici 4. Ako je riječ o mikrobnim zajednicama, može se dogoditi da zajednice pokazuju još jedan način oporavka nakon poremećaja. Ukoliko se struktura mikrobne zajednice nakon pretrpljenog poremećaja promijeni, a funkcije te zajednice ostanu nepromijenjene, zajednica pokazuju funkcionalnu redundanciju. Ona je rezultat toga što više vrsta mikroba može obavljati istu funkciju. Na slici 5. prikazani su mogući odgovori mikrobne zajednice na poremećaje, međutim ti odgovori primjenjivi su i za ostale zajednice u ekosustavima.



Primjer: oporavak populacija mikroorganizma nakon perioda suše

Primjer: prijelaz iz zajednice šuma u zajednice pašnjaka zbog prevelike ispaše i eksploatacije

Slika 4. Shematski prikaz dva načina elastičnosti.

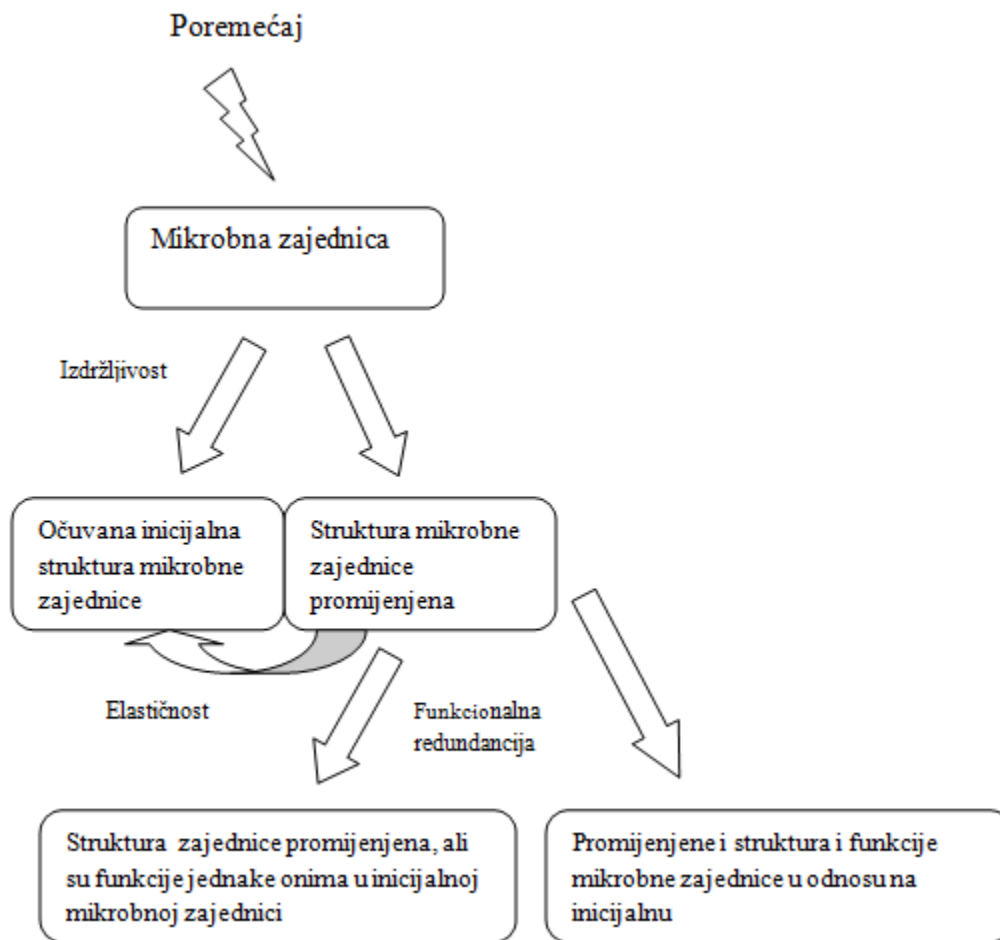
#### 1.4. Efekt suše i ponovno vlaženje tla

Suša je vjerojatno najčešći stres s kojim se mikrobi tla suočavaju. Jedna trećina Zemljine površine je aridna, semiaridna ili, u slučaju Mediterana, sezonski suha (Gurevitch i sur. 2002). Ostatak terestričkih ekosustava pod utjecajem je redovite suše ili povremenih ciklusa sušenja i ponovnog vlaženja. Prilikom sušenja tla, difuzija supstrata je ograničena. Mikroorganizmi tada ne dobivaju dovoljno resursa, što za posljedicu ima usporavanje biogeokemijskih procesa (Stark i Firestone, 1995). Tijekom suše, smanjenje vodnog potencijala tla se smanjuje, te je to direktan fiziološki stres za mikrobe u tlu. Mikrobi tada moraju preraspodijeliti resurse, što za posljedicu ima promjenu u tokovima ugljika i dušika. Mikrobi imaju polupropusne stanične membrane te su u direktnoj vezi s vodom u tlu. Vodni potencijal unutar bakterijske stanice vrlo brzo dolazi u ravnotežu s potencijalom vode u tlu. Kako se tlo suši, njegov vodni potencijal se smanjuje, a bakterije moraju razviti zaštitne ili adaptivne mehanizme za opstanak. Fiziološki mehanizmi koji su povezani s efektima suše i ciklusima sušenja i vlaženja ispitali su Schimel i sur. (2007). Kao rezultat izloženosti suši, mikroorganizmi skupljaju osmolite ili proizvodnjom organskih topljivih tvari (soluta) ili preuzimanjem iona iz izvanstanične otopine (Csonka, 1989), kako bi se zadržala cjelovitost stanice. Sve to za posljedicu ima smanjenje udjela vode u stanici, odnosno vodnog potencijala mikrobnih stanica (Harris, 1981). Prema Csonki (1989), kao osmolite uzimaju vrlo jednostavne organske tvari, najčešće aminospojeve kao što su prolin, glutamin i trimetilglicin. Akumulacija

osmolita energetski je jako zahtjevan proces, budući da skupljaju velike količine aminospojeva. Skupljeni osmoliti povećavaju udio bakterijskog ugljika za 7-20 % (Killham i Firestone, 1984) i udio bakterijskog dušika za oko 11-30 %.

Nakon završetka perioda suše i nakon ponovnog vlaženja tla, mikrobi se suočavaju s problemom uklanjanja osmolita. Osmoliti, koji su ih tijekom perioda suše spasili od dehidracije i smrti, sada im predstavljaju problem koji moraju riješiti u vrlo kratkom roku. Naime, vlaženje tla je brz postupak, a mikrobne stanice moraju otkloniti osmolite kako razlika u vodnom potencijalu između nje i tla ne bi izazvala puknuće stanice jer voda ulazi u nju. Mikrobi otklanjaju osmolite na nekoliko načina, a najčešće je to disanjem, polimerizacijom ili jednostavno njihovim prijenosom preko stanične membrane (Wood i sur. 2001). Kieft i sur. (1987) dokazali su da se i do 50% mikrobne mase otpušta tijekom ponovnog vlaženja. Ponovno vlaženje može uzrokovati otpuštanje nutrijenata iz bakterija, promjene u količini DOC (otopljeni organski ugljik) i može promijeniti količinu otpuštenog CO<sub>2</sub>, što dovodi do promjena u količini respiracije. Kraći periodi stresa najvjerojatnije utječu na mikrobne zajednice tako što mijenjaju način odvijanja procesa unutar njih, dok duži periodi stresa mijenjaju čitavu strukturu mikrobne zajednice. Postoje istraživanja koja dokazuju povećanje respiracije za 60% nakon suše te ponovnog vlaženja tla, ali neka istraživanja pokazuju smanjenje respiracije od 25 % nakon suše i ponovnog vlaženja. Moguće je da je došlo do promjene u strukturi zajednice zbog gubitka nekih njezinih članova (npr. bakterija razlagača) zbog kojeg je došlo do smanjenja u stupnju respiracije. Pesaro i sur. (2004) zaključili su da se količina respiracije nakon suše brzo oporavlja, dok se biomasa i određene skupine mikroba u zajednici teže oporavljaju, te im je potrebno više od mjesec dana da pokažu znakove oporavka.





Slika 5. Mogući odgovori mikrobne zajednice na poremećaj ili stres (Prilagođeno prema Allison i Martiny, 2008)

### 1.5. Prilagodba mikroorganizama tla na više stresova

Tla koja su pogođena jednim stresom (npr. sušom), a tijekom tog stresa, nekim drugim stresom (npr. vrućinom ili solju) teže se nose sa ponovnim poremećajima u odnosu na sustave koji nisu bili izloženi poremećaju.

Mikroorganizmi iz tla koje je pogođeno jednim stresom, raspoređuju energiju kako bi popravili štetu uzrokovanu njime, što za posljedicu ima otežano suprotstavljanje bilo kakvim drugim stresovima (Kuperman i Carreiro, 1997). Isto tako, nakon inicijalnog stresa, može se dogoditi da dođe do smanjenja biodiverziteta i brojnosti mikroorganizama, što za posljedicu može imati manju stabilnost i nesposobnost regeneracije nakon nove smetnje (Griffiths i sur., 2012).

Isto tako, postoje dokazi da izloženost inicijalnom stresu može utjecati na stabilnost mikroorganizama tla na daljnje, naknadne stresove, ali još nije jasno u kolikoj mjeri. Mikrobne zajednice koje su već bile pod stresom mogu biti više ili manje stabilne u slučaju drugog stresa, ovisno o njegovoj prirodi (Tobor - Kaplon i sur., 2005).

U ovome radu istražujemo što će se dogoditi sa brojnošću i aktivnošću bakterija, kao članova mikrobnih zajednica, nakon izlaganja stresu u obliku suše te ponovnog vlaženja tla. Budući da su istraživanja ove vrste vrlo skromna, a neki podaci su kontradiktorni, ovaj rad bi trebao pružiti dodatne informacije i objašnjenja o utjecaju suše na bakterije u tlu.

## **1.6. Opis područja istraživanja**

Park prirode Kopački rit poplavno je područje u Baranji, između rijeka Dunav na istoku i Drave na jugu (Slika 5.). Riječ je o najstarijem parku prirode u Hrvatskoj koji je od 1993. godine na listi Ramsarskih područja. Park obuhvaća područje od 177 km<sup>2</sup>, dok područje specijalnog zoološkog rezervata obuhvaća površinu od 80 km<sup>2</sup>. Kopački rit jedna je od najvećih fluvijalno-močvarnih nizina u Europi, čiji izgled uvelike ovisi o plavljenju dvaju spomenutih rijeka. Razina vode najviša je u proljeće i rano ljeto kada Dunav poplavi područje. Stoga možemo reći da je utjecaj plavljenja na područje zapravo dvojak, ne samo da se dovodenjem vode utječe na stanje fitoplanktona i zooplanktona, već ujedno i potpomaže spajanje vodenih površina koja su izolirana u vrijeme sušnog razdoblja.

### **1.6.1. Pedološke značajke**

Budući da je područje parka prirode Kopački rit pod velikim utjecajem poplava rijeka Drave i Dunava te podzemnih voda, njegovo tlo je vrlo specifično, a biljni pokrov je očuvan u autohtonom stanju. Stoga je ovo područje od izuzetne ekološke važnosti. Prema Bognaru (1990), područje Kopačkoga rita geomorfološki je formirano tijekom mlađeg kvartara, a spada u mlađe potoline. Razlog zbog kojeg se Kopački rit razlikuje od susjednih fluvijalnih područja je to što su se prilikom njegova formiranja odvijala dva procesa sedimentacije, najprije organogeno-močvarna, zatim fluvijalna. Stoga, njegovu litološku podlogu čini organogeno-močvarni sedimentni prah, zatim glina i treset nakon čega slijede tvari fluvijalnog porijekla (pijeskovni prah i pijesak) (Bognar, 1990).

Antić i sur. (1965., 1968.) dijele tlo područja Kopačkoga rita na 3 grupe:

- subhidrična (tla koja su neprestano pod vodom (npr. područje Kopačkoga jezera)
- semihidromorfna ( tla s povremenim suficitnim vlaženjem)
- semiterestrična (pojava je uvjetovana količinom vlage te vrstom biljnog pokriva)

### 1.6.2. Mikroorganizmi u tlu Kopačkoga rita

Iako su mikroorganizmi dio biotičke komponente i kao takvi imaju bitnu ulogu u kruženju tvari i energije, dosadašnja istraživanja mikroorganizama u tlu Kopačkoga rita, vrlo su skromna. Obavljeno je nekoliko bakterioloških analiza sedimenta Sakadaškoga i Kopačkoga jezera te Hulovskoga kanala, a dobiveni podaci ukazivali su na ubrzane procese razlaganja i mineralizacije organske tvari. Budući da tlo Kopačkoga rita do sada nije istraživano na ovakav način, rezultati ovoga diplomskog rada trebali bi dati važne podatke o istraživanim parametrima.



Slika 6. Zemljopisni položaj Kopačkoga rita. (Izvor : Web 2)

## **1. 7. Cilj istraživanja**

Cilj istraživanja bio je odrediti utjecaj intenziteta sušenja (trajanja suše) na izdržljivost i elastičnost mikroorganizama tla u ovisnosti o biljnom pokrovu (tršćak, šuma i livada).

## 2. MATERIJALI I METODE

### 2.1. Priprema eksperimenta i uzimanje uzoraka

Uzorci za analize uzeti su dana 1.7.2016. godine od 9:00 h do 17:00 h, u parku prirode Kopački rit, na tri različita tipa biljnog pokrova - tršćak, šuma i livada. Na svakom tipu biljnog pokrova metodom slučajnog odabira, izabrano je 7 postaja, na kojima su uzeti uzorci tla s površine (do dubine ~ 20cm), te su prebačeni u sterilizirane staklene boce za uzorkovanje s poklopcem (720 ml). Uzorci tla transportirani su u putnim hladnjacima na Odjel za biologiju, Sveučilišta Josipa Juraja Strossmayera u Osijeku gdje su se u naredna dva mjeseca obavljale mikrobiološke analize.

#### 2.1.1. Područje tršćaka

Najprije je uzorkovano područje tršćaka. Tablica 1. prikazuje vrijednosti mjerenih parametara pri dolasku na svaku od 7 postaja.

Tablica 1. Prikaz vrijednosti geografske širine (LA), geografske dužine (LO), magnetskoga polja (MF), tlaka (hPa), te temperature tla i zraka.

Broj postaje	LA/°N	LO/°E	MF/μT	p/hPa	T tlo/°C	T zrak/°C
1	45.9115	18.51428	58.32	1004.57	21,3	26.7
2	45.6525	18.8567	59.48	1004,68	19,5	28.8
3	45.6521	18.8584	57.52	1004.74	22,9	30.4
4	45.6525	18.8613	62.19	1004.78	27,4	33.5
5	45.65028	18.86002	59.74	1004.88	23,2	32.4
6	45.64659	18.86152	63.23	1004.92	25,1	31.9
7	45.64632	18.85894	61.06	1005.01	28.8	33,9



Slika 7. Područje tršćaka, postaja br.1.  
Fotografirala Lucijana Marković ( 1.7. 2016.)

### 2.1.2. Područje šume

Nakon tršćaka, uzorkovano je tlo s područja šume na 7 postaja.

Tablica 2. Prikaz vrijednosti geografske širine (LA), geografske dužine (LO), magnetskoga polja (MF), tlaka (hPa), te temperature tla i zraka.

Broj postaje	LA/°N	LO/°E	MF/μT	p/hPa	T tlo/°C	T zrak/°C
1	45.6483	18.85793	59.19	1004.72	23.1	30.1
2	45.6497	18.8564	58.1	1004.69	23.1	28.5
3	45.65013	18.85466	62.36	1004.75	23.5	28.1
4	45.65229	18.85354	58.92	1004.64	24.1	29
5	45.6526	18.8528	62.28	1004.65	21.8	27.8
6	45.65504	18.85417	58.83	1004.42	24.1	27.8
7	45.65167	18.85351	58.33	1004.34	22.9	27.8



Slika 8. Područje šume, postaja broj 4.  
Fotografirala Lucijana Marković (1.7.2016.)

### 2.1.3. Područje livade.

Zadnje je uzorkovano područje livade. Tablica 3. prikazuje vrijednosti mjerenih parametara pri dolasku na svaku od 7 postaja.

Tablica 3. Prikaz vrijednosti geografske širine (LA), geografske dužine (LO), magnetskoga polja (MF), tlaka (hPa), temperature tla i zraka, te nekih posebnosti vezanih za postaje na području livade

Broj postaje	LA/°N	LO/°E	MF/μT	p/hPa	T tlo/°C	T zrak/°C
1	45.65008	18.84429	60.39	1003.92	28.6	32
2	45.6518	18.84288	60.7	1003.86	29.8	32.9
3	45.65202	18.8408	61.18	1003.76	29	34.4
4	45.65256	18.8433	58.35	1003.86	28	33.9
5	45.65227	18.84532	59.5	1003.88	29.2	34.4
6	45.6515	18.84758	57.29	1003.78	28	33.4
7	45.6509	18.8498	60.25	1003.63	28	32.8





Slika 9. Livadno područje. Fotografirala Lucijana Marković (1.7.2016.)

## 2.2. Fizikalno- kemijske analize tla

Temperature tla i zraka mjerene su digitalnim termometrom s podjelom ljestvice 10/1 °C. Temperatura zraka ( $T_z$ ) mjerena je u sjeni, iznad površine tla, a temperatura tla mjerena je na dubini od 15 cm ( $\pm 5$ cm). Tlo sa svakoga lokaliteta podvrgnuto je kemijskoj analizi. Konduktivitet (električna provodljivost,  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) i pH tla mjereni su minilaboratorijem WTW Multi 340i (Wissenschaftlich-Technische Werkstätten, Weilheim, Njemačka). Za mjerenje pH i konduktiviteta uzeto je po 10 g tla svakoga dana testiranja, te je napravljena suspenzija tla :

- za mjerenje pH - 10g tla i 20ml destilirane vode (omjer 1 : 2),
- za mjerenje konduktiviteta - 10g tla i 50 ml destilirane vode (omjer 1 : 5).

pH se mjeri 20 minuta nakon što se suspenzija napravi, a za mjerenje konduktiviteta potrebno je da suspenzija tla prenoći.

## 2.3. Standardizacija metode izolacije bakterija

Dva mjeseca prije postavljanja eksperimenta, standardizirana je metoda izolacije bakterija iz tla kako bi se dobio optimalan broj bakterija u 10 ml suspenzije tla, odnosno u 10  $\mu\text{l}$  alikvota suspenzije tla, te posljedično tomu optimalan broj bakterija po vidnom polju (20-50) prilikom brojanja pomoću epifluorescentnog mikroskopa.

Standardizacija metode je obavljena svaki puta na isti način, a mjereni parametri su: snaga sonikatora te trajanje soniciranja tla sonikatorom. U falkonice (15 ml) odvagano je 1g tla, zatim je napravljena suspenzija tla, dodavanjem 10 ml sterilne destilirane vode. Nakon toga uzet je



aliquot suspenzije (600  $\mu$ l) te je sekundarno razrijeđena dodavanjem 11,4 ml sterilne destilirane vode (ukupan volumen je 12ml). Sekundarno razrijeđena suspenzija zatim je sonicirana. Jakost sonikatora i trajanje soniciranja kombinirani su te je dobivanjem krivulje na grafu određeno vrijeme soniciranja, prilikom kojeg dobijemo optimalan broj bakterija (literaturni podaci). Jakost sonikatora mijenjana je od 20, 40, 60, 80 te 100 %, a period je varirao od 15, 30, 45 sekundi, te 1, 3, 6, 12 minuta. Određeno je da je pri 100%-tnoj jakosti sonikatora i pri 6-minutnoj tzv. pulse metodi rada (1 minuta rada sonikatora, 1 minuta pauze) optimalan broj bakterija u suspenziji.

#### **2.4. Dizajn eksperimenta**

1. srpnja, nakon dolaska s terena, postavljena su oba dijela eksperimenta. Oba dijela eksperimenta sastojala su se od faze suše i faze vlage, čije je trajanje bilo različito. Prva faza prvog dijela eksperimenta, odnosno izlaganje suši, trajao je od 1. do 5. srpnja, tijekom kojih su 21 uzorak tla (7 uzoraka s područja tršćaka, 7 uzoraka s područja šume i 7 uzoraka s područja livade) izloženi suši. Drugi dio eksperimenta trajao je od 1. do 29. srpnja tijekom kojih su 21 uzorak tla (po sedam od svakog tipa biljnog pokrova) izloženo suši. Uzorci su tijekom 4, odnosno 28 dana suše bili inkubirani u laboratorijskom inkubatoru na temperaturi od 30°C. Također, uzete su kontrole, po 30g tla iz svake staklene boce s područja tršćaka K (1-7), s područja šume K (8-14) te s područja livade K (15-21). Kontrole su tijekom 57 dana, koliko je trajao eksperiment, bile u laboratorijskom inkubatoru, a otvor staklene boce bio je prekriven aluminijskom folijom (s nekoliko otvora) kako bi se smanjilo isparavanje vode iz tla. Nakon faze suše, slijedila je faza vlage koja je u oba slučaja jednako trajala, a trajala je 28 dana (4 tjedna). U oba slučaja, tijekom 28-dnevne faze vlage, uzeti su uzorci tla 0. (odnosno na dan završetka suše), 1., 3., 7., 14., 28-og. dana vlage. Uzeti su uzorci tla za brojanje ukupnog broja bakterija (1g tla), za mjerenje pH i konduktiviteta (10g) te za svježiu, suhu i organsku tvar tla (1g), ukupno 12 g tla.

## **2.5. Priprema suspenzije tla za ukupan broj bakterija (UBB) i BFA (Biofilm forming ability) test**

Pribor i kemikalije potrebne za pripremu suspenzije:

- 24 Falcon epruvete
- Po 1 g tla iz svake staklene boce s uzorcima
- Destilirana sterilna voda
- Mikropipete od 1 ml i 5 ml
- Nastavci za mikropipete
- Rukavice
- Špatula
- 96% -tni etanol
- Upaljač
- Analitička vaga

Suspenzije tla pripremaju se u Falcon epruvetama (15ml) koje su prethodno sterilizirane u autoklavu 15 minuta na 121° C i tlaku 1 bar. Nakon sterilizacije, označe se Falcon epruvete s odgovarajućim brojevima (redni brojevi postaja uzorkovanja), te se redom u epruvete doda po 1 g uzorka tla, ukupno 21 uzorak i 3 kontrolna uzorka. Između svakog uzimanja uzorka , špatula se očisti 96% - tnim etanolom, te prođe kroz plamen kako bi se spriječila kontaminacija ili prijenos bakterija iz jednog u drugi uzorak tla. Nakon što je odvagano po 1 g tla za svaki uzorak, mikropipetom se otpipetira po 10 ml sterilne destilirane vode te se pripremila suspenzija tla.

### **2.5.1. BFA test (Biofilm forming ability test) i mjerenje absorbancije**

Pribor i kemikalije koje su potrebne za BFA test:

- 600 µl suspenzije tla (aliquot od prije pripremljene suspenzije tla)
- 48 - well plate (mikropločice)
- mikropipete od 1 ml, 50 µl,
- nastavci za mikropipete
- kristal violet boja

- 96 %- tni etanol
- sterilna destilirana voda
- rukavice
- 2 kivete
- Spektrofotometar
- TRIS pufer (2 – amino – 2 – hidroksimetil – propan - 1,3 - diol) pH - 7,4
- INT boja [2 (jod - fenil) -3 (nitro - fenil) - 5 (feril) tetrazolklorid]

Od početne suspenzije (10 ml) uzima se po 600  $\mu$ l te se nasađuje u 48 - well plate (mikropločice). Nakon nasađivanja, mikropločice se ostave 48 sati na inkubaciji na sobnoj temperaturi (23° C;  $\pm$  2° C). Nakon 48 sati inkubacije, prvi dio mikropločica (24 uzorka tla-21 uzorak tla i 3 kontrole ), ukupno 24 jažice bojaju se sa po 60  $\mu$ l boje crystal violet, a bojanje traje 15 minuta. Tijekom tih 15 minuta, ukoliko je došlo do formiranja biofilma na stijenkama jažica, dolazi do njegova bojanja. Crystal violet boja priređena je unaprijed, prilikom čega je dobiveno 100 ml 1% boje, tako što je 1 g CV-boje otopljen u 99 ml sterilne destilirane vode.

Nakon bojanja, sadržaj jažica (zajedno s tлом) otpipetira se, a jažice se ispiru 2 puta sa po 600  $\mu$ l sterilne destilirane vode, kako bi se odstranio višak boje i stanice koje nisu pričvršćene na stijenke jažice. Sadržaj se zatim zamjenjuje sa 600  $\mu$ l 96 % etanola. U ovom koraku dolazi do tzv. odbojavanja stijenki jažica, na kojima se tijekom inkubacije od 48 sati, trebao formirati biofilm (BFA test - sposobnost stvaranja biofilma). Upravo ta otopina boje i etanola, čija je koncentracija drugačija za svaki uzorak, predstavlja količinu razvijenog biofilma na stijenkama. Izmjerene su absorbancije svih uzoraka pri 588 nm pomoću spektrofotometra (valna duljina se odredila iz referenci te skeniranjem pripremljene boje).

### **2.5.2. Dehidrogenazna aktivnost biofilma (INT test)**

Sadržaj drugog dijela mikropločica (24 jažice) se ispiru 2 puta sa po 600  $\mu$ l sterilne destilirane vode, nakon čega se u jažice dodaje po 400  $\mu$ l TRIS pufera (pH 7,4) i 200  $\mu$ l INT boje. Kako bismo pripremili TRIS pufer, potrebno je 1,8 g TRIS-a (2 - amino - 2- hidroksimetil-propan - 1,3 - diol) dodati u 30 ml vode. Zatim se podesi pH vrijednost pomoću otopine HCl na vrijednost od 7,4. Nakon dodatka pufera i boje, potrebno je prekriti jažice aluminijskom folijom, kako bi bile zaštićene od svjetla , te se ostave 24 sata na inkubaciji na 40 °C. INT je

monotetrazolska sol koja se koristi kao indikatorska boja (M. V. Berridge, i sur., 2005) jer dolazi do redukcije spoja do formazana (INTF) koji nije topiv u vodi, te je indikator redoks reakcija u stanicama. Redukcija je rezultat aktivnosti dehidrogenaza, što pokazuje da reakcije u kojima ne sudjeluju enzimi, nego dolazi samo do prijenosa elektrona, također mogu biti primijećene u prisutnosti odgovarajućeg intermedijera koji je elektron akceptor (Green, Narahara, 1980, Tan, Herst, 2005.). INT se, dakle, koristi kao mjera respiratorne aktivnosti mikroorganizama u različitim situacijama (Sabnis, 2010; Berridge i sur., 2005).

### 2.5.3. Priprema suspenzije tla za UBB

Potreban pribor i kemikalije:

- Suspenzija tla (10 ml) u Falcon epruvetama (15ml)
- Mikropipeta od 5 ml, 1 ml i 100  $\mu$ l
- Nastavci za mikropipete
- 24 sterilizirane Falcon epruvete
- Destilirana sterilna voda
- 36% - tni formaldehid
- DTAF (5 - (4,6 – diklorotriazin – 2 - il) aminofluorescein)
- Puferska otopina – 0.05 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (7.8 g/l) i 0.85% NaCl, pH - 9
- Predmetna stakalca s nacrtanim kružnicama promjera 10 mm
- Pokrovnice
- Led
- Rukavice

Nakon što se od 10 ml početne suspenzije tla u svakoj Falcon epruveti oduzelo po 600  $\mu$ l suspenzije ( za nasadivanje u mikropločice i Eppendorf epruvete), ostatak suspenzija (8,2 ml) potrebno je fiksirati s 0,8 ml 36% formaldehida, prilikom čega je nastala 3,6 %- tna otopina. Dobivenu suspenziju tla potrebno je sekundarno razrijediti, kako bi uzorci za epifluorescentnu mikroskopiju ne bi bili pregusti. Sekundarna suspenzija priprema se tako što se uzima 600  $\mu$ l fiksirane suspenzije tla, te se u Falcon epruvetama (15 ml) razrijedi s 11,4 ml sterilne destilirane vode, prilikom čega se dobije krajnji volumen od 12 ml. Suspenzija se zatim sonicira tijekom 6 minuta tzv. pulse metodom sonikatora tijekom kojih se izmjenjuju minuta soniciranja i minuta pauze. Soniciranje se obavlja tako što se Falcon epruvete sa suspenzijom

tla drže u ledu, budući da se prilikom rada dio sonikatora koji se nalazi u epruveti zagrijava te bi mogao oštetiti bakterijske stanice.

## **2.6. Bojanje bakterija**

Nakon fiksacije i soniciranja, uzorci su bojani kako bi se pripravili za epifluorescentnu mikroskopiju i kako bi se kvantificirali. Od 10 µl suspenzije tla rade se razmazi na staklenim predmetnicama s nacrtanom kružnicom promjera 11 mm, koje su prethodno sterilizirane i označene. Razmazi se suše na sobnoj temperaturi, prilikom čega dolazi do fiksacije bakterijskih stanica za predmetnicu. Za bojanje bakterijskih stanica koristi se 40 µl 5 - (4,6 - diklorotriazin - 2 - il) aminofluorescein (DTAF, konačna koncentracija 0,004 M). DTAF se zbog malog pozadinskog bojanja koristi za automatsku analizu slika bakterija (Bloem i sur., 1995; Paul i sur., 1999). DTAF se kovalentno veže za proteine. Bojanje bakterija traje 30 minuta, nakon čega slijedi ispiranje boje s dinatrij fosfatnim puferom.

Pufer se pripremio prethodno, tako što je napravljena otopina 0,05 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (7,8g/l destilirane vode) i 0,85 % NaCl koja se podesi na pH vrijednost 9. Otopina boje DTAF sadrži 2 mg DTAF-a otopljenog u 10 ml pufera. Ispiranje boje se vrši dva puta po 10 minuta sa po 40 µl pufera. Nakon sušenja preparata, na njih se kapne jedna kap imerzijskog ulja, preko toga se stavlja pokrovnica i još jedna kap imerzijskog ulja. Bojanje se obavljalo pomoću epifluorescentnog mikroskopa (Olympus BX 51) na povećanju 1000 x. Bakterije se broje u otprilike 10-15 vidnih polja. Fotografije su snimane Olympusovim digitalnim fotoaparatom 4040Z.

## **2.7. Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije formazana**

Zadnji mikrobiološki parametar koji se istraživao, bio je odrediti aktivnost mikrobne dehidrogenaze u tlu. Od početne suspenzije tla (10 ml) otpipetirano je 600 µl uzorka u sterilne epice. Nakon toga, dodano je 600 µl TRIS pufera i 300 µl INT - a. TRIS pufer je pripremljen na isti način kao za mjerenje BFA. Slijedila je inkubacija u tami pri 40 °C u trajanju od 24 sata. Nakon inkubacije, epice s uzorcima su centrifugirane 5 minuta na 5000 x g. Poslije centrifuge, supernatant je odvojen od taloga, a u epice, zajedno s talogom koji je ostao dodano je 900 µl metanola. Uzorci su ostavljani na inkubaciju u tami 24h na sobnoj temperaturi (23°C

$\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Nakon ponovnog centrifugiranja, koncentracija nastalog formazana (INTF) u tlu, odnosno talogu, određena je pomoću spektrofotometra. Mjerena je apsorbancija na valnoj duljini od 480 nm u odnosu na slijepu probu koja je bila metanol.

## **2.8. Fizikalno- kemijske analize tla**

Osim mikrobioloških analiza tla, obavljale su se i fizikalno-kemijske analize. Mjerilo se

- pH reakcija tla
- EC - električni konduktivitet
- DW - količina suhe tvari tla
- AW - količina pepela
- w OM – maseni udio organske tvari
- w H<sub>2</sub>O – maseni udio vode u tlu

u odnosu na tip biljnog pokrova. Sav pribor je autoklaviran u autoklavu (*Melag*), tijekom 15 minuta, pri temperaturi 121° C.

### **2.8.1. Mjerenje količine vlage i sadržaja suhe tvari**

Ukupna suha tvar (engl. dry weight, DW) u svim uzorcima određena je nakon što je po 1 g uzorka tla sa svih postaja sušen u sušioniku tijekom 24h, na temperaturi od 100°C. Određena je količina vlage te sadržaj suhe tvari uz pomoć podataka prikupljenih nakon odvage svježe tvari te suhe tvari nakon sušenja, prema slijedećoj formuli:

Količina vlage = (masa svježe tvari - masa suhe tvari nakon sušenja na 100°C) \* 100

### **2.8.2. Mjerenje količine pepela i sadržaja organske tvari u tlu**

Žarenjem u Mufolnoj peći na 360°C tijekom 3h, određen je sadržaj pepela (engl. ash weight, AW) te količina organske tvari u tlu (engl. organic matter, OM) (Slika 7.) Masa nakon žarenja je masa pepela (AW), dok se masa organske tvari izračuna prema formuli:

Udio OM = (masa suhe tvari nakon sušenja - masa pepela nakon žarenja) \* 100

## 2.9. Obrada podataka

Podaci su obrađeni pomoću programa *Microsoft Office Excell 2007*, *KyPlot* i *PRIMER 6* pod *Windows 7* operativnim sustavom.

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija. Standardna devijacija (SD) je prosječno odstupanje svih vrijednosti niza od njegove srednje vrijednosti. Standardne devijacije računane su za 7 mjerenja ( $n = 7$ ), odnosno dobivene su kao rezultat prosječnih odstupanja niza 7 vrijednosti, od njegove sredine.

Statistička obrada podataka provedena je *rmANOVA* testom, tj. *repeated measures ANOVA*, te permutacijskom multivarijatnom analizom varijance ili *PERMANOVA*. Multivarijatni podaci i međusobni odnosi uzoraka vizualizirani su ordinacijskom metodom PCO (engl. principal coordinates analysis).

### 3. REZULTATI

Tijekom dva eksperimenta koji su se razlikovali po duljini trajanja suše određivali su se slijedeći parametri: sposobnost stvaranja biofilma, količina nastalog formazana te ukupni broj bakterija u 1 g tla (UBB), pH suspenzije tla, električni konduktivitet suspenzije tla, masa suhe tvari, masa anorganske tvari, maseni udio vode te maseni udio organske tvari u tlu. Svi rezultati najprije su prikazani za prvi eksperiment (nakon 4 dana suše), a potom za drugi eksperiment (nakon 28 dana suše).

rmANOVA testom statistički su uspoređena 3 tretmana - nakon dolaska s terena (nulto stanje), nakon perioda suše (4 dana / 28 dana) te nakon 28 dana vlaženja tla.

#### 3.1. PRVI EKSPERIMENT (NAKON 4 DANA SUŠE)

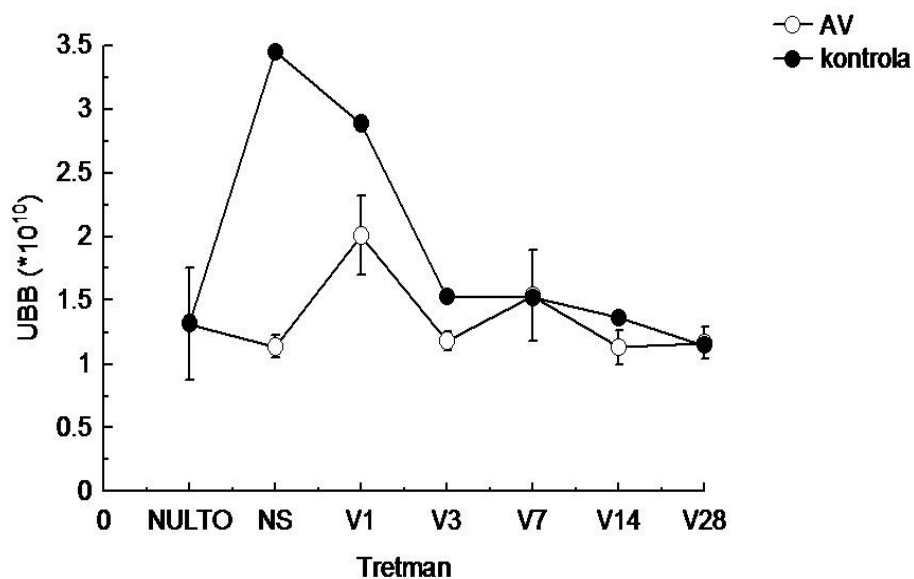
##### 3.1.1. Ukupan broj bakterija u 1 g tla (UBB)

Na tlu s područja tršćaka rmANOVA nije detektirala signifikantnu razliku između promatranih mjerenja (Slika 10.). Izračunato je da se u 1 gramu tla nalazi  $1.31 \cdot 10^{10}$  bakterija, kod mjerenja nakon terena (nulto stanje). Također, kod mjerenja nakon 4 dana suše u 1 gramu tla je bilo  $1.14 \cdot 10^9$  bakterija te nakon 28 dana vlaženja  $1.17 \cdot 10^{10}$ . Broj bakterija je opao nakon izlaganja sušnim uvjetima u odnosu na nulto stanje, ali se vlaženjem, nakon 4 dana povećao.

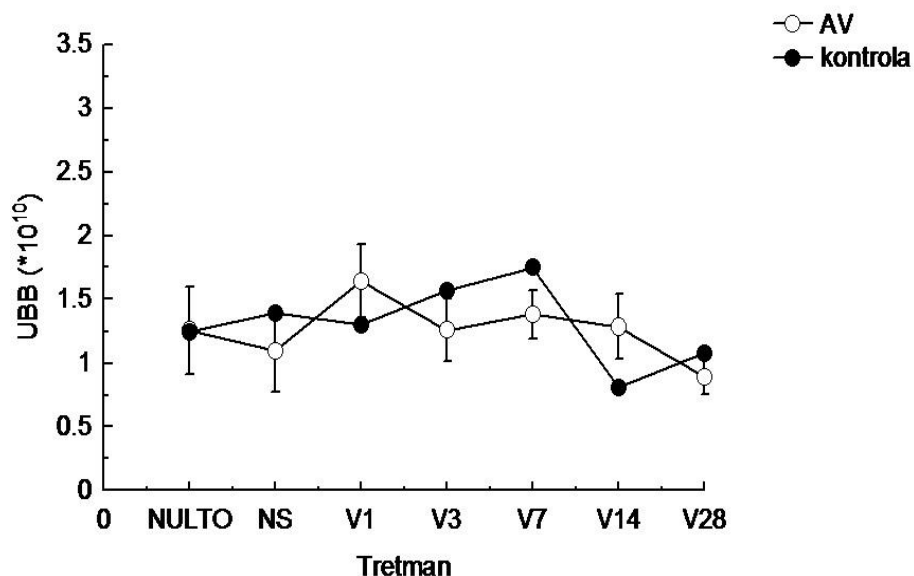
Na tlu s područja šume rmANOVA je detektirala signifikantnu razliku između dobivenih vrijednosti nakon 4 dana suše i 28 dana vlage (Slika 11.). Ukupan broj bakterija u 1 gramu tla je  $1.26 \cdot 10^{10}$ , kod mjerenja nakon terena. Kod mjerenja nakon 4 dana suše u 1 gramu tla je bilo  $1.09 \cdot 10^{10}$  bakterija te nakon 28 dana vlaženja  $8.93 \cdot 10^9$ . Ukupan broj bakterija je opao nakon izlaganja sušnim uvjetima u odnosu na nulto stanje, isto tako nakon 28 dana vlaženja tla, ukupan broj bakterija je u opadanju.

Na uzorcima tla s područja livade rmANOVA nije detektirala signifikantnu razliku između promatranih mjerenja (Slika 12.). Ukupan broj bakterija u 1 gramu tla je  $1.14 \cdot 10^{10}$ , kod mjerenja nakon dolaska s terena. Kod mjerenja nakon 4 dana suše u 1 gramu tla je bilo  $1.37 \cdot 10^{10}$  bakterija te nakon 28 dana vlaženja  $9.85 \cdot 10^9$ . Ukupan broj bakterija porastao je nakon izlaganja sušnim uvjetima u odnosu na nulto stanje, a nakon 28 dana vlaženja tla, ukupan broj bakterija je u opadanju u odnosu na nulto stanje i stanje nakon 4 dana suše.

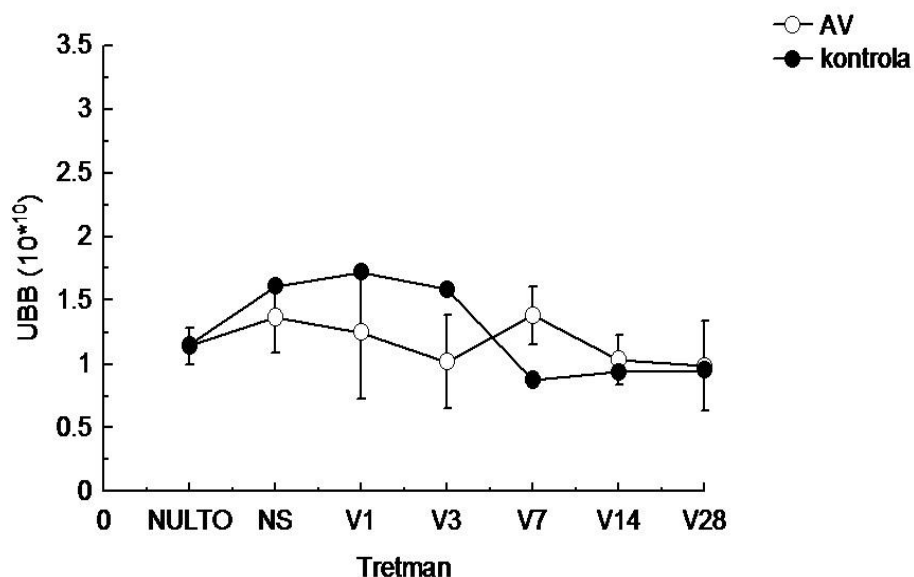




Slika 10. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti ukupnog broja bakterija (UBB) u 1 g tla, s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje tršćaka nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 11. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti ukupnog broja bakterija (UBB) u 1 g tla, s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje šume nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



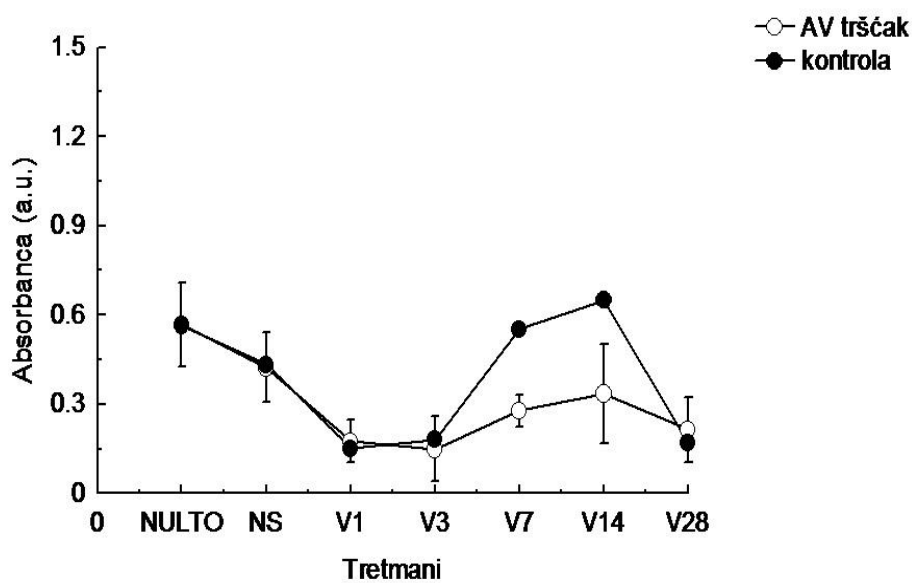
Slika 12. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti ukupnog broja bakterija (UBB) u 1 g tla, s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.1.2. Sposobnost stvaranja biofilma (biomasa biofilma)

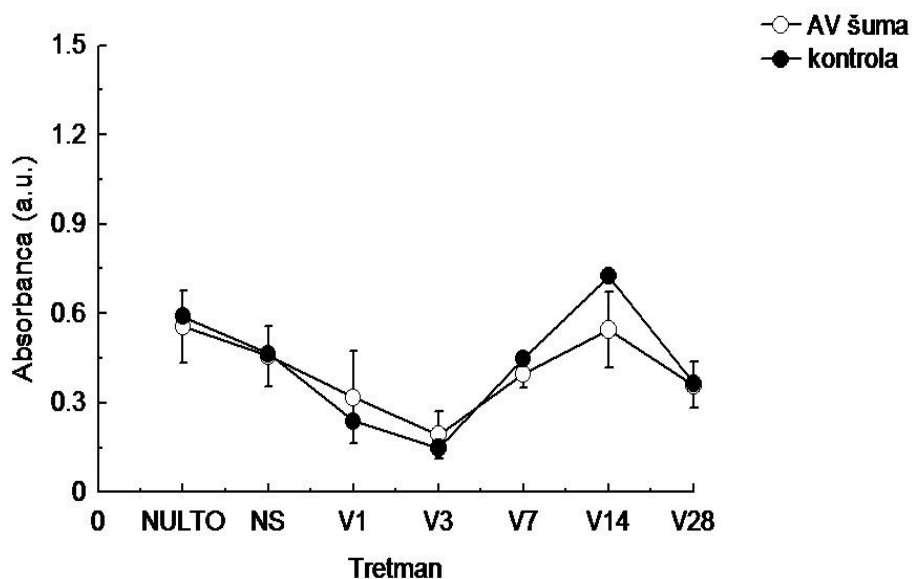
Na tlu uzorkovanom na području tršćaka, rMANOVA testom statistički su se usporedila 3 najznačajnija dana, nakon nultog stanja (dolazak s terena), nakon suše u trajanju od 4 dana te nakon 28 dana vlaženja tla (Slika 13.). rMANOVA pokazala je statistički značajnu razliku između nultog stanja i nakon 28 dana vlage kao i između 4 dana suše i 28 dana vlaženja. Srednja vrijednost izmjerene absorbance nakon nultog stanja iznosila je 0.569 (a.u.), nakon suše u trajanju od 4 dana iznosila je 0.423 (a.u), a nakon 28 dana vlage 0.215 (a.u.). Absorbance se smanjila nakon 4 dana suše i nakon 28 dana vlage u odnosu na izmjerenu absorbancu u uzorcima nakon dolaska s terena.

Na tlu uzorkovanom na području šume, rMANOVA test pokazao je statistički značajnu razliku između vrijednosti absorbanci izmjerenih nakon 4 dana suše i nakon 28 dana vlage. Srednja vrijednost izmjerene absorbance nakon nultog stanja iznosila je 0.557 (a.u.), nakon suše u trajanju od 4 dana iznosila je 0.456 (a.u), a nakon 28 dana vlage 0.360 (a.u.). Vrijednosti absorbance su se smanjile nakon 4 dana suše i nakon 28 dana vlage u odnosu na izmjerenu absorbancu u uzorcima nakon dolaska s terena (Slika 14.).

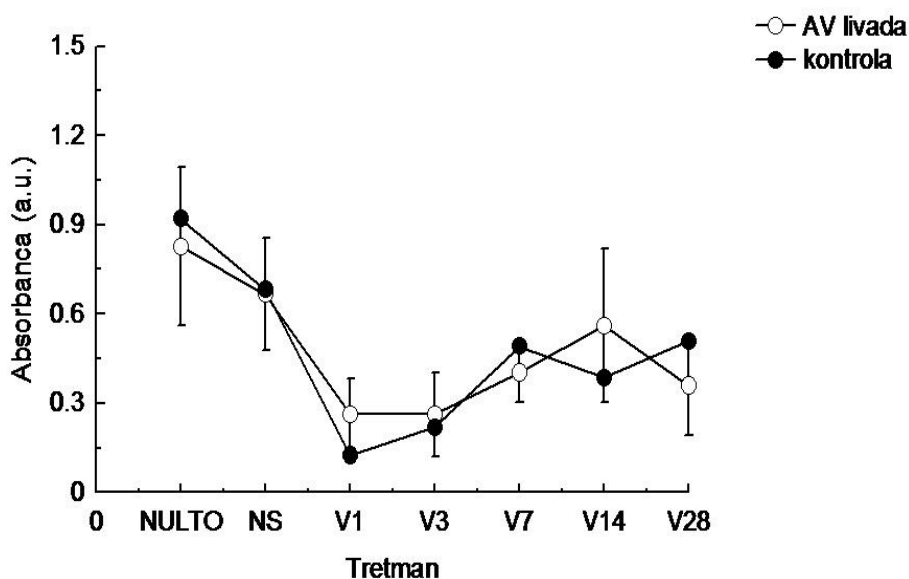
Na tlu uzorkovanom na području livade, rMANOVA test pokazao je signifikantnu razliku između vrijednosti absorbanci nultog stanja i vrijednosti absorbanci nakon 28 dana vlage. Srednja vrijednost izmjerene absorbance nultog stanja iznosila je 0.826 (a.u.), nakon suše u trajanju od 4 dana iznosila je 0.666 (a.u), a nakon 28 dana vlage 0.359 (a.u.). Vrijednosti absorbance opadaju nakon 4 dana suše i nakon 28 dana vlage u odnosu na izmjerenu absorbancu u uzorcima nakon dolaska s terena (Slika 15.).



Slika 13. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 4 dana suše. (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 14. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje šume nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



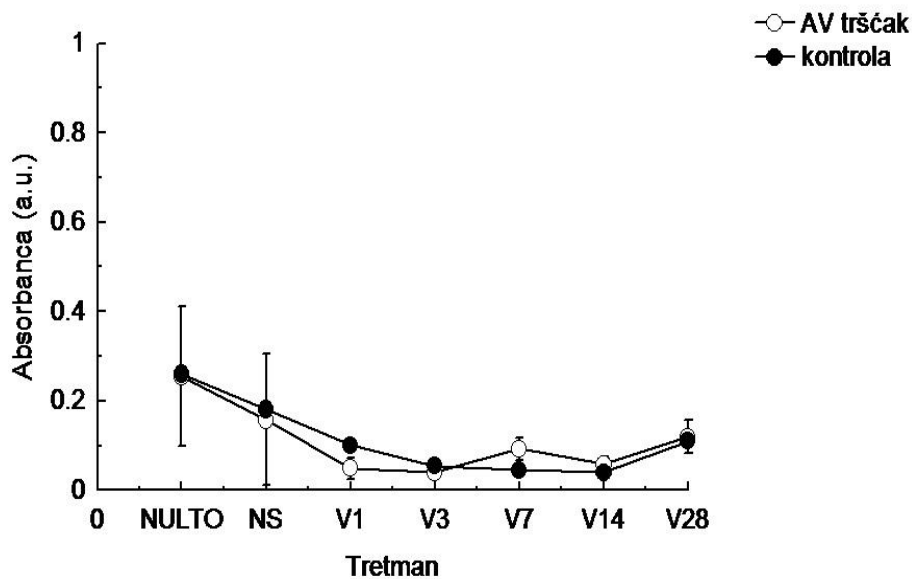
Slika 15. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje livade nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.1.3. DHA u biofilmu

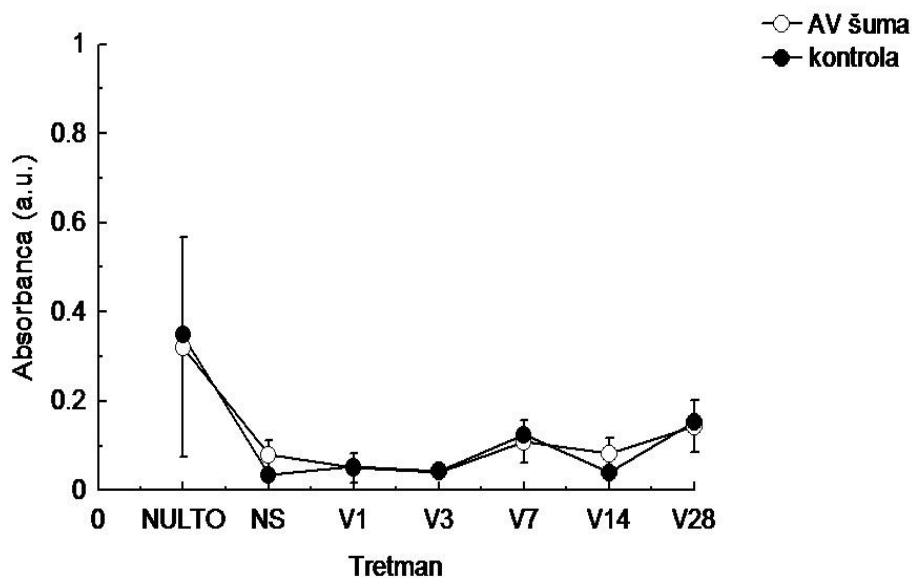
Na tlu uzorkovanom na području tršćaka, rmANOVA test nije pokazao statistički značajnu razliku između vrijednosti absorbance izmjerene u nultom stanju, nakon 4 dana suše i 28 dana vlage. Srednja vrijednost izmjerene absorbance nultog stanja iznosila je 0.255 (a.u.), nakon suše u trajanju od 4 dana iznosila je 0.158 (a.u.), a nakon 28 dana vlage 0.120 (a.u.). Može se primijetiti pad srednjih vrijednosti absorbance u uzorcima tla nakon 4 dana suše i 28 dana vlage u odnosu na one nakon dolaska s terena (Slika 16) .

Za tlo uzorkovano na području šume, srednja vrijednost absorbance nultog stanja iznosi 0.320 (a.u.), nakon suše u trajanju 4 dana vrijednost absorbance opada te iznosi 0.080 (a.u.). Nakon 28 dana vlage, vrijednost absorbance povećava se u odnosu na onu nakon suše te iznosi 0.143 (a.u.) (Slika 17.). Usporedbom tih tretmana rmANOVA testom je zabilježena signifikantna razlika između nultog stanja i dobivenih vrijednosti nakon 4 dana suše.

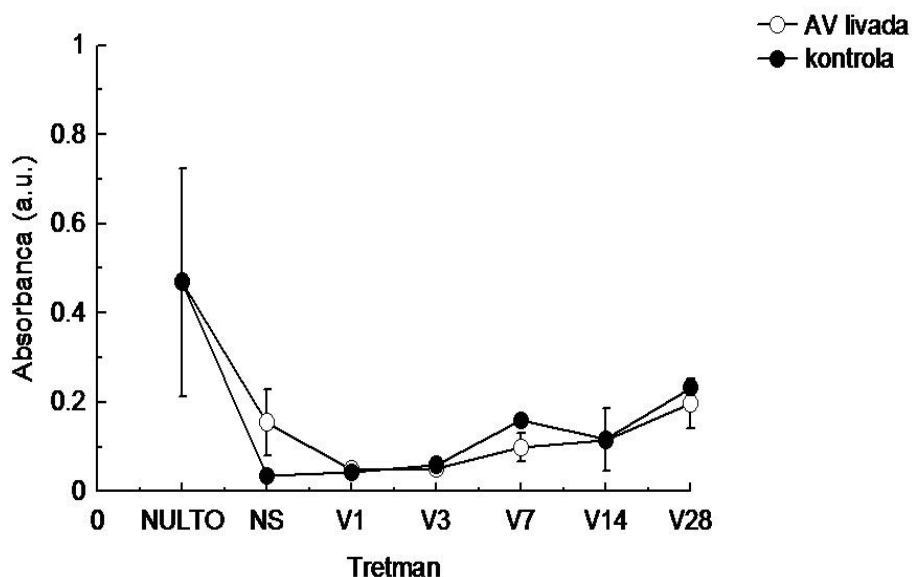
Na tlu uzorkovanom na području livade, usporedbom vrijednosti izmjerenih absorbanci nakon nultog stanja, nakon suše te nakon vlaženja u trajanju od 28 dana, rmANOVA testom nije utvrđena statistički značajna razlika . Srednje vrijednosti izmjerene za navedena tri tretmana kretale su se od 0.468 (a.u.) za nulto stanje, nakon čega ona opada i iznosi 0.154 (a.u.) nakon 4 dana suše, a nakon vlage u trajanju od 28 dana vrijednost absorbance je u blagom porastu te iznosi 0.197 (a.u.) (Slika 18.).



Slika 16. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje tršćaka nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 17. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje šume nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28 - nakon 28 dana vlage)



Slika 18. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.1.4. Aktivnost mikrobne dehidrogenaze (DHA)

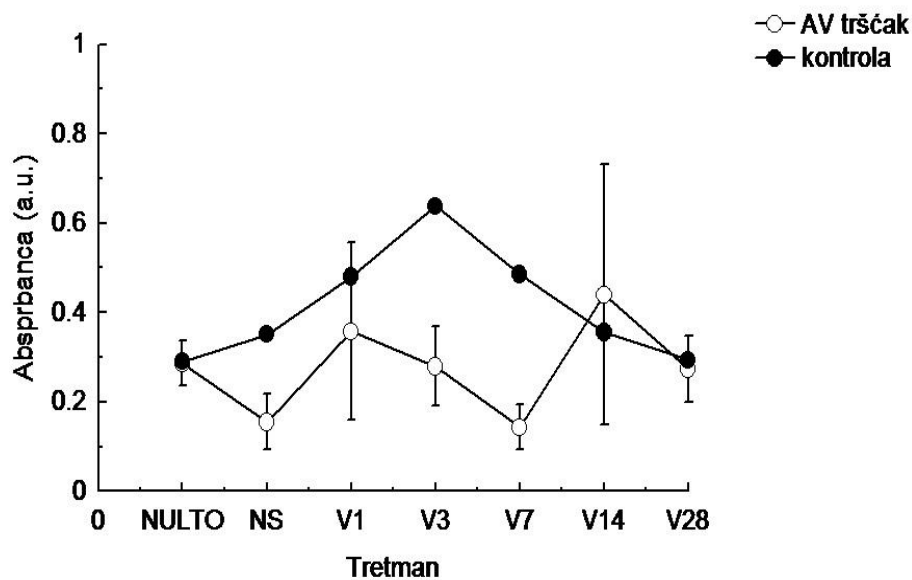
Dehidrogenazna aktivnost izražena je kao preko vrijednosti absorbanci, koja je razmjerna količini nastalog formazana.

Na tlu uzorkovanom na području tršćaka, rmANOVA testom utvrđena je statistički značajna razlika između izmjerene vrijednosti absorbance nakon nultog stanja i nakon suše u trajanju od 4 dana. Također, utvrđena je signifikantna razlika između izmjerenih absorbanci nakon suše i vlage u trajanju od 28 dana (Slika 19.). rmANOVA-testom nije utvrđena statistički značajna razlika između vrijednosti absorbanci izmjerenih nakon 4 dana suše i 28 dana vlage. Srednja vrijednost absorbance za nulto stanje iznosila je 0.286 (a.u.), nakon suše od 4 dana iznosila je 0.155 (a.u.), a nakon 28 dana vlage 0.274 (a.u.)

Na tlu uzorkovanom na području šume, rmANOVA test pokazao je signifikantnu razliku između izmjerene vrijednosti absorbance nakon nultog stanja i one nakon suše u trajanju od 4 dana. Također, utvrđena je signifikantna razlika između izmjerenih absorbanci nakon suše i vlage u trajanju od 28 dana, ali nije utvrđena statistički značajna razlika između vrijednosti absorbanci izmjerenih nakon nultog stanja i 28 dana vlage (Slika 20.). Srednja vrijednost

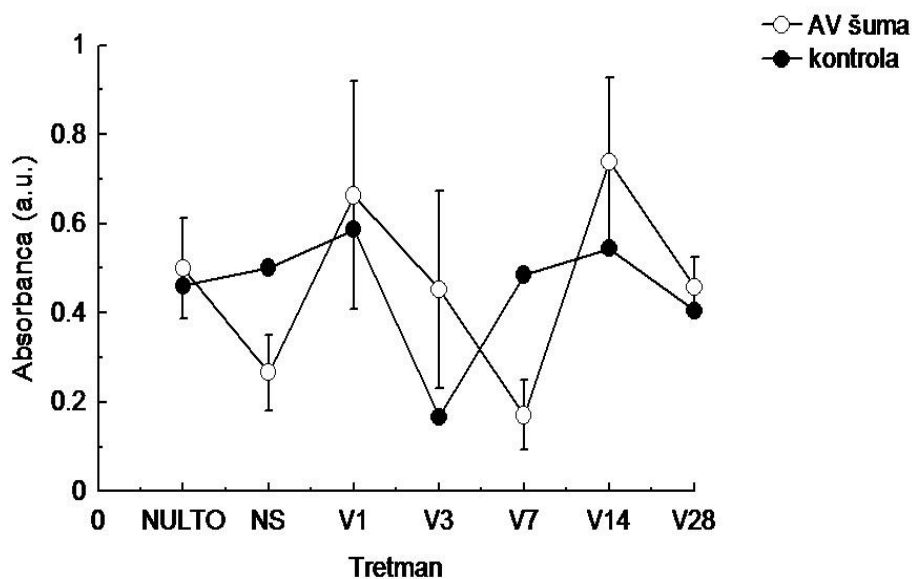
absorbance za nulto stanje iznosila je 0.5 (a.u.), nakon suše od 4 dana iznosila je 0.267 (a.u.), a nakon 28 dana vlage 0.458 (a.u.)

Na tlu uzorkovanom na području livade, rmANOVA testom nije utvrđena statistički značajna razlika između vrijednosti absorbanci nakon nultog stanja, nakon suše te nakon vlaženja u trajanju od 28 dana (Slika 21.). Izmjerene srednje vrijednosti za navedena tri tretmana kretale su se od 0.373 (a.u.) za nulto stanje, nakon čega ona opada i iznosi 0.289 (a.u.) nakon 4 dana suše, a nakon vlage u trajanju od 28 dana vrijednost absorbance raste te iznosi 0.369 (a.u.).

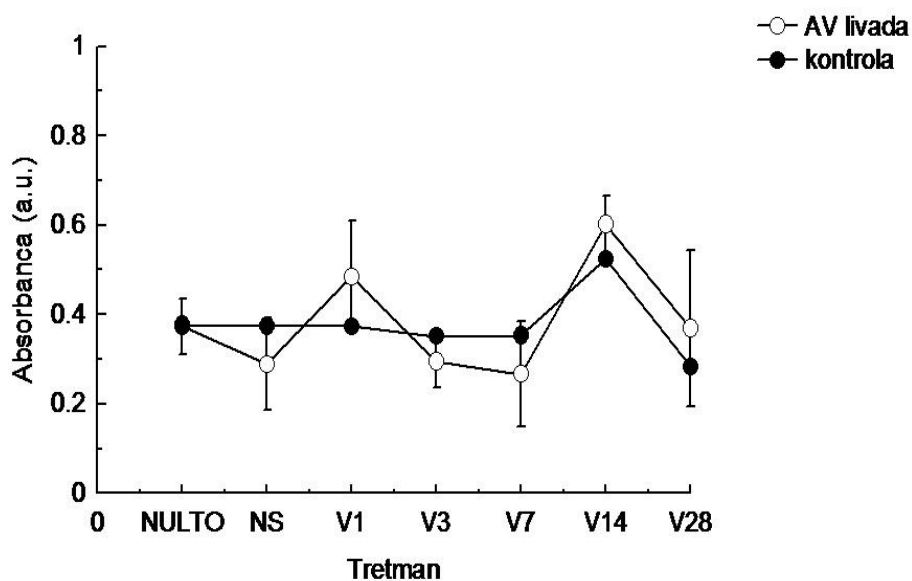


Slika 19. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)





Slika 20. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje šume nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



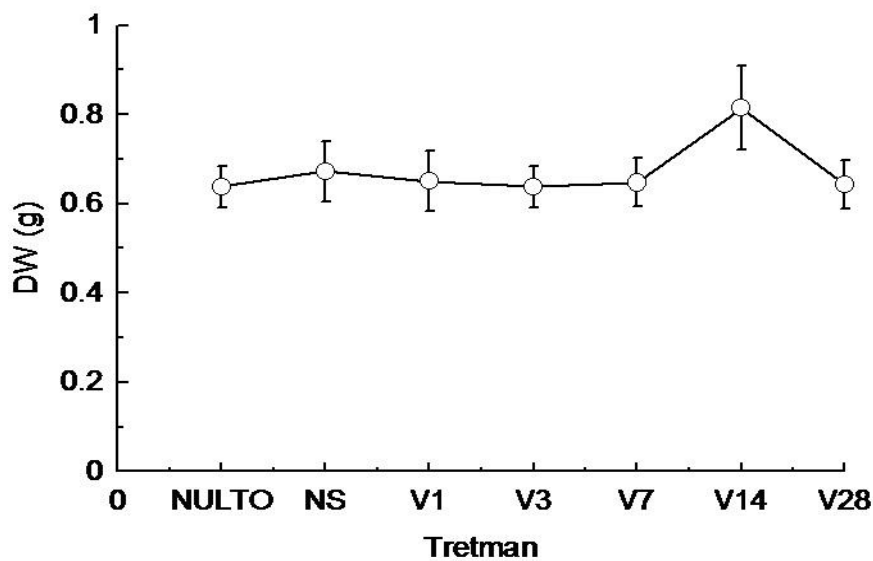
Slika 21. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.1.5. Masa suhe tvari u tlu (DW)

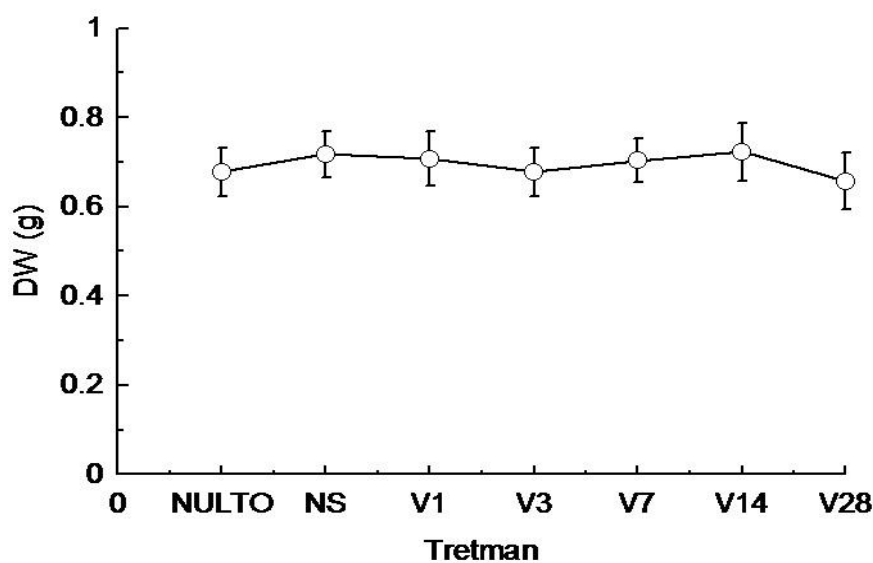
Srednje vrijednosti mase suhe tvari (DW) tla na području tršćaka kretale su se od 0.638 g nakon dolaska s terena, 0.672 g nakon 4 dana suše i 0.643 g nakon 28 dana vlage (Slika 22.). Povećanje mase zabilježeno je nakon suše, dok se nakon vlage smanjuje. rmANOVA testom nije utvrđena statistički značajna razlika između masa suhih tvari izmjerenih nakon dolaska s terena, nakon 4 dana suše i 28 dana vlage.

Zabilježene srednje vrijednosti mase suhe tvari tla (DW) na području šume, kretale su se od 0.677 g pri nultom stanju, nakon 4 dana suše masa je iznosila 0.718 g, dok je poslije 28 dana vlage iznosila 0.657 g (Slika 23.). Nakon suše masa suhe tvari se povećala u odnosu na masu suhe tvari nultog stanja. Nakon 28 dana vlage, zabilježen je pad srednjih vrijednosti mase suhe tvari u odnosu na vrijednosti masa nakon 4 dana suše. rmANOVA testom zabilježena je statistički značajna razlika između vrijednosti mase suhe tvari nultog stanja i mase suhe tvari nakon 4 dana suše.

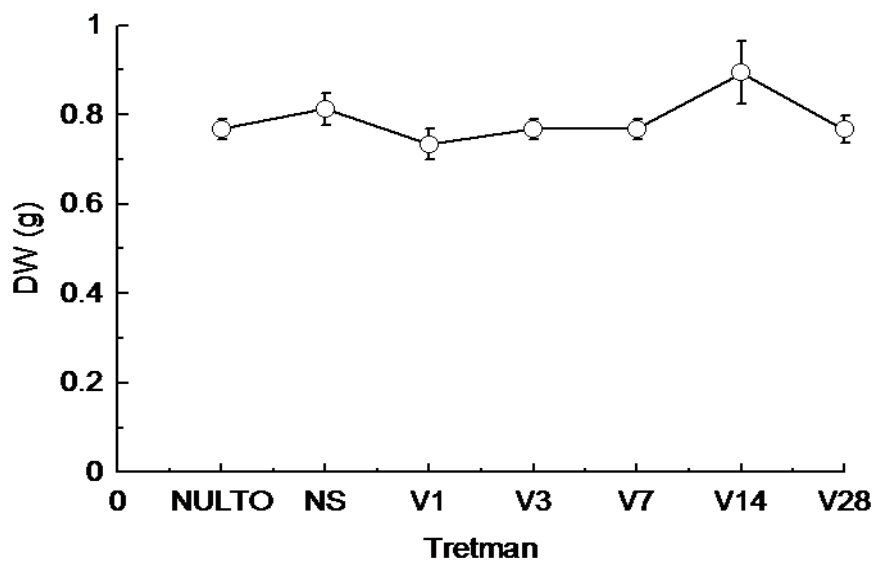
Izmjerene srednje vrijednosti mase suhe tvari tla (DW) na području livade, iznosile su 0.767 g za nulto stanje, nakon 4 dana suše 0.812 g, dok je poslije 28 dana vlage prosječna masa bila 0.767 g (Slika 24.). Nakon suše masa suhe tvari se povećala u odnosu na masu suhe tvari pri nultom stanju. Između nultog stanja i stanja nakon 28 dana vlage srednja vrijednost mase suhe tvari je jednaka.. rmANOVA testom zabilježena je signifikantna razlika između sva tri mjerenja.



Slika 22. Grafički prikaz srednjih vrijednosti mase suhe tvari (DW) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 23. Grafički prikaz srednjih vrijednosti mase suhe tvari (DW) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje šume nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



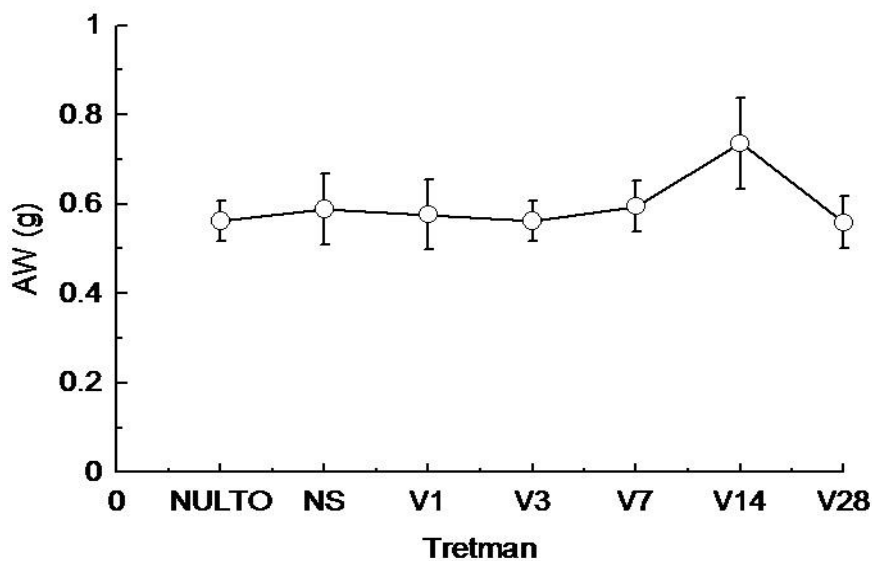
Slika 24. Grafički prikaz srednjih vrijednosti mase suhe tvari (DW) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.1.6. Masa anorganske tvari u tlu (AW)

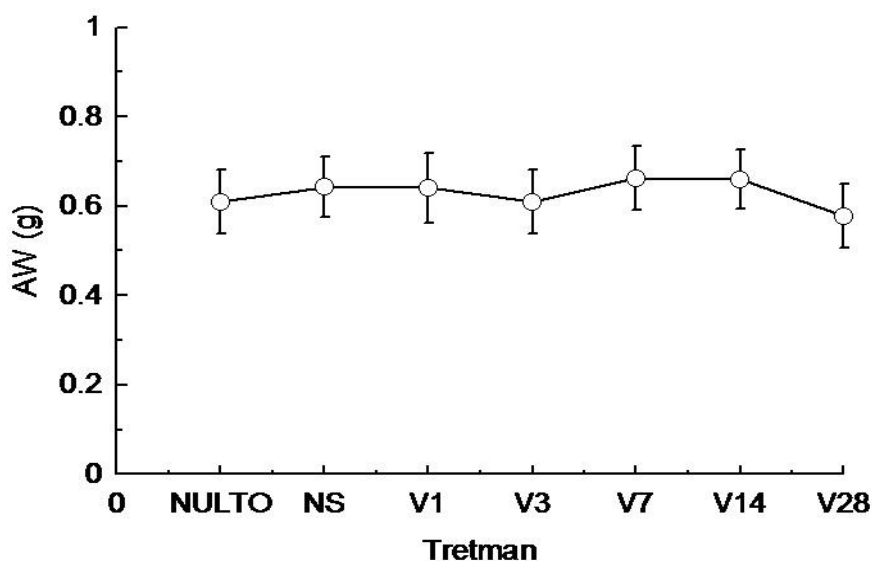
Na području tršćaka, srednje vrijednosti mase anorganske tvari kretale su se od 0.563 g za nultog stanja i 0.588 g nakon 4 dana suše do 0.559 g nakon 28 dana vlage. Vidljiv je blagi porast mase anorganske tvari nakon 4 dana suše, dok se nakon 28 dana vlage masa anorganske tvari smanjila u odnosu na prethodna dva mjerenja (Slika 25.). *rmANOVA* testom nije zabilježena signifikantna razlika između ova 3 mjerenja.

Na području šume, srednje vrijednosti mase anorganske tvari iznosile su 0.608 g pri nultom stanju i 0.643 g nakon 4 dana suše do 0.578 g nakon 28 dana vlage. Nakon 4 dana suše, masa anorganske tvari se povećala u odnosu na prosječnu masu anorganske tvari nultog stanja dok se nakon 28 dana vlage masa anorganske tvari smanjila u odnosu na prethodna dva mjerenja (Slika 26.). *rmANOVA* testom zabilježena je signifikantna razlika između nultog stanja i tretmana nakon 4 dana suše kao i između 4 dana suše i 28 dana vlage.

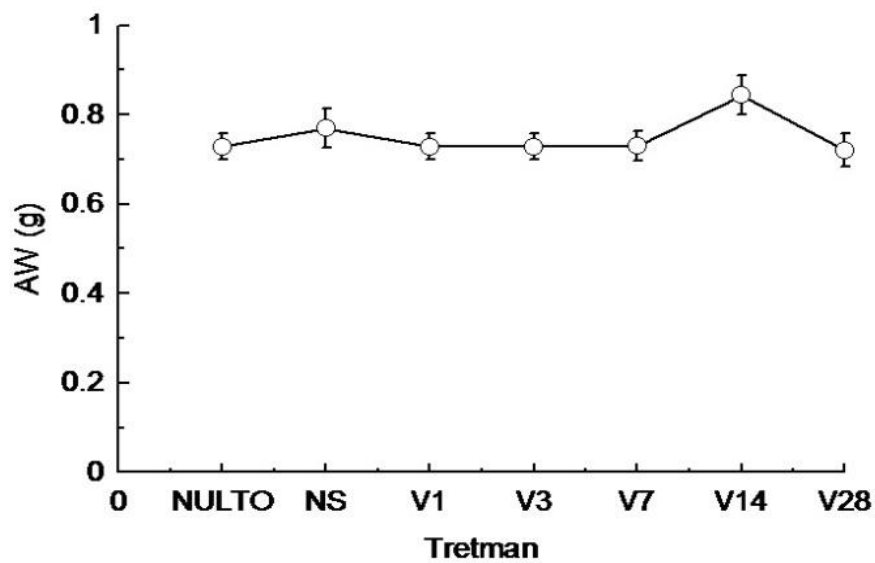
Na području livade srednje vrijednosti mase anorganske tvari iznosile su 0.729 g ta nultog stanja i 0.770 g nakon 4 dana suše do 0.721 g nakon 28 dana vlage. Nakon 4 dana suše, masa anorganske tvari se povećala u odnosu na prosječnu masu anorganske tvari nultog stanja, dok se nakon 28 dana vlage masa anorganske tvari smanjila u odnosu na prethodna dva mjerenja (Slika 27.). *rmANOVA* testom zabilježena je signifikantna razlika između nultog stanja i tretmana nakon 4 dana suše kao i između 4 dana suše i 28 dana vlage.



Slika 25. Grafički prikaz srednjih vrijednosti mase anorganske tvari (AW) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 26. Grafički prikaz srednjih vrijednosti mase anorganske tvari (AW) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje šume nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 27. Grafički prikaz srednjih vrijednosti mase anorganske tvari (AW) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

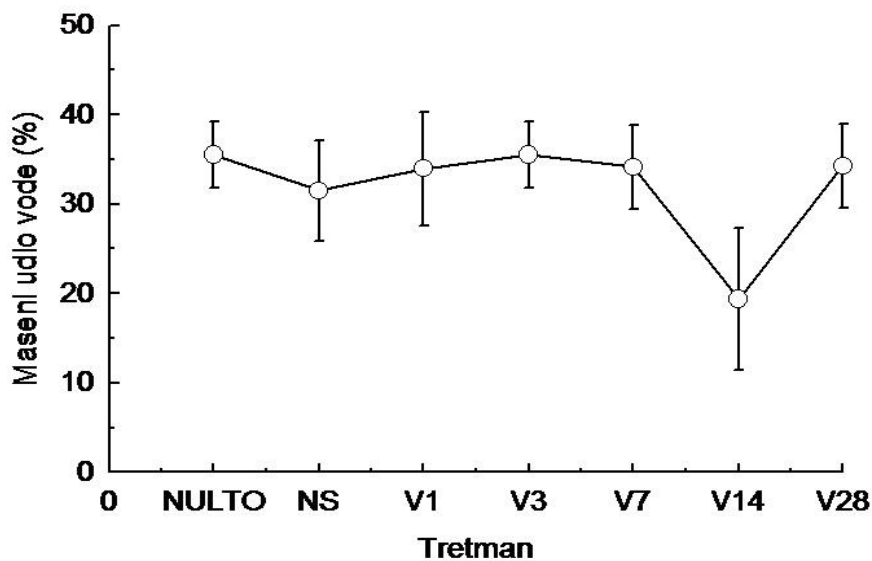
### 3.1.7. Maseni udio vode u tlu

Na tlu uzorkovanom na području tršćaka, rmANOVA testom statistički su se usporedili maseni udjeli vode u tlu nakon dolaska s terena (nulto stanje), nakon suše u trajanju od 4 dana te nakon 28 dana vlaženja tla (Slika 28.). rmANOVA je pokazala statistički značajnu razliku u količini vlage između nultog stanja i nakon 4 dana suše. Srednja vrijednost masenog udjela vode u tlu pri nultom stanju iznosila je 35.544 %, nakon 4 dana suše 31.492 % , a nakon 28 dana vlage 34. 324 %. Vidljivo je smanjenje masenog udjela vode nakon 4 dana suše, kao i njezino povećanje nakon 28 dana vlage, koje ipak ima manju vrijednost u odnosu na maseni udio vode nultoga stanja.

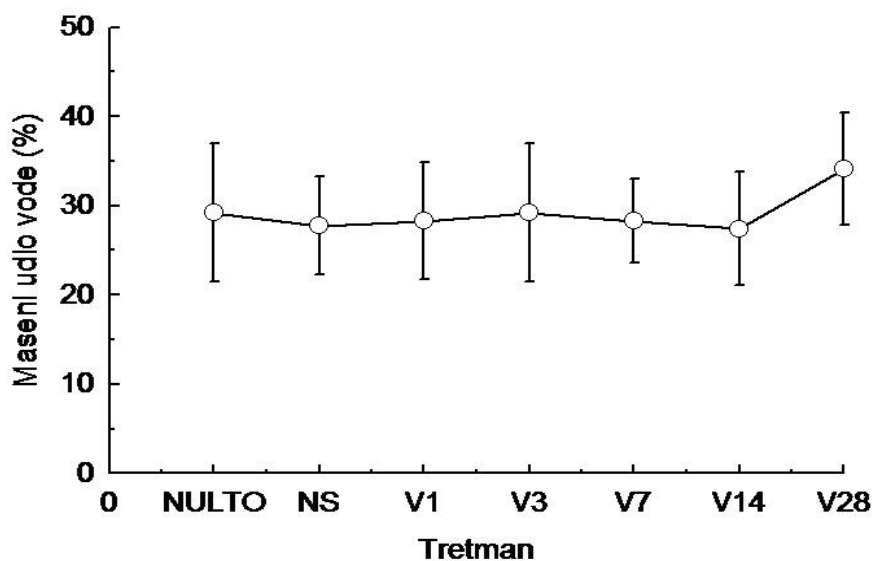
Na tlu uzorkovanom na području šume, rmANOVA test je pokazao signifikantnu razliku u količini vlage između mjerenja nakon 4 dana suše i 28 dana vlage. Srednja vrijednost masenog udjela vode u tlu nakon dolaska s terena iznosila je 29.234 %, nakon 4 dana suše 27.777 % , a nakon 28 dana vlage 34. 117 % (Slika 29.). Vidljivo je smanjenje vrijednosti masenog udjela vode nakon 4 dana suše u odnosu na nulto stanje, kao i njezino povećanje nakon 28 dana vlage.

Na tlu uzorkovanom na području livade, rmANOVA test je pokazao signifikantnu razliku u količini vlage između mjerenja nakon dolaska s terena i 4 dana suše i između 4 dana suše i 28 dana vlage tla. Srednja vrijednost masenog udjela vode u tlu za nulto stanje iznosila je 21.58 %, nakon 4 dana suše 17.562 % , a nakon 28 dana vlage 22.058 % (Slika 30.). Vidljivo je smanjenje vrijednosti masenog udjela vode nakon 4 dana suše u odnosu na nulto stanje, kao i njezino povećanje nakon 28 dana vlage.

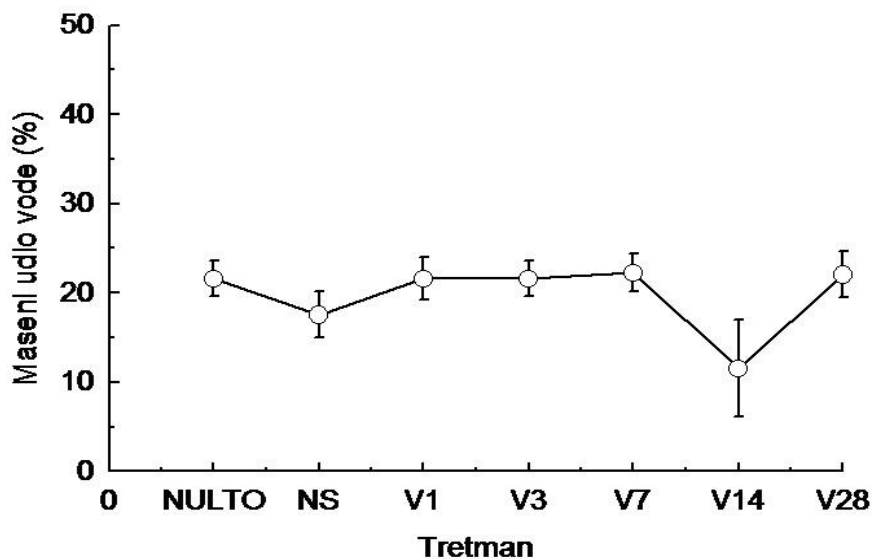




Slika 28. Grafički prikaz srednjih vrijednosti masenog udjela vode s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje trščaka nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 29. Grafički prikaz srednjih vrijednosti masenog udjela vode s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje šume nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 30. Grafički prikaz srednjih vrijednosti masenog udjela vode s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

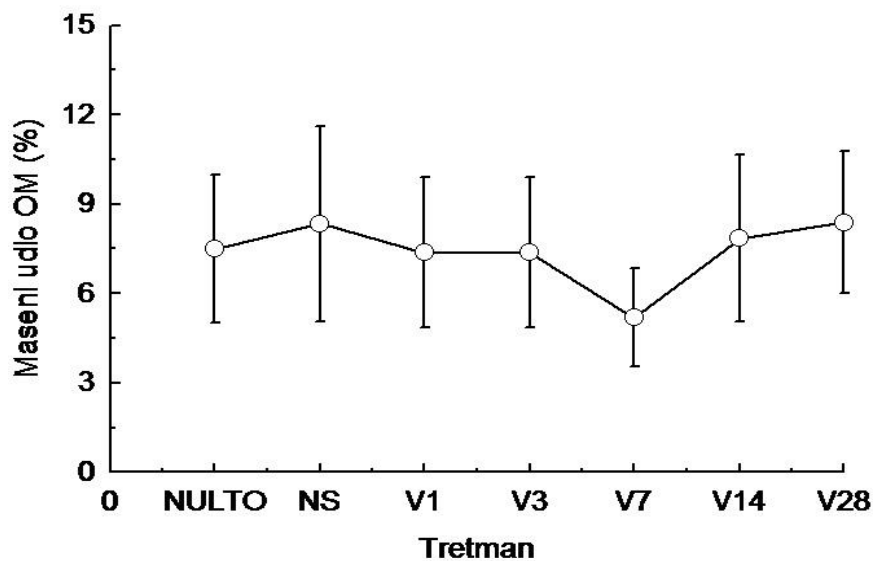
### 3.1.8. Maseni udio organske tvari (OM)

Na uzorcima tla uzorkovanim sa tršćaka rmANOV-om se nije pokazala statistički značajna razlika između triju mjerenja (Slika 31.). Srednja vrijednost masenog udjela organske tvari nultog stanja je 7.497%, za mjerenja nakon 28 dana suše 8.351% a nakon 28 dana vlaženja 8.398%. Vrijednosti se povećavaju nakon 4 dana suše i 28 dana vlage u odnosu na nulto stanje.

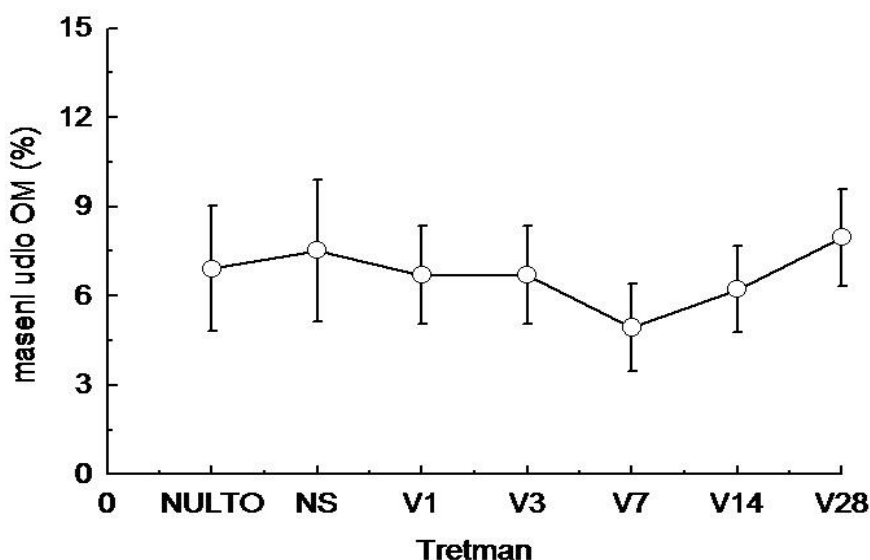
Na uzorcima tla uzorkovanim u šumi rmANOV-om se nije pokazala statistički značajna razlika između triju mjerenja (Slika 32.). Srednja vrijednost masenog udjela organske tvari nultog stanja je 6.927%, za mjerenja nakon 28 dana suše 7.541% a nakon 28 dana vlaženja 7.967%.

Vrijednosti se povećavaju nakon 4 dana suše i 28 dana vlage u odnosu na nulto stanje.

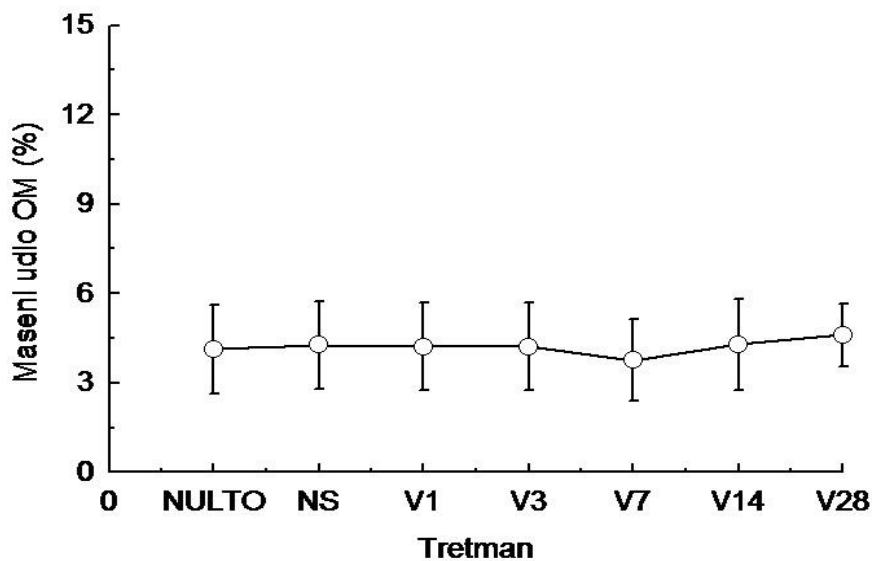
Na uzorcima tla uzorkovanim na livadi rmANOV-om se nije pokazala statistički značajna razlika između triju mjerenja (Slika 33.). Srednja vrijednost masenog udjela organske tvari za nulto stanje je 4.142%, za mjerenja nakon 28 dana suše 4.287% a nakon 28 dana vlaženja 4.625%. Vrijednosti se povećavaju nakon 4 dana sušenja i 28 dana vlage u odnosu na nulto stanje.



Slika 31. Grafički prikaz srednjih vrijednosti masenog udjela organske tvari (OM) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 32. Grafički prikaz srednjih vrijednosti masenog udjela organske tvari (OM) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje šume nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 33. Grafički prikaz srednjih vrijednosti masenog udjela organske tvari (OM) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

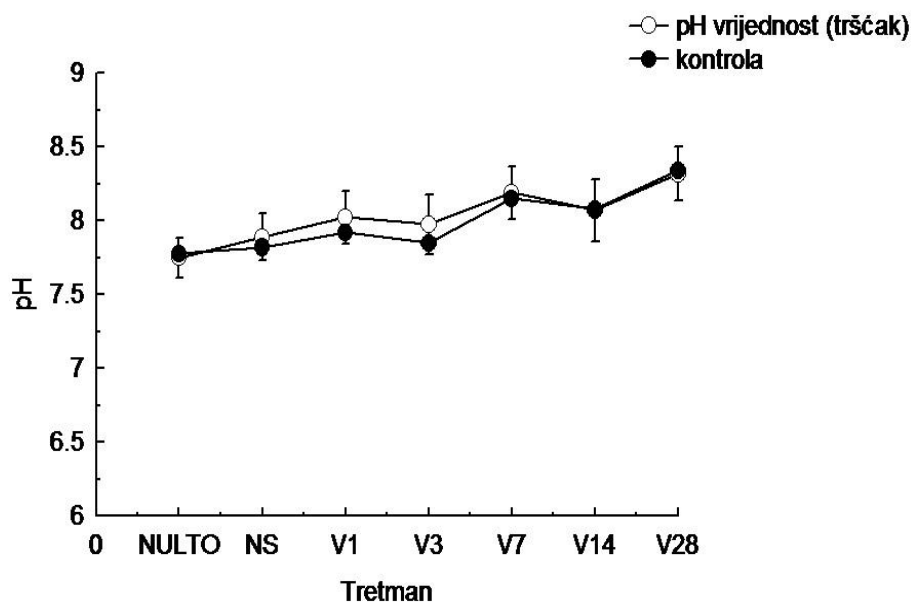
### 3.1.9. pH suspenzije tla

Na tlu uzorkovanom s područja tršćaka rmANOVA pokazuje da postoji statistički značajna razlika između sva tri mjerenja (Slika 34.). Srednja pH vrijednost suspenzije tla nakon dolaska s terena (nulto stanje) je 7.751, nakon 4 dana suše 7.890 a nakon 28 dana vlaženja 8.321. pH se povećava u sušnim uvjetima te nastavlja povećavati nakon vlaženja, u odnosu na nulto stanje.

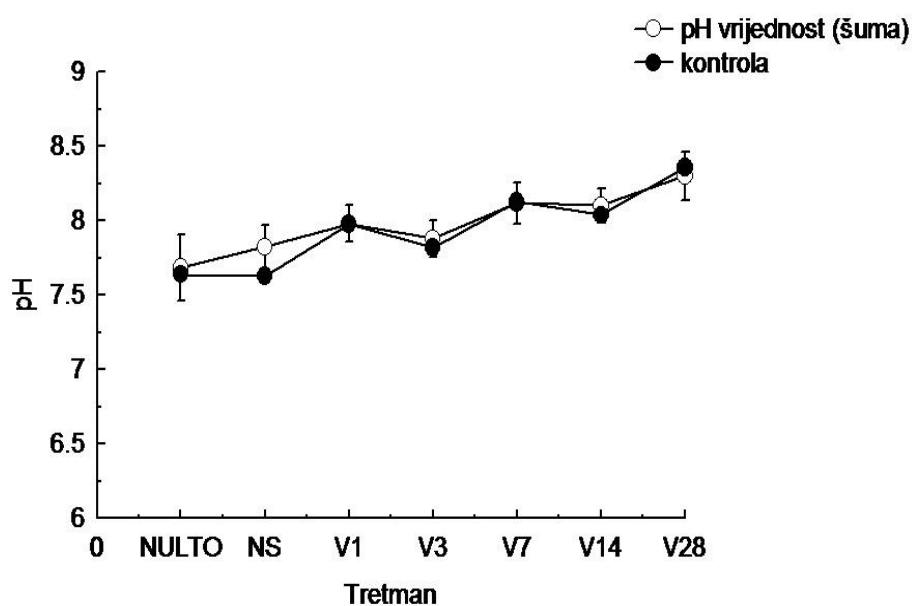
Na tlu uzorkovanom u šumi rmANOVA pokazuje da postoji statistički značajna razlika između mjerenja. Ta razlika je između nultog stanja te stanja nakon 28 dana suše (Slika 35.). Također, statistički značajna razlika je uočena između mjerenja nakon 4 dana suše i 28 dana vlaženja. Srednja pH vrijednost suspenzije tla nakon dolaska s terena je 7.686, nakon 4 dana suše 7.824 a nakon 28 dana vlaženja 8.300. pH se povećava u sušnim uvjetima te nastavlja povećavati nakon vlaženja, u odnosu na nulto stanje.

Na tlu uzorkovanom na livadi rmANOVA pokazuje da postoji statistički značajna razlika između sva tri mjerenja (Slika 36.). Srednja pH vrijednost suspenzije tla za nulto stanje iznosi

7.736, nakon 4 dana suše 8.029, a nakon 28 dana vlaženja 8.479. pH se povećava u sušnim uvjetima te nastavlja povećavati nakon vlaženja, u odnosu na nulto stanje.

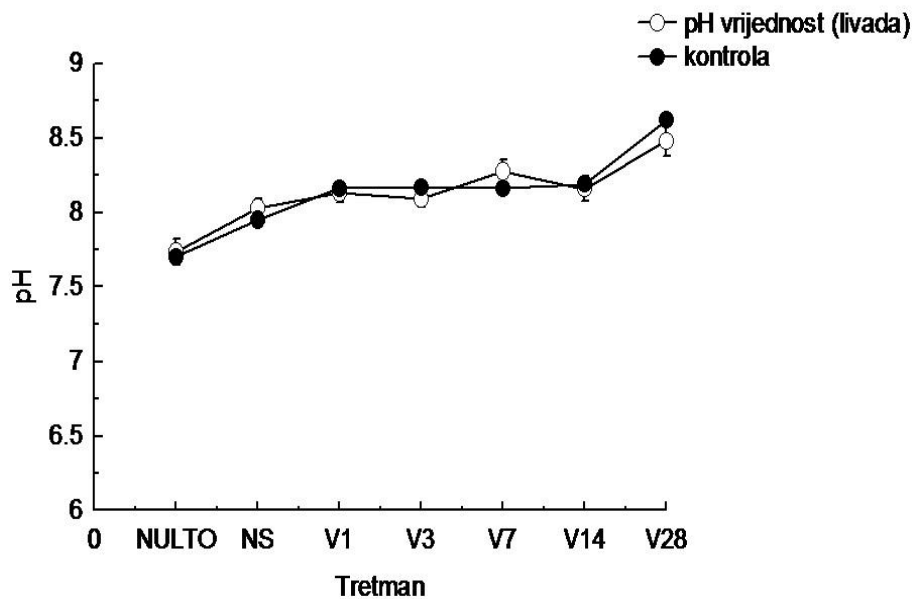


Slika 34. Grafički prikaz srednjih vrijednosti koncentracije vodikovih iona (pH) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 35. Grafički prikaz srednjih vrijednosti koncentracije vodikovih iona (pH) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje šume nakon 4 dana suše (NULTO

- stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



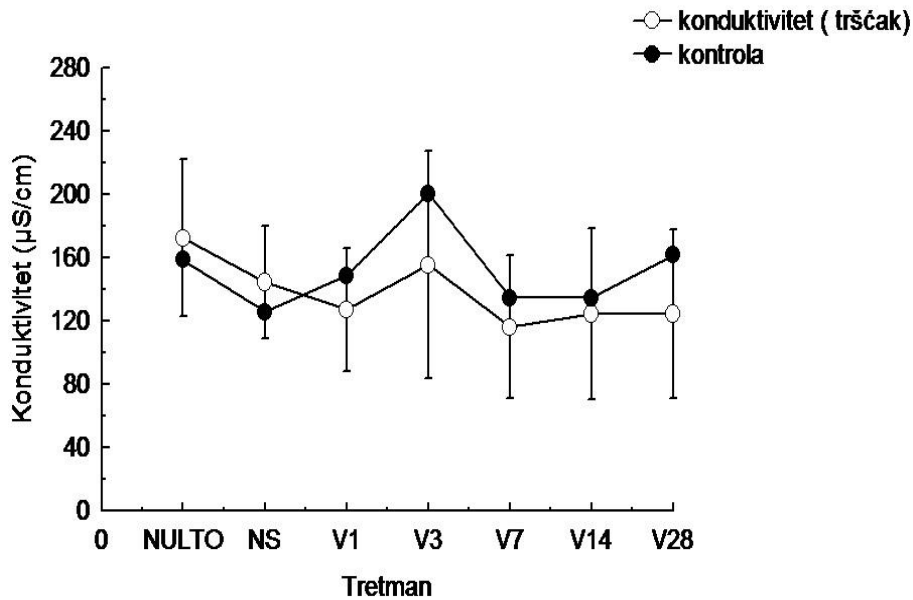
Slika 36. Grafički prikaz srednjih vrijednosti koncentracije vodikovih iona (pH) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.1.10. Električni konduktivitet tla

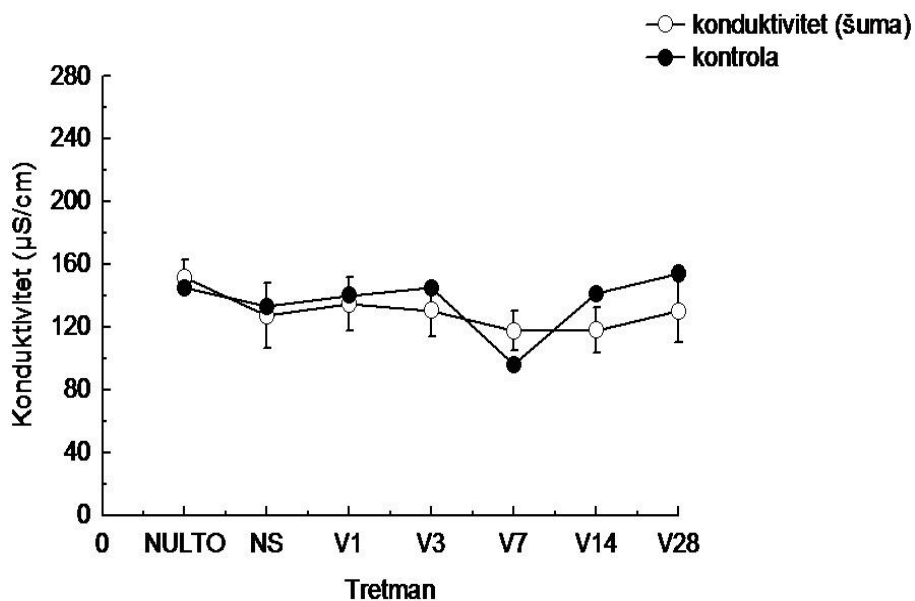
Na tlu uzorkovanom s područja tršćaka rmANOVA pokazuje da postoji statistički značajna razlika između mjerenja nakon 4 dana suše i 28 dana vlaženja, kao i između nultog stanja i mjerenja nakon 28 dana suše (Slika 37.). Srednja vrijednost konduktiviteta nultog stanja tla iznosi  $172.429 \mu\text{S/cm}$ , nakon 4 dana suše  $144.714 \mu\text{S/cm}$  a nakon 28 dana vlaženja  $124.714 \mu\text{S/cm}$ . Konduktivitet se smanjuje u sušnim uvjetima te nastavlja smanjivati vlaženjem u odnosu na nulto stanje.

Na tlu uzorkovanom s područja šume rmANOVA pokazuje da postoji statistički značajna razlika između nultog stanja i nakon 4 dana suše te između nultog stanja i 28 dana vlage (Slika 38.). Srednja vrijednost konduktiviteta nultog stanja tla je  $115.429 \mu\text{S/cm}$ , nakon 4 dana suše  $127.143 \mu\text{S/cm}$  a nakon 28 dana vlaženja  $130.143 \mu\text{S/cm}$ . Konduktivitet se povećava u sušnim uvjetima te nastavlja povećavati vlaženjem, u odnosu na nulto stanje.

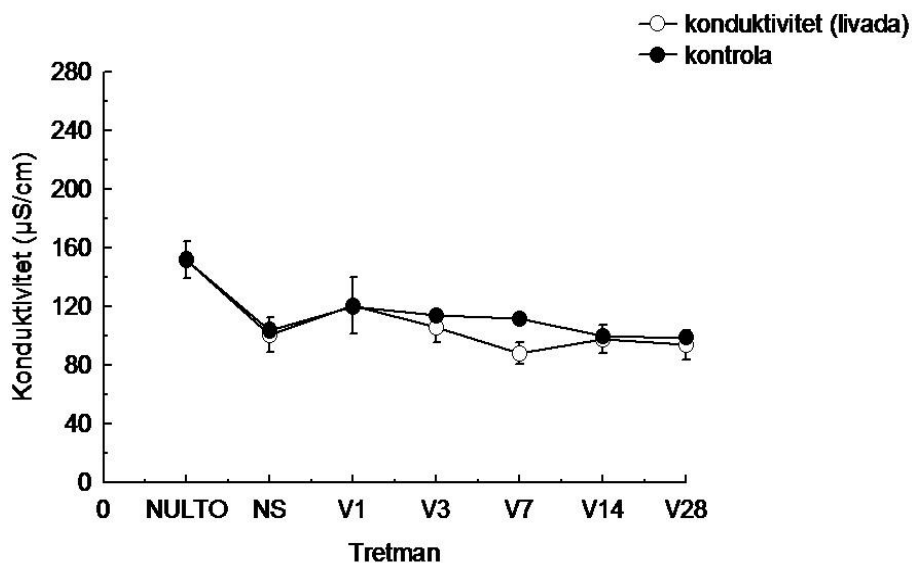
Na tlu uzorkovanom s područja livade rMANOVA pokazuje da postoji statistički značajna razlika između nultog stanja i nakon 4 dana suše te između nultog stanja i 28 dana vlage (Slika 39.). Srednja vrijednost konduktiviteta nultog stanja tla je 152.286  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , nakon 4 dana suše 100.857  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a nakon 28 dana vlaženja 94.143  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Konduktivitet se smanjuje u sušnim uvjetima te nastavlja smanjivati vlaženjem, u odnosu na nulto stanje.



Slika 37. Grafički prikaz srednjih vrijednosti električnog konduktiviteta s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje trščaka nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 38. Grafički prikaz srednjih vrijednosti električnog konduktiviteta s pripadajućim standardnim devijacijama za područje šume (n = 7) nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 39. Grafički prikaz srednjih vrijednosti električnog konduktiviteta s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje livade nakon 4 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

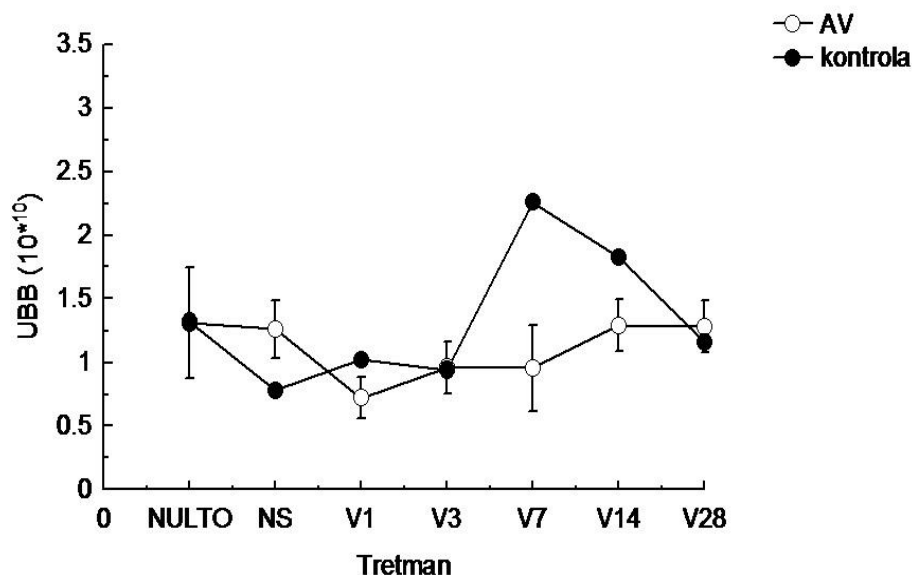


## 3.2. DRUGI EKSPERIMENT (NAKON 28 DANA SUŠE)

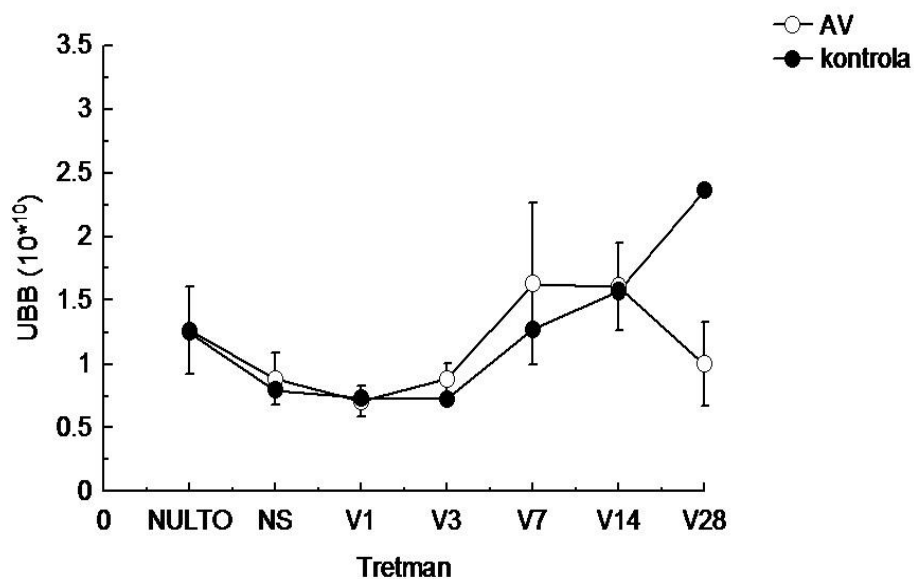
### 3.2.1. Ukupan broj bakterija u 1 g tla (UBB)

Na tlu uzorkovanog s područja tršćaka rmANOVA nije detektirala statistički značajnu razliku između mjerenja (Slika 40.). Izračunato je da se u gramu tla pri nultom stanju, odnosno nakon dolaska s terena nalazi  $1.31 \cdot 10^{10}$  bakterija. Također, kod mjerenja nakon 28 dana suše u 1 gramu tla je bilo  $1.26 \cdot 10^9$  bakterija te nakon 28 dana vlaženja  $1.28 \cdot 10^{10}$  bakterija. Broj bakterija je opao nakon izlaganja sušnim uvjetima u odnosu na prvo mjerenja ali se vlaženjem, nakon 28 dana povećao. Na tlu s područja šume rmANOVA nije detektirala statistički značajnu razliku između mjerenja (Slika 41.). Izračunato je da se pri nultom stanju u 1 gramu tla nalazi  $1.26 \cdot 10^{10}$  bakterija. Kod mjerenja nakon 28 dana suše u 1 gramu tla je bilo  $8.81 \cdot 10^9$  bakterija te nakon 28 dana vlaženja  $1 \cdot 10^{10}$ . Broj bakterija je opao nakon izlaganja sušnim uvjetima u odnosu na prvo mjerenja ali se vlaženjem, nakon 28 dana povećao.

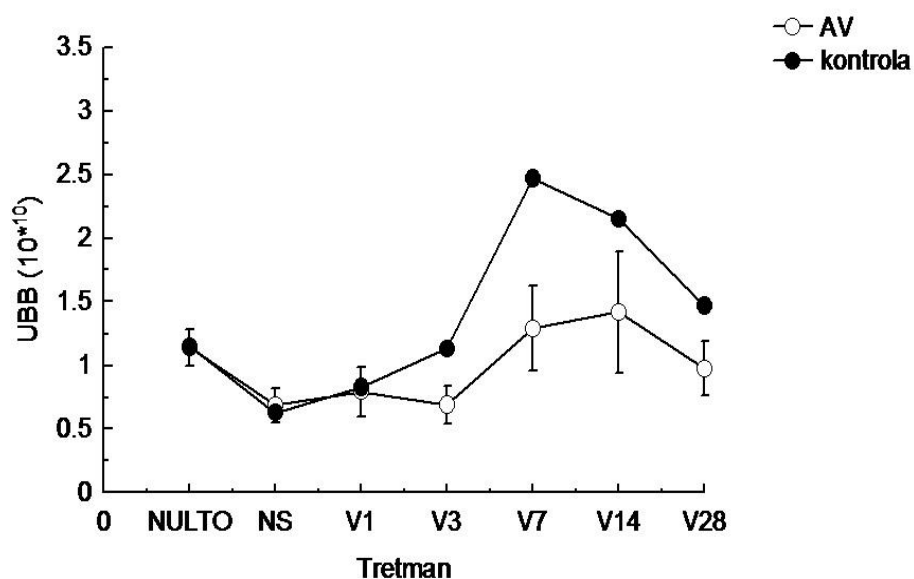
Na tlu uzorkovanom s područja livade rmANOV-om je detektirana statistički značajna razlika između nultog stanja te između mjerenja nakon 28 dana suše. Također, statistički značajna razlika je zabilježena između 28 dana suše te 28 dana vlaženja (Slika 42.). Izračunato je da se pri nultom stanju u 1 gramu tla nalazi  $1.14 \cdot 10^{10}$  bakterija. Nakon 28 dana suše u 1 gramu tla je bilo  $6.88 \cdot 10^9$  bakterija, a nakon 28 dana vlaženja  $9.75 \cdot 10^9$ . Broj bakterija je opao nakon izlaganja sušnim uvjetima u odnosu na prvo mjerenje ali se vlaženjem, nakon 28 dana povećao.



Slika 40. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti ukupnog broja bakterija (UBB) u 1 g tla, s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 41. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti ukupnog broja bakterija (UBB) u 1 g tla, s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje šume nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



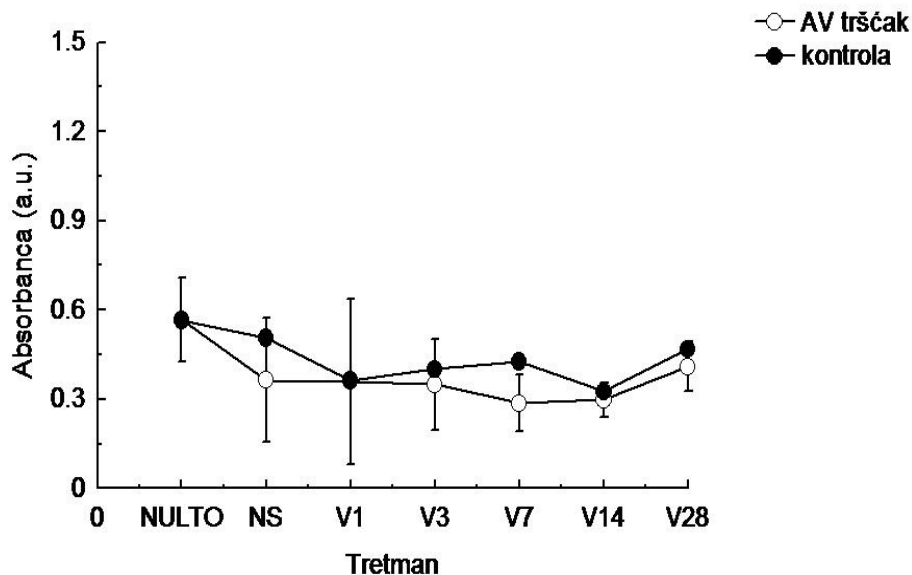
Slika 42. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti ukupnog broja bakterija (UBB) u 1 g tla, s pripadajućim standardnim devijacijama za područje livade nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.2.2. Sposobnost stvaranja biofilma

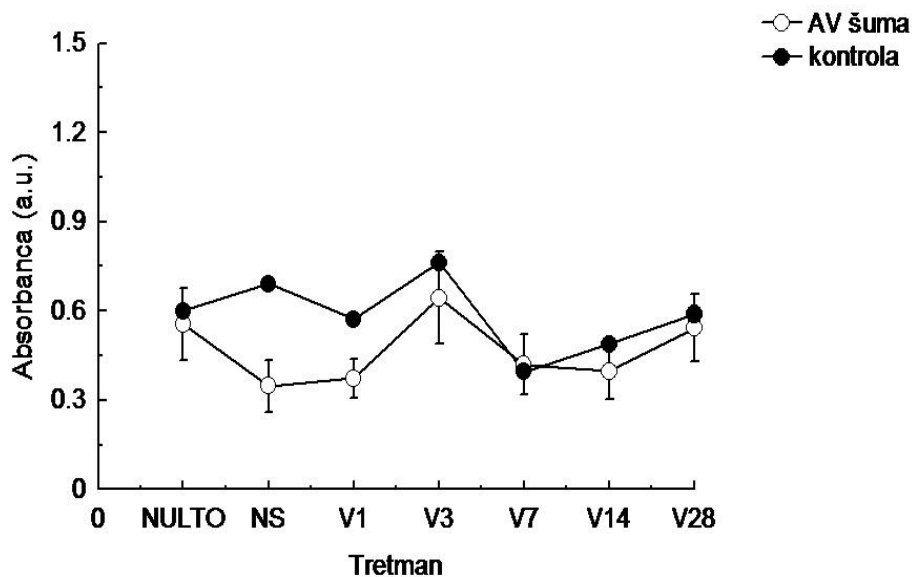
Na tlu s područja tršćaka rmANOVA nije detektirala statistički značajnu razliku između tretmana (Slika 43.). Srednja vrijednost izmjerene absorbance nakon nultog stanja iznosi 0.569 (a.u.), nakon 28 dana suše 0.364 (a.u.) i nakon 28 dana vlaženja 0.410 (a.u.). Srednja vrijednost je u opadanju nakon 28 dana suše, dok se povećava prilikom vlaženja, nakon 28 dana i to u odnosu na nulto stanje.

U uzorcima sa područja šume rmANOVA je pokazala statistički značajnu razliku između nultog stanja i mjerenja nakon 28 dana suše. Također, statistički značajna razlika je detektirana između 28 dana suše i 28 dana vlaženja (Slika 44.). Srednja vrijednost absorbanci u mjerenju nakon dolaska s terena iznosi 0.557 (a.u.), nakon 28 dana suše 0.348 (a.u.) i nakon 28 dana vlaženja 0.543 (a.u.). Srednja vrijednost je u opadanju nakon 28 dana suše, dok se povećava nakon 28 dana vlaženja i to u odnosu na prvo mjerenje.

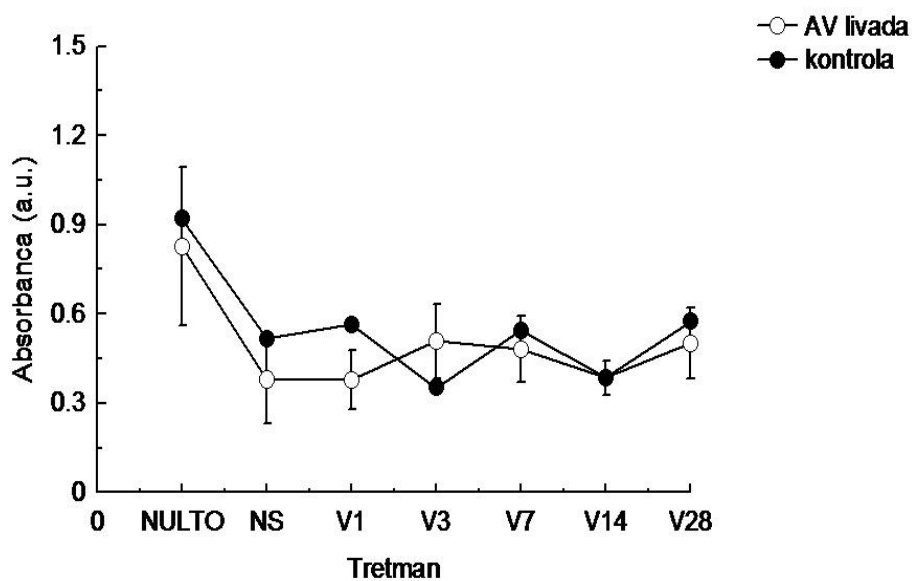
Na tlu uzorkovanom s područja livade rmANOV-om je detektirana statistički značajna razlika između vrijednosti absorbance nultog stanja i onih nakon 28 dana suše. Statistički značajna razlika je također detektirana i između nultog stanja i 28 dana vlaženja (Slika 45.). Srednja vrijednost absorbanci nultog stanja iznosi 0.826 (a.u.), nakon 28 dana suše 0.380 (a.u.) i nakon 28 dana vlaženja 0.501 (a.u.). Srednja vrijednost absorbanci opada nakon 28 dana suše i 28 dana vlaženja u odnosu na nulti tretman ali raste nakon 28 dana vlaženja u odnosu na 28 dana suše.



Slika 43. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 28 dana suše. (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 44. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje šume nakon 28 dana suše. (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



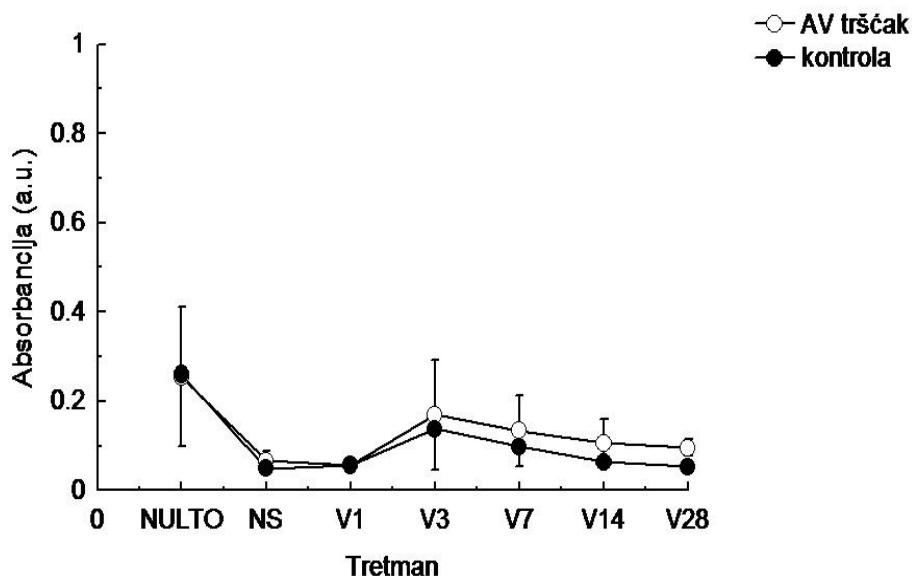
Slika 45. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje livade nakon 28 dana suše. (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.2.3. DHA biofilma

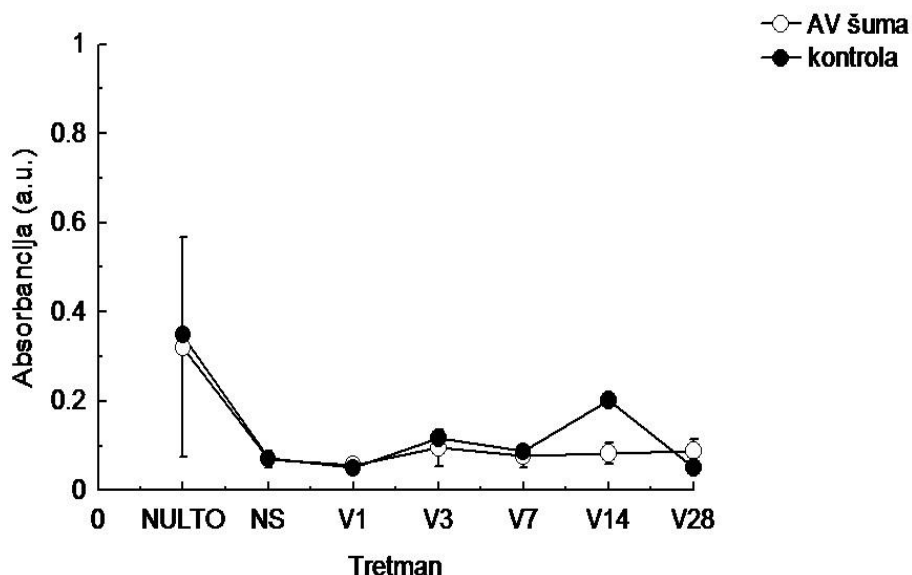
Na tlu uzorkovanog s područja tršćaka rmANOV-om je detektirana signifikantna razlika između mjerenja nakon dolaska s terena i mjerenja nakon 28 dana suše (Slika 46.). Srednja vrijednost absorbance nultog stanja iznosi 0.255 (a.u.), nakon 28 dana suše 0.066 (a.u.) te nakon 28 dana vlaženja 0.096 (a.u.). Srednja vrijednost je u opadanju nakon 28 dana suše, dok se povećala nakon 28 dana vlaženja.

Na tlu uzorkovanom na području šume rmANOVA nije detektirala statistički značajnu razliku između tretmana (Slika 47.). Srednja vrijednost absorbanci nultog stanja iznosi 0.320 (a.u.), nakon 28 dana suše 0.066 (a.u.) i nakon 28 dana vlaženja 0.096 (a.u.). Srednja vrijednost je u opadanju nakon 28 dana suše, dok se povećava prilikom vlaženja, nakon 28 dana i to u odnosu na stanje nakon 28 dana suše.

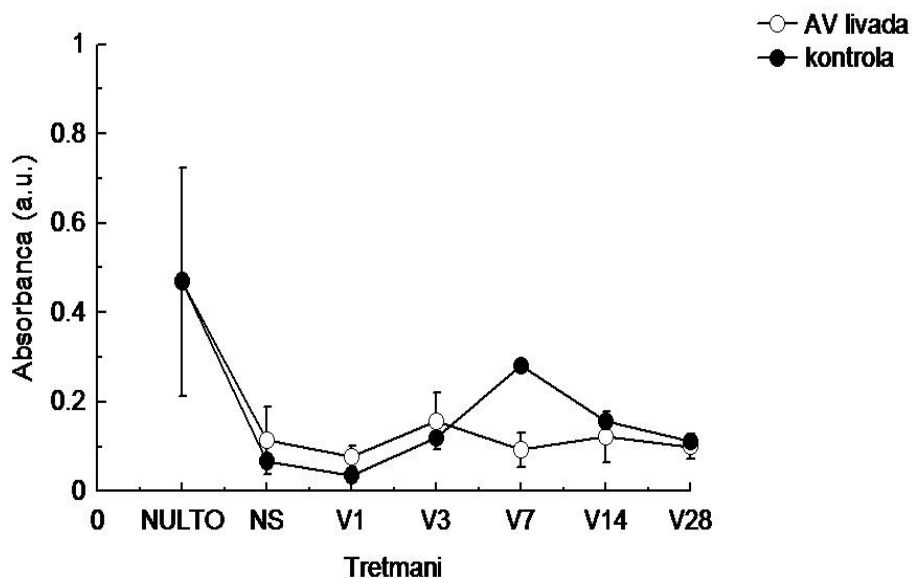
Na tlu uzorkovanom s područja livade rmANOV-om je detektirana statistički značajna razlika između vrijednosti nultog stanja i vrijednosti nakon 28 dana suše. Statistički značajna razlika je također detektirana i između nultog stanja i 28 dana vlaženja (Slika 48.). Srednja vrijednost absorbanci nultog stanja iznosi 0.468 (a.u.), nakon 28 dana suše 0.114 (a.u.) i nakon 28 dana vlaženja 0.100 (a.u.). Srednja vrijednost absorbanci opada nakon 28 dana suše i 28 dana vlaženja u odnosu na nulto stanje.



Slika 46. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 28 dana suše. (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 47. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje šume nakon 28 dana suše. (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



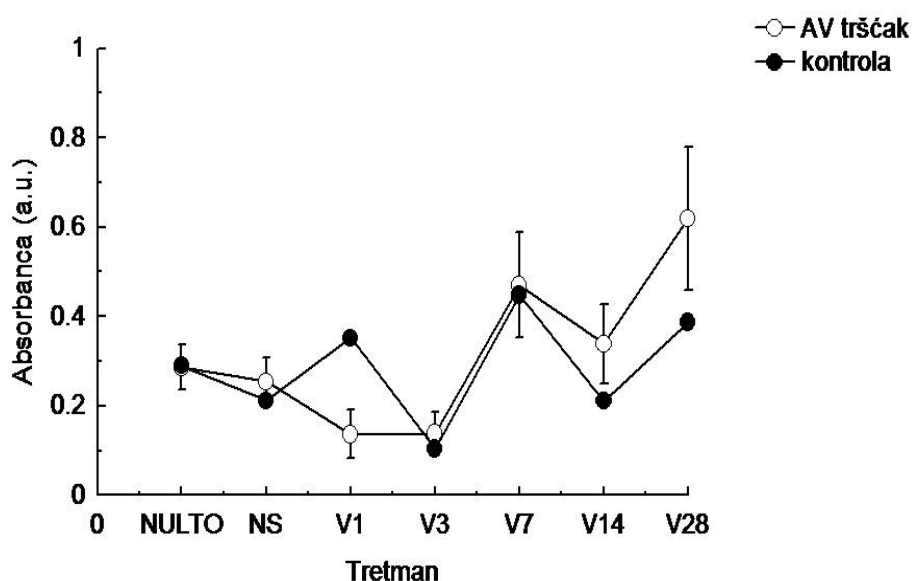
Slika 48. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 28 dana suše. (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)  $n=7$

### 3.2.4. Aktivnost mikrobne dehidrogenaze (DHA)

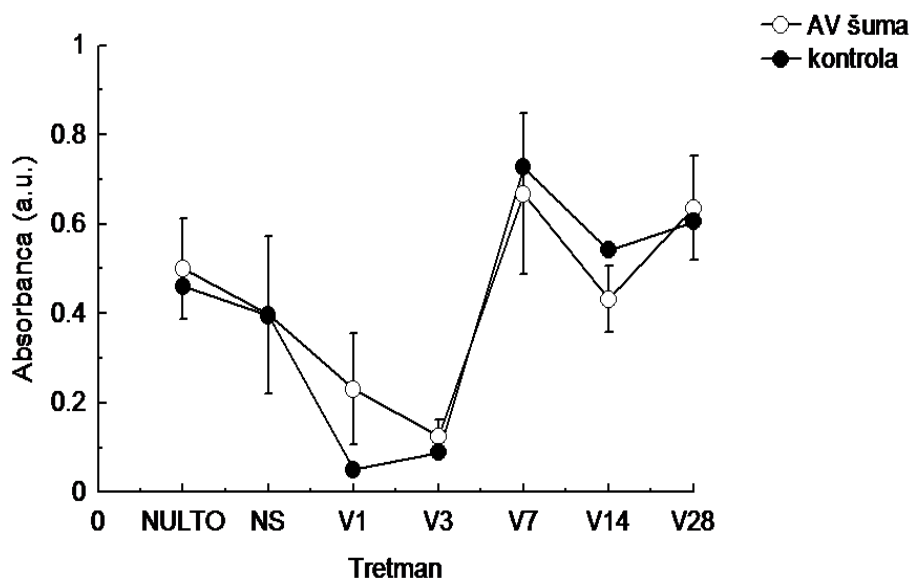
Na tlu uzorkovanog na području tršćaka rmANOVA je detektirala statistički značajnu razliku između nultog stanja i mjerenja nakon 28 dana suše. Također, statistički značajna razlika je detektirana između mjerenja nakon 28 dana suše i 28 dana vlaženja (Slika 49.) Srednja vrijednost absorbanci nultog stanja iznosi 0.286 (a.u.), nakon 28 dana suše 0.255 (a.u.) i nakon 28 dana vlaženja 0.619 (a.u.). Srednja vrijednost je u opadanju nakon 28 dana suše, dok se povećava prilikom vlaženja, nakon 28 dana i to u odnosu na nulto stanje.

Na tlu uzorkovanom na području šume rmANOVA nije detektirala statistički značajnu razliku između tretmana (Slika 50.). Srednja vrijednost izmjerenih absorbanci nultog stanja iznosi 0.501 (a.u.), nakon 28 dana suše 0.398 (a.u.) i nakon 28 dana vlaženja 0.637 (a.u.). Srednja vrijednost je u opadanju nakon 28 dana suše, dok se povećava prilikom vlaženja, nakon 28 dana i to u odnosu na nulto stanje.

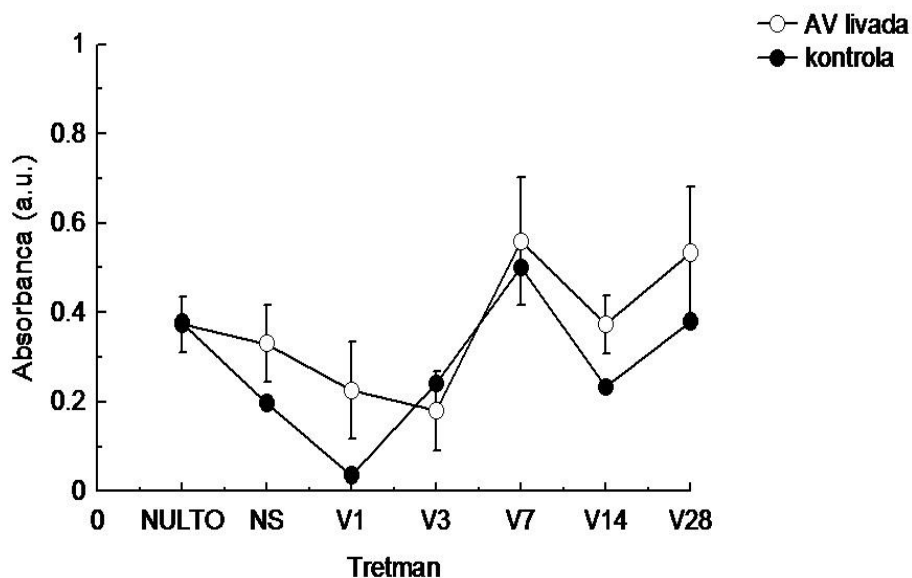
Na tlu uzorkovanom s područja livade rmANOV-om je detektirana statistički značajna između mjerenja nakon 28 dana suše i mjerenja nakon 28 dana vlaženja (Slika 51.). Srednja vrijednost izmjerenih absorbanci nultog stanja iznosi 0.373 (a.u.), nakon 28 dana suše 0.330 (a.u.) i nakon 28 dana vlaženja 0.533 (a.u.). Srednja vrijednost absorbanci opada nakon 28 dana suše, dok se nakon 28 dana vlaženja povećava i to u odnosu na nulto stanje.



Slika 49. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 28 dana suše. (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 50. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje šume nakon 28 dana suše. (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 51. Grafički prikaz kontrole i srednjih vrijednosti absorbance s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 28 dana suše. (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

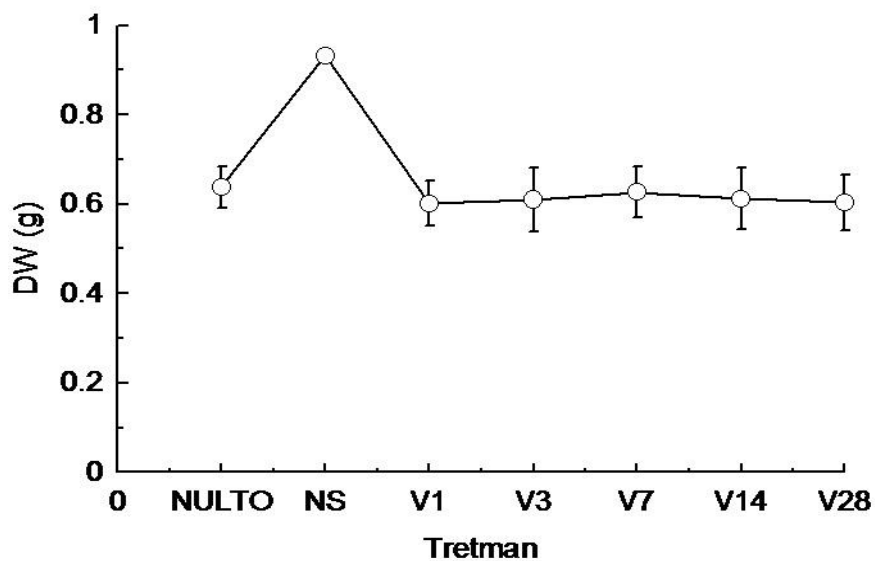


### 3.2.5. Masa suhe tvari u tlu (DW)

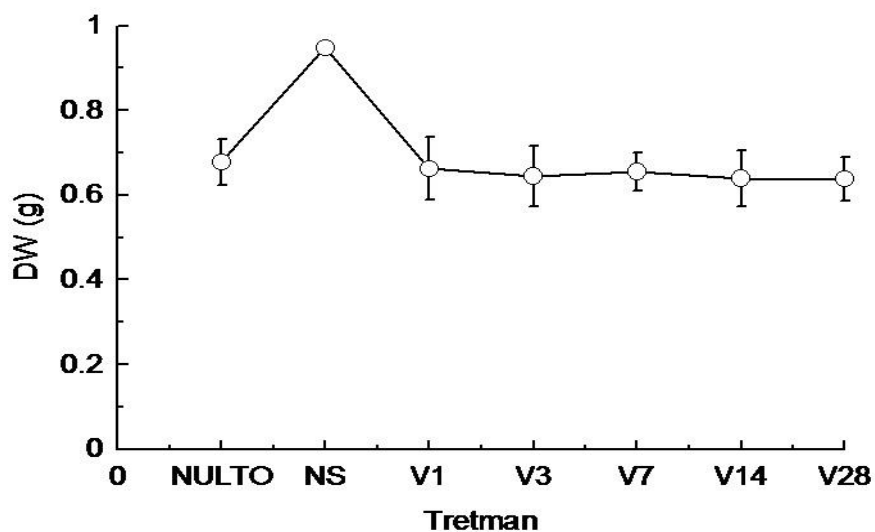
Na tlu uzorkovanom na području tršćaka *rmANOVA* je pokazala da postoji statistički značajna razlika između vrijednosti nultog stanja i mjerenja nakon 28 dana suše te između 28 dana suše i 28 dana vlaženja. Statistički značajna razlika također je detektirana između nultog stanja te mjerenja nakon 28 dana vlaženja (Slika 52.). Srednja vrijednost suhe mase nultog stanja tla iznosi 0.638 g, nakon 28 dana suše 0.932 g te nakon 28 dana vlaženja 0.604 g. Vrijednosti su u porastu nakon izlaganja suši, ali opadaju ponovnim vlaženjem u odnosu na nulto stanje.

Na tlu uzorkovanom u šumi *rmANOVA* je pokazala da postoji statistički značajna razlika između svih mjerenja (Slika 53.). Srednja vrijednost suhe mase nultog stanja tla iznosi 0.678 g, nakon 28 dana suše 0.947 g te nakon 28 dana vlaženja 0.638 g. Vrijednosti su u porastu nakon izlaganja suši te u opadanju nakon ponovnog vlaženja, u odnosu na nulto stanje.

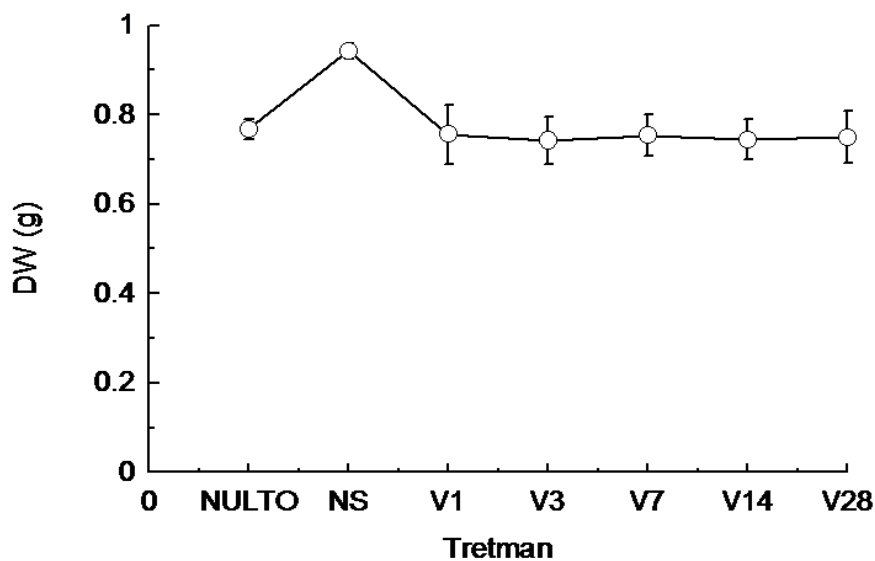
Na tlu uzorkovanom na području livade *rmANOVA* je pokazala da postoji statistički značajna razlika između nultog stanja suhe mase tla i izmjerenih vrijednosti nakon 28 dana suše. Statistički značajna razlika također je detektirana između mjerenja nakon 28 dana suše te mjerenja nakon 28 dana vlaženja (Slika 54.). Srednja vrijednost suhe mase nultog stanja tla iznosi 0.767 g, nakon 28 dana suše 0.942 g te nakon 28 dana vlaženja 0.749 g. Vrijednosti su u porastu nakon izlaganja suši, ali opadaju nakon izlaganja vlazi u odnosu na nulto stanje.



Slika 52. Grafički prikaz srednjih vrijednosti mase suhe tvari (DW) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 53. Grafički prikaz srednjih vrijednosti mase suhe tvari (DW) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje šume nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



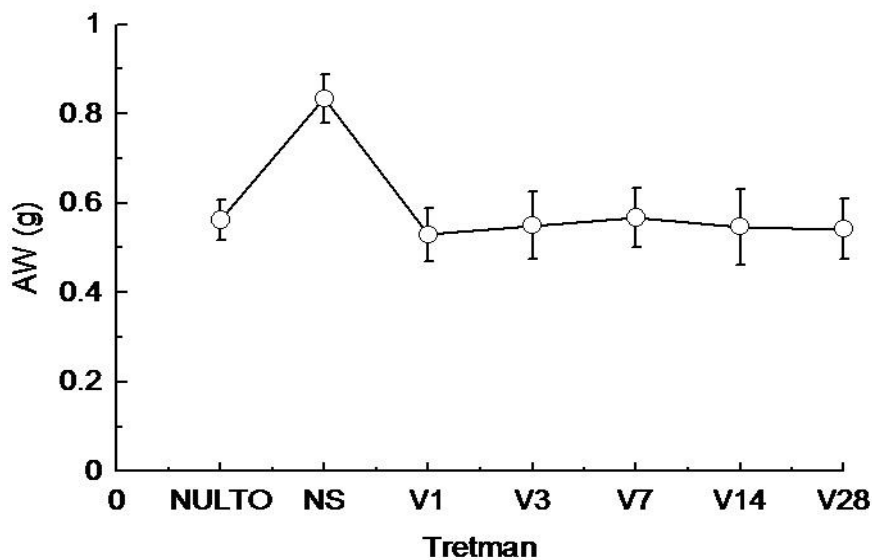
Slika 54. Grafički prikaz srednjih vrijednosti mase suhe tvari (DW) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.2.6. Masa anorganske tvari u tlu (AW)

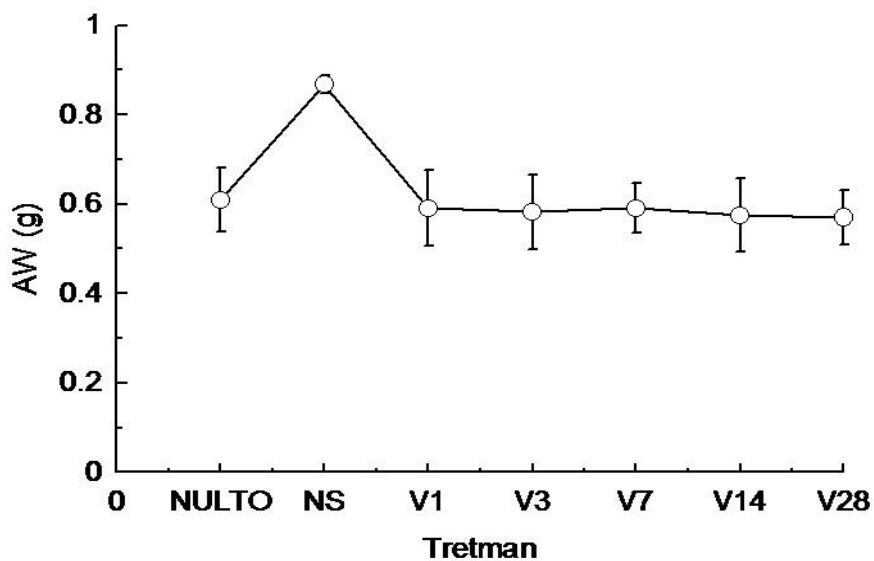
Na tlu uzorkovanom na području tršćaka, izračunate srednje vrijednost mase pepela, odnosno anorganske tvari nakon dolaska s terena (nulto stanje) iznosi 0.563 g, nakon 28 dana suše 0.834 g te nakon 28 dana vlaženja 0.542 g. Vrijednosti su u porastu nakon izlaganja suši, ali opadaju nakon izlaganjem vlazi u odnosu na nulto stanje. *rmANOVA* je pokazala da postoji statistički značajna razlika između mjerenja koja su se odvijala prvi dan, nakon terena i mjerenja nakon 28 dana suše. Statistički značajna razlika je detektirana između mjerenja nakon 28 dana suše te mjerenja nakon 28 dana vlaženja, također (Slika 55.).

Na tlu uzorkovanom u šumi, izračunata srednja vrijednost nakon dolaska s terena iznosila je 0.608 g, nakon 28 dana suše 0.867 g te nakon 28 dana vlaženja 0.571 g. Vrijednosti su u porastu nakon izlaganja suši, ali opadaju nakon izlaganja vlazi u odnosu na prvo mjerenje. *rmANOVA* test je pokazao da postoji statistički značajna razlika između mjerenja nakon dolaska s terena i mjerenja nakon 28 dana suše. Statistički značajna razlika je detektirana i između mjerenja nakon 28 dana suše te mjerenja nakon 28 dana vlaženja (Slika 56.).

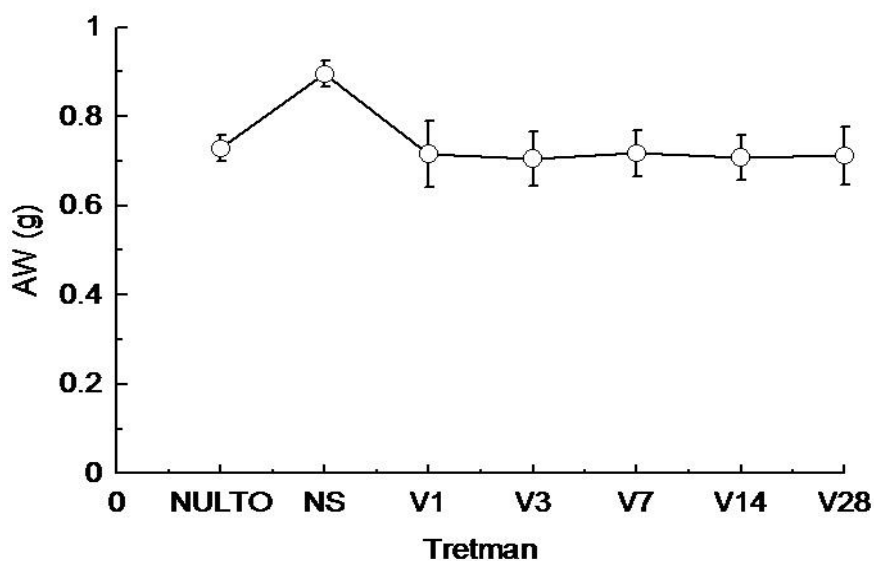
Na tlu uzorkovanom na području livade, rmANOVA je pokazala da postoji statistički značajna razlika između nultog stanja mase anorganske tvari i vrijednosti dobivenih nakon 28 dana suše. Statistički značajna razlika je detektirana između mjerenja 28 dana suše te mjerenja nakon 28 dana vlaženja, također (Slika 57.). Srednja vrijednost mase pepela, nakon dolaska s terena iznosi 0.728 g, nakon 28 dana suše 0.895 g te nakon 28 dana vlaženja 0.712 g. Vrijednosti su u porastu nakon izlaganja suši, ali opadaju nakon izlaganjem vlazi u odnosu na nulto stanje.



Slika 55. Grafički prikaz srednjih vrijednosti mase anorganske tvari (AW) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 56. Grafički prikaz srednjih vrijednosti mase anorganske tvari (AW) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje šume nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



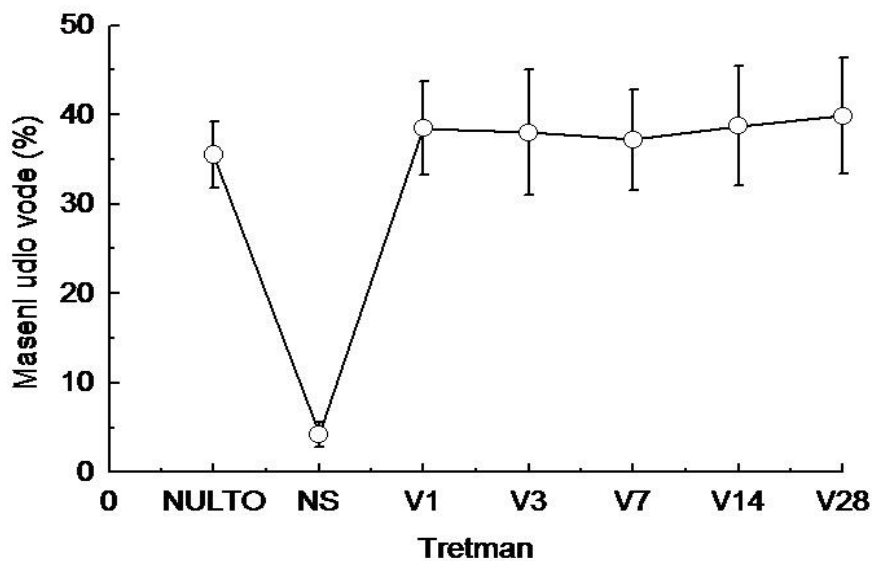
Slika 57. Grafički prikaz srednjih vrijednosti mase anorganske tvari (AW) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.2.7. Maseni udio vode u tlu

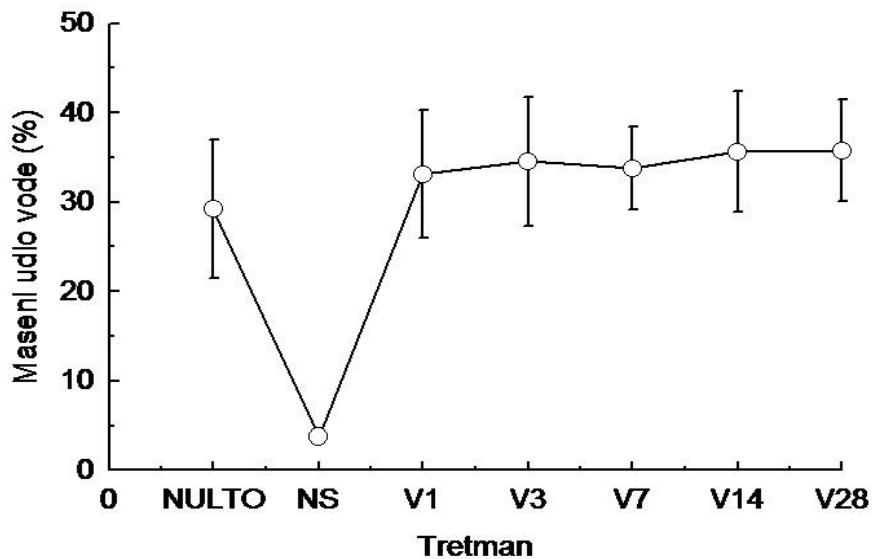
Na tlu uzorkovanom na području tršćaka, izračunate srednje vrijednosti masenog udjela vode iznosile su 35.544% nakon dolaska s terena (nulto stanje), nakon 28 dana suše 4.271% te nakon 28 dana vlaženja 39.867%. Vrijednosti su u opadanju nakon izlaganja suši, ali u porastu nakon izlaganja vlazi u odnosu na nulto stanje. rmANOVA je pokazala da postoji statistički značajna razlika između mjerenja nakon dolaska s terena i mjerenja nakon 28 dana suše. Statistički značajna razlika je detektirana i između mjerenja nakon 28 dana suše te mjerenja nakon 28 dana vlaženja (Slika 58.).

Na tlu uzorkovanom u šumi rmANOVA je pokazala da postoji statistički značajna razlika između svih uspoređivanih mjerenja (Slika 59.). Srednja vrijednost masenog udjela vode pri nultom stanju iznosi 29.23%, nakon 28 dana suše 3.8 % te nakon 28 dana vlaženja 35.787%. Vrijednosti su u opadanju nakon izlaganja suši, ali u porastu nakon izlaganja vlazi u odnosu na nulto stanje.

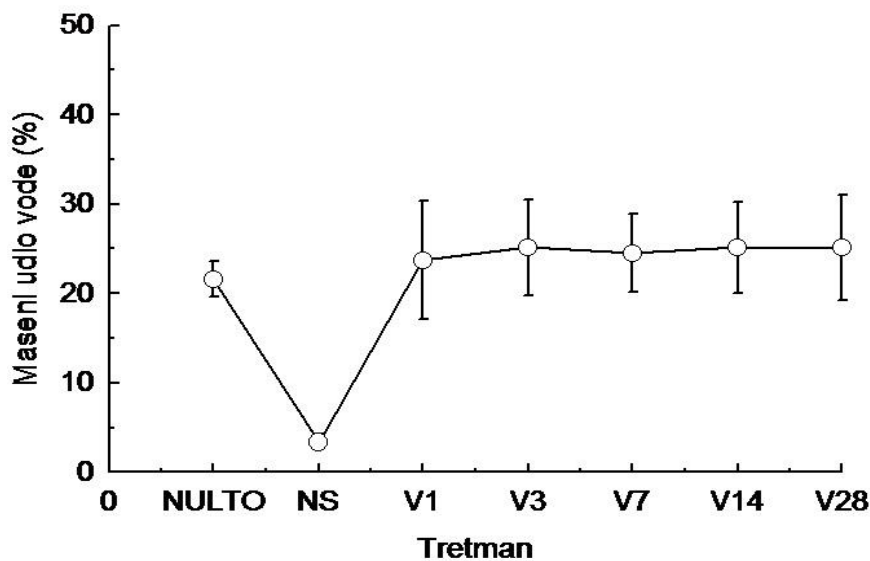
Na tlu uzorkovanom na području livade rmANOVA je pokazala da postoji statistički značajna razlika između vrijednosti masenog udjela vode nakon dolaska s terena i mjerenja nakon 28 dana suše. Statistički značajna razlika je također detektirana između mjerenja nakon 28 dana suše te mjerenja nakon 28 dana vlaženja, (Slika 60.). Srednja vrijednost masenog udjela vode, u uzorcima tla nakon dolaska s terena iznosi 21.58%, nakon 28 dana suše 3.372% te nakon 28 dana vlaženja 25.122%. Vrijednosti su u opadanju nakon izlaganja suši, ali u porastu nakon izlaganja vlazi u odnosu na nulto stanje.



Slika 58. Grafički prikaz srednjih vrijednosti masenog udjela vode s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje tršćaka nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 59. Grafički prikaz srednjih vrijednosti masenog udjela vode s pripadajućim standardnim devijacijama za područje šume (n = 7) nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 60. Grafički prikaz srednjih vrijednosti masenog udjela vode s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livada nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

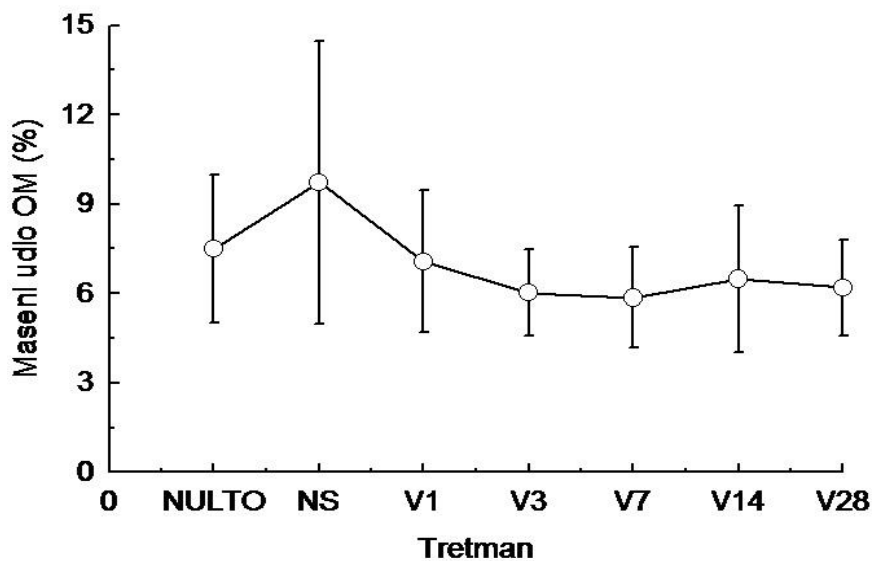
### 3.2.8. Maseni udio organske tvari (OM)

Na tlu uzorkovanom s područja tršćaka izračunata srednja vrijednost masenog udjela organske tvari nakon dolaska s terena iznosi 7.497%, nakon 28 dana suše 9.740% te nakon 28 dana vlaženja 6.192%. Vrijednosti su u porastu nakon izlaganja suši ali u opadanju nakon izlaganja vlazi u odnosu na nultog stanje (nakon dolaska s terena). rMANOV-om nije detektirana nijedna statistički značajna razlika između tri navedena dana (Slika 61.).

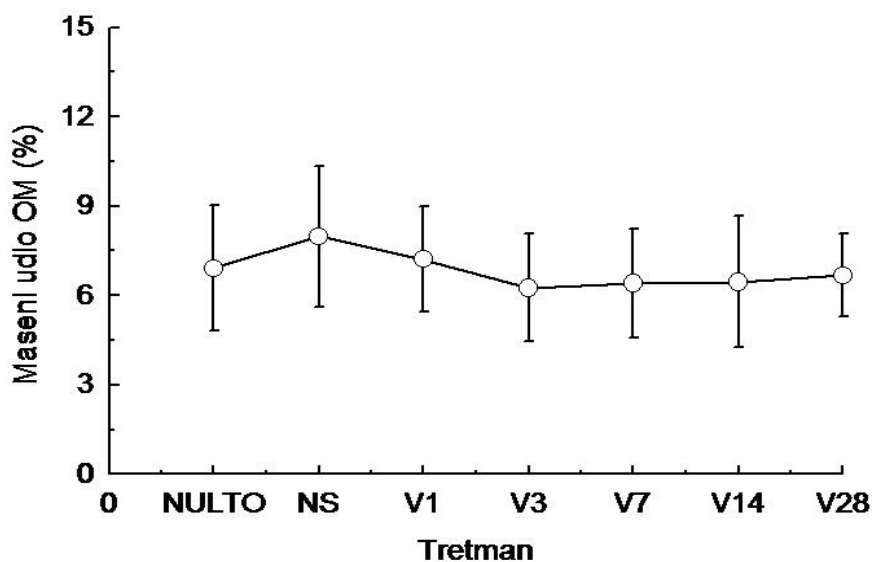
Na tlu uzorkovanom na području šume, rMANOV-om nije detektirana statistički značajna razlika između tri promatrana dana. Srednja vrijednost masenog udjela organske tvari nultog stanja tla iznosi 6.927%, nakon 28 dana suše 7.978% te nakon 28 dana vlaženja 6.675%. Vrijednosti su u porastu nakon izlaganja suši, ali u opadanju nakon izlaganja vlazi u odnosu na nultog stanje (Slika 62.).

Na tlu uzorkovanom na području livade rMANOV-om nije detektirana statistički značajna razlika između tri promatrana dana. Srednja vrijednost masenog udjela organske tvari nultog stanja iznosi 4.142%, nakon 28 dana suše 4.668% te nakon 28 dana vlaženja 3.724%. Vrijednosti su u porastu nakon izlaganja suši, ali u opadanju nakon izlaganja vlazi, u odnosu na nultog stanje (Slika 63.).

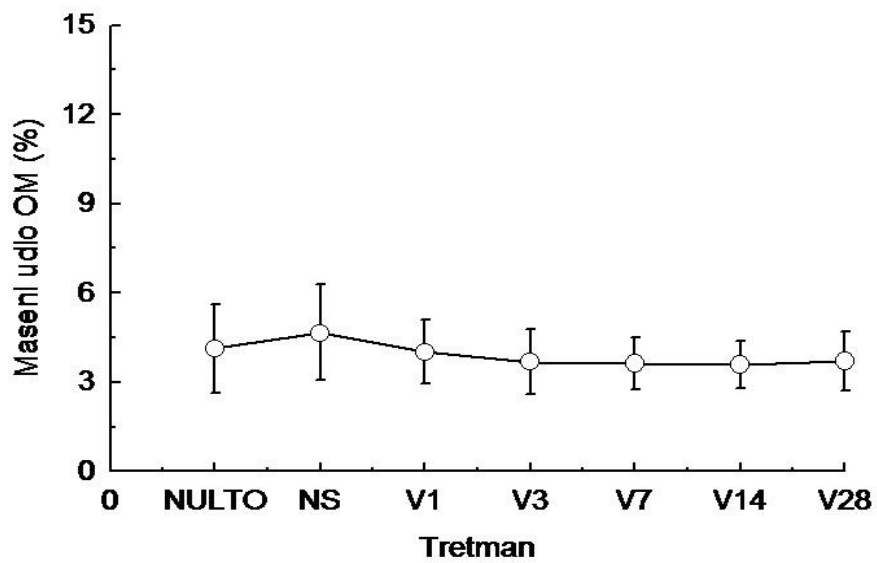




Slika 61. Grafički prikaz srednjih vrijednosti masenog udjela organske tvari (OM) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 62. Grafički prikaz srednjih vrijednosti masenog udjela organske tvari (OM) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje šume nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



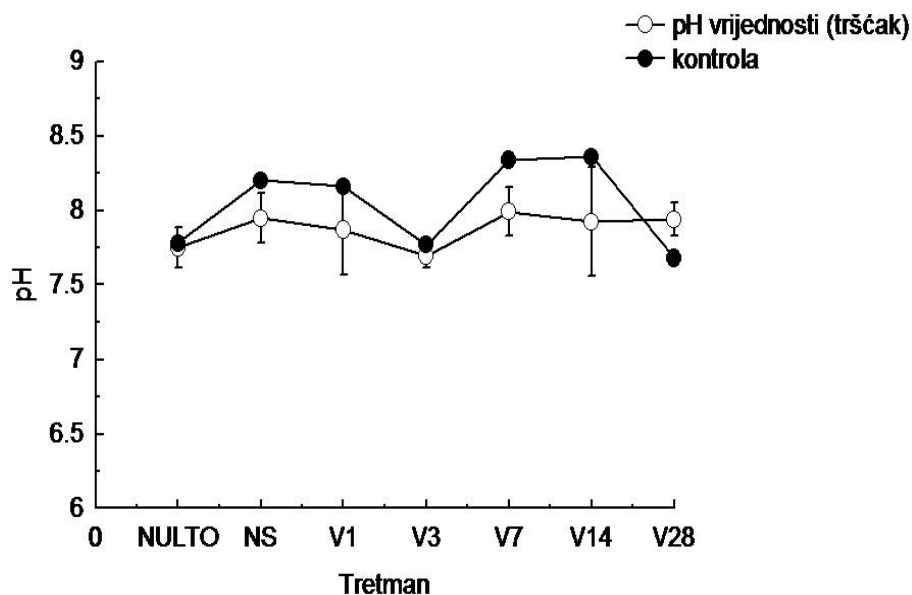
Slika 63. Grafički prikaz srednjih vrijednosti masenog udjela organske tvari (OM) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.2.9. pH suspenzije tla

Na tlu uzorkovanom s područja tršćaka, rmANOVA test pokazuje da postoji statistički značajna razlika između triju promatranih mjerenja. Ta razlika je između nultog stanja i mjerenja nakon 28 dana suše. Također, statistički značajna razlika je detektirana između nultog stanja i 28 dana vlaženja (Slika 64.). Srednja pH vrijednost suspenzije tla, nakon dolaska s terena iznosi 7.751, nakon 28 dana suše 7.949 a nakon 28 dana vlaženja 7.941. pH se povećava u sušnim uvjetima te lagano opada nakon vlaženja.

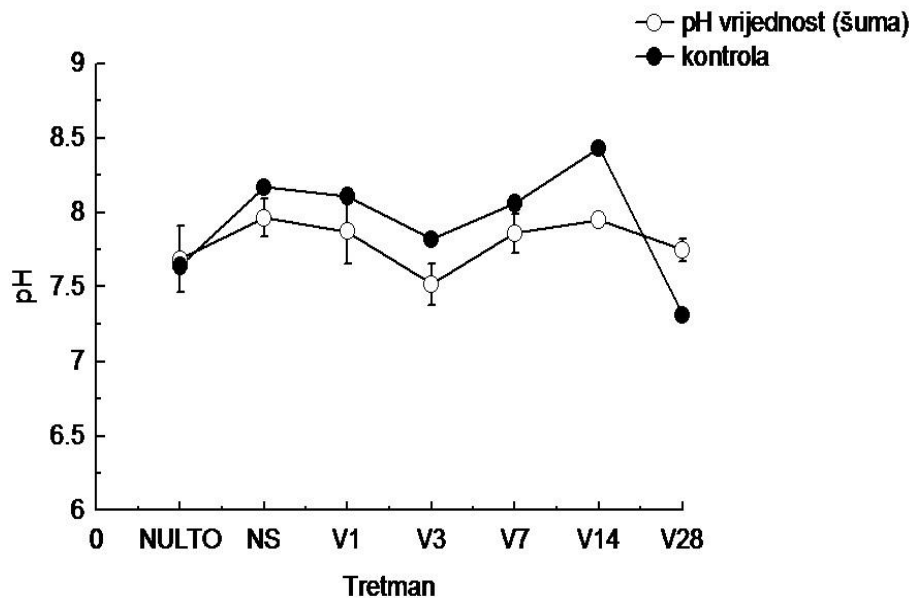
Na tlu uzorkovanom na području šume, rmANOVA test pokazuje da postoji statistički značajna razlika između triju promatranih mjerenja. Ta razlika je između mjerenja nakon dolaska s terena (nulto stanje) i mjerenja nakon 28 dana suše (Slika 65.). Srednja pH vrijednost suspenzije tla pH nakon dolaska s terena iznosi 7.686, nakon 28 dana suše 7.964 a nakon 28 dana vlaženja 7.747. pH se povećava u sušnim uvjetima, a opada nakon vlaženja u odnosu na period suše.

Na tlu uzorkovanom na području livade, rmANOVA pokazuje da postoji statistički značajna razlika među promatranim danima. Ta razlika je između nultog stanja i dobivenih vrijednosti nakon 28 dana suše. Također, statistički značajna razlika je detektirana i između nultog stanja i 28 dana vlaženja (Slika 66.). Srednja pH vrijednost suspenzije tla nakon dolaska s terena je 7.736, nakon 28 dana suše 8.169 a nakon 28 dana vlaženja 8.070. pH se povećava u sušnim uvjetima te opada nakon 28 dana vlaženja tla.

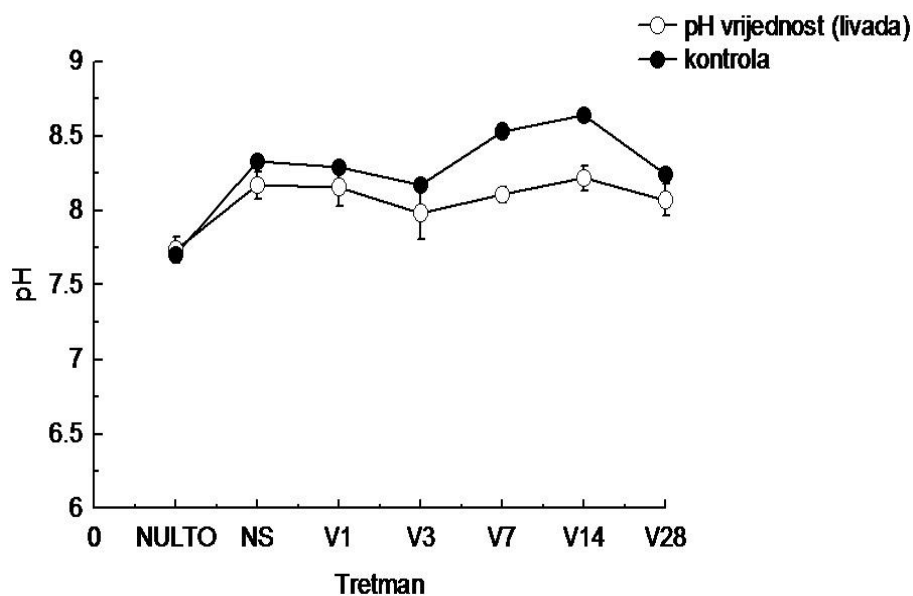


Slika 64. Grafički prikaz srednjih vrijednosti koncentracije vodikovih iona (pH) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje tršćaka nakon 28 dana suše

(NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 65. Grafički prikaz srednjih vrijednosti koncentracije vodikovih iona (pH) s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje šume nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



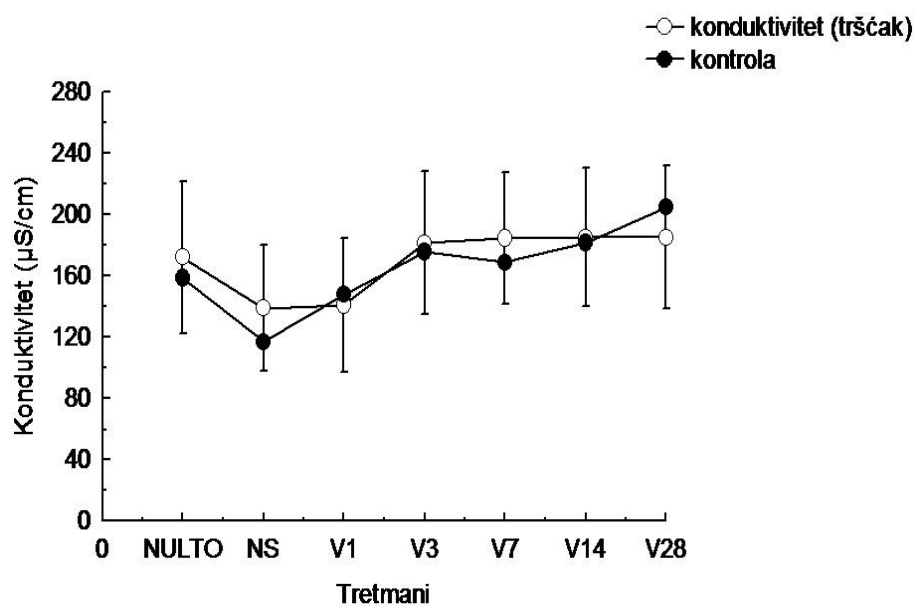
Slika 66. Grafički prikaz srednjih vrijednosti koncentracije vodikovih iona (pH) s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.2.10. Električni konduktivitet tla

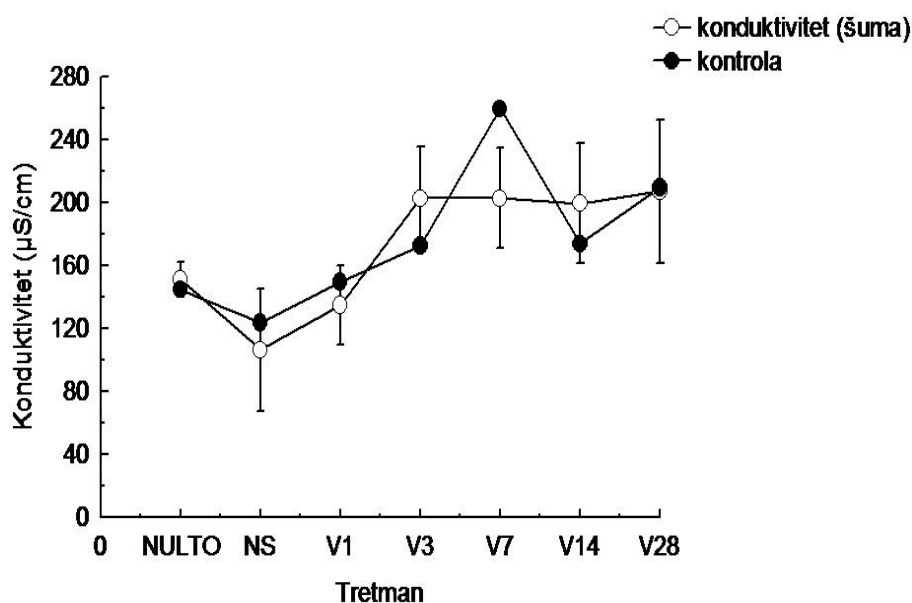
Na tlu uzorkovanom s područja tršćaka, rmANOVA test pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika između vrijednosti konduktiviteta između tri promatrana mjerenja (Slika 67.). Srednja vrijednost konduktiviteta nultog stanja tla je  $172.429 \mu\text{S/cm}$ , nakon 28 dana suše  $139.143 \mu\text{S/cm}$  a nakon 28 dana vlaženja  $185.143 \mu\text{S/cm}$ . Konduktivitet se smanjuje u sušnim uvjetima te raste nakon vlaženja.

Na tlu uzorkovanom na području šume, rmANOVA test pokazuje da postoji statistički značajna razlika između mjerenja nakon 28 dana suše i 28 dana vlaženja (Slika 68.). Srednja vrijednost konduktiviteta nultog stanja tla je  $115.429 \mu\text{S/cm}$ , nakon 28 dana suše  $106.857 \mu\text{S/cm}$  a nakon 28 dana vlaženja  $207.429 \mu\text{S/cm}$ . Konduktivitet se smanjuje u sušnim uvjetima te povećava nakon vlaženja u odnosu na nulto stanje.

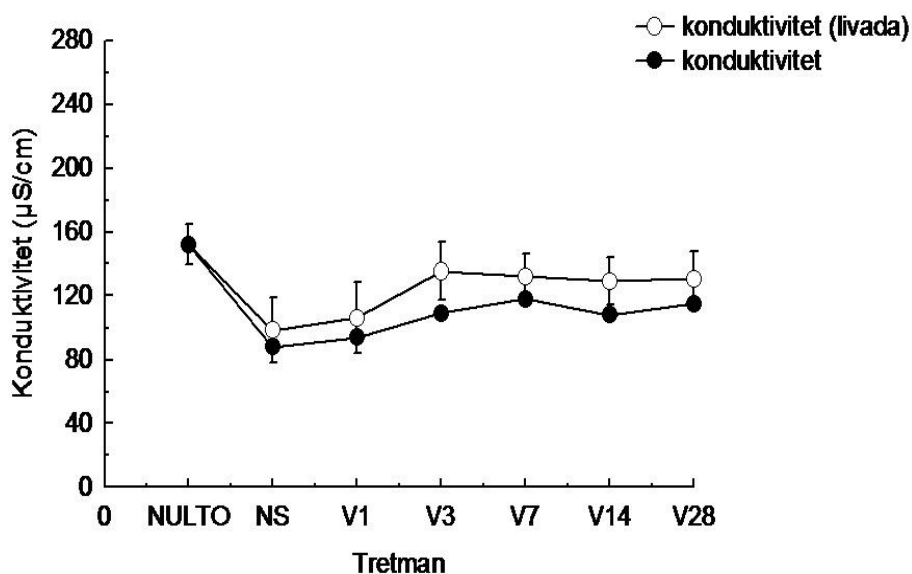
Na tlu uzorkovanom na području livade, rmANOVA pokazuje da postoji statistički značajna razlika između mjerenja nakon 28 dana suše i 28 dana vlaženja tla, kao i između nultog stanja tla te 28 dana suše (Slika 69.). Srednja vrijednost konduktiviteta nultog stanja iznosi  $152.286 \mu\text{S/cm}$ , nakon 28 dana suše  $98.571 \mu\text{S/cm}$  a nakon 28 dana vlaženja  $130.571 \mu\text{S/cm}$ . Konduktivitet se smanjuje u sušnim uvjetima u odnosu na nulto stanje, te povećava nakon 28 dana vlage.



Slika 67. Grafički prikaz srednjih vrijednosti električnog konduktiviteta s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje tršćaka nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 68. Grafički prikaz srednjih vrijednosti električnog konduktiviteta s pripadajućim standardnim devijacijama (n = 7) za područje šume nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)



Slika 69. Grafički prikaz srednjih vrijednosti električnog konduktiviteta s pripadajućim standardnim devijacijama ( $n = 7$ ) za područje livade nakon 28 dana suše (NULTO - stanje nakon dolaska s terena, NS - nakon suše, V1 - nakon 1. dana vlage, V3 - nakon 3. dana vlage, V7 - nakon 7. dana vlage, V14 - nakon 14 dana vlage, V28- nakon 28 dana vlage)

### 3.3. Permanova

Osim analize varijance, (ANOVA), za statističku obradu podataka korištena je i permutacijska analiza varijance (PERMANOVA) (Tablica 4. i 5.). PERMANOVA analiza daje bolje uvid u interakcije nezavisnih faktora kao što su tip biljnog pokrova i vrijeme u odnosu na zavisne varijable (pH, konduktivitet, DW, AW,  $wH_2O$ , INT, UBB i BFA)

Tablica 4. Međusobne interakcije 2 nezavisna faktora (tip biljnog pokrova i vrijeme suše) dobivene permutacijskom analizom varijance (PERMANOVA- om) nakon 4 dana suše

PERMANOVA	df	SS	MS	Pseudo-F	$P_{(perm)}$	Unique perms	$P_{(MC)}$
Tip biljnog pokrova	2	246.1	123.05	26.583	0.001	999	0.001
Vrijeme	6	416.56	69.426	14.999	0.001	999	0.001
Tip biljnog pokrova x vrijeme	12	68.11	5.6759	1.2262	0.097	999	0.001
Res	126	583.23	4.6288				
Total	146	1314					

PERMANOVA analiza je utvrdila statističku značajnu razliku za faktor biljnog pokrova te za faktor vremena ( $p < 0.05$ ). Drugim riječima, postoji signifikantna razlika između tipova

biljnog pokrova i mjerenih zavisnih varijabli. Isto tako, vrijeme suše u trajanju od 4 dana značajan je faktor koji utječe na dobivene rezultate zavisnih varijabli. PERMANOVA analiza nije utvrdila statistički značajnu razliku u interakciji vremena suše u trajanju 4 dana i biljnog pokrova, drugim riječima, efekt četiri dana suše nije dao značajne rezultate u odnosu na tip biljnog pokrova.

Tablica 5. Međusobne interakcije 2 nezavisna faktora (tip biljnog pokrova i vrijeme suše) dobivene permutacijskom analizom varijance (PERMANOVA- om) nakon 28 dana suše

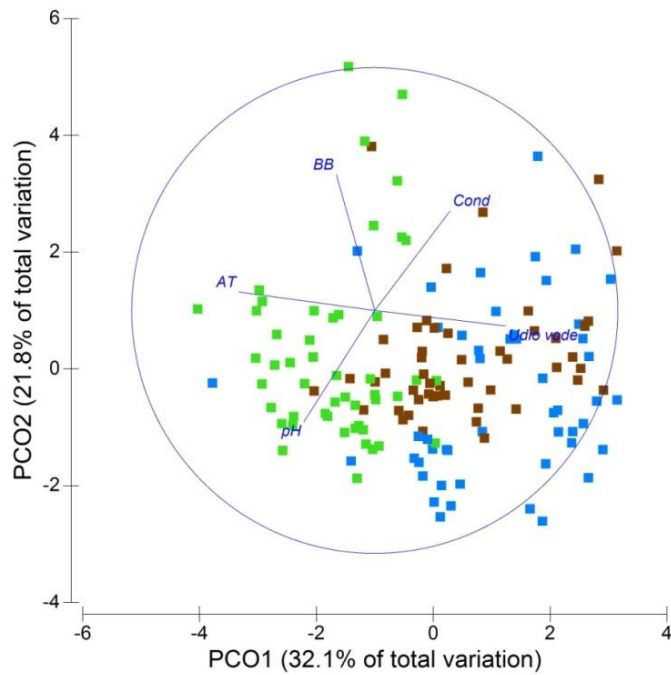
<b>PERMANOVA</b>	<b>df</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>Pseudo-F</b>	<b>P<sub>(perm)</sub></b>	<b>Unique perms</b>	<b>P<sub>(MC)</sub></b>
Tip biljnog pokrova	2	195.19	97.595	24.063	0.001	999	0.001
Vrijeme	6	530.43	88.404	21.797	0.001	997	0.001
Tip biljnog pokrova x vrijeme	12	77.348	6.4456	1.5892	0.001	997	0.001
Res	126	511.04	4.0558				
Total	146	1314					

PERMANOVA analiza je utvrdila statističku značajnost svih mjerenih faktora i interakcija ( $p < 0.05$ ). Dakle, postoji signifikantna razlika između tipova biljnog pokrova i mjerenih zavisnih varijabli. Također, vrijeme suše u trajanju od 28 dana značajan je faktor koji utječe na dobivene rezultate zavisnih varijabli. PERMANOVA analiza utvrdila je signifikantnu interakciju vremena suše u trajanju od 28 dana i biljnog pokrova. Drugim riječima, efekt 28 dana suše utjecao je na svaki tip biljnog pokrova.

### 3.3.1. PCO ordinacijski dijagrami nakon 4 dana suše tla

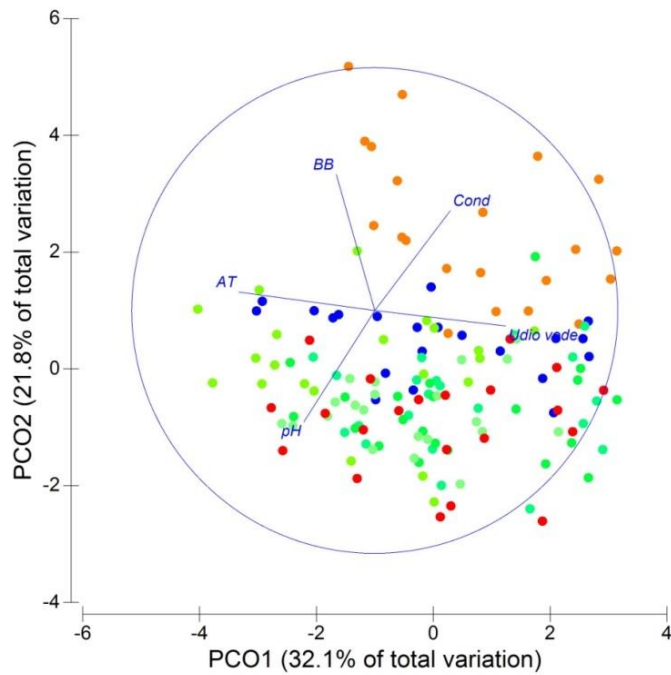
Dobiveni rezultati PERMANOVA – e prikazani su u nastavku rada, PCO ordinacijskim dijagramima („output“ PERMANOVE). Slika 70. prikazuje međusobne interakcije 3 tipa biljnog pokrova nakon 4 dana suše tla (plavo – trska, smeđe – šuma, zeleno – livada) vizualizirane ordinacijskom metodom PCO (engl. principal coordinates analysis). Postoji signifikantan efekt tipa biljnog pokrova u ovisnosti o zavisnim varijablama te se najviše očituje na tlu s područja livade, dok je kod šumskog tla i tla s područja tršćaka efekt malo blaži iako postoji.





Slika 70. Prikaz međusobnih interakcija 3 tipa biljnog pokrova PCO ordinacijskim dijagramom (plavo - tršćak, smeđe – šumsko tlo, zeleno- livada)

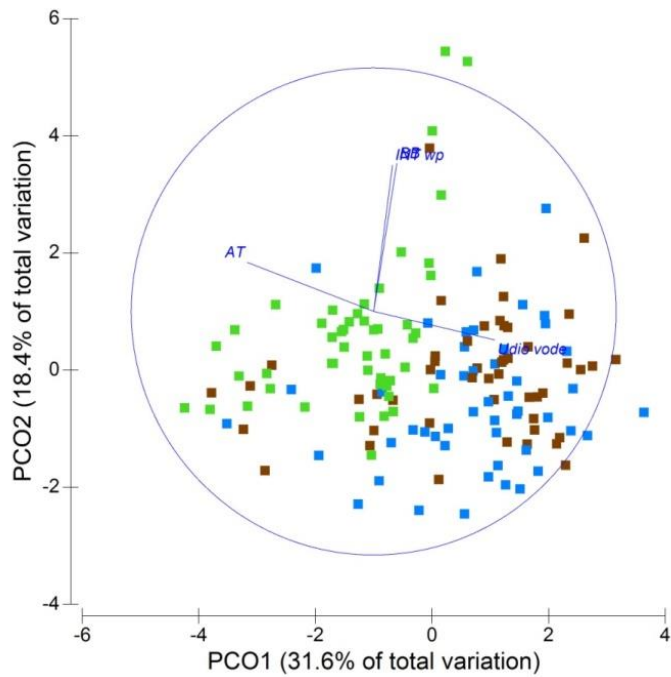
PERMANOVA je detektirala signifikantan utjecaj vremena na zavisne varijable. Njihove interakcije su vizualizirane ordinacijskom metodom PCO (engl. principal coordinates analysis) te su prikazane na Slici 71 (narančasto - nulto stanje, nakon dolaska s terena, plavo – nakon suše, zeleno – 1. - 14. dan vlage, crveno - 28 dana vlage ). Možemo vidjeti jasnu grupaciju mjerenja nakon dolaska s terena (nulto stanje) te onih nakon suše, dok su se mjerenja nakon tretmana vlagom ujednačila.



Slika 71. Prikaz međusobnih interakcija tretmana PCO ordinacijskim dijagramom (narančasto – NULTO – stanje nakon dolaska s terena, plavo- nakon suše od 4 dana, zelene nijanse- 1. – 14. dan vlage, crveno- 28 dana vlage)

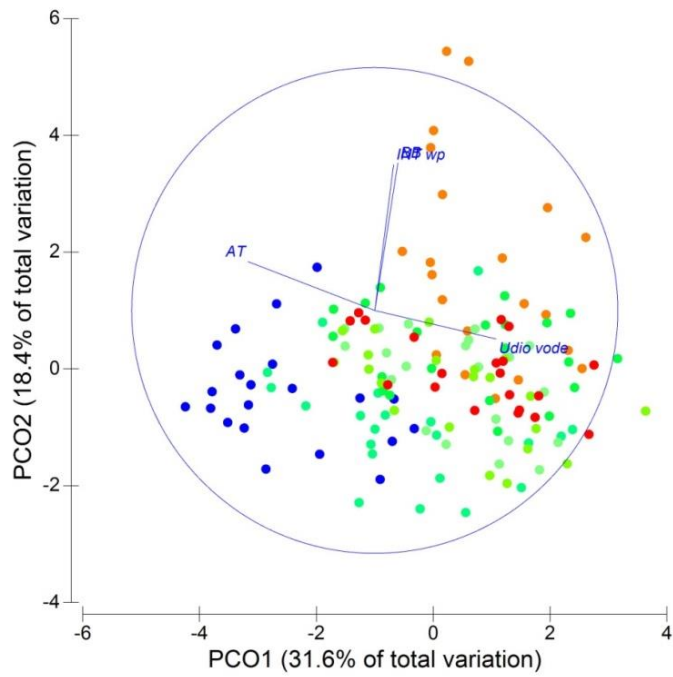
### 3.3.2. PCO ordinacijski dijagrami nakon 28 dana suše tla

Slika 72. prikazuje međusobne interakcije 3 tipa biljnog pokrova nakon 28 dana suše tla (plavo – trska, smeđe – šuma, zeleno – livada) vizualizirane ordinacijskom metodom PCO (engl. principal coordinates analysis). Postoji signifikantan efekt tipa biljnog pokrova u ovisnosti o zavisnim varijablama te se najviše očituje na tlu s područja livade, dok je kod šumskog tla i tla s područja tršćaka efekt malo blaži iako postoji.



Slika 72. Prikaz međusobnih interakcija 3 tipa biljnog pokrova PCO ordinacijskim dijagramom (plavo - tršćak, smeđe – šumsko tlo, zeleno- livada)

PERMANOVA je detektirala signifikantan utjecaj vremena na zavisne varijable. Njihove interakcije su vizualizirane ordinacijskom metodom PCO (engl. principal coordinates analysis) te su prikazane na Slici 73. (narančasto - nulto stanje, nakon dolaska s terena, plavo – nakon suše, zeleno – 1. - 14. dan vlage, crveno - 28 dana vlage ). Možemo vidjeti jasnu razliku između mjerenja nakon dolaska s terena (nulto stanje) te onih nakon suše od 28 dana, kao i jasnu grupaciju mjerenja nakon 28 dana vlage. Mjerenja tijekom vlage 1. – 14. dana su jednoličnija.



Slika 73. Prikaz međusobnih interakcija tretmana PCO ordinacijskim dijagramom (narančasto – NULTO – stanje nakon dolaska s terena, plavo- nakon suše od 28 dana, zelene nijanse- 1. – 14. dan vlage, crveno- 28 dana vlage)

## 4. RASPRAVA

Na izdržljivost i elastičnost tla, pomoću kojih je izražena stabilnost tla, utječe mnogo čimbenika. Stabilnost tla povezana je s mnogim karakteristikama tla, poput pH vrijednosti tla, električnog konduktiviteta, količine organske tvari, dostupnosti vode, količine i kvalitete unosa ugljika itd. Griffiths i sur. (2008), tvrde kako je biološka stabilnost tla uvjetovana njegovom fizikalno – kemijskom strukturom te da ona utječe na strukturu mikrobne zajednice i na njezinu fiziologiju. Isto tako, Griffiths i sur. (2008), govore kako ne postoji općeniti model kojim se može opisati reakcija tla na poremećaj jer je stabilnost tla specifična obzirom na vrstu poremećaja i povijest tla. Izdržljivost i elastičnost biljaka i vodenih ekosustava na poremećaj dobro je istražena, međutim faktori koji utječu na izdržljivost i elastičnost mikroorganizama u tlu na neki poremećaj, nisu previše istraživana (Griffiths i sur., 2008).

### 4.1. Dinamika ukupnog broja bakterija

Kako bi istražili izdržljivost i elastičnost bakterija u tlu na stres sušom, u prvom eksperimentu izložili smo tlo s tri različita tipa biljnog pokrova (tršćak, šuma, livada) suši tijekom 4 dana. Ukupan broj bakterija u 1 g tla nakon izlaganja četverodnevnoj suši, u tlu uzorkovanom na području šume i livade smanjio se, što znači da bakterije nisu pokazale izdržljivost na stres. Nakon 28 dana vlaženja uzoraka tršćaka se povećao u odnosu na nulto stanje, što znači da se zajednica oporavila, dok je ukupan broj bakterija u tlu uzorkovanog na području šume i dalje u opadanju, što znači da ni 28 - odnevni tretman vodom nije uspio oporaviti brojnost bakterija. U tlu uzorkovanom s područja livade dobiveni su zanimljivi rezultati. Naime, broj bakterija nakon stresa sušom povećao se u odnosu na nulto stanje, što znači da su bakterije pokazale izdržljivost na stres. Međutim, nakon 28 dana vlaženja tla, UBB je smanjen. U prethodnim istraživanjima dobiveni su slični rezultati. De Vries i sur, (2012) istraživali su utjecaj suše na izdržljivost i otpornost hranidbene mreže tla na livadnom tlu i tlu na kojem raste pšenica. Bakterijska biomasa u tlu uzorkovanom na području livade povećala se u odnosu na kontrolu nakon perioda suše, dok se na tlu na kojem je zasađena pšenica bakterijska biomasa smanjila. Isto tako, nakon početka vlage indeks elastičnosti smanjivao se do 10. dana vlage, da bi se u periodu između 10. i 77. dana vlage povećavao. Dakle, UBB na tlu s područja livade, najprije pokazuje izdržljivost na stres, da bi kasnije bakterije ipak podlegle suši te dolazi do smanjenja UBB. Obzirom na to da je period vlage u de Vriesovom

istraživanju bio puno duži od našeg, a tijekom tog perioda došlo je do pojave oporavka (elastičnosti) bakterijske biomase, dolazi se do zaključka kako bi period vlage za tlo uzorkovanog s livade trebalo produžiti kako bi vidjeli oporavak UBB, vodeći se de Vriesovim rezultatima.

Za razliku od prvog eksperimenta, drugi eksperiment tijekom kojeg je tlo izloženo 28 - dnevnoj suši, pokazao je usklađenije rezultate. Naime, UBB opada nakon perioda suše i to u tlu uzorkovanom na sva tri tipa biljnog pokrova. Trajanje suše u vremenu od 28 dana predstavlja stres za tlo sa sva tri biljna pokrova, te bakterijske zajednice ne pokazuju izdržljivost. Nakon 28-dnevnog vlaženja, broj bakterija u tlu na sva tri biljna pokrova se povećava, ali nigdje nije dosegnoo broj bakterija nultog stanja, što znači da pokazuju elastičnost, ali da se period vlaženja treba produžiti da bi UBB dosegnoo onaj nultoga stanja. Isto tako, moguće je da je 28 dana vlaženja sasvim dovoljno da se UBB regenerira, odnosno pokaže svoju elastičnost. Budući da su bakterije iznimno prilagodljivi organizmi, s najvećom brzinom metabolizma, a UBB nije posegnuo vrijednosti nultoga stanja, moguće je da bakterije u tlu triju promatranih biljnih zajednica ne pokazuju stopostotnu elastičnost. Odnosno, pokazali su elastičnost u onom omjeru u kojem su uspjeli dosegnuti broj nultoga stanja.

U prvom eksperimentu, nakon 28 dana vlage, u tlu s područja tršćaka, postotak UBB iznosio je 88.66 % UBB nultoga stanja, na području šume – UBB se nije oporavio, a postotak UBB je 71 % UBB nultoga stanja, dok je UBB u tlu uzorkovanom na području livade, postotak UBB dosegnoo 86.32 % UBB nultoga stanja.

U drugom eksperimentu, nakon 28 dana vlage, u tlu s područja tršćaka, postotak UBB iznosio je 97.97 % UBB nultoga stanja, što znači da su se bakterijske zajednice na ovom biljnom pokrovu gotovo opravile. U tlu s područja šume, postotak UBB iznosio je 79.55 % UBB nultoga stanja, dok je u tlu s područja livade postotak UBB iznosio 85.45 % UBB nultoga stanja. Orwin i Wardle (2005) tvrde da se izdržljivost i otpornost tla mijenjaju u ovisnosti o tipu biljnog pokrova, odnosno da se struktura i brojnost mikrobne zajednice nakon stresa mijenjaju u odnosu na biljni pokrov. Budući da je trend oporavka UBB nakon suše u trajanju od 28 dana jednak za sva tri tipa biljnog pokrova, ali je drugačiji nakon 4 dana suše, dobiveni rezultati djelomično se slažu s tvrdnjom Orwina i Wardlea (2005).

## 4.2. Sposobnost stvaranja biofilma

Biofilmovi su građeni od bakterijskih stanica te mnoštva ekstracelularnih polimera (proteini, polisaharidi, lipidi, fosfolipidi) te vode (Sutherland, 2001). Do sada nije istraživana utjecaj količine vode u tlu na stvaranje biofilma. Veća sposobnost stvaranja biofilma mogla bi predstavljati prednost u kolonizaciji novih područja ili bi mogla pružiti veću zaštitu od grabežljivaca ili zaštitu od isušivanja pomoću izvanstaničnih polimera koje tvore matriks biofilma (Burmølle i sur., 2007.) U prirodnim uvjetima, oporavak biofilma nakon suše rezultat je 2 simultana mehanizma: sposobnošću njegova ponovnog stvaranja i dolaskom novih stanica (Robson i sur., 2008). Dobiveni rezultati koji pokazuju sposobnost stvaranja biofilma nakon dva primijenjena tretmana suše razlikuju se. U prvom eksperimentu, dobiveni rezultati pokazuju trend smanjivanja BFA u tlu s područja tršćaka, iako se jedino na tom biljnom pokrovu UBB u tlu povećao nakon suše i ponovnog vlaženja. Možda je upravo to povećanje UBB nakon 28 dana vlage, koje je bilo veće i u odnosu na nulto stanje uzrokovalo smanjenje BFA, budući da je poznato da prenapučenost uzrokuje odvajanje bakterija iz biofilma (Hall - Stoodley i sur., 2004). Drugi mogući uzrok je manjak vremena za ponovno formiranje biofilma, budući da nisu samo bakterije te koje ga tvore (Stoodley i sur., 2002). Trend smanjenja UBB u tlu s područja šume i livade nakon suše i ponovnog vlaženja, u prvome eksperimentu, popraćen je smanjenom sposobnošću stvaranja biofilma, što je i očekivano budući da BFA ovisi o brojnosti bakterija u tlu. Dakle, tijekom čitavog prvog eksperimenta, BFA na tlu sa sva tri biljna pokrov se smanjuje, odnosno nije došlo do njegovog oporavka.

Takav trend smanjenja, odnosno povećanja BFA javlja se i u drugom eksperimentu, tijekom 28 dana suše i 28 dana vlage i to u tlu uzorkovanog na sva tri biljna pokrova. Palijan (2016) istražuje sposobnosti stvaranja biofilma u tlu s područja šume i tršćaka nakon 4 dana suše i 4 tjedna suše, nakon čega je tlo vlaženo 4 dana pri 3 različite temperature. Šumsko tlo pokazalo je veću BFA u odnosu na tlo iz tršćaka nakon 28 dana suše te ponovne vlage tla, što se podudara s dobivenim rezultatima u ovom istraživanju i to za oba eksperimenta.

BFA nakon oba eksperimenta, može se izraziti postotno, ako gledamo količinu nastalu nakon 28 dana vlage u odnosu na nulto stanje. U prvom eksperimentu, postotak BFA za tlo s područja tršćaka, dosegao je 37.76 % BFA – a nultoga stanja, za tlo s područja šume, taj postotak iznosio je 64.62 % , a za tlo s područja livade 43.54 %.

U drugom eksperimentu, elastičnost BFA je veća u odnosu na prvi eksperiment. Postotak BFA za tlo s područja tršćaka dosegao je 72.1 % BFA – a nultoga stanja, a za tlo s područja

šume taj postotak iznosio je 97.51 % (najveća elastičnost BFA tijekom oba eksperimenta), za tlo s područja livade, taj postotak iznosi 60.68 %.

Barthes i sur., (2014) istraživali su utjecaj suše na biofilmove. Fototrofni biofilmovi uzgajani u mezokozmosu te izlagani suši u periodu od 1-8 tjedana. Biofilmovi koji su najduže izlagani suši, pokazali su veći stupanj elastičnosti. Oni su takve rezultate objasnili činjenicom da progresivna suša inducira fiziološke promjene u stanicama (Fernandez – Valiente i sur., 2007), a promjene omogućuju stanicama da sve resurse usmjere na procese koje će im omogućiti da lakše podnesu sušu (Fleming i sur., 2007).

### **4.3. Aktivnost mikrobne dehidrogenaze**

U ovom istraživanju, aktivnost mikroorganizama u tlu nakon perioda suše i perioda vlaženja tla utvrđena je mjerenjem aktivnosti mikrobne dehidrogenaze. Mikrobna dehidrogenaza je oksidoreduktivni enzim koji se nalazi u živim mikrobnim stanicama (Moeskops i sur. 2010) te je posljedično tomu pokazatelj cjelokupne mikrobiološke aktivnosti tla jer se pojavljuju unutarstanično, a ne akumuliraju se vanstanično u tlu (Kizilkaya i Askin, 2007; Wolinska i Stepniewska 2012). Aktivnost mikrobne dehidrogenaze ovisi o količini mikroorganizama u tlu, količine vode u tlu, pH tla, temperaturi te količini organske tvari u tlu itd. Dehidrogenazna aktivnost povećava se povećanjem brojnosti populacija mikroorganizama u tlu, prateći povećanje organske tvari u tlu, odnosno sadržaja nutrijenata u tlu (Ladd i Paul, 1973).

Sušenjem tla, dolazi do povećanja potencijala za vodu, dok mikrobiološka aktivnost i aktivnost unutarstaničnih enzima opada. Suprotno tomu, s povećanjem vlažnosti tla, voda donosi topivu organsku tvar koja bi potencijalno mogla povećati broj mikroorganizama (Subhani i sur., 2001)

U oba eksperimenta, ukupna dehidrogenazna aktivnost (DHA) smanjuje se nakon perioda suše, što je vjerojatno posljedica manjka vode u tlu i smanjenja brojnosti bakterija, dok se povećava nakon perioda vlaženja, što je rezultat povećanja količine vode. Međutim, u prvom eksperimentu DHA ne prati promjenu UBB u tlu za područje livade, dok za područje tršćaka i šume UBB i DHA pokazuju pozitivnu korelaciju. Naime, na tlu s područja livade, UBB nakon suše raste, dok DHA opada, što se ne poklapa s literaturnim navodima. To može biti posljedica naglog porasta pH kroz 4 dana suše u odnosu na nulto stanje, iako su obje vrijednosti unutar optimalnih za aktivnost dehidrogenaze (između 7.4. i 8.5 (Nagatsuka i



Furusaka,1980)). U drugom eksperimentu, UBB i DHA pokazuju zajednički pad nakon suše, odnosno rast nakon perioda vlaženja tla.

Već je naglašeno kako količina vode u tlu utječe na DHA, odnosno smanjena količina vode u tlu uzrokuje i smanjenu enzimsku aktivnost (i obrnuto, veća količina vode u tlu uzrokuje veću aktivnost enzima) što je povezano s činjenicom da je dostupnost vode u tlu od ključne važnosti za rast i aktivnost mikroorganizama (Subhani i sur., 2001). U rezultatima se ta povezanost količine vode s DHA jasno može uočiti kroz oba eksperimenta.

#### **4.4. Sadržaj organske tvari (OM) u tlu**

Organska tvar tla ima snažan utjecaj na broj (odnosno biomasu) te na aktivnost mikroorganizma u tlu, te je indikator kvalitete tla zbog mogućnosti povećanja fizikalnih i kemijskih karakteristika tla. Općenito je prihvaćeno da tla s niskom mikrobnom i biološkom aktivnošću (mali UBB, mala količina ugljika i niska stopa respiracije) imaju i malu količinu organske tvari te smanjenu ukupnu aktivnost mikrobne dehidrogenaze. Naime, mikroorganizmi uzrokuju razgradnju organske tvari, što dovodi do respiracije tla i otpuštanja ugljikovog dioksida (Wolinska i Stepniewska, 2012). Ako je u tlu velika količina organske tvari, osigurani su supstrati za porast biomase mikroorganizama, odnosno veću proizvodnju enzima (Yuan i Yue, 2012). Prema ovome, što je veći udio organske tvari u tlu, to su mikroorganizmi aktivniji. Jedna od posljedica raspada organske tvari je evaporacija vode u tlu jer je mineralizacija organske tvari proces u kojim se gubi ugljikov dioksid i voda (Epstein, 1997). Isto tako, tijekom suše dolazi do evaporacije vode, te se količina vode, organske tvari i ukupne mikrobne aktivnosti u tlu tijekom suše mogu međusobno povezati.

Iako je gubitak vode u tlu značajan tijekom perioda suše u oba eksperimenta, odnos organske tvari nije se statistički značajno mijenjao kroz promatrana mjerenja. Kako promjena masenog udjela organske tvari u tlu nije signifikantna između 3 tipa biljnog pokrova, kao niti između perioda suše i vlage u oba eksperimenta, da se zaključiti kako je količina organske tvari u tlu bila stabilna, odnosno nije došlo do njezine razgradnje te smo imali konstantu količinu, a bakterije su vjerojatno trošile manji dio organske tvari koja im je bila biološki dostupna.

Dakle, u ovom istraživanju, period suše i vlage tla, tijekom oba eksperimenta, nije pokazao statistički značajne promjene u količini organske tvari u tlu.

Prema literaturnim podacima, aktivnost mikroorganizama povećava se s povećanjem udjela organske tvari, a smanjuje smanjenjem količine organske tvari u tlu. Naime, mikroorganizmi uzrokuju razgradnju organske tvari, što dovodi do respiracije tla i otpuštanja ugljikovog dioksida, te aktivnost dehidrogenaze dovode u pozitivnu korelaciju sa količinom OM u tlu (Wolinska i Stepniewska, 2012). Ako je u tlu velika količina organske tvari, osigurani su supstrati za porast biomase mikroorganizama, odnosno veću proizvodnju enzima (Yuan i Yue, 2012).

U prvom eksperimentu, UBB kao i DHA su se smanjili tijekom perioda suše, dok se maseni udio organske tvari za to vrijeme povećavao, da bi se tijekom perioda vlage također nastavio povećavati, što opet sugerira kako je količina OM u tlima uzetih sa sva tri biljna pokrova stabilna. U drugom eksperimentu, tijekom perioda suše maseni udio organske tvari u tlu se povećava, bez obzira na smanjenje UBB i DHA, da bi se tijekom perioda vlage tla smanjivao, što je i logično obzirom na povećan UBB i DHA.

Dakle, period suše u prvome eksperimentu, dao je vrlo zanimljive rezultate, koje se u dosta slučajeva ne slažu s literaturnim navodima. Po svemu sudeći, bakterije pokazuju bolju elastičnost nakon 28 dana suše, odnosno dužeg perioda suše, u odnosu na rezultate dobivene nakon 4 dana suše, što bi značilo, da je mehanizmima koji sudjeluju u izdržljivosti bakterija tijekom stresa potrebno više vremena kako bi se aktivirali.

#### **4.5. pH suspenzije tla i električni konduktivitet (EC) tla**

pH utječe na brojnost i aktivnost mikroba u terestrijalnim ekosustavima, te na taj način utječe i na brzinu razgradnje organske tvari i dostupnosti nutrijenata. Za aktivnost bakterija u tlu, pH u rasponu vrijednosti od 4-9 je optimalan.

Vodikovi ioni u tlu mogu poteći iz ugljične kiseline, koja se stvara kao posljedica otapanja CO<sub>2</sub> u vodi. CO<sub>2</sub> u tlu nastaje dekompozicijom organske tvari u tlu, kao produkt respiracije i mineralizacije OM itd. pH vrijednosti dobivene u istraživanju trebali bi pružati dobre uvjete za razvoj bakterija. Povećanjem kiselosti tla, dolazi do smanjenja enzimske aktivnosti što je posljedica pucanja ionskih i vodikovih veza u aktivnom centru enzima (Frankenbeger i Johanson, 1982). pH vrijednosti tla možemo povezati i sa aktivnošću mikrobne dehidrogenaze.

Optimalne pH vrijednosti za DHA, prema Nagatsuki i Furusaki (1980), kreću se između 7.4. i 8.5. Ovdje odmah možemo izdvojiti slučaj u prvom eksperimentu, za tlo s područja livade, gdje je pH vrijednost nakon 28 dana vlage na gornjoj granici vrijednosti za normalno funkcioniranje DH. Naime, pH iznosi 8.49, a ako to povežemo s najnižom DHA, te smanjenjem UBB nakon vlage, možemo reći da ta pH vrijednost utječe negativno, odnosno da je previsoka za normalni razvoj bakterija i DHA.

Možemo uočiti razlike u kiselosti tla s obzirom na tip biljnog pokrova u oba eksperimenta, gdje šumsko tlo ima najniži pH, odnosno najkiseliji je, što je i logično jer na šumskom tlu dolazi do nakupljanja mrtve organske tvari, koja svojim raspadom utječe na smanjenje pH (Web 3.). pH vrijednosti su se tijekom perioda sušenja i vlaženja na svim biljnim pokrovima u oba eksperimenta različito mijenjale. U prvome eksperimentu, tijekom perioda suše i vlage, pH konstantno raste, a UBB, DHA i BFA opadaju, može se pretpostaviti kako i to povećanje pH koje je signifikantno u svim slučajevima, može utjecati na smanjenje promatranih mikrobioloških parametara.

Smanjenje pH vrijednosti tijekom drugog eksperimenta, nakon perioda vlaženja, možemo povezati s tim da povećanjem UBB i DHA dolazi do emisije CO<sub>2</sub>, koji se otapa u vodi te nastaje ugljična kiselina koja onda smanjuje pH vrijednosti.

Električni konduktivitet ili salinitet tla mjera je za otopljeni materijal u vodenoj otopini tla. On nam govori o sposobnosti tvari da provodi električnu struju. Ukoliko je električni konduktivitet prevelik, može dovesti do slabih fizikalnih i kemijskih karakteristika tla, kao i do smanjenja aktivnosti mikroorganizama, smanjene dostupnosti vode itd. Nadalje, Mogući razlog smanjenja aktivnosti mikroorganizama povećanjem električnog konduktiviteta, najvjerojatnije je osmotski stres koji je rezultat velikih koncentracija soli u otopini tla (Shah. i Shah., 2012). Nadalje, u tlu postoje soli koji su topive u vodi, a otapanjem dolazi do povećanja osmotskog potencijala vode, odnosno ona postaje koncentriranija. Kako se uvijek teže postići ravnomjerni potencijali, voda iz mikrobnih stanica izlazi u okolno tlo, što za posljedicu može imati plazmolizu stanice, odnosno smrt. Visoka slanost tla reducira mikrobnu aktivnost i biomasu te mijenja strukturu mikrobne zajednice (Andronov i sur., 2012). Iz dobivenih rezultata možemo vidjeti da se konduktivitet tla značajno razlikuje na sva tri biljna pokrova, kroz oba eksperimenta i kroz sva tri promatrana tretmana, što dovodi do zaključka kako postoji utjecaj suše i ponovne vlage na konduktivitet tla, a samim time i na mikrobnu zajednicu.

Tijekom suše, mikrobi se mogu adaptirati na mali osmotski potencijal (manji od okolnog tla), pa ako žele preživjeti, moraju spriječiti izlazak vode iz stanice u okolno tlo. To će napraviti akumulacijom osmolita, koji će povećati osmotski potencijal, čime će spriječiti difuziju vode iz stanice, te na taj način osigurati stanicu od plazmolize. Sinteza i skupljanje osmolita iziskuje veliki utrošak energije, što rezultira smanjenjem rasta i ukupne aktivnosti mikroba.

Dakle, ako tijekom suše mikrobi uzimaju osmolite iz tla, kako bi zadržali vodu u stanici, logično je da će se EC tla smanjiti, a suprotno, tijekom vlage, mikrobi otpuštaju osmolite iz stanice, što znači da se EC tla povećava.

Ako to usporedimo s dobivenim rezultatima, vidimo kako se dobiveni rezultati u potpunosti slažu s literaturnim navodima za drugi eksperiment, dok se za prvi eksperiment slažu samo djelomično. Naime, u prvom eksperimentu, dolazi do linearnog smanjenja EC tla tijekom perioda suše i vlage. To može biti rezultat toga da period suše od 4 dana nije bio dovoljan da bakterije skupe osmolite iz tla, tako da se EC smanjuje, a vlaženjem, dolazi do daljnjeg smanjenja EC što se slaže s literaturnim podacima. Jedino se šumsko tlo u prvom eksperimentu razlikuje u potpunosti od literaturnih navoda. To opet možemo povezati s tim da ni UBB nije pokazao oporavak na tom biljnom pokrovu, što znači da bakterije nisu povukle osmolite iz tla, kao način zaštite od plazmolize stanica, te je salinitet ostao velik tijekom cijelog tretmana.

#### **4.6. Permanova i PCO**

PERMANOVA analizom utvrđene su statistički značajne razlike za faktor biljnog pokrova i za faktor vremena suše u prvom eksperimentu. PERMANOVA daje procjenu međusobnih ovisnosti promatranih varijabli te ih grupira obzirom na to koliko su povezani. Ako se promatraju PCO dijagrami, ukoliko su točke blizu jedna drugoj, one su sličnije, a što su udaljenije to su različitije. Također, kako bismo protumačili promatrane zavisne varijable, moramo promatrati sva tri nezavisna faktora zajedno (tip biljog pokrova, vrijeme suše, tip biljnog pokrova x vrijeme suše), jer su oni u prirodi povezani.

Prema SS vrijednostima (suma kvadrata), dobivenim PERMANOVA analizom, što je ta vrijednost veća, veća je i važnost promatranog parametra. Rezultati su pokazali kako je vrijeme vlaženja najvažniji faktor koji utječe na promjenu zavisnih varijabli, ali da i tip biljnog pokrova ima signifikantan utjecaj na zavisne varijable. PERMANOVA je pokazala najveće odvajanje tla uzorkovanog s područja livade, dok su ona s područja šume i tršćaka usklađenija. Taj rezultat je logičan, budući da šumsko tlo, kao i tlo uzorkovano na području

tršćaka predstavljaju klimaks zajednice u kojima do promjene dolazi najčešće prirodnim putem, odnosno potaknuti su organizmima koji ih nastanjuju, Budući da je područje livade pod većim antropogenim utjecajem (npr. košnja) ili ispašom, dolazi do mijenjanja fizikalno – kemijskih osobina tla.

U drugom eksperimentu, PERMANOVA je detektirala statističku značajnost svih mjerenih interakcija (tip biljog pokrova, vrijeme suše, tip biljnog pokrova x vrijeme suše). I u ovom slučaju, vrijeme suše najviše utječe na promatrane zavisne varijable. Drugim riječima, suša od 28 dana utječe na promjene vrijednosti pH, konduktiviteta tla, DW, AW, w H<sub>2</sub>O, w OM, UBB, BFA, INT. Također, potvrđen je efekt tri tipa biljnog pokrova na mjerene zavisne varijable, Kao i u prvom eksperimentu, livadno tlo se odvaja od ostala dva tipa biljnog pokrova, vjerojatno iz istog razloga. PERMANOVA je utvrdila i signifikantnu interakciju vremena vlaženja u trajanju od 28 dana na tip biljnog pokrova, što se nije dogodilo u prvom eksperimentu. To znači da efekt vlaženja ima signifikantan utjecaj na sva tri biljna pokrova, odnosno da drugačije djeluje na promatrane zavisne varijable između biljnih pokrova, pri čemu se livadno tlo ponovno odvaja od šumskog tla i tla uzorkovanog na području tršćaka.

## 5. METODIČKI DIO

### PLAN NASTAVNOG SATA

**Nastavni predmet:** BIOLOGIJA      **Razred:** 7.      **Školska godina:** 2016./2017.

**Nastavna cjelina:** Od najjednostavnijih oblika života do stanice

**Nastavna jedinica:** Bakterije

**Ključni pojmovi:** bakterije u tlu, utjecaj suše i vlage tla na bakterije, građa bakterijske stanice, oblici bakterija, način razmnožavanja, bakterijske kolonije

**Temeljni koncepti:** građa bakterijske stanice, razmnožavanje i način života bakterija, korisnost i štetnost bakterija.

**Cilj:** Istražiti utjecaj suše na broj bakterija u tlu te povezati rezultate istraživanja s načinom preživljavanja bakterija u nepovoljnim životnim uvjetima, brzinom razmnožavanja i oblikom bakterija. Upoznati učenike s građom bakterijske stanice, te raspraviti korisnosti i štetnosti bakterija u prirodi.

Ishodi	Razina	Zadatak/pitanje za provjeru usvojenosti ishoda	Razina zadatka
1. Istražiti utjecaj suše i vlage tla na bakterije u tlu.	R1, 2	Objasni što se događa s brojem bakterijskih kolonija u tlu nakon suše, a što nakon vlage u odnosu na svježe tlo.	R1
		Navedi oblike bakterijskih kolonija na hranjivoj podlozi, te ih poveži s oblicima bakterija.	R1
		Što se iz istraživanja može zaključiti o preživljavanju bakterija u nepovoljnim životnim uvjetima?	R2
2. Opisati ulogu i građu bakterijske stanice.	R1, 2	Navedi osnovne dijelove bakterijske stanice na slici.	R1
		Usporedi građu bakterijske stanice s predloženim česticama.	R2

		Navedi uloge bakterija te nekoliko korisnih i loših djelovanja bakterija u prirodi i na čovjeka.	R1
3. Opisati proces razmnožavanja bakterija.	R2	Poveži broj razvijenih kolonija na hranjivim podlogama nakon inkubacije s brzinom razmnožavanja bakterija. U kakvim uvjetima se bakterije najbrže razvijaju? Poveži nepovoljne životne uvjete (sušu) tla s brzinom razmnožavanja bakterija. Izračunaj koliko će bakterija biti u tijelu domaćina 2 sata nakon zaraze ako bakterija ima sposobnost diobe svakih 20 minuta? Možeš li povezati njihovu brzinu razmnožavanja s njihovom brojnošću na Zemlji?	R2 R2 R2
4. Navedi kako dijelimo bakterije prema načinu prehrane.	R1	Koja je razlika između autotrofnih i heterotrofnih bakterija? Koja je uloga parazitskih bakterija i kako one djeluju na živa bića? Koje su dobre, a koje loše posljedice djelovanja saprofitskih bakterija? Navedi neke simbiotske bakterije i njihovu ulogu.	R1 R1 R1 R1

## Artikulacija nastavnog sata

STRUKTURNI ELEMENTI NASTAVNOG SATA	DOMINANTNA AKTIVNOST	ISHODI	SOCIOLOŠKI OBLICI I METODE RADA	TRAJANJE
<b>Uvod</b>	<p>Pročitati rečenicu: „Bakterije su svugdje, bakterije su svemoćne, bakterije će imati posljednju riječ.“ – Louis Pasteur</p> <p>Razgovorom i metodom <i>vruće stolice</i> zaključiti kako su bakterije svuda oko nas, te da je njihova uloga u prirodi od iznimne važnosti.</p>	2	Frontalni rad	10 minuta
<b>Središnji dio</b>	<p>Nastavnik dijeli učenike u 3 grupe te im detaljno objašnjava, uz pomoć Priloga 1. način na koji trebaju započeti svoj istraživački rad u kojem će steći saznanja o bakterijama, utjecaju suše i vlage na njihovu brojnost, razmnožavanje i oblik.</p> <p>Učenici uz pomoć nastavnika postavljaju istraživačko pitanje i hipotezu na temelju dosadašnjeg znanja iz škole i životnog iskustva.</p> <p>Nakon završetka praktičnog dijela, nastavnik upućuje učenike kako će se rezultati vidjeti kroz 48 sati, te da će na idućem satu biologije obraditi podatke, prikazati rezultate i postaviti zaključke.</p> <p>Uz pomoć Powerpoint prezentacije nastavnik dodatno pojašnjava građu i oblike bakterija, način razmnožavanja i podjelu prema načinu prehrane.</p> <p>Učenici zapisuju u bilježnicu i postavljaju pitanja.</p>	1, 2, 3, 4	Frontalni rad, grupni rad, praktični rad	55minuta
<b>Završni dio</b>	<p>Provjeravanje razumijevanja obrađenog gradiva kroz razgovor, učenici donose zaključke o korisnosti, odnosno štetnosti bakterija. Rješavanje radnoga listića. Učenici dobivaju domaću zadaću.</p>	1, 2, 3, 4.	Frontalni i Individualni rad	15minuta



## **Materijalna priprema**

Udžbenik, Powerpoint prezentacija, radna bilježnica, računalo, projektor, sterilne žlice analitička vaga, sterilna voda, 3 sterilne tikvice od 1L, 3 sterilne epruvete s poklopcem, 3 savijena staklena štapića (sterilna), sterilne kapalice, svježe i osušeno tlo unaprijed pripremljeno u sterilnim staklenkama, sterilna destilirana voda, sterilne hranjive podloge u 3 Petrijeve zdjelice

## **Literatura:**

Begić V., Madaj- Prpić J., Novoselić D., 2014., Biologija 7, Udžbenika biologije za sedmi razred osnovne škole, Alfa, Zagreb

Džapo Jasminka, Zdražil Lela, Tonšetić Jasna, 2003., Biologija 7, Udžbenik biologije za sedmi razred osnovne škole, Profil, Zagreb

<http://biologija.unios.hr/webbio/wp-content/uploads/2013/predavanja/mikrobiologija-bakteriologija.pdf>

## **Prilagodba za učenike s posebnim potrebama**

Ovisno o poteškoćama učenicima prilagoditi gradivo i zadatke.

## **Tijek nastavnog sata**

### **UVODNI DIO (10 min)**

Kako bi učenike zainteresirali za nastavnu jedinicu, nastavnik pročita citat Louisa Pasteura: „Bakterije su svugdje, bakterije su svemoćne, bakterije će imati posljednju riječ.“ Učenici metodom *vruća stolica* pišu svoja razmišljanja o pročitanom citatu. Čitaju napisano i dolaze do zaključka kako su bakterije svuda oko nas te kako je većina bakterija korisna prirodi i čovjeku.

### **SREDIŠNJI DIO (55min)**

Razgovorom se zaključuje o važnosti bakterija u tlu te o njihovoj bitnoj ulozi u kruženju tvari u prirodi. Nastavnik usmjerava učenike da pretpostave i zapišu kako bi stres sušom mogao utjecati na bakterije u tlu, njihovu brojnost, razmnožavanje, oblik itd. Na osnovu toga i uz pomoć nastavnika učenici postavljaju istraživačko pitanje i hipotezu, te ju zapisuju na ploču. Slijedi praktičan rad u kojem se učenici podijeljeni u 3 grupe, gdje svaka grupa dobije isti zadatak, ali radi na drugačijem uzorku tla. Učenicima su prethodno pripremljena 3 uzorka tla,

različite vlažnosti te su na temelju toga i podijeljeni u grupe (svježe tlo – prva grupa; suho tlo– druga grupa, suho tlo zaliveno vodom prije sata – treća grupa).

Pomoću uputa u Prilogu 1. učenici izvode praktični rad, u kojem sudjeluju svi učenici unutar pojedine grupe. Nakon završenog eksperimentalnog dijela, učenici ostavljaju Petrijeve zdjelice na inkubaciju, a nastavnik im objašnjava kako je potrebno barem 48 sati kako bi oni vidjeli rezultate, budući da je to vrijeme potrebno da se bakterije inkubiraju, odnosno pojave na hranjivoj površini. Nastavnik im pokazuje prethodno nasadene bakterije iz tla na hranjivoj podlozi, kako bi stekli dojam kako bi trebali izgledati njihovi rezultati. Zaključke vlastitog istraživanja učenici će moći definirati na idućem satu biologije, nakon inkubacije pripremljenih uzoraka.

Objašnjavanje provedenog dijela istraživanja i elaboracija odvija se razgovorom o tome kako su bakterije prvi stanični organizmi koji su se javili tijekom biološke evolucije. Pomoću slike na Powepoint prezentaciji, nastavnik objašnjava građu bakterijske stanice i imenuje njezine dijelove, a učenici crtaju u svoje bilježnice. Nastavnik nakon toga objašnjava kako se bakterije razmnožavaju i kojom brzinom te im postavlja zadatak u kojem moraju izračunati koliko će bakterija biti u tijelu domaćina 4 sata nakon zaraze ako bakterija ima sposobnost diobe svakih 20 minuta. Nastavnik nadalje objašnjava kako bakterije preživljavaju nepovoljne životne uvjete te što su spore. Učenici se uz pomoć nastavnika prisjećaju razlike između autotrofnih i heterotrofnih organizama. Nastavnik objašnjava podjelu bakterija prema načinu prehrane. Navode se konkretni primjeri bakterija prema načinu života. Učenici zapisuju svoje definicije parazita, saprofita i simbionata, te uz definicije pišu i njihove karakteristike u svijetu bakterija.

### **ZAVRŠNI DIO (15min)**

Za kraj nastavnik učenicima postavlja pitanja tijekom kojih se ponavlja gradivo obrađene nastavne jedinice. Zaključuju o pozitivnim i negativnim utjecajima bakterija u okolišu i na čovjeka. Učenici će dobiti nastavni listić (Prilog 2.) gdje nastavnik dodatno provjerava naučeno. Za kraj im se zada domaća zadaća, gdje moraju riješiti zadatke u radnoj bilježnici vezane za obrađenu nastavnu jedinicu.

## PLAN UČENIČKOG ZAPISA

### BAKTERIJE

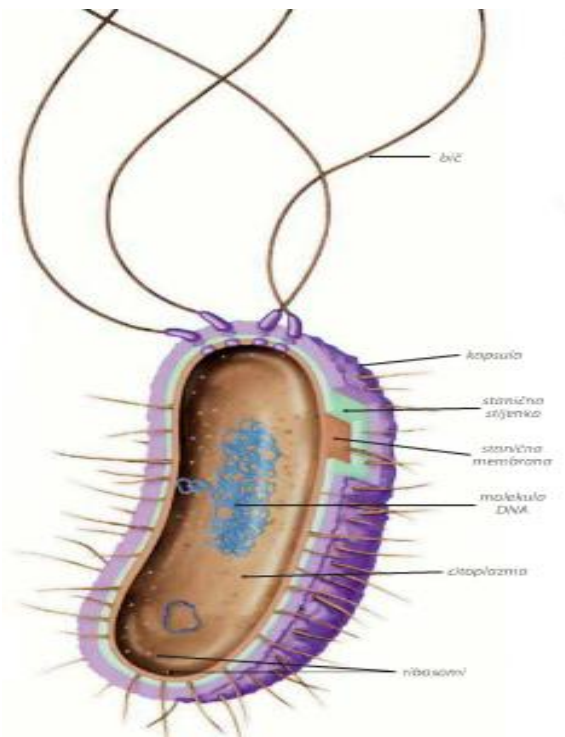
- najbrojniji organizmi na Zemlji
- prvi organizmi koji su se pojavili na Zemlji
- jednostanični organizmi
  
- Preživljavanje nepovoljnih životnih uvjeta: **SPORA**
- prehrana: autotrofna i heterotrofna (saprofiti, paraziti, simbionti)
- Autotrofni organizmi - sami sebi proizvode hranu uz pomoć fotosinteze
- Heterotrofni organizmi - uzimaju gotovu hranu iz okoliša (paraziti, saprofiti i simbionti)
- Parazitske bakterije - uzrokuju bolesti živih organizama (npr. upalu pluća, grla, tuberkulozu)
- Saprofitske bakterije - razlagači, najčešće korisni čovjeku (npr. one koje razgrađuju uginule biljke i životinje i koje razgrađuju ostatke hrane na zubima)
- Simbiotske bakterije - žive u zajednici s drugim organizmima (npr. dušikove bakterije žive u zajednici s biljkama mahunarkama)
- razmnožavanje bakterija – staničnom diobom, u povoljnim uvjetima svakih 20 minuta

#### **Utjecaj suše na broj bakterija u tlu**

**Istraživačko pitanje:** Kako nepovoljni životni uvjeti (suše) utječu na razvoj bakterija, njihovu brojnost i razmnožavanje?

**Hipoteza:** Broj bakterija će se smanjiti u suhom tlu u odnosu na broj bakterija u svježem tlu. Ponovno vlaženje suhoga tla trebalo bi povećati broj bakterija u tlu.

Građa bakterijske stanice:



## **Prilog 1. UPUTE ZA PRAKTIČNI RAD**

### **SVAKA GRUPA TREBA PROČITATI ZAJEDNIČKI UVOD, A NAKON TOGA PRAKTIČNI DIO KOJI JE JEDNAK ZA SVE GRUPE**

Nakon što ste postavili zajedničko istraživačko pitanje i hipotezu, svaka grupa dobila je tlo različite vlažnosti. Prva grupa dobila je svježe tlo, iskopano neposredno prije sata steriliziranim nožem te je prebačeno u sterilne staklenke s poklopcem. Druga grupa dobila je tlo koje je sušeno u sterilnim staklenkama tijekom 4 tjedna na temperaturi od 22°C. Treće grupa je dobila tlo koje je zaliveno s odgovarajućom količinom vode nakon što je 4 tjedna sušena u sterilnim staklenkama na temperaturi od 22°C. Količina vode kojom je zaliveno suho tlo određena je tako što je tlo izvagano nakon uzorkovanja te je ta masa oduzeta od mase suhoga tla, a razlika u masi je isparena voda.

#### **Određivanje broja bakterija u uzorku svježeg tla**

##### **Zadatak 1. PRIPREMA SUSPENZIJE TLA**

Suspencija tla je vodena otopina tla. U tlu se nalazi veliki broj bakterija, a kako želimo pregledan preparat na kojem možemo prebrojati kolonije bakterija, mi ćemo morati „otopiti“ tlo u vodi. Agar je hranjiva podloga na koju nasadujemo bakterije te se one na njoj razmnožavaju. Sterilizacija je proces uništavanja bakterija i njihovih spora sa površina djelovanjem visoke temperature (121° C).

**OPREZ!** Stavi laboratorijske rukavice! Bakterije su svuda oko nas, a mi ne želimo pobrojati samo one koje se nalaze u tlu. Svo posuđe i pribor je sterilizirano!

**MATERIJAL:** svježe, suho ili zaliveno tlo (ovisi o grupi u kojoj si), analitička vaga, žlice, sterilna destilirana voda, sterilne kapaljka, 1 Petrijeva zdjelice s prethodno nasadenim hranjivim agarom, savinuti stakleni štapić, sterilna tikvica od 1L

**POSTUPAK:** U sterilnu tikvicu od 1L, odvaži 1 g svoga uzorka tla. Tikvicu nadopuni s 1L sterilne destilirane vode te dobro promućkaj dok se tlo ne otopi. Uz pomoć kapalice uzmi 1ml suspencije tla, te ju razlij po hranjivoj podlozi u Petrijevoj zdjelici. Uzmi savinuti stakleni štapić te jednako razmaži suspenciju tla po cijeloj hranjivoj podlozi. Poklopi Petrijevu zdjelicu s poklopcem. Pazi da poklopac Petrijeve zdjelice okreneš s otvorom prema gore, a postupak obavi što brže možeš. Označi Petrijeve zdjelice s s flomasterom, napiši ime svoje grupe i vrstu tla na donji dio Petrijeve zdjelice. Ostavi Petrijeve zdjelice s nasadenim bakterijama u inkubator na 37° tijekom iduća 2 dana, do idućeg sata biologije. Tada ćeš uz pomoć nastavnice pobrojati kolonije bakterije koje su se razvile na hranjivoj podlozi.

### **BROJ BAKTERIJA U 1g TLA:**

broj mikroorganizama u 1 g tla = broj kolonija x 1000

Broj kolonija množimo s 1000 zato što smo 1 g zemlje 1000 puta razrijedili i tu suspenziju koristili za nasadivanje. **Dakako, to vrijedi samo uz pretpostavku da je svaka bakterijska stanica nakon nasadivanja na podlogu stvorila jednu koloniju.**

Usporedi dobivene rezultate s drugim grupama, uz pomoć nastavnika nacrtajte grafove u Excelu, te na taj način izložite rezultate, provjerite točnost hipoteze, te donesite zaključak o utjecaju suše na broja bakterija u tlu.

## Prilog 2. Nastavni listić za ponavljanje

1. Koji je značaj bakterija u biološkoj evoluciji?

---

2. Po čemu se bakterijska stanica razlikuje od virusa u svojoj građi?

---

3. Ako je tvrdnja točna, zaokruži točno, a ako nije točna, zaokruži netočno. Na crte ispod tvrdnje obrazloži svoj izbor.

a) Bakterije imaju važnu ulogu u procesu kruženja tvari u prirodi.                      točno/ netočno

---

b) U laboratorijskom nalazu brisa uha nađena je „saprofitska flora”. Osoba s ovim nalazom treba se javiti liječniku koji će joj propisati antibiotike.                      točno/ netočno

---

4. Prema načinu prehrane bakterije mogu biti \_\_\_\_\_ i \_\_\_\_\_.  
Bakterije se razmnožavaju \_\_\_\_\_, a nepovoljne životne uvjete preživljavaju u obliku \_\_\_\_\_. Patogene bakterije uzrokuju \_\_\_\_\_. Najčešći oblici bakterija su \_\_\_\_\_, štapičasti, \_\_\_\_\_ i \_\_\_\_\_.

5. Pojmovima iz prvog stupca pridruži odgovarajuće brojeve iz drugog stupca.

HRANJIVA PODLOGA	1. vrijeme od nasađivanja bakterija do njihove pojave na hranjivoj podlozi
PARAZITSKE BAKTERIJE	2. dušikove bakterije koje žive u zajednici s biljkama mahunarkama.
INKUBACIJA	3. uzrokuju bolesti živih bića
SIMBIONTSKE BAKTERIJE	4. razgrađuju ostatke hrane u ustima
SAPROFITSKE BAKTERIJE	5. agar; koristi se za nasađivanje bakterija, sadrži hranjive tvari za bakterije

## KRITERIJI VREDNOVANJA

ISHODI	2	3	4	5
1. Usporediti utjecaj suše i vlage tla na bakterije u tlu.	Zna što sve može biti stres za bakterije u tlu, učeniku je potrebna velika pomoć nastavnika kako bi iznio cilj i hipotezu eksperimenta. Na prikazanim Petrijevim zdjelicama zna odrediti koja sadrži bakterije izolirane iz suhoga tla, ali ne zna reći zašto je to tako. Navodi neko posuđe i kemikalije koje je koristio. Prepoznaje neke oblike bakterijskih kolonija.	Uz malu pomoć nastavnika objašnjava što je radio u eksperimentu i koji je njegov cilj i hipoteza. Teže savlada uzročno posljedične veze suše i vlage tla sa brojnošću i razmnožavanjem bakterija. Navodi kako bakterija preživljava nepovoljne životne uvjete, ali nije u stanju povezati s eksperimentom. Prepoznaje oblike bakterijskih kolonija.	Samostalno objašnjava cilj i hipotezu eksperimenta te opisuje postupak. Pokazuje nesigurnost u objašnjavanju uzročno posljedičnih veza suše i vlage tla sa brojnošću i razmnožavanjem. Lako povezuje oblike bakterija i bakterijskih kolonija. Objašnjava i način preživljavanja bakterija tijekom nepovoljnih životnih uvjeta.	Učenik s lakoćom objašnjava utjecaj suše i vlage tla na količinu i razmnožavanje bakterija, povezuje to s nepovoljnim životnim uvjetima te objašnjava kako bakterije preživljavaju nepovoljne životne uvjete. Daje svoje zaključke i prijedloge za daljnje praktične radove na tu temu.
2. Opisati ulogu i građu bakterijske	Navodi da je bakterija jednostanični organizam. Uz	Navodi da su su bakterije jednostanični organizmi. Uz	Definira bakterije kao najbrojniju skupinu živih organizama, navodi	Samostalno objašnjava pojavu, građu i funkcije

stanice.	pomoć nastavnika, prepoznaje neke dijelove bakterijske stanice, ali ne zna njezinu ulogu ni korist.	pomoć nastavnika nabraja sve dijelove bakterije, ne može povezati građu bakterije s građom virusa. Navodi neke uloge bakterija.	da su to organizmi građeni od jedne stanice, zna prepoznati sve dijelove bakterije na slici. Uz pomoć nastavnika povezuje građu bakterija i virusa. Zna uloge bakterije, potrebna mu je pomoć oko povezivanja s primjerima iz prirode.	pojedinih dijelova bakterijske stanice. Povezuje građu bakterija i virusa, naglašava važnost bakterija u biološkoj evoluciji. Samostalno navodi uloge bakterija, te navodi neke koje nisu rečene na satu.
3. Opisati proces razmnožavanja bakterija	Učenik prepoznaje pojam dioba, ali ga ne zna objasniti niti povezati s eksperimentom.	Uz pomoć nastavnika opisuje način razmnožavanja bakterija, ali ne zna riješiti problemski zadatak, kao ni primijeniti naučenu teoriju.	Samostalno objašnjava način razmnožavanja bakterija, zna koliko vremenski traje dioba, ali prilikom rješavanja problemskog zadatka potrebna mu je pomoć nastavnika. Povezuje naučenu teoriju sa praktičkim radom	Samostalno objašnjava proces razmnožavanja bakterija, njegovo trajanje, povezuje to s količinom bakterija na Zemlji, te s provedem eksperimentom. Samostalno rješava problemske



				zadatke.
4. Navedi kako dijelimo bakterije prema načinu prehrane.	Zna prepoznati razliku između autotrofnih i heterotrofnih organizama uz pomoć nastavnika. Navodi da postoje saprofitske, parazitske i simbiotske bakterije, ne zna razliku među njima niti njihove uloge.	Lako definira razlike između autotrofnih i heterotrofnih bakterija, ali ne zna primijeniti teoriju na primjere iz prirode. Uz pomoć nastavnika definira pojmove saprofitskih, parazitskih i simbiotskih bakterija. Učenik ne može samostalno povezati te bakterije s njihovom ulogom i koristi za čovjeka.	Uspoređuje autotrofne i heterotrofne organizme, te ih povezuje s primjerima iz prirode. Samostalno definira pojmove saprofitska, parazitska i simbiotska bakterija, prepoznaje razlike među njima i navodi njihove uloge. Potreban je manja pomoć nastavnika u povezivanju saprofita, parazita i simbiota sa primjerima iz života.	Samostalno iznosi zaključke vezano za način prehrane bakterija, te uspoređuje saprofitske, parazitske i simbiotske bakterije, poznaje njihovu ulogu i korist za čovjeka. Povezuje sve s primjerima iz života.

## 6. GLAVNI REZULTATI I ZAKLJUČAK

- UBB tijekom prvoga eksperimenta porastao je jedino nakon perioda suše u tlu uzorkovanom na području livade, što znači da je jedino tlo s područja livade pokazalo izdržljivost bakterija na stres sušom.
- UBB u tlu ni na jednom biljnom pokrovu, nakon oba eksperimenta, nije dosegao UBB nultoga stanja, što znači da bakterije nisu pokazale stopostotnu sposobnost regeneracije.
- BFA tijekom oba eksperimenta nije pokazala izdržljivost tijekom perioda suše. Taj trend se nastavlja tijekom vlaženja u prvom eksperimentu, dok je nakon drugog eksperimenta BFA porasla, ali nije pokazala stopostotnu sposobnost regeneracije.
- DHA se smanjuje tijekom perioda suše u oba eksperimenta, što znači da nije izdržljiva na sušu, dok se tijekom perioda vlage povećava u oba eksperimenta
- DHA je pokazala veliku elastičnost nakon perioda vlage u drugom eksperimentu, budući da su dobivene vrijednosti absorbance veće u odnosu na vrijednosti nultog stanja.
- pH vrijednost, u oba eksperimenta raste tijekom perioda suše, taj trend rasta nastavlja se i tijekom vlaženja tla u prvom eksperimentu, dok u drugom eksperimentu opada tijekom perioda vlage.
- EC tla uzorkovanom na području livade linearno raste tijekom cijelog prvog eksperimenta, dok linearno opada u tlu uzorkovanom na području tršćaka i livade, također tijekom cijelog eksperimenta
- EC tijekom drugog eksperimenta opada nakon perioda suše, a povećava se tijekom perioda vlage u tlu sva tri tipa biljnog pokrova.
- Utvrđen je signifikantan utjecaj vremena vlaženja na promatrane zavisne varijable svih triju tipova biljnog pokrova tijekom oba eksperimenta.
- Tip biljnog pokrova (tršćak, šuma, livada) ima značajan utjecaj na promatrane zavisne varijable, odnosno na okolišne čimbenike tla tijekom oba eksperimenta.

## 7. LITERATURA

Andronov, E., Petrova, S., Pinaev, A., Pershina, E., Rakhimgalieva, S., Akhmedenov, K., Sergaliev, N. 2012. Analysis of the structure of microbial community in soils with different degrees of salinization using T-RFLP and real-time PCR techniques. *Eurasian Soil Sci*, 45, 147–156.

Antić, M., B. Jovanović, N. Jović, V. Munkačević, i S. Nikolandić, 1969. Fitocenološko-pedološka istraživanja u plavnom području Baranje. *Jelen* 8, 99— 114.

Alison S., Martiny J. 2008. Resistance, resilience and redundancy in microbial communities, Departments of Ecology and Evolutionary Biology and Earth System Science, University of California, Irvine, CA 92697

Barthes A., Ten – Hage L., Lamy A., Rols J., Leflaive J. 2014. Resilience of aggregated microbial communities subjected to drought. *Microb Ecol* 70 (1), 9-20.

Berige M., Tan A., Herst P. 2005. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *Biotechnol Ann Rev* 11. 127-152

Bloem J., Bolhuis P., Veninga M., Wieringa J., 1995. Microscopic methods for counting bacteria and fungi in soil, *Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Agrobiology and Soil Fertility*, pp. 162-173

Bognar, A. 1990. Geomorfologija Baranje: znanstvena monografija, Savez geografskih društava Hrvatske, Zagreb.

Bölter M., Bloem J. , Meiners K., Möller R. 2002. Enumeration and biovolume determination of microbial cells, Institute for Polar Ecology, University of Kiel, Department of Soil Sciences, *Alterra*, 36:249

Burmølle M., Hansen L., Søren J., 2007. Establishment and early succession of a multispecies biofilm composed of soil bacteria. *Microb ecol*, Impact Factor: 2.97 · DOI: 10.1007/s00248-007-9222-5

Calow P., 1991. Physiological costs of combating chemical toxicants: ecological implications. *Comp Biochem Physiol C, Comp Pharmacol* 100:3–6.

Csonka A. 1989. Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiol Rev* 53: 121–147.

Curtis T., Sloan W, Scannel J. 2002. Estimating prokaryotic diversity and its limits. P *Natl Acad Sci USA* 99: 10494–10499.

De Vries F., Liiri M., Bjørnlund L., Bowker M., Christensen, Setälä H., Bardgett R. 2012 Land use alters the resistance and resilience of soil food webs to drought. *Natural Climate Change* Vol. 2

Epstein E. 1997. The science of composting. Technomic Publishing Company. Lancaster, Pennsylvania, USA. 487 p.

Fernandez – Valiente E. Camacho A., Rochera C., Rico E., Vincent W., Quesada A. 2007. Community structure and physiological characterization of microbial mats. *Microbiol Ecol* 59 (2): 377 – 385

Fierer N., Schimel J. 2003. A proposed mechanism for the pulse in carbon dioxide production commonly observed following the rapid rewetting of a dry soil. *Soil Sci Soc Am J* 67: 798–805.

Fleming E., Castenholz R. 2007. Effect of periodic desiccation on the synthesis of the UV – screening compound, scytonemin, in cyanobacteria. *Environ Microbiol* 9 (6): 1448 - 1455

Gans J., Wolinsky M., Dunbar R. 2005. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. *Sci* 309: 1387–1390.

Griffiths B., Hallett P., Kuan H., Gregory A., Watts C., Whitmore A. 2008. Functional resilience of soil microbial communities depends on both soil structure and microbial community composition. *Biol Fertil Soils* 44: 745–754.

Griffiths B., Philippot L. 2012. Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *Agroécologie UMR 1347*

Gurevitch J., Scheiner S., Fox G. 2002. *The Ecology of Plants*. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts, USA.

Hall- Stoodley, Costerton J., Stoodley P., 2004. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2 (2): 95–108

Harris R. 1981. Effect of water potential on microbial growth and activity. *American society of Agronomy*, 23 – 95 pp

Husnjak S., Bogunović M. 2002. Komparativna istraživanja karte pogodnosti tla za obradu i karte rizika od erozije tla vodom u Republici Hrvatskoj. *Hrvatske vode*, godina 10, br. 40, str. 311-320, Zagreb

Husnjak S., Rubinić V., Vrbek B., Špoljar A. 2009. Svjetska referentna osnovica za tlo (WRB) s primjerima korištenja u Hrvatskoj., *Agronomski glasnik* 5-6, 347-366

Kieft T., Soroker E., Firestone M. 1987. Microbial biomass response to a rapid increase in water potential when dry soil is wetted. *Soil Biol Biochem* 19: 119 - 126

Killham K., Firestone M. 1984. Proline transport increases growth efficiency in salt – stressed *Streptomyces griseus*. *Appl Environ Microb* 48: 239 - 241

Kizilkaya R., Karaca A., Turgay O., Cetin S. 2011. Earthworm interactions with soil enzymes. In *Biology of earthworms*, ed. Karaca A. Springer, Berlin 141 – 158 pp

Kuperman R., Carreiro M., 1997. Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem. *Soil Biol Biochem* 29: 179–190.

Lončarić Z, 2014. Plodnost i opterećenost tala u pograničnom području, Poljoprivredni fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku, Poglavlje 2., str. 9.-21.

McCauley A., Jones C., Jacobson J. 2005. Basic soil properties. *Soil and water management module 1*, Montana State University Extension Service, 1 - 12 pp

McNaughton S. 1994. Biodiversity and function of grazing ecosystems. *Ecol Stu An* . ed Schulze E., Mooney H. pp. 361–383.

Menta C. 2012. Soil fauna diversity. Function, soil degradation, biological indices, soil restoration. In *Biodiversity conservation and utilization in a diverse world*, 59-94 pp

Mihaljević, M. i suradnici, 1999. Kopački rit : pregled istraživanja i bibliografija, Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti, Zavod za znanstveni rad, Osijek.

Mihaljević M., Stević F. 2011. Cyanobacterial blooms in a temperate river-floodplain ecosystem: the importance of hydrological extremes; *Aquat Ecol*, Issue 3, pp. 335-349

Moeskops B., Sukristiyonubowo, Buchan D., Sleutel S., Herawaty L., Husen E., Saraswati R., Setyotini D., De Neve S. 2010. Soil microbial communities and activities under intensive organic and conventional vegetable farming in West Java, Indonesia. *Appl Soil Ecol* 45:112 – 12

Nagatsuka T., Furosaka C. 1980. Effects of oxygen tension on growth, respiration, and types of bacteria isolated from soil suspensions. *Soil Biol Biochem* 12: 397 - 403

Orwin K., Wardle D. 2005. Plant species composition effects on belowground properties and the resistance and resilience of the soil microflora to a drying disturbance. *Plant Soil* 278: 205 – 221

Palijan G., 2016. Biofilm forming ability of the soil microbial community respond differently to the drying – rewetting stress between plant cover types. 6-i Hrvatski mikrobiološki kongres s međunarodnim sudjelovanjem, Sveti Martin na Muri, Hrvatska

Pekeč S., Orlović S., Katanić M., Stojanović D., Stojnić S. 2015. Water air and hydrological properties of humogley in protected part of alluvial plain. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology* Volume 19(2), 13- 17

Pesaro M., Nicollier G., Zeyer J., Widmer F. 2004. Impact of soil drying – rewetting stress on microbial communities and activities and on degradation of two crop protection products. *Appl Environ Microb* 70: 2577 - 2587

Pimm S. 1984. The complexity and stability of ecosystems. *Nature* 307: 321–326.

Ramos J., Duque E., Gallegos M., Godoy P., Ramos Gonzalez M., Teran W., Segura A. 2001. Mechanisms of solvent tolerance in gram-negative bacteria. *Annu Rev Microbiol* 56: 743–768.

Robson B., Matthews T., Lind P., Thomas, N. 2008. Pathways for algal recolonization in seasonally-flowing streams. *Freshw Biol* 53, 2385–2401.

Rykel E. Jr. 1985. Towards a definition of ecological disturbance. *Aust J Ecol* 10: 361–365.

Schimel J., Balsler T., Wallenstein M. 2007. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecology* 88: 1386–1394.

Shah S., Shah Z. 2011. Changes in soil microbial characteristics with elevated salinity. *Sarhad J Agric* Vol. 27, No. 2. 233 – 244

Stark J., Firestone M. 1995. Mechanisms for soil moisture effects on activity of nitrifying bacteria. *Appl Environ Microb* 61: 218 – 221

Stoodley P., Sauer K., Davies D., Costerton J. 2002. Biofilm as complex differentiated communities. *Ann Rev Microbiol* 56: 187 – 209.

Sutherland IW. 2001. The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends Microbiol* 9: 222 – 227

Subhani A., Changyong H., Zhengmiao X., Min L., El Ghamry M. 2001. Impact of soil environment and agronomic practices on microbial/ dehydrogenase enzyme activity in soil. A review. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4 (3): 333-338

Tobor - Kaplon M., Bloe J., Romkens P., De Rooter P. 2005. Functional stability of microbial communities in contaminated soils. *Oikos* 111: 119–129.

Vukadinović V. i Vukadinović V. 2011. Ishrana bilja III. *Izmijenjeno i dopunjeno izdanje*, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku. ISBN 978-953-6331-24-1

Whitman W., Coleman D., Wiebe W. 1998. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 6578-6583

Wolinska A., Stepniewska Z. 2012. Dehydrogenase activity in the soil environment. In *Dehydrogenases*, ed. Canuto R. InTech, Rijeka, Croatia 183 – 185 pp.

Wood J., Bremer E., Csonka L., Kryer R., Poolman B., van der Heide T., Smith L. 2001. Osmosensing and osmoregulatory compatible solute accumulation in bacteria. *Comp Biochem Phys A* 130: 437 – 460

Yuan B., Yue D. 2012. Soil microbial and enzymatic activities across a chronosequence of chinese pine plantation development on the Loess Plateau of China. *Pedosphere* 22: 1 – 12



## WEB IZVORI

1. [http://www.pfos.hr/upload/documents/OBsK\\_07%20Osnovne%20znacajke%20tla.pdf](http://www.pfos.hr/upload/documents/OBsK_07%20Osnovne%20znacajke%20tla.pdf)
2. [https://en.wikipedia.org/wiki/Kopa%C4%8Dki\\_Rit](https://en.wikipedia.org/wiki/Kopa%C4%8Dki_Rit)
3. <http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/dodatni/dodatni/358135.htm>