

Fluorescensmätningar av ammoniumkoncentration och spridningshastighet vid olika nedbrukningsgrad av organisk gödsel

Sofia Delin och Niklas Strömberg

Bakgrund

Del 1: Kväveutnyttjandet från organisk gödsel kan bl.a. påverkas av spridningsteknik, som kan inverka på flera sätt. Hittills har forskningsfokus mest varit på spridningens påverkan på ammoniakförluster. Men även kvävemineralisering och nitrifikation kan påverkas av hur kvävet och det organiska materialet fördelas i marken. Syftet med detta delprojekt var att kartlägga biologisk fastläggning och mineralisering av kväve samt fördelning av mineralkväve i marken från olika sorters stallgödsel beroende på spridningsteknik.

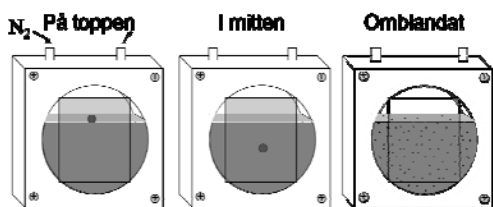
Del 2: Förutom stallgödsel används andra organiska produkter som gödselmedel, bl.a. Vinass (en biprodukt från jästindustrin) samt Biofer som är baserad på köttbenmjöl. I fältförsök har man noterat att effekten av kvävet i Vinass ibland är sämre än från Biofer och att detta verkar infalla under torrår (Gruvaeus, 2003). Syftet med detta andra delprojekt var att se om kvävet fördelar sig olika i marken från dessa gödselmedel beroende markfuktighet och om detta påverkar mineraliseringen av kväve.

Material och metod

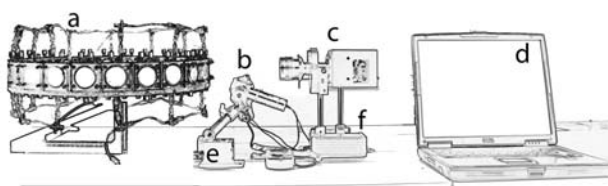
Del 1: Olika nedbrukningsgrad av stallgödsel

Optodförsök

Plastbehållare (figur 1) fylldes till två tredjedelar med 16 g jord som justerades till en vattenhalt motsvarande 60 % av vattenhållande förmåga (Jansson, 1958) efter tillsats av stallgödsel. Prov om 50 mg kycklinggödsel eller 110 mg nötflytgödsel placerades antingen på markytan, ca 1,3 cm under markytan eller blandades med jorden i tolv olika led (tabell 1). I led för jämförelser av effekter av stallgödselns placering användes en lätt jord. För att studera effekten av jordart användes en lerjord i två led, en med vardera stallgödselslaget. I alla led utom två kontrollerades atmosfären syrefri genom att blåsa kvävgas genom behållaren innan den förslöts. De två aerona leden blåstes istället med kvävgas. I alla led utom två led hölls vattenhalten konstant. I dessa två led torkades jorden ut genom blåsning med kvävgas och tillförsel av vatten till ursprunglig nivå vid ett antal tillfällen under försökets gång.



Figur 1. Plastbehållare fyllda med jord där gödseln placerats på ytan under ytan eller blandats om med jorden.



Figur 2. Snurra (a) med plastbehållare försedda med sensorer belysta med en diod (b) och fotograferade med en kamera (c) som styrs av en dator (d).

På insidan av varje plastbehållare monterades en film som fluorescerar då den kommer i kontakt med ammonium. Behållarna monterades på en specialbyggd snurra (figur 2) som möjliggjorde att man med automatik kunde fotografera alla led och upprepningar på angivna tidsintervall. Filmen belystes med ljus av olika våglängder, och fluorescensbilder togs med en kamera dag 0, 1, 3, 4, 5, 7, 11 och 13. Vid experimentets slut analyserades jorden kolorimetriskt på en Technicon autoanalyser för innehåll av ammonium och nitrat efter extraktion med 2 M KCl (Mulvaney, 1996).

Tabell 1. Försöksplan för nötflytgödsel och kycklinggödsel

Led	<i>Olika spridningstekniker för nötflytgödsel:</i>		
A	Nötflytgödsel	ej nedmyllad	
B	Nötflytgödsel	Nedmyllad	
C	Nötflytgödsel	Homogeniserad	
	<i>Olika spridningstekniker för kycklinggödsel:</i>		
D	Kycklinggödsel	ej nedmyllad	
E	Kycklinggödsel	Nedmyllad	
F	Kycklinggödsel	Homogeniserad	
	<i>Påverkan av nederbörd och torka:</i>		
G	Nötflytgödsel	ej nedmyllad	-med omväxlande regn och torka
H	Kycklinggödsel	ej nedmyllad	-med omväxlande regn och torka
	<i>Påverkan av jordart:</i>		
I	Nötflytgödsel	Nedmyllad	-i lerjord
J	Kycklinggödsel	Nedmyllad	-i lerjord
	<i>Nitrifikation vid olika homogeniseringsgrad:</i>		
K	Kycklinggödsel	Nedmyllad	-aerobt
L	Kycklinggödsel	Homogeniserad	-aerobt

Om inget annat anges utförs ledet anaerobt i lättjord med konstanta fuktighetsförhållanden

Sensorutrustning

Ammoniumjonerna studerades med en s.k. avbildande optod som bygger på fluorescens detektion av ett färgämne som tillsammans med ammonium extraheras in i en annan fas. Filmen sätts i kontakt med den matris man vill studera, belyses med ljus av olika våglängder, och fluorescensbilder tas med en kamera (figur 2) (Strömberg & Hulth, 2001).

Mark- och gödselegenskaper

Den lätta jorden hämtades från Götala försöksgård utanför Skara. Den innehöll 15 % ler och 3 % mull, och hade en katjonbyteskapacitet (CEC) på 130 mmol_c kg⁻¹ torr jord, en vattenhållande förmåga (WHC) på 390 g kg⁻¹ torr jord (Jansson, 1958) och en obetydlig ammonium fixeringskapacitet. Lerjorden hämtades från Lanna försöksstation utanför Lidköping och var en mellanlera (45 % ler och 2 % mull) med CEC på 240 mmol_c kg⁻¹ torr jord, en WHC på 580 g kg⁻¹ torr jord och en ammoniumfixeringskapacitet på 0,24 mmol kg⁻¹ torr jord.

Kycklinggödseln var fast och kom från en broileruppfödning med kutterspån som strö och nötflytgödseln kom från ekologisk mjölkgård (tabell 2). I båda gödselslagen finhackades de fasta beståndsdelarna med en sax för att kunna ta ut små men ändå hyfsat representativa prov.

För att få ett tillräckligt representativt prov bedömdes 5 mg kycklinggödsel vara den minsta tänkbara mängden. Motsvarande mängd nötflytgödsel med avseende på gödselns kväveinnehåll ansågs vara för stor för att inte riskera kanteffekter om gödseln rinner iväg för långt i de små jordmängderna, och därför tillsattes endast 11 g nötflytgödsel. Med avseende på jordmängd motsvarade detta ca 85 kg N ha⁻¹ kycklinggödsel men bara 12 kg N ha⁻¹ nötflytgödsel.

Tabell 2. Stallgödsleegenskaper och kvävemängder som tillförts behållarna.

	Nötflytgödsel	Kycklinggödsel
Torrsubstanshalt (%)	6,5	57
Totalkväve (% av våtvikt)	0,2	3,2
Ammonium nitrogen (% av våtvikt)	0,1	1,0
Tillsatt total-N (µmol)	16	114
Tillsatt ammonium-N (µmol)	8	36

Inkubation

För att uppskatta nettomineraliseringen av kväve separat från andra processer som adsorption, studerades gödseln även i ett separat inkubationsexperiment där också större volymer jord och gödsel kunde användas. Nettomineralisering definieras här som nettoomvandlingen av organiskt kväve till mineralkväve, vilket innebär dels hydrolys av urinsyra till ammonium och dels biologisk mineralisering minus immobilisering av kväve. Inkubationerna utfördes i 200 ml plastmuggar som fylldes med 160 g av den lätta jorden. Kycklinggödsel (0,58 g) eller nötflytgödsel (9,8 g) tillsattes på eller 2 cm under jordytan eller blandades om med jorden. Muggarna placerades i 600 ml förslutbara glasbehållare för att undvika ammoniakförluster och utorkning av jorden. Behållarna stod i klimatskåp med 15° C. De luftades två gånger i veckan. Inkubationen varade i två veckor och prov togs ut för analys av ammonium och nitrat efter 0, 1, 3, 7 och 14 dagar och frystes omedelbart och hölls frusna fram till analystillfället. Mineralkvävemängden (ammonium + nitrat) och nitratkvävemängden i olika led (minus motsvarande mängder i kontrolleret) plottades mot tid.

Data analys

Bilderna från optodförsöket linjerades så att pixlarna i bilderna från olika tillfällen representerade samma yta på jordprofilen. Ammoniumkoncentrationerna beräknades i Matlab för varje pixel från kalibreringar vid försökets start enligt Strömberg et al. (2009). Bilder över variationen i ammoniumkoncentration i profilerna togs fram. Profiler plottades som visade medelkoncentrationen i ett 0,9 mm brett band genom profilen. Diffusionslängden uppskattades genom att identifiera inflektionspunkten mellan medianen av koncentrationen av opåverkad jord och gradientens tangent. Medelkoncentrationen beräknades i 2,3 x 2,3 mm ytor där gödseln applicerats samt 9 mm ovanför och under i led där gödseln placerats under ytan och 9 och 18 mm under i led där gödseln placerats på ytan. Skillnader i koncentration i dessa ytor mellan led analyserades statistiskt med GLM ANOVA. Experimentet utfördes med tre replikat, men det första replikatet skedde vid ett separat tillfälle från de två senare och skilde sig från dessa med avseende på kalibrering, bildkvalitet och tidsintervall mellan fotografering. Det användes därför inte i den statistiska analysen, utan bara för att bekräfta att mönstren i olika led var konsekventa. För att få tillräckligt med replikat till den statistiska analysen analyserades inte de båda gödselslagen separat, utan behandlades som fyra replikat indelade i två block. I inkubationen däremot, fanns tre replikat av varje gödselslag, och skillnader inom varje gödselslag kunde analyseras statistiskt. Optoderna registrerar inte

adsorberat ammonium. För att få en uppfattning om graden av adsorption, jämfördes medel koncentrationen uppmätt av optoden i hela jordvolymen med extraherat mineralkväve i inkubationerna.

Del 2: Försök med Vinass och Biofer vid olika markvattenhalter

Optodförsök

Plastbehållare (figur 1) fylldes till två tredjedelar med 16 g jord på samma sätt som försöket ovan. Prov om 15 mg Biofer 7-9-0 eller 19 mg Vinass placerades ca 1,3 cm under markytan i sex olika led med tre replikat (tabell 1). Beroende på led tillsattes saltlösning till en vattenhalt motsvarade 35 eller 60 % av vattenhållande förmåga (Jansson, 1958) efter tillsats av stallgödsel. Saltlösningen bestod antingen av NaCl eller KCl. Syftet med att tillsätta salt var för att se om tillsats av kaliumjoner hindrar adsorptionen av ammonium så att större andel ammoniumet i marken blir synlig med optoden. På de blöta leden (A-D) monterades en optod på samma sätt som beskrivs i försöket ovan. Då optoden kräver en viss vattenhalt för att fungera, monterades den på de torra leden E-F först efter sex dagar. I samband med detta fuktades jorden i dessa led upp till samma vattenhalt som övriga led. Efter 13 dagar fylldes alla behållare med NaCl-lösning, fotograferades, tömdes sedan genom ett övertryck med kvävgas och fotograferas igen. Sedan upprepades samma procedur med KCl-lösning.

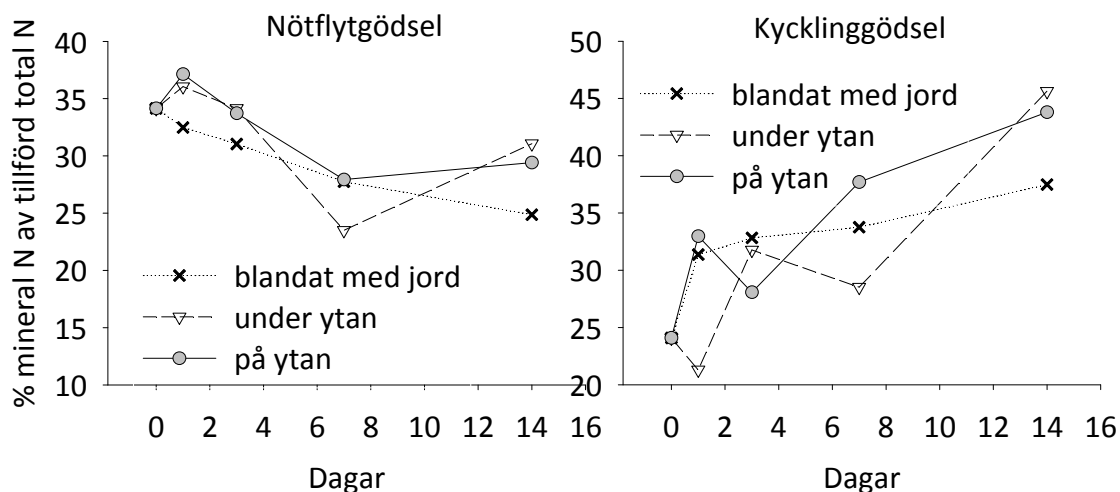
Tabell 2. Led i optodförsöket med Vinass och Biofer.

Led	Saltlösning (15 mM)		Gödsel
A	1,84 g (NaCl)	Hög vattenhalt	0,019 g Vinass
B	1,85 g (NaCl)	”	0,015 g Biofer
C	1,84 g (KCl)	”	0,019 g Vinass
D	1,85 g (KCl)	“	0,015 g Biofer
E	0,39 g (NaCl)	Låg vattenhalt	0,019 g Vinass
F	0,40 g (NaCl)	“	0,015 g Biofer

Resultat

Del 1: Stallgödsel med olika grad av nedbrukning

Nivåerna av mineralkväve i inkubationerna efter två veckor var 5-10 % lägre i omblandande led än i de två led där gödseln inte blandats om med jorden (figur 3). Denna skillnad var statistiskt signifikant om man beaktade båda gödselslagen.

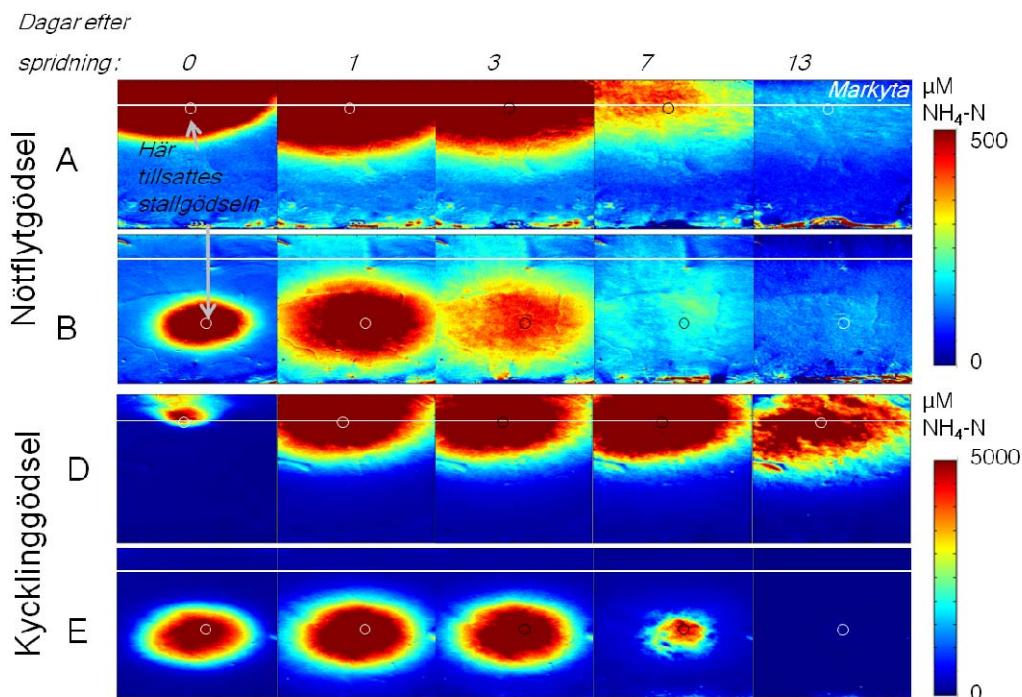


Figur 3. Nettotillskott av mineralkväve från nötflytgödsel och kycklinggödsel till jord vid olika tidpunkter vid inkubation i 15°C under 14 dagar.

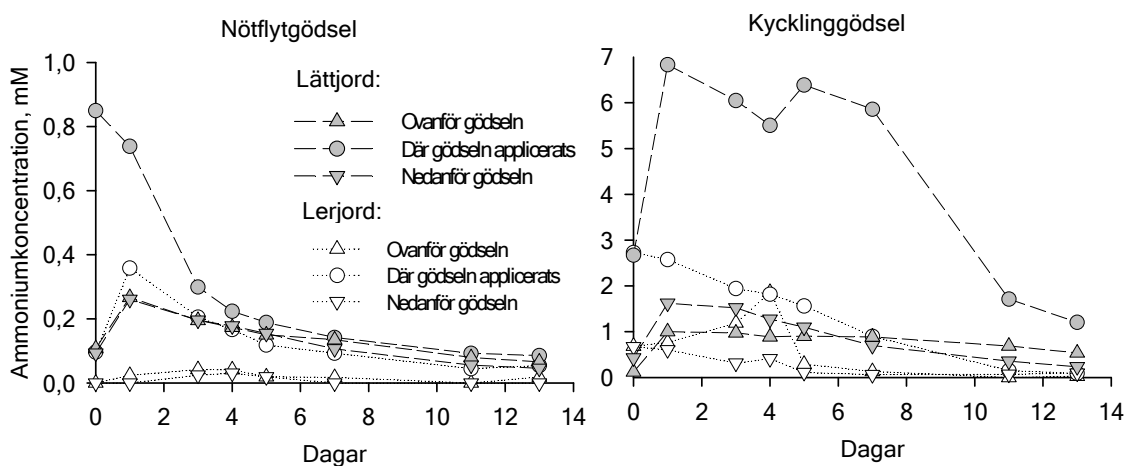
Nivåerna av nitratkväve var ungefär fem gånger högre efter en vecka i led där gödseln blandats om med jorden jämfört med de andra två leden. Efter ytterligare en vecka hade skillnaderna jämnas ut, och huvuddelen av mineralkvävet i alla led var i form av nitrat.

Enligt bilderna i optodförsöket (figur 4) jämnas ammoniumkoncentrationen ut och sjunker drastiskt i leden med nötflytgödsel. I leden med kycklinggödsel ökar koncentrationen i första dagarna och bibehålls sedan på en jämn nivå under första veckan innan de sjunker (figur 4 och 5). I leden med lerjord är nivåerna mycket lägre (figur 5).

Bilderna från led där jorden vattnats och torkats ut skiljde sig inte nämnvärt från motsvarande led med konstant vattenhalt. I några bilder kunde man ana att torkningen lett till en transport av ammonium uppåt. De led som fått tillgång till syre skilde sig inte heller från motsvarande anaeroba led under den första veckan. I slutet på experimentet visade bilderna från de aeroba leden däremot en mycket lägre ammoniumkoncentration än motsvarande anaeroba led. De led som blandats om väl hade flera aggregat med hög ammoniumkoncentration. De visade hur svårt det är att fördela gödseln jämt i jorden.

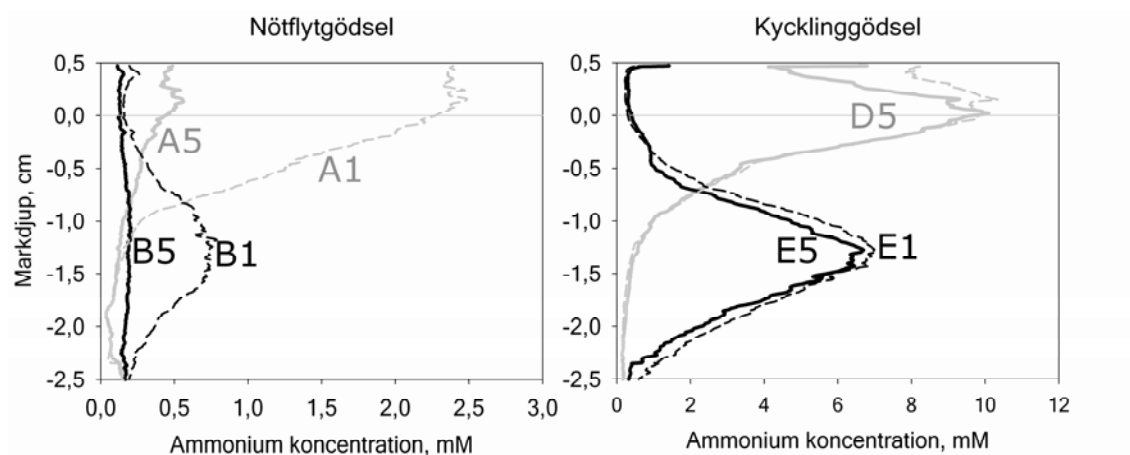


Figur 4. Bilder av ammoniumkoncentrationen i marklösningen i markprofilen i några av leden i sandjord vid olika tidpunkter.



Figur 5. Ammoniumkoncentration vid olika djup i ett tvärsnitt genom markprofilen där gödseln applicerats i olika led med nötflyt respektive kycklinggödsel på (A resp. D) och under (B resp. E) markytan efter 1 och 5 dagar (medelvärden av två replikat).

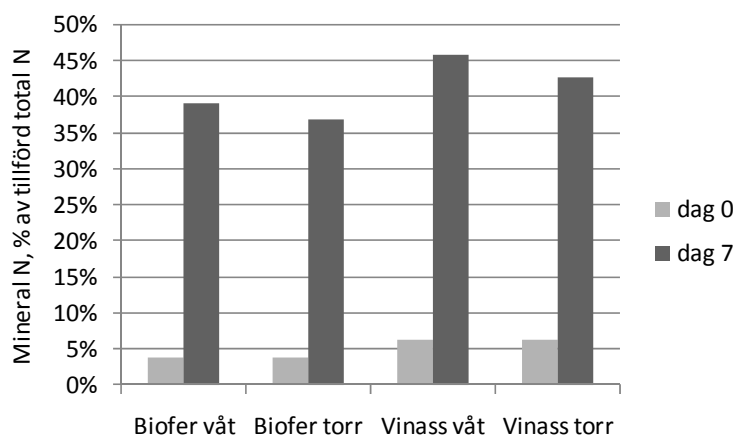
Oavsett om gödseln spreds på ytan eller under ytan, diffunderade ammonium ca 11-13 mm från gödseln (figur 6). Detta innebär att ammonium spreds till en större jordvolym när gödseln placerats under ytan, eftersom den då spreds i två riktningar.



Figur 6. Ammoniumkoncentration vid olika djup i ett tvärsnitt genom markprofilen där gödseln applicerats i olika led med nötflyt respektive kycklinggödsel på (A resp. D) och under (B resp. E) markytan efter 1 och 5 dagar (medelvärden av två replikat).

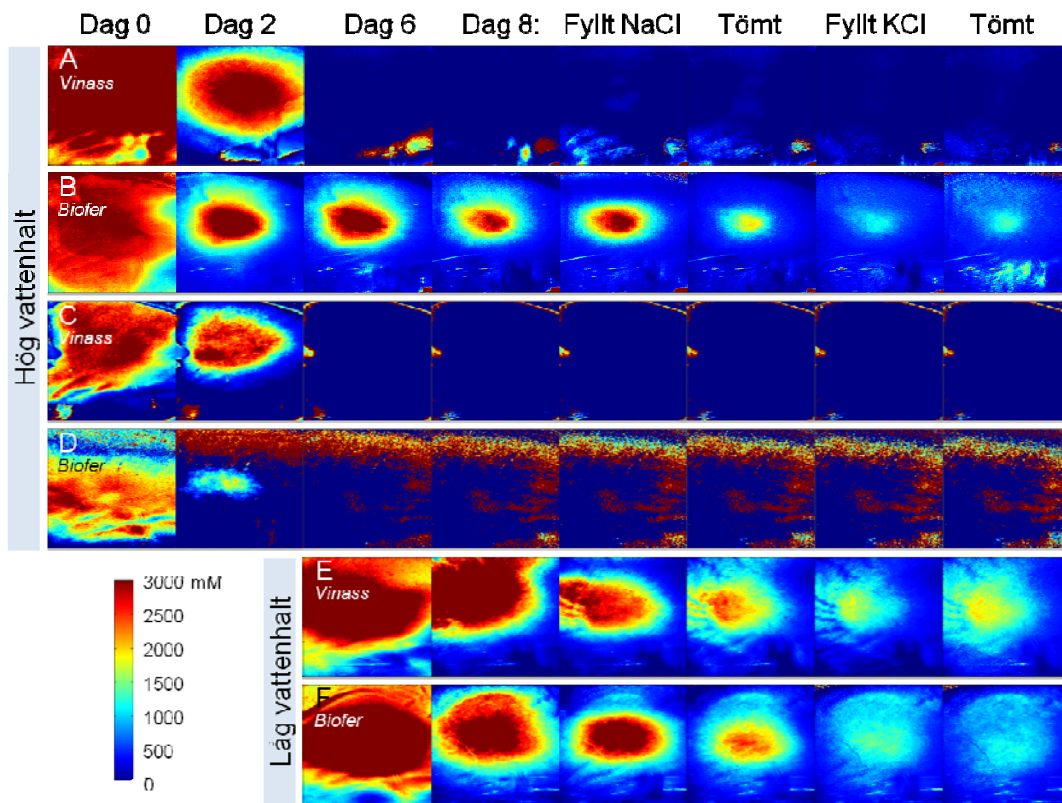
Del 2: Biofer och Vinass vid olika markfuktighet

Inkubationerna av Vinass och Biofer vid olika markfuktighet visade ingen signifikant skillnad i nettomineralisering, varken mellan de olika vattenhalterna ($p=0,31$) eller de olika gödselslagen ($p=0,08$) (figur 7).

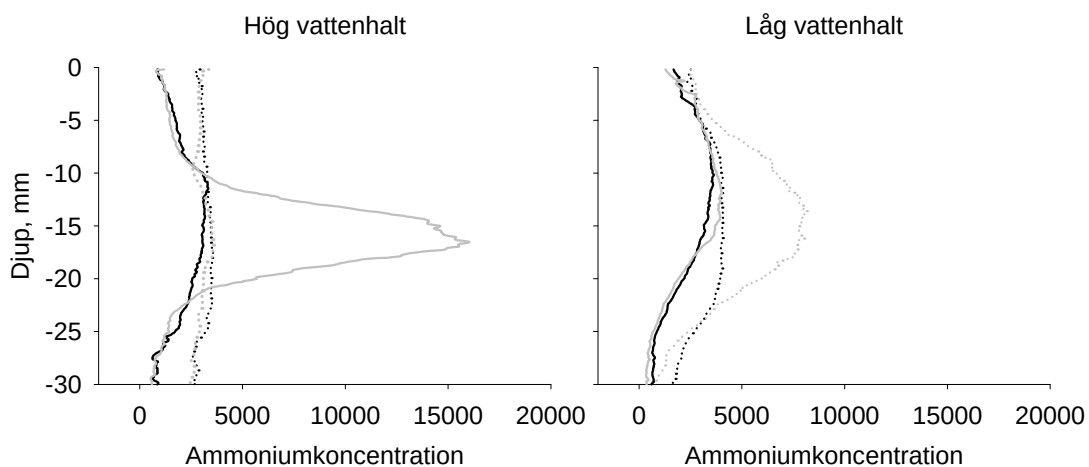


Figur 7. Nettotillskott av mineralkväve från Biofer och Vinass till jord dag 0 och 7 vid inkubation i 15°C.

Bilderna från optodförsöket visar en högre koncentration av ammonium i markvätskan i leden med Biofer än med Vinass i leden med hög vattenhalt, medan nivåerna är mer lika mellan leden med låg vattenhalt (figur 8 och 9).



Figur 8. Ammoniumkoncentration i de olika leden vid olika tidpunkter enligt fotografier av optoden från ett replikat.



Figur 9. Ammoniumkoncentration vid olika djup i ett tvärsnitt genom markprofilen där gödseln applicerats i olika led (medelvärden av tre replikat).

Diskussion

Skillnader i nettomineralisering och nitrifikation mellan olika nedbrukningsgrad

Att nettomineraliseringen av kväve var större i de led där gödseln inte blandats om väl med jorden kan förklaras med att kolet inte är lika tillgängligt för mikroorganismer som vid

konsumtion av kolföreningarna immobiliserar kväve. Samma fenomen observerades av Sørensen & Jenssen (1995) och Sørensen & Amato (2002). Ammonium kan också diffundera ut från gödseln och då det inte finns på samma plats som mikroorganismernas energikälla blir det skyddat från immobilisering (Jingguo & Bakken, 1997; Korsæth et al., 2001). Den snabbare nitrifikationen i omblandade led kan bero på att energirikt substrat och syre inte varit lika begränsande för nitrifierare som i led där all energirikt substrat är koncentrerat till en plats.

Adsorption

Optoden detekterar bara det ammonium som är löst i markvätskan och inte det som adsorberas till lermineralen. Minskningen i ammoniumkoncentration som var särskilt tydlig i leden med nötflytgödsel kunde inte enbart förklaras med immobilisering, om man jämför med resultaten i inkubationen, utan den berodde sannolikt på adsorption. Jämför man koncentrationerna i markvätskan enligt optoden med vad man borde finna med tanke på markvattenhalt och tillsatt mängd gödsel kommer man fram till att 75-90% av ammoniumet troligtvis adsorberats i den lätta jorden och 95-99% i lerjorden.

Vinass och Biofer

Att Vinass gav lägre koncentration av ammonium än i Biofer i de våta leden, kan bero på att vattenlösligheten av de organiska föreningarna var stor hos Vinass och liten hos Biofer och att kvävet hos Vinass därför fördelade sig över en stor yta när jorden var blöt.

Utspädningseffekten kan då ha gjort att man inte såg det ammonium som mineraliserades som man gjorde hos Biofer där det mesta koncentrerades till en punkt.

Potential och begränsningar hos ammoniumsensorn

Den teknik som använts i den här studien var ny och har inte tidigare använts till liknande studier med replikat. Testet av tekniken har därför större nyhetsvärde än själva resultaten i studien. Teknikens fördel är att man kan mäta ammoniumkvävet spridning på en mycket detaljerad nivå och utan att förstöra provet. Men att så stor del av ammoniumet adsorberas gör det svårt att uttala sig om vart ammoniumet egentligen tar vägen, men man kan fortfarande jämföra spridningen mellan olika led. Man får också en uppfattning om adsorptionen i olika jordar. Skulle man göra om experimentet skulle det vara bra med större behållare där man kunde tillsätta större mängder gödsel utan att riskera kanteffekter när gödseln når kanten på behållaren och också få tillräckligt stor koncentration av ammonium kvar i marklösningen så att sensorn ger större utslag för hur ammonium fördelar sig.

Kycklinggödselbilderna som tillsattes med en större kvävedosering gav ju ett tydligare utslag. En optod som mäter nitrat skulle vara mer användbar, dels för att nitrat inte adsorberas som ammonium och dels för att mineralkväve övervägande förekommer som nitrat i marken och dess rörelsemönster därför är mycket mer intressant.

Referenser

Gruvæus, I. 2003. Gödsling med EKO-gödselmedel i höstvet. I: Försöksrapport 2003 för Mellansvenska försökssamarbetet.

Jansson, S.L. 1958. Tracer studies on nitrogen transformations in soil with special attention to mineralisation-immobilization relationships. *Kungliga Lantbrukshögskolans Annaler*, 24, 101-361.

Jingguo, W. & Bakken, L.R. 1997. Competition for nitrogen during decomposition of plant residues in soil: Effect of spatial placement of N-rich and N-poor plant residues. *Soil Biology & Biochemistry*, 29, 153-162.

Korsaeth, A. Molstad, L. & Bakken, L. R. 2001. Modelling the competition for nitrogen between plants and microflora as a function of soil heterogeneity. *Soil Biology & Biochemistry*, 33, 215-226.

Mulvaney, R.L. 1996. Nitrogen - Inorganic Forms. In: *Methods of Soil Analysis, Part 3-Chemical Methods* (Sparks et al., (eds)), s 1123-1184. Soil Science Society of America Book Series, Nr 5. Madison, Wisconsin, USA.

Strömberg, N. Hulth, S. 2001. An ammonium selective fluorosensor based on the principles of coextraction. *Analytica Chimica Acta*, 443, 215-225.

Strömberg, N., Englbretsson, J. & Delin, S. 2009. A high throughput optical system for imaging optodes. *Sensors & Actuators B*, 140, 418-425.

Sørensen, P. & Amato, M. 2002. Remineralization and residual effects of N after application of pig slurry to soil. *European Journal of Agronomy*, 16, 81-95.

Publikationer

Delin, S. & Strömberg, N. 2009. Measuring spatial distribution of ammonium from manure in soil using imaging optodes. In: C. Grignani, M. Acutis, L. Zavattaro, L. Bechini, C. Bertora, P. Marino Gallina, D. Sacco (Eds). *Proceedings of the 16th Nitrogen Workshop: Connecting different scales of nitrogen use in agriculture*. June, 28th – July, 1st 2009, Turin, Italy, p. 41-42. (<http://www.nitrogenworkshop2009.org/papers.htm>)

Delin, S. & Strömberg, N. 2010. Imaging-optode measurements of ammonium distribution in soil after different manure amendments. *European Journal of Soil Science*, in press.

Delin, S. & Strömberg, N. 2010. Fluorescensmätningar av ammoniumkoncentration och spridningshastighet vid olika nedbrukningsgrad av organisk gödsel. *Precisionsodling 2010:?* (institutionsrapport som publiceras inom kort)

Jönsson, E. 2009. Kväve mineralisering från stallgödsel beroende på olika grad av inblandning i mark. *Precisionsodling 2009:2*, 20 p. (<http://pub-epsilon.slu.se:8080/978/>)

Strömberg, N., Englbretsson, J. & Delin, S. 2009. A high throughput optical system for imaging optodes. *Sensors & Actuators B* 140, 418-425. (doi:10.1016/j.snb.2009.05.011)

Strömberg, N. & Delin, S. 2010. Measuring spatial distribution of ammonium in plant soil systems using imaging optodes. In: Stenberg and Piikki (eds), *NJF Seminar 438, Sensors for soil and plant mapping and terrain analysis*, Skara Sweden, 27-28 October 2010. NJF report vol 6, no 7, p. 36-39.

Övrig resultatförmedling till näringen

Resultaten har presenterats mycket kort som en del av en längre presentation om kväve i organiska gödselmedel vid HIR-konferensen i Uppsala 2009 och vid Regionala växtodlings och växtskyddskonferensen i Uddevalla 2010. Vid Eriks Jönssons redovisning av sitt kandidatarbete i juni 2009, bjöds representanter från näringen in.