

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN – POLONIA

Vol. XI

SECTIO EEE

2002

Katedra Fitopatologii Akademii Rolniczej w Lublinie

DANUTA PIĘTA, ELŻBIETA PATKOWSKA, ALINA PASTUCHA

Wpływ uprawy *Secale cereale* L., *Allium sativum* L. i *Ruta graveolens* L. na zbiorowiska bakterii i grzybów w glebie

Effect of *Secale cereale* L., *Allium sativum* L. and *Ruta graveolens* L. Cultivation
on Bacteria and Fungi Communities in Soil

Środowisko glebowe zasiedlają zarówno mikroorganizmy saprofityczne, jak i patogeniczne. Na ich skład ilościowy i jakościowy duży wpływ mają czynniki abiotyczne i biotyczne. Ostatni z wymienionych czynników, a zwłaszcza gatunek uprawianej rośliny, mają modyfikujący wpływ na kształtowanie się populacji mikroorganizmów w glebie. Rośliny, poprzez wydzieliny korzeniowe i związki powstające z rozkładu zluszczających się komórek oraz resztek korzeni, oddziałują na skład gatunkowy i liczbowy drobnoustrojów w glebie, a szczególnie w strefie przykorzeniowej (Funk-Jensen, Hockenhull, 1984; Schoruvitz, Zeigler, 1989). Do ryzosfery wydzielane są aminokwasy, węglowodany, kwasy organiczne, witaminy, jony metali oraz enzymy (Funk-Jensen, Hockenhull, 1984; Rovira, 1969). Substancje te mogą hamować lub stymulować wzrost i rozwój mikroorganizmów zarówno patogenicznych, jak i saprofitycznych (Huber, Watson, 1970; Martyniuk i in., 1991; Parke, 1990; Pięta, 1994; Rovira, 1969; Schoruvitz, Zeigler, 1989). Ważną rolę odgrywają resztki poźniwne, które mogą stanowić podłoże dla rozwoju drobnoustrojów po okresie wegetacji tych roślin.

Celem badań było określenie składu ilościowego i jakościowego mikroorganizmów w glebie, ukształtowanych pod wpływem uprawy żyta, czosnku i ruty.

MATERIAL I METODA

W latach 1998-2000 przeprowadzono analizę mikrobiologiczną gleby po uprawie żyta, czosnku i ruty. Plantacje tych roślin były zlokalizowane koło Lublina. Była to gleba płowa wytworzona z utworów lessowych i stanowiła drugi kompleks przydatności (pszenny dobry), zawierała 30% części spławialnych, o poziomie próchnicznym sięgającym do 29 cm. W warstwie od 0 do 29 cm było 1,5% próchnicy.

Próby gleby po uprawie poszczególnych roślin pobierano z głębokości od 5 do 10 cm do sterylnych szalek Petriego. Sposób pobierania gleby, a następnie przeprowadzenia laboratoryjnej analizy mikrobiologicznej był taki sam, jak w metodzie opisanej przez Martyniuka i in. (1991). Rodzaje stosowanych pożywek syntetycznych oraz rozcieńczeń roztworu glebowego do izolowania bakterii i grzybów podano we wcześniejszej pracy (Pięta i in., 2000).

Wyniki dotyczące liczebności bakterii i grzybów opracowano statystycznie, a istotność różnic określano na podstawie przedziałów ufności Tukeya (Okta, 1987).

W każdym roku badań uzyskane izolaty bakterii (po 100 izolatów *Bacillus* spp. i po 100 izolatów *Pseudomonas* spp.) oraz wszystkie izolaty grzybów saprofitycznych z rodzajów *Gliocladium* i *Trichoderma* użyto do określenia antagonistycznego ich oddziaływania względem takich grzybów patogenicznych, jak *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Pythium irregulare* i *Rhizoctonia solani*. Przy określaniu antagonistycznego oddziaływania badanych bakterii na grzyby patogeniczne użyto pięciostopniowej skali opisanej przez Martyniuka i in. (1991) oraz stopnia zahamowania wzrostu fitopatogenów podane przez Piętę (1999). Ocenę oddziaływania grzybów saprofitycznych na badane grzyby patogeniczne wykonano metodą szeregów biotycznych (Mańka, 1974; Mańka, Mańka, 1992), a indywidualny efekt antagonistycznego oddziaływania określano na podstawie skali podanej przez Mańkę i Kowalskiego (1968).

WYNIKI

W wyniku przeprowadzonej analizy mikrobiologicznej gleby po uprawie żyta, czosnku i ruty stwierdzono różny skład ilościowy i jakościowy populacji grzybów i bakterii (tab.1). W każdym roku badań w 1 g s.m. gleby po uprawie określonego gatunku rośliny, ogólna liczebność kolonii bakterii, bakterii z rodzajów *Pseudomonas* i *Bacillus* oraz liczebność kolonii grzybów była bardzo zbliżona, stąd w tabeli 1 zamieszczono średnie wyniki z trzyletnich analiz. Spośród analizowanych prób gleby najwięcej bakterii było w glebie po uprawie żyta (średnio $4,107 \times 10^6$ kolonii), zaś najmniej po uprawie czosnku (średnio $2,294 \times 10^6$ kolonii) (tab. 1).

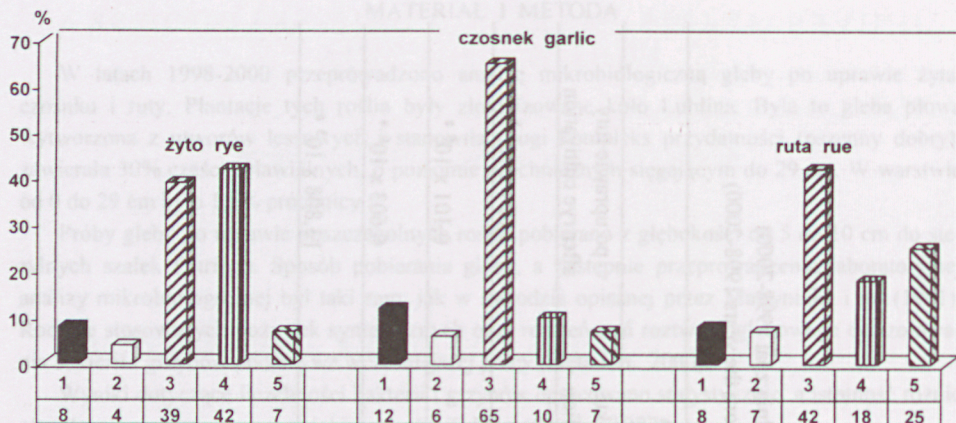
W przypadku bakterii *Bacillus* spp. liczba kolonii w 1g s.m. gleby po uprawie żyta była największa, bo wynosiła średnio $0,834 \times 10^6$ kolonii, natomiast najmniejszą liczebnością tych bakterii charakteryzowała się gleba po uprawie ruty.

Wyniki analizy mikrobiologicznej wykazały, że najwięcej kolonii bakterii z rodzaju *Pseudomonas* spp. było w glebie po uprawie żyta, bowiem w 1g s.m. badanej gleby było $1,931 \times 10^6$ kolonii (tab. 1). Najmniej tych bakterii uzyskano z gleby po uprawie ruty, bo stanowiły one średnio $0,603 \times 10^6$ kolonii.

Tab. 1. Liczebność bakterii i grzybów występujących w glebie po uprawie różnych roślin (średnia z lat 1998-2000)
The number of bacteria and fungi in the soil after cultivation of particular plants (mean from the years 1998-2000)

Wyszczególnienie Specification	Badana gleba Type of soil		
	po uprawie żyta after rye cultivation	po uprawie czosnku after garlic cultivation	po uprawie rutyny after rye cultivation
Ogólna liczebność bakterii (mln/1g s.m. gleby) Total number of bacteria (mln/1 g s. w. of soil)	4,107 x 10 ⁶ ^c	2,294 x 10 ⁶ ^a	3,024 x 10 ⁶ ^b
Ogólna liczebność <i>Bacillus</i> spp. (mln/1g s.m. gleby) Total number of <i>Bacillus</i> spp. (mln/1 g s. w. of soil)	0,834 x 10 ⁶ ^b	0,147 x 10 ⁶ ^a	0,101 x 10 ⁶ ^a
Ogólna liczebność <i>Pseudomonas</i> spp. (mln/1g s.m. gleby) Total number of <i>Pseudomonas</i> spp. (mln/1 g s. w. of soil)	1,931 x 10 ⁶ ^c	0,763 x 10 ⁶ ^b	0,603 x 10 ⁶ ^a
Ogólna liczebność grzybów (tys./1g s.m. gleby) Total number of fungi (thous./1g d. w. of soil)	24,179 x 10 ³ ^b	35,118 x 10 ³ ^c	13,808 x 10 ³ ^a

Średnie wartości w wierszach różnią się istotnie ($P \leq 0,05$), jeśli nie są oznaczone tą samą literą
Means in lines differ significantly ($P \leq 0.05$) if they are not marked with the same letter



1 - *Fusarium* spp., 2 - *R. solani*, 3 - *Penicillium* spp., 4 - *Trichoderma* spp., 5 - inne saprofity, 5 - another saprophytic fungi

Ryc. 1. Udział grzybów w glebie po uprawie poszczególnych gatunków roślin
Participation of fungi in soil after cultivation of particular plants

Analiza mikologiczna prób gleb po uprawie poszczególnych roślin wskazała na duże zróżnicowanie w liczebności grzybów (tab. 1). Najmniej grzybów było w glebie po uprawie ruty (średnio $13,808 \times 10^3$ kolonii), a najwięcej po uprawie czosnku (średnio $35,118 \times 10^3$ kolonii). Dużo grzybów, bo $24,179 \times 10^3$ kolonii wystąpiło w 1g s.m. gleby po uprawie żyta (tab. 1).

W wyniku laboratoryjnej analizy mikologicznej gleby po uprawie poszczególnych gatunków roślin uzyskano zróżnicowany skład ilościowy i jakościowy grzybów. Najwięcej grzybów z rodzaju *Fusarium* uzyskano z gleby po uprawie czosnku, bowiem ich udział stanowił 12% wszystkich wyosobnień (ryc. 1). W glebie po uprawie zarówno żyta, jak i ruty, udział tych grzybów był taki sam i wynosił po 8% uzyskanych kolonii. Rodzaj *Fusarium* był reprezentowany przez takie gatunki jak *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum* i *F. solani*. Spośród grzybów patogennych, gatunek *Rhizoctonia solani* (o sprawdzonej chorobotwórczości w doświadczeniu fitotronowym) był najliczniej wyosabniany z gleby po uprawie ruty, a najmniej z gleby po uprawie żyta (ryc. 1). W glebie po uprawie czosnku dominującymi grzybami były gatunki z rodzaju *Penicillium*, bowiem stanowiły 65% wszystkich wyosobnionych kolonii. Próby gleb po uprawie żyta i ruty charakteryzowały się też licznym występowaniem tych grzybów, przy czym ich udział stanowił odpowiednio 39 i 42% wszystkich izolatów. Rodzaj *Penicillium* był reprezentowany przez *P. corymbiferum*, *P. decumbens*, *P. fellutanum*, *P. frequentans*, *P. janthinellum*, *P. meleagrimum*, *P. purpurescens*, *P. verrucosum* var. *cyclopium* i *P. verrucosum* var. *verrucosum*.

Tab. 2. Antagonistyczne bakterie i grzyby wyizolowane z gleby po uprawie różnych roślin (suma izolatów z lat 1998-2000)
Antagonistic bacteria and fungi isolated from the soil after cultivation of particular plants (sum of isolates 1998-2000)

Bakterie i grzyby Bacteria and fungi	Liczba izolatów Number of isolates		
	żyto rye	czosnek garlic	ruta rye
<i>Bacillus</i> spp.	31	17	13
<i>Pseudomonas</i> spp.	97	16	18
Razem Total	128	33	31
<i>Gliocladium catenulatum</i> Gilman et Abbott	4	1	2
<i>Gliocladium roseum</i> Bainier	3	1	1
<i>Trichoderma hamatum</i> (Bon.) Bain	3	2	4
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	13	3	-
<i>Trichoderma koningii</i> Oud.	12	1	6
<i>Trichoderma viride</i> Pers. ex S.F. Gray	14	4	8
Razem – Total	49	12	21

W obrębie grzybów saprofitycznych dominował rodzaj *Trichoderma*, który był reprezentowany przez takie gatunki, jak *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii* i *T. viride*. Najwięcej tych grzybów było w glebie po uprawie żyta, a najmniej po uprawie czosnku (ryc. 1). W obrębie grzybów saprofitycznych oznaczonych na wykresie jako „inne saprofityczne” włączono gatunki z rodzajów *Acremonium*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Gliocladium*, *Mucor* i *Rhizopus*. Udział izolatów tych grzybów w poszczególnych próbach gleb wahał się od 7% (w glebie po uprawie żyta i czosnku) do 25% (w glebie po uprawie ruty).

Spośród bakterii *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. oraz grzybów *Gliocladium* spp. i *Trichoderma* spp. w badaniach laboratoryjnych wyodrębniono izolaty wyróżniające się antagonistycznym oddziaływaniem względem testowanych grzybów chorobotwórczych. Wszystkie gatunki z rodzaju *Trichoderma* wyosobnione z analizowanych gleb okazały się antagonistami. Natomiast w obrębie *Gliocladium* spp. 82% uzyskanych izolatów charakteryzowało się tymi właściwościami. W przypadku bakterii *Bacillus* spp. było średnio 24,5% izolatów wyróżniających się antagonistycznym oddziaływaniem, a u *Pseudomonas* spp. takich izolatów, było 28% wszystkich uzyskanych kolonii. Częstotliwość występowania mikroorganizmów antagonistycznych w poszczególnych próbach badanych gleb była różna (tab. 2). Najwięcej kolonii antagonistycznych zarówno bakterii (128 izolatów), jak i grzybów (49 izolatów), było w glebie po uprawie żyta. W glebie po uprawie czosnku i ruty liczba antagonistycznych bakterii była zbliżona, przy czym było ich czterokrotnie mniej aniżeli w glebie po uprawie żyta. Najmniej, bo 12 izolatów grzybów antagonistycznych było w glebie po uprawie czosnku, a w glebie po uprawie ruty 21 takich izolatów (tab. 2).

DYSKUSJA

Wyniki przeprowadzonych badań wskazały na różny skład zbiorowisk bakterii i grzybów ukształtowany pod wpływem uprawy żyta, czosnku i ruty. Każda z roślin, w okresie wegetacji, przez korzenie wydziela związki chemiczne do gleby lub po zbiorze ich resztki mogą wpływać stymulująco lub hamująco na rozwój drobnoustrojów glebowych (Funck-Jensen, Hockenhull, 1984; Rovira, 1969; Huber, Watson, 1970; Keel, 1992). Należy przypuszczać, że różny skład chemiczny wydzielin korzeniowych oraz resztek pożywnych ma istotny wpływ na swoisty skład populacji mikroorganizmów. W glebie po uprawie czosnku było najwięcej kolonii grzybów, a dominującymi okazały się gatunki z rodzaju *Penicillium*. Liczne informacje z literatury podają, że wiele gatunków *Penicillium* spp. powodują schorzenia roślin z rodzaju *Allium* (Schwartz, Mohan, 1996).

Często także z gleby po uprawie czosnku uzyskiwano *Fusarium* spp. Natomiast z gleby po uprawie ruty wyosabniano najmniej grzybów ogółem, w obrębie których najwięcej było gatunków z rodzajów *Penicillium* i *Trichoderma*. Gleba po uprawie żyta wyróżniała się występowaniem licznych antagonistycznych izolatów z rodzaju *Trichoderma*. Ponadto w środowisku glebowym po uprawie żyta występowały licznie gatunki z rodzaju *Penicillium*, co wykazała analiza mikrobiologiczna tej gleby.

W glebie po uprawie żyta występowały bardzo licznie kolonie bakterii, przy czym najwięcej o antagonistycznym oddziaływaniu względem grzybów chorobotwórczych. Spośród bakterii uzyskanych z tego środowiska, dominowały przede wszystkim *Pseudomonas* spp. Zarówno po uprawie ruty, liczba izolatów bakterii antagonistycznych z rodzajów *Bacillus* i *Pseudomonas* w glebie, jak i czosnku była zbliżona. Obecność bakterii i grzybów antagonistycznych w uprawnym środowisku glebowym może warunkować dobre stanowisko dla następnej rośliny. Uprawa rośliny stymulującej rozwój takich mikroorganizmów znacznie poprawia fitosanitarny stan gleby, bowiem zmniejsza liczbę jednostek propagacyjnych grzybów chorobotwórczych zasiedlających glebę. Według licznych doniesień z literatury (Bake, Cook, 1974; Curl, 1982; Dowling, O'Gara, 1994; Keel, 1992; Łacicowa, Pięta, 1985a; 1985b; 1989) wynika, że zarówno grzybnia wegetatywna, konidia, jak i formy przetrwalnikowe patogenów, ulegają destrukcji oraz lizie, przez co zmniejsza się ich żywotność.

PIŚMIENICTWO

- Baker K. F., Cook R. J. 1974. Biological Control of Plant Pathogens. W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- Curl A. E. 1982. The rhizosphere: relation to pathogen behavior and root disease. Plant Dis. 66: 623-630.
- Darcy A. L. 1982. Study of soya and lens exudates. I. Kinetics of exudation of phenolic compounds, amino acids and sugars in the first days of plant growth. Plant Soil 68: 399-403.
- Dowling D. N., O'Gara F. 1994. Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. Trends in Biotechnology 12, 4:133-141.
- Funk-Jensen D., Hockenhull J. 1984. Root exudation, rhizosphere microorganism and disease control. Växtskyddsnotiser 48: 49-54.
- Huber D. M., Watson R. D. 1970. Effects of organic amendments on soil-borne pathogens. Phytopathology 60: 22-26.
- Keel C. J. 1992. Bacterial antagonists of plant pathogens in the rhizosphere: mechanisms and prospects. Bull. OILB/SROP, XV, 1: 93-99.

- Kloepper J. W., Rodriguez-Kabana R., Zehnder G. W., Murphy J. F., Sikora E., Fernández C. 1999. Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and extension to systemic and foliar diseases. *Austr. Pl. Pathology*, 28: 21-26.
- Lynch J. M., Ebbenn M. H. 1986. The use of microorganisms to control plant disease. *J. App. Bacteriol. Symp. Suppl.*: 1155-1265.
- Łacicowa B., Pięta D. 1985a. Szkodliwość niektórych mikopasożytów dla *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Acta Micologica XXI* (1): 125-134.
- Łacicowa B., Pięta D. 1985b. Szkodliwość niektórych mikopasożytów dla fitopatogenicznych *Fusarium* spp. *Roczn. Nauk Roln.*, s. E, 15, 1-2: 87-97.
- Łacicowa B., Pięta D. 1989. Szkodliwość grzybów z rodzajów *Trichoderma* i *Gliocladium* dla niektórych patogenów fasoli. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 374: 235-242.
- Mańka K. 1974. Zbiorowiska grzybów jako kryterium oceny wpływu środowiska na choroby roślin. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 160: 9-23.
- Mańka K., Kowalski S. 1968. Wpływ zespołów grzybów glebowych z dwu szkółek leśnych (sosnowej i jesionowej) na rozwój grzyba zgorzelowego *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Pr. Komis. Nauk Rol. Leś.*, PTPN, 25: 197-205.
- Mańka K., Mańka M. 1992. A new method for evaluating interaction between soil inhibiting fungi and plant pathogen. *Bull. OILB/ SROP*, XV, : 73-77.
- Martyniuk S., Masiak D., Stachyra A., Mysłów W. 1991. Populacje drobnoustrojów strefy korzeniowej różnych traw i ich antagonizm w stosunku do *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Pam. Puł. Praca IUNG* 98: 139-144.
- Oktaba W. 1987. *Metody statystyki matematycznej w doświadczałnictwie*. PWN. Warszawa: 488.
- Parke J. L. 1990. Root colonization by indigenous and introduced microorganisms. In: *The Rhizosphere and Plant Growth*. D. L. P. B. Gregan, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands: 33-42.
- Pięta D. 1988. Mikozy występujące w uprawach fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.) i podatność różnych odmian na porażenie przez niektóre grzyby. *Seria Wydawnicza – Rozpr. Nauk. AR Lublin*.
- Pięta D. 1994. Biochemiczne czynniki warunkujące odporność fasoli na porażenie przez grzyby patogeniczne. *Biul. Warzywn. XLI*: 117-122.
- Pięta D. 1999. Initial studies of the populations of fungi and bacteria in the soil under influence of the cultivation of spring wheat and winter wheat. *Acta Agrobot.* 52, 1-2: 161-166.
- Pięta D., Pastucha A., Patkowska E. 2000. Bacteria and fungi communities occurring in the soil after the cultivation of cereals and potato. *Electronic Journal of polish Agricultural University, Horticulture*, Volume 3, Issue 2.
- Rovira A. D. 1969. Plant root exudates. *Bot. Rev.* 35: 35-57.
- Schwartz H. F., Mohan S. K. 1996. *Compendium of onion and garlic diseases*. APS PRESS, The American, Phytopathological Society, USA: 54pp.

SUMMARY

In the years 1998-2000 the studies concerned the soil after cultivation of rye, garlic and rue. The aim of the soil studies was to determine the composition of bacteria and fungi communities in it the after cultivation of above-mentioned plant species. As a result of microbiological analysis of soil after cultivation of rye 4.107×10^6 colonies of bacteria and 24.179×10^3 colonies of fungi were obtained. After the cultivation of garlic in the soil there were 2.294×10^6 colonies of bacteria and 35.118×10^3 colonies of fungi. On the other hand, after cultivation of rue there were 3.024×10^6 colonies of bacteria and 13.808×10^3 colonies of fungi. Among the obtained bacteria and fungi the greatest number of antagonistic microorganisms was in the soil after cultivation of rye. On the other hand, the smallest number of antagonistic microorganisms was in the soil after cultivation of garlic.

Zbiorniki mikroorganizmów po uprawie facelli błękitnej (*Phacelia tanacetifolia* Benthani), gorczycy białej (*Sisymbrium album* L.) i pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.)

Communities of Microorganisms After Cultivation of Tower Phacelia (*Phacelia tanacetifolia* Benthani), White Mustard (*Sisymbrium album* L.) and Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.)

Na skład jakościowy i ilościowy mikroorganizmów oraz ich aktywność biologiczną w glebie wpływają różne czynniki abiotyczne oraz biotyczne, w tym także rośliny poprzez wydzielany korzeniowy i rhizodermisowy opad. Czynne w wydzielanach korzeniowych cukry, kwasy aminowe, kwasy organiczne i inne mogą mieć istotny wpływ na kształtowanie się zbiorników populacji mikroorganizmów, zwłaszcza w strefie przykorzeniowej (Pacek-Jensen i Hockland, 1984; Pacek, 1981; Smith i Peterson, 1966; Kovar, 1965, 1967). Liczne badania i obserwacje potwierdzają, że różny skład chemiczny wydzielin korzeniowych roślin wpływa na różnorodność i aktywność mikroorganizmów w glebie. Wyniki badań uprawy (Haber i Watson, 1978; Kozłowski i Kozłowska, 1992; Pacek, 1981; Smith i Peterson, 1966). Materiał organiczny z gleby może być rozłożony lub zwiózły, może być wprowadzony do gleby, również może być do zwiększenia aktywności biologicznej w glebie (Hockland i Pacek, 1984; Myklowicz, 1989; Sanjigei, 1984). Rośliny wydzielają różne ilości i rodzaje substancji węglastych, które mogą być rozłożone w glebie (Ciel, 1982; Pacek-Jensen i Hockland, 1984; Pacek, 1981; Kovar, 1969; Puzłowski i Owsinski, 1997). Wyniki badań, że gleba jest środowiskiem dla mikroorganizmów, które są zdolne do życia w warunkach trudnych, głównie bakterii z rodzaju *Bacillus* i grzybów z rodzaju *Trichoderma*. Przeglądając literaturę można znaleźć wiele informacji o wpływie na glebę, na jej bakterie i grzyby. Przeglądając literaturę można znaleźć wiele informacji o wpływie na glebę, na jej bakterie i grzyby.