

EUGENIUSZ PACHOLAK, ZOFIA ZYDLIK, ALEKSANDRA SAWICKA

WPLYW NAWOŻENIA I NAWADNIANIA NA STAN MIKROBIOLOGICZNY GLEBY W REPLANTOWANYM SADZIE JABŁONIOWYM

Część II LICZEBNOŚĆ BAKTERII

WSTĘP

Terminem „zmęczenie gleby” określa się taki jej stan, w którym nowo posadzone rośliny słabo rosną i owocują, a nawet zamierają. Sytuacja taka pojawia się zwłaszcza po sadzeniu jakiegoś gatunku roślin na stanowisku po tym samym gatunku, np. jabłonie po jabłoni, w wyniku czego nagromadzają się różne szkodliwe dla roślin czynniki pochodzenia biotycznego i abiotycznego (SOBICZEWSKI 2000). Do czynników biotycznych choroby replantacyjnej zaliczamy m.in. bakterie, grzyby i promieniowce. Liczebność bakterii w glebie uzależniona jest od wielu czynników przyrodniczych (klimat, rodzaj gleby), jak i od wcześniej uprawianych gatunków roślin (HOESTRA 1988; ČATSKA 1993).

Rizosfera niektórych roślin zawiera skupiska bakterii wiążących azot (*Azotobacter* i *Azospirillum*), a ponieważ każdy z partnerów odnosi korzyści, można to uznać za pewnego rodzaju symbiozę (SCHLEGEL 1996).

Celem przeprowadzonych w latach 2000–2003 badań była ocena wpływu zabiegów nawadniania i nawożenia na ogólną liczebność bakterii oraz bakterii azotowych (*Azotobacter* i *Azospirillum*) w glebie.

MATERIAL I METODY

W pracy przedstawiono drugą część wyników badań dotyczących wpływu zabiegów agrotechnicznych (nawadniania i nawożenia) na aktywność mikrobiologiczną gleby; dotyczy ogólnej liczebności bakterii oraz liczebności *Azotobacter* i *Azospirillum*. Badania przeprowadzono w latach 2000–2003 w sadzie jabłoniowym po replantacji. Materiał badań oraz kombinacje nawadniania i nawożenia zastosowane w doświadczeniu zostały opisane w części I (w tym tomie).

Próby gleby przeznaczone do analizy liczebności bakterii pobrano w następujących terminach:

wiosna – spring	jesień – autumn
11.05.00	19.09.00
13.05.01	15.09.01
09.05.02	10.09.02
12.05.03	13.09.03

Analizy wykonano w świeżej glebie, w której oznaczano:

– ogólną liczbę bakterii na 2% podłożu agarowym z wyciągu glebowego, wykonanego z 1 kg gleby z dodatkiem 200 mg K_2HPO_4 na 1 litr wyciągu po 14 dniach inkubacji,

– *Azotobacter*, którego liczebność oceniano wg metody opracowanej przez FENGLEROWĄ (1965), po 4 dniach inkubacji w temperaturze 28°C,

– *Azospirillum* na półpłynnej pożywce NFB, jako miano wg DÖBEREINER (1980).

Posiewy wykonano w 5 powtórzeniach, a liczbę poszczególnych drobnoustrojów przeliczano na 1 g świeżej masy gleby.

Dla prześledzenia dynamiki liczebności bakterii w glebie z sadu replantowanego w pracy wykorzystano średnie zawartości tych mikroorganizmów w latach 1997–1999 (RUTKOWSKI i in. 2000) oraz w glebie wcześniej użytkowanej rolniczo z lat 2000–2003.

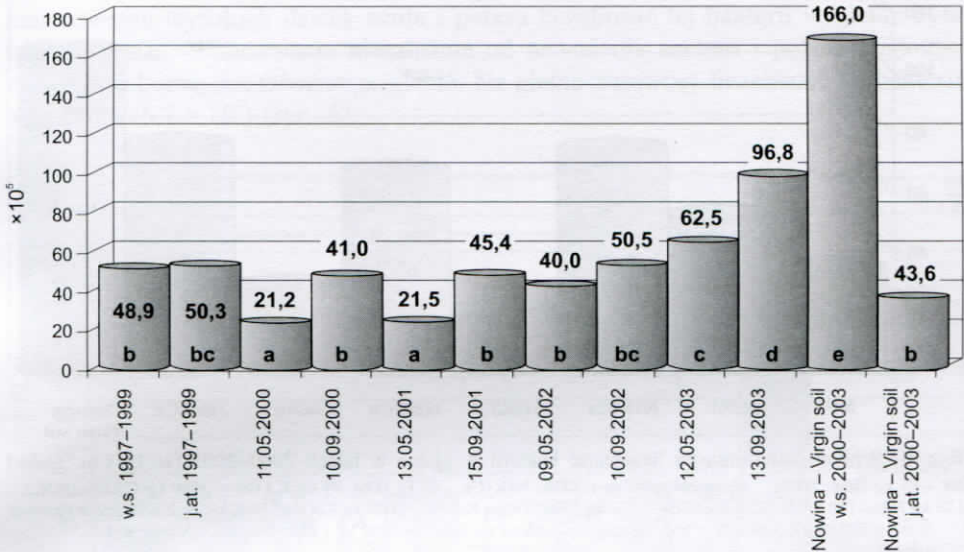
Otrzymane wyniki poddano wieloczynnikowej analizie wariancji, a istotność różnic pomiędzy poszczególnymi średnimi oceniano za pomocą testu Duncana na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Współzależność pomiędzy wilgotnością gleby i jej odczynem a zawartością bakterii w glebie określono, obliczając współczynniki korelacji liniowej.

WYNIKI

Liczebność bakterii w glebie z replantowanego sadu jabłoniowego była zróżnicowana w zależności od terminów pobierania prób, nawadniania i nawożenia.

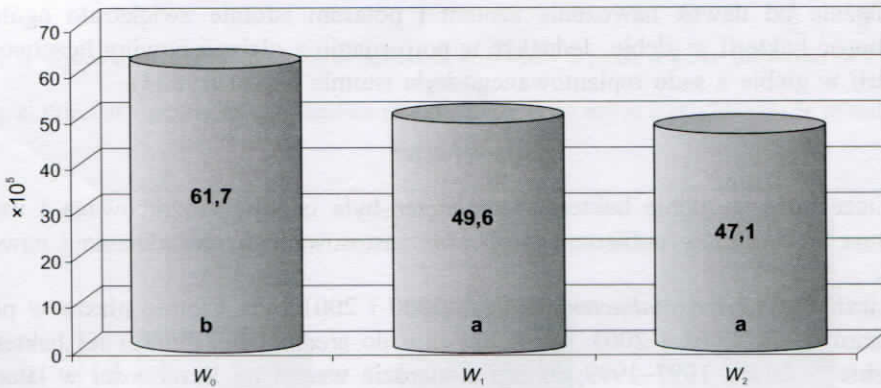
Bakterie ogółem

Termin pobierania prób wpływał istotnie na ogólną liczebność bakterii w glebie, która w latach 2000 i 2001 była niższa niż w latach 2002 i 2003. W porównaniu do średniej liczebności bakterii w latach 1997–1999, również w latach 2000 i 2001 stwierdzono jej obniżenie. Istotne zróżnicowanie w liczebności bakterii stwierdzono także pomiędzy okresem wiosennym i jesiennym, gdzie niezależnie od roku w okresie jesiennym ogólna liczebność bakterii w glebie była wyższa. Porównując glebę z sadu replantowanego i z nowiny, należy stwierdzić istotne obniżenie ogólnej liczebności bakterii w glebie po replantacji. Na uwagę zasługuje również fakt, że gleba z nowiny wykazywała wyższą średnią liczebność bakterii w okresie wiosen-



Ryc. 1. Wpływ terminu pobierania prób na liczebność bakterii w glebie w latach 2000-2003 (w 1g ś.m. gleby)

Fig. 1. Effect of sampling date on numbers of bacteria in the soil in 2000-2003 (in 1g of soil fresh weight)

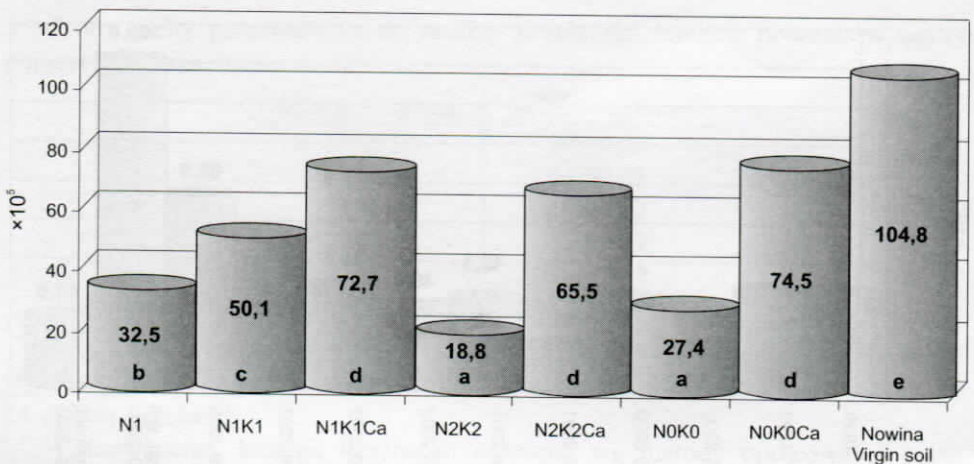


Ryc. 2. Wpływ nawadniania na liczebność bakterii w glebie w latach 2000-2003 (w 1g ś.m. gleby)
 W_0 - bez nawadniania; W_1 - wilgotność na poziomie -0,03 MPa; W_2 - wilgotność na poziomie -0,01 MPa

Fig. 2. Effect of irrigation on numbers of bacteria in the soil in 2000-2003 (in 1g of soil fresh weight)
 W_0 - without irrigation; W_1 - moisture level -0.03 MPa; W_2 - moisture level -0.01 MPa

nym, a jesienią wystąpiło istotne jej obniżenie (średnio 166 sztuk $\times 10^5$ w 1 g ś.m. gleby wiosną i 43,6 sztuk $\times 10^5$ w 1 g ś.m. gleby jesienią) (ryc. 1).

Nawadnianie niezależnie od nawożenia wpływało istotnie na zmniejszenie ogólnej liczby bakterii w glebie; wraz ze wzrostem wilgotności gleby stwierdzono zmniejszenie liczebności bakterii (ryc. 2).



Ryc. 3. Wpływ nawożenia na liczebność bakterii w glebie w latach 2000–2003 (w 1g ś.m. gleby)
 N1 – 65 kg N/ha; N1K1 – 65 kg N/ha, 95 kg K₂O/ha; N1K1Ca – 65 kg N/ha, 95 kg K₂O/ha + 2000 kg CaO/ha; N2K2 – 130 kg N/ha, 190 kg K₂O/ha; N2K2Ca – 130 kg N/ha, 190kg K₂O/ha +2000 kg CaO/ha; N0K0 – brak nawożenia (without fertilizer); N0K0Ca – brak nawożenia (without fertilizer) + 2000 kg Ca/ha; Nowina – Virgin soil

Fig. 3. Effect of fertilization on numbers of bacteria in the soil in 2000–2003 (in 1g of soil fresh weight)

Nawożenie, a w szczególności wysokie jego dawki, obniżało istotnie ogólną liczebność bakterii w glebie. Na uwagę zasługuje fakt, że zastosowanie wapnowania niezależnie od dawek nawożenia azotem i potasem istotnie zwiększało ogólną liczebność bakterii w glebie. Jednakże w porównaniu z glebą z nowiny liczebność bakterii w glebie z sadu replantowanego była istotnie niższa (ryc. 3).

Azotobacter

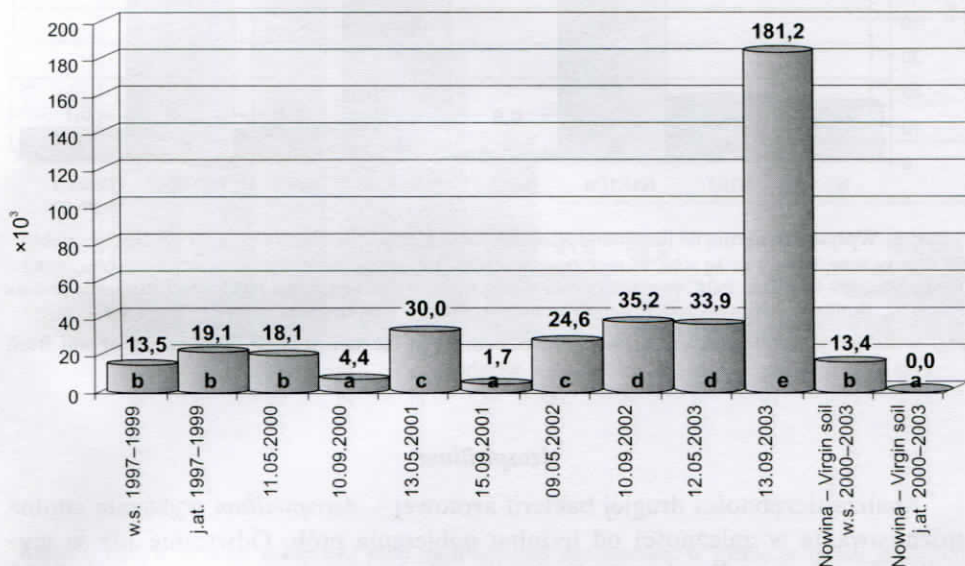
Liczebność w glebie bakterii *Azotobacter* była istotnie zróżnicowana i uzależniona od terminów pobierania prób oraz zastosowanego nawadniania i nawożenia.

Liczba bakterii *Azotobacter* w latach 2000 i 2001 była istotnie niższa w porównaniu do lat 2002 i 2003. W odniesieniu do średniej liczebności tej bakterii w glebie w latach 1997–1999, można stwierdzić wzrost jej liczebności w latach 2002 i 2003. Istotne zróżnicowanie w liczebności *Azotobacter* w glebie stwierdzono pomiędzy okresem wiosennym i jesiennym, gdzie w pierwszych dwóch latach (2000 i 2001) liczebność tej bakterii była istotnie wyższa w okresie wiosennym, natomiast w latach 2002 i 2003 jej wzrost stwierdzono w okresie jesiennym. Niezależnie od analizowanego roku, w porównaniu z glebą z nowiny średnia liczebność *Azotobacter* była wyższa w glebie z sadu replantowanego (ryc. 4).

Nawadnianie również wpływało istotnie na liczebność *Azotobacter* w glebie, która wzrastała wraz ze wzrostem intensywności nawadniania (ryc. 5).

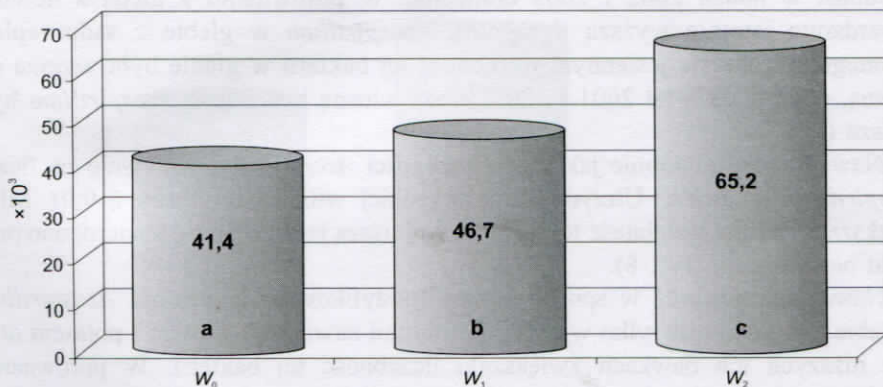
Nawożenie niezależnie od terminu pobierania prób i nawadniania miało istotny wpływ na liczbę *Azotobacter* w glebie. Stwierdzono, że przy braku nawożenia oraz

zastosowaniu wysokich dawek azotu i potasu liczebność tej bakterii w glebie była istotnie niższa. Wapnowanie niezależnie od nawożenia azotem i potasem istotnie zwiększało liczbę *Azotobacter* w glebie. Na glebie z nowiny liczebność tej bakterii była niska ($6,7 \times 10^3$) (ryc. 6).



Ryc. 4. Wpływ terminu pobierania prób na liczebność *Azotobacter* w glebie w latach 2000-2003 (w 1 g ś.m. gleby)

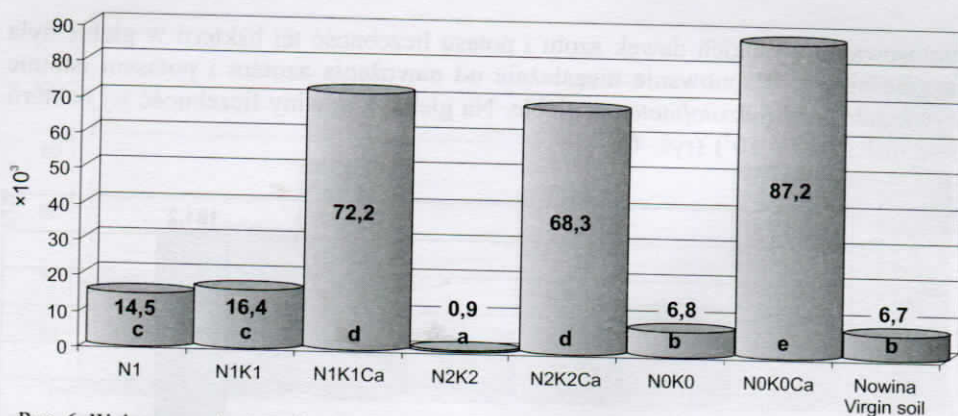
Fig. 4. Effect of sampling date on numbers of *Azotobacter* in the soil in 2000-2003 (in 1g of soil fresh weight)



Ryc. 5. Wpływ nawadniania na liczebność *Azotobacter* w glebie w latach 2000-2003 (w 1g ś.m. gleby)
 W_0 - bez nawadniania; W_1 - wilgotność na poziomie -0,03 MPa; W_2 - wilgotność na poziomie -0,01 MPa

Fig. 5. Effect of irrigation on numbers of *Azotobacter* in the soil in 2000-2003 (in 1g of soil fresh weight)

W_0 - without irrigation; W_1 - moisture level -0.03 MPa; W_2 - moisture level -0.01 MPa



Ryc. 6. Wpływ nawożenia na liczebność *Azotobacter* w glebie w latach 2000–2003 (w 1g ś.m. gleby)
 N1 – 65 kg N/ha; N1K1 – 65 kg N/ha, 95 kg K₂O/ha; N1K1Ca – 65 kg N/ha, 95 kg K₂O/ha + 2000 kg CaO/ha; N2K2 – 130 kg N/ha, 190 kg K₂O/ha; N2K2Ca – 130 kg N/ha, 190 kg K₂O/ha + 2000 kg CaO/ha; N0K0 – brak nawożenia (without fertilizer); N0K0Ca – brak nawożenia (without fertilizer) + 2000 kg Ca/ha; Nowina – Virgin soil

Fig. 6. Effect of fertilization on numbers of *Azotobacter* in the soil in 2000–2003 (in 1g of soil fresh weight)

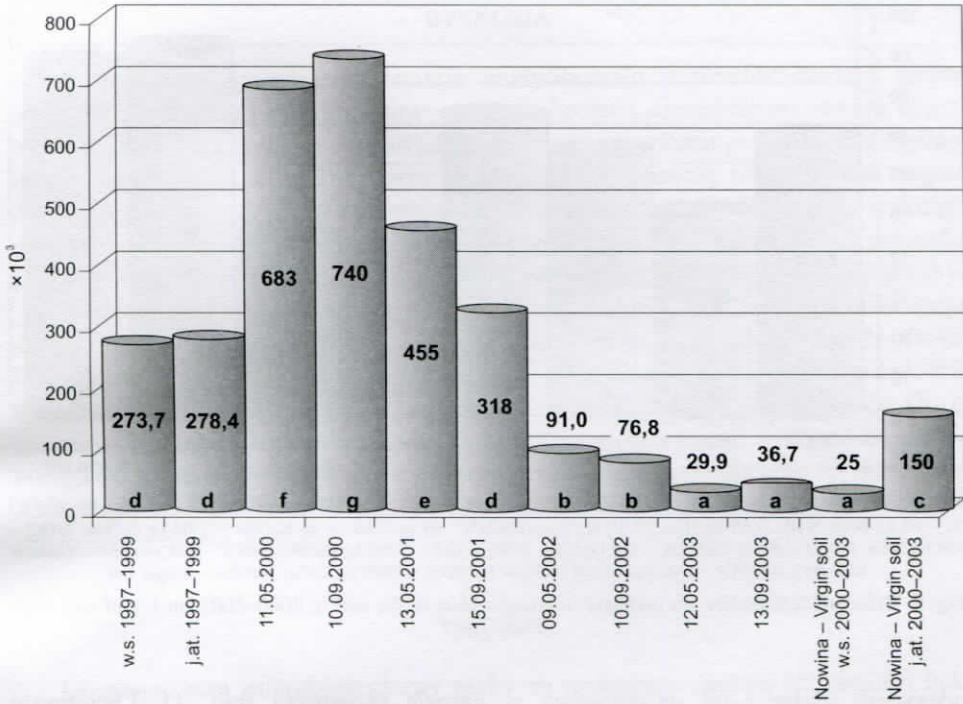
Azospirillum

Analiza liczebności drugiej bakterii azotowej – *Azospirillum* wykazała istotne zróżnicowanie w zależności od terminu pobierania prób. Odwrotnie niż w wypadku *Azotobacter*, liczebność *Azospirillum* była istotnie wyższa w latach 2000 i 2001, natomiast w latach 2002 i 2003 stwierdzono gwałtowne obniżenie liczebności tej bakterii w glebie. W porównaniu do średniej liczebności *Azospirillum* w latach 1997–1999, w roku 2000 i 2001 nastąpił wzrost jej liczebności, natomiast w latach 2002 i 2003 obniżenie. W porównaniu z glebą z nowiny, stwierdzono istotnie wyższą liczebność *Azospirillum* w glebie z sadu replantowanego. W okresie jesiennym liczebność tej bakterii w glebie była wyższa niż wiosną, z wyjątkiem lat 2001 i 2003, kiedy wiosną liczebność *Azospirillum* była wyższa (ryc. 7).

Nawadnianie, podobnie jak przy liczebności *Azotobacter*, wpływało na liczbę *Azospirillum* w glebie. Utrzymywanie wysokiej wilgotności gleby (–0,01 MPa) zwiększało istotnie liczebność tej bakterii. Najniższą jej liczebność stwierdzono przy braku nawadniania (ryc. 8).

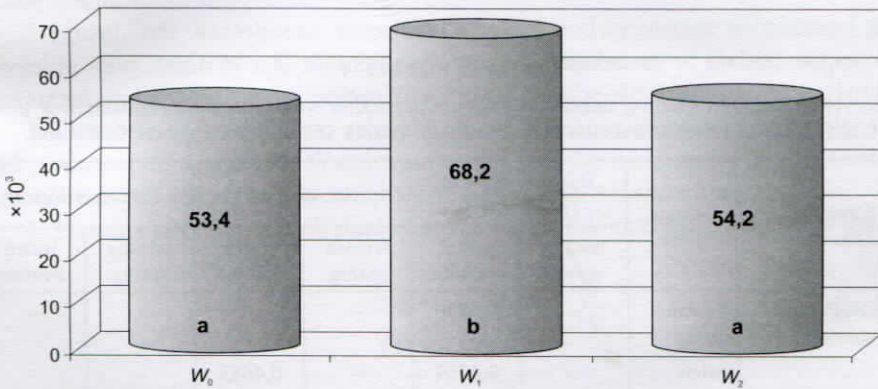
Nawożenie również w sposób istotny modyfikowało liczebność *Azospirillum* w glebie. Wapnowanie tylko w przypadku braku nawożenia azotem i potasem oraz przy niższych ich dawkach zwiększało liczebność tej bakterii. W porównaniu z glebą z nowiny, liczebność *Azospirillum* w glebie z sadu replantowanego była niższa, z wyjątkiem kombinacji z samym wapnowaniem, gdzie stwierdzono jej wzrost w glebie (ryc. 9).

Obliczone współczynniki korelacji liniowej wykazały istotną dodatnią zależność pomiędzy ogólną liczebnością bakterii a odczynem gleby w okresie wiosennym oraz



Ryc. 7. Wpływ terminu pobierania prób na liczebność *Azospirillum* w glebie w latach 2000-2003 (w 1g ś.m. gleby)

Fig. 7. Effect of sampling date on numbers of *Azospirillum* in the soil in 2000-2003 (in 1g of soil fresh weight)

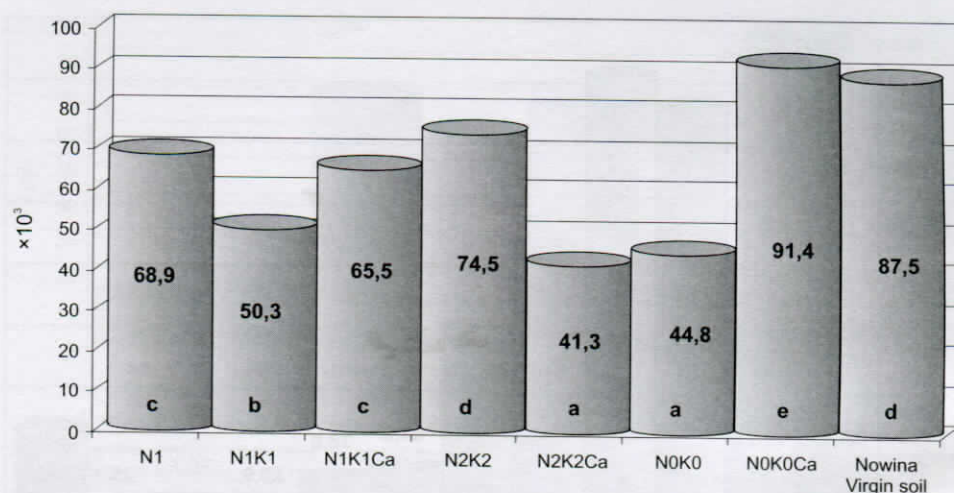


Ryc. 8. Wpływ nawadniania na liczebność *Azospirillum* w glebie w latach 2000-2003 (w 1g ś.m. gleby)

W₀ - bez nawadniania; W₁ - wilgotność na poziomie -0,03 MPa; W₂ - wilgotność na poziomie -0,01 MPa

Fig. 8. Effect of irrigation on numbers of *Azospirillum* in the soil in 2000-2003 (in 1g of soil fresh weight)

W₀ - without irrigation; W₁ - moisture level -0.03 MPa; W₂ - moisture level -0.01 MPa



Ryc. 9. Wpływ nawożenia na liczebność *Azospirillum* w glebie w latach 2000–2003 (w 1 g ś.m. gleby) N1 – 65 kg N/ha; N1K1 – 65 kg N/ha, 95 kg K₂O/ha; N1K1Ca – 65 kg N/ha, 95 kg K₂O/ha + 2000 kg CaO/ha; N2K2 – 130 kg N/ha, 190 kg K₂O/ha; N2K2Ca – 130 kg N/ha, 190 kg K₂O/ha + 2000 kg CaO/ha; N0K0 – brak nawożenia (without fertilizer); N0K0Ca – brak nawożenia (without fertilizer) + 2000 kg Ca/ha; Nowina – Virgin soil

Fig. 9. Effect of fertilization on numbers of *Azospirillum* in the soil in 2000–2003 (in 1 g of soil fresh weight)

odczynem gleby i jej wilgotnością w okresie jesiennym (tab. 1). Liczebność *Azotobacter* w okresie wiosennym była dodatnio skorelowana z odczynem gleby w okresie jesiennym. Liczebność tej bakterii w okresie jesiennym w glebie była natomiast dodatnio skorelowana z jej wilgotnością w tym okresie. Nie stwierdzono natomiast zależności pomiędzy wilgotnością gleby i jej odczynem a występowaniem *Azospirillum* w glebie (tab. 1).

Tabela 1 – Table 1

Współczynniki korelacji liniowej między czynnikami przyrodniczymi a liczebnością bakterii w glebie
Coefficients of linear correlation between abiotic factors and bacteria numbers in the soil

Czynnik Factor	Termin Date	Bakterie ogółem Total bacteria		<i>Azotobacter</i>		<i>Azospirillum</i>	
		wiosna spring	jesień autumn	wiosna spring	jesień autumn	wiosna spring	jesień autumn
Wilgotność gleby Soil moisture	wiosna spring	–	0,5830	–	–	–	–
	jesień autumn	–	0,4859	–	0,4683	–	–
PH gleby Soil pH	wiosna spring	0,579	0,5216	–	–	–	–
	jesień autumn	0,538	0,5233	0,5004	–	–	–

DYSKUSJA

Zastosowanie nawadniania istotnie modyfikowało liczebność bakterii glebowych. W przypadku bakterii azotowych (*Azotobacter* i *Azospirillum*) zawsze obserwowano pozytywną reakcję na nawadnianie, czego nie można powiedzieć o ogólnej liczebności bakterii w glebie, która wraz z intensywnością nawadniania ulegała obniżeniu. Jest to sprzeczne z wynikami RUTKOWSKIEGO i in. (2000), którzy wykazali dodatni wpływ nawadniania na wzrost liczebności bakterii. Również GOŁĘBIOWSKA (1986) podkreśla, że bakterie wymagają znacznie większych ilości wody niż grzyby.

Nawożenie również modyfikowało liczebność bakterii w glebie replantowanego sadu jabłoniowego. Szczególnie duży był wpływ nawożenia na liczebność *Azotobacter*, gdzie wzrastające dawki nawozów ograniczały liczebność tej bakterii. Podobne wyniki uzyskali wcześniej RUTKOWSKI i in. (2000). Jak wyjaśnia GOŁĘBIOWSKA (1986), powodem mniejszej liczby bakterii może być nagromadzenie się związków azotu w glebie. W mniejszym stopniu nawożenie wpływało na liczebność *Azospirillum* w glebie. W wypadku tej bakterii istotny wpływ na jej liczebność miało wapnowanie gleby.

WNIOSKI

Oceniając stan mikrobiologiczny gleby na podstawie ogólnej liczebności bakterii, a także *Azotobacter* i *Azospirillum* w zróżnicowanych warunkach nawadniania i nawożenia, można sformułować następujące wnioski:

1. Ogólna liczebność bakterii w glebie z sadu replantowanego była niższa niż w glebie, na której wcześniej nie uprawiano jabłoni. Nawadnianie obniżało liczebność bakterii w glebie. Wapnowanie niezależnie od nawożenia N i K zwiększało liczbę bakterii.
2. Liczebność *Azotobacter* wzrastała w miarę podwyższania wilgotności gleby. Wysokie nawożenie N i K obniżało istotnie jej liczebność w glebie; wapnowanie niezależnie od dawek azotu i potasu zwiększało liczebność *Azotobacter* w glebie.
3. Liczebność *Azospirillum* zależała od nawadniania, przy wzroście wilgotności gleby wartość ta wzrastała. Wapnowanie przy baraku nawożenia N i K oraz przy umiarkowanych ich dawkach zwiększało liczebność *Azospirillum* w glebie.
4. Terminy pobierania prób miały istotny wpływ na liczebność bakterii w glebie.

LITERATURA

- ČATSKA V. (1993): Fruit tree replant problem and microbial antagonism in soil. Acta Horticulture, 324: 23-34.
- DOBREINER J. (1980): Forage grasses and grain crops. [W:] BERGENSEN F.J. (red.), Methods for evaluating biological nitrogen fixation. John Wiley and Sons Ltd. Chester, New York, Toronto, 535.
- FENGLEROWA W. (1965): Simple method for counting *Azotobacter* in soil samples. Acta Mikrobiologica Polonica, 14: 203.

- GOŁĘBIEWSKA J. (1986): Mikrobiologia rolnicza. PWRiL, Warszawa.
- HOESTRA H. (1988): General remarks on replant disease. *Acta Horticulture*, 233: 11–16.
- RUTKOWSKI K., PACHOLAK K., SAWICKA A. (2000): Ocena składu mikrobiologicznego gleby. Cz. I: Liczebność bakterii. *Pr. Kom. Nauk Rol. i Kom. Nauk Leś. PTPN*, 89: 175–184.
- SCHLEGEL H.G. (1996): Mikrobiologia ogólna. PWN, Warszawa.
- SOBICZEWSKI (2000): Bakterie w służbie ochrony roślin przed chorobami. *Ochrona Roślin*, 7: 41–43.

Recenzent: Zdzisław Kawecki

Eugeniusz Pacholak, Zofia Zydlik, Aleksandra Sawicka
Katedra Sadownictwa
Akademii Rolniczej w Poznaniu

EFFECT OF FERTILIZATION AND IRRIGATION ON SOIL MICROORGANISMS IN A REPLANTED ORCHARD

II. Numbers of bacteria

Summary

The experiment was established in the Experimental Agricultural and Pomicultural Farm at Przybroda on podzolic soil. In the autumn of 1993 apple trees were dug up and after recultivation and levelling of the plots that formerly were fertilized and irrigated, apple trees of cv. Šampion with apple trees of cv. Golden Delicious as pollinators on P60 rootstock were planted in the spring of 1994 in a row system and 3.5 m × 1.5 m spacing (1900 trees/ha).

Three irrigation levels were applied in the orchard: W_0 = control without irrigation; W_1 = irrigation to maintain soil moisture level at -0.03 MPa of water potential; W_2 = irrigation to maintain soil moisture level at -0.01 MPa of water potential. The following fertilization combinations were applied within each irrigation level: (1) control = no fertilization for the past 21 years; (2) 65 kg N, (3) 65 kg N; 95 kg K_2O /ha, (4) 65 kg N; 95 kg K_2O /ha + Ca, (5) 130 kg N; 190 kg K_2O /ha, (6) 130 kg N; 190 kg K_2O /ha + Ca; (7) no fertilization; (8) no fertilization + Ca; and for microbiological evaluation, an additional combination was introduced (9) virgin soil, where fruit trees had never been grown before.

In 2000–2003, samples were taken and microbiological analyses were carried out. The sampling was done in spring and autumn. The numbers of microorganisms in the soil from the replanted orchard varied depending on the dates of sampling and on conditions of the experiment, i.e. on fertilization and irrigation. In the study period (2000–2003) the numbers of bacteria were significantly higher in the soil that had never been planted with fruit trees. The increase in soil moisture influenced the numbers of bacteria stronger than fertilization. A high soil moisture (-0.01 MPa) stimulated the development of *Azotobacter* and reduced the number of *Azospirillum*, while intensive fertilization had the opposite effect. The addition of calcium, in comparison with the same doses of fertilizers without calcium, contributed to an increase in the numbers of *Azospirillum*.