doi: 10.26114/sir.iung.2017.54.07

S T U D I A I R A P O R T Y IUNG-PIB

ZESZYT 54(8): 95-109 **2017**

Anna Gałązka, Karolina Gawryjołek, Anna Kocoń

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

LICZEBNOŚĆ DROBNOUSTROJÓW ROZPUSZCZAJĄCYCH FOSFORANY I AKTYWNOŚĆ FOSFATAZ W GLEBIE W KONTEKŚCIE STOSOWANIA PREPARATÓW MIKROBIOLOGICZNYCH*

Słowa kluczowe: preparaty mikrobiologiczne, drobnoustroje rozkładające fosforany, fosfataza kwaśna i zasadowa

Wstęp

Gleba zasiedlana jest przez różnorakie gatunki mikroorganizmów. Urodzajna gleba zawiera nawet miliardy bakterii w przeliczeniu na 1g świeżej masy gleby (15). Skład mikroorganizmów może być istotnym wyznacznikiem tempa rozkładu materii organicznej i obiegu składników pokarmowych oraz ich dostępności w glebach. Udział drobnoustrojów w kształtowaniu żyzności i zdrowotności gleby jest powszechnie znany, ponieważ to właśnie mikroorganizmy glebowe odgrywają główną rolę w mineralizacji materii organicznej, udostępnianiu roślinom składników pokarmowych, powstawaniu humusu glebowego, ograniczaniu patogenów i wielu innych procesach (5). Drobnoustroje glebowe odgrywają istotną rolę w przemianach wielu pierwiastków w przyrodzie. Mikroorganizmy biorą udział nie tylko w przemianach węgla i azotu, lecz także w przemianach fosforu, potasu, siarki i żelaza. Oddziaływanie drobnoustrojów na krążenie tych pierwiastków polega na mineralizacji związków organicznych lub na przekształcaniu związków mineralnych z form nieprzyswajalnych dla roślin w związki przyswajalne. Drobnoustroje mogą też pobierać z gleby mineralne związki fosforu, potasu, siarki i żelaza i gromadzić je w swoich komórkach (1, 7).

Ogólna zawartość fosforu w glebach jest wysoka, jednak średnie stężenie fosforu w roztworze glebowym wynosi od 0,1 do 1 μg na 1 g gleby (1, 15). Mikroorganizmy glebowe są zdolne do wykorzystywania zarówno organicznych źródeł fosforu jak też uprzystępniania trudno rozpuszczalnych związków fosforu w związki biodostępne dla roślin (8, 10). Z resztkami roślinnymi i zwierzęcymi dostają się do gleby organiczne związki fosforu, takie jak fityna, fosfolipidy i fosfoproteidy. Drobnoustroje

* Opracowanie wykonano w ramach zadania 1.4 w programie wieloletnim IUNG-PIB.

w glebie mineralizują te związki, uwalniając z nich jony fosforanowe (5, 13). Jony fosforanowe, jako rozpuszczalne w wodzie, mogą być pobierane przez drobnoustroje i rośliny. Zdolność do pobierania fosforu mineralnego w formie rozpuszczalnej jest u drobnoustrojów właściwością powszechną. Ponieważ w mikrobiologicznych procesach przemian fosforu pierwiastek ten uwalniany jest w ilościach przekraczających zapotrzebowania drobnoustrojów, znaczna jego część wykorzystywana jest przez rośliny. Podobnie przy pobieraniu fosforu z nawozów mineralnych, drobnoustroje tylko w małym stopniu konkurują z roślinami (5).

W odżywianiu roślin duże znaczenie ma też zdolność drobnoustrojów do przeprowadzania trudno rozpuszczalnych mineralnych związków fosforu np. $Ca_3(PO_4)_2$ w związki rozpuszczalne w wodzie, jak np. $Ca(H_2PO_4)_2$, $CaHPO_4$ (1, 13, 16). Takie przekształcenie mineralnych związków fosforu związane jest w dużym stopniu z wytwarzaniem kwasów organicznych w procesach fermentacji oraz z wytwarzaniem kwasu azotowego w procesie nitryfikacji i kwasu siarkowego w procesach utleniania siarki (11). Występowanie i aktywność drobnoustrojów czynnych w uruchamianiu przyswajalnego dla roślin fosforu stwierdza się, określając na pożywkach wybiórczych ich liczebność lub śledząc pojawienie się stref przejaśnienia wokół kolonii produkujących kwasy (16).

Mikroorganizmy, które najwydajniej uruchamiają fosfor z jego różnych nierozpuszczalnych związków określane skrótem PSB (*Phosphate Solubilizing Bacteria*) opisywane są często jako szczepy promujące wzrost roślin, ponieważ wiele z nich syntetyzuje takie substancje jak siderofory, auksyny, cytokininy oraz witaminy (5, 13).

Wśród bakterii PSB najczęściej izolowane są mikroorganizmy należące do rodzajów: *Bacillus, Pseudomonas, Enterobacter, Arthrobacter, Micrococcus, Aerobacter, Xanthomonas* (6, 13, 19). Populacja tych bakterii jest bardzo zróżnicowana w różnych glebach i zależy od ich właściwości abiotycznych i biotycznych.

Głównym mechanizmem rozpuszczania mineralnych związków fosforowych jest zakwaszanie środowiska poprzez wydzielane przez drobnoustroje kwasy organiczne (16). Kwasy te są jednocześnie pośrednimi produktami różnych szlaków metabolicznych. Stąd też mechanizm ten jest uważany za niespecyficzny, ponieważ zachodzi z udziałem wielu mikroorganizmów glebowych (19). Kwasy organiczne wchodzą w reakcje z trudno rozpuszczalnymi, mineralnymi związkami fosforytu tj. np. $Ca_3(PO_4)_2$.

Niskocząsteczkowe kwasy organiczne mają zdolność do wiązania wielu kationów i mogą tworzyć trwałe połączenia z Ca^{2+}, Al^{3+}, Fe^{3+}. Siła wiązania kationów uzależniona jest od ilości grup karboksylowych w cząsteczce kwasu. Kwasy hydroksy-trójkarboksylowe tworzą trwalsze kompleksy z kationami niż kwasy dwuhydroksy-dwukarboksylowe i kwasy α-hydroksy-monokarboksylowe (15). Szczepy bakteryjne należące do tego samego gatunku mogą być zróżnicowane pod względem produkcji różnych kwasów organicznych (9). Ponadto dla syntezy różnych kwasów organicznych równie istotny jak źródło węgla jest rodzaj związku fosforu w środowisku.

O biodostępności fosforu w glebie w dużej mierze decyduje synteza fosfataz. Fosfatazy odgrywają ważną rolę w glebie, ponieważ stymulują przemiany organicznych związków fosforu w nieorganiczne fosforany, bezpośrednio dostępne dla roślin i organizmów glebowych. Synteza fosfataz przez mikroorganizmy i korzenie roślin jest indukowana przy braku przyswajalnego fosforu w roztworze glebowym (20). Większość zewnątrzkomórkowych fosfataz to enzymy syntetyzowane przez mikroorganizmy. Wiadomo iż kwaśne fosfatazy wydzielane przez drobnoustroje glebowe wykazują większą aktywność w rozkładzie organicznych związków fosforu niż fosfatazy wytwarzane przez korzenie roślin.

Wraz z ciągłym rozwojem proekologicznych technologii uprawy roślin poszukuje się nowych, ekologicznych metod, których celem będzie m.in. zwiększenie żyzności gleby poprzez wzrost jej aktywności mikrobiologicznej. Efektywność tworzonych konsorcjów mikroorganizmów opiera się na działaniu odpowiednio dobranych mikroorganizmów, które mogą wspólnie rozwijać się w mieszaninach hodowlanych i są ze sobą kompatybilne fizjologicznie (5). Dlatego też w ostatnich latach w rolnictwie dużą popularnością cieszy się wykorzystanie preparatów mikrobiologicznych.

Celem prowadzonych badań była ocena efektywności działania wybranych preparatów mikrobiologicznych na liczebność drobnoustrojów rozpuszczających fosforany i aktywność fosfataz w glebie.

Materiały i metody

Preparaty mikrobiologiczne

W przeprowadzonych badaniach wykorzystano trzy najpowszechniejsze na rynku preparaty o nazwie handlowej: EM, EmFarma Plus, UGmax.

Preparat EM składa się z mikroorganizmów pochodzenia naturalnego, należących m.in. do bakterii kwasu mlekowego, bakterii fotosyntetyzujących, drożdży, promieniowców i grzybów pleśniowych. W skład preparatu EM jak podaje producent wchodzą bakterie mlekowe (*Lactobacillus casei*, *Streptococcus lactis*), bakterie fotosyntetyzujące (*Rhodopseudomonas palustris*, *Rhodobacter spae*), drożdże (*Saccharomyces albus*, *Candida utilis*), promieniowce (*Streptomyces albus*, *S. griseus*) oraz pleśnie (*Aspergillus oryzae*, *Mucor hiemalis*).

W skład preparatów mikrobiologicznych typu EmFarma Plus wchodzą natomiast bakterie kwasu mlekowego (*Lactobacillus i Bifidobacterium*), promieniowce (*Actinomycetes*), bakterie fotosyntetyzujące oraz drożdże (*Saccharomyces*). UGmax stosowany jako użyźniacz glebowy jest ekstraktem ze specjalnego kompostu i jak deklaruje producent, służy do podnoszenia urodzajności gleby. Dopuszczony on jest do stosowania we wszystkich systemach rolnictwa, w tym również w ekologicznym.

Preparaty mikrobiologiczne stosowano w dawkach wg zaleceń producenta. W przypadku preparatu EM i EmFarma Plus było to 30 l preparatu na hektar, zaś UGmax w dawce 0,9 l/ha. Wszystkie preparaty stosowano co roku, we wrześniu w rozcieńczeniu z 300 litrami wody i opryskiwano nimi: ściernisko lub ściernisko wraz z pociętą słomą pozostawioną na polu po zbiorze ziarna a także ściernisko ze

słomą z dodatkiem azotu (30 kg N). Po oprysku, zawsze tego samego dnia preparaty były przykrywane około 10 cm warstwą gleby (kompaktową broną talerzową KBT). Działanie badanych produktów porównywane było z obiektami kontrolnymi, bez stosowania ww. preparatów.

Doświadczenie polowe

Doświadczenie było zlokalizowane na terenie Rolniczego Zakładu Doświadczalnego RZD w Grabowie (52°13'N, 19°37'E), woj. mazowieckie, w warunkach eksperymentów polowych, w latach 2012-2014. Badania przeprowadzono na glebie płowej wytworzonej na glinie lekkiej, kompleksu przydatności rolniczej żytniego bardzo dobrego, gdzie przedplonem była pszenica ozima.

Doświadczenie polowe prowadzono na glebie płowej, która charakteryzowała się uregulowanym odczynem pH oraz korzystnymi zasobnościami w podstawowe makro i mikroelementy (Tab. 1).

Tabela1

Właściwości chemiczne gleby (warstwa 0-20 cm)

Gleba	pH_{KCl}	C org. %	N min. mg·kg^{-1} ś. m. gleby		Zawartość mg w 100 g gleby			Formy całkowite mg · kg^{-1} gleby					
			NH_4^+	NO_3^-	P_2O_5	K_2O	Mg	B	Cu	Fe	Zn	Mn	Mo
Glina Piaszczysta	6,8	0,70	2,9	12,3	28,5	11,3	2,6	5,6	4,5	4455	21,4	148	0,09

Źródło: Gałązka i in., 2017 (5)

Doświadczenie miało charakter statyczny i prowadzono je metodą równoważnych podbloków: split-block-split-plot, w 3 powtórzeniach na 108 poletkach, każde o powierzchni brutto 48 m^2 i powierzchni netto (do zbioru) 25,5 m^2. Roślinami doświadczalnymi we wszystkich 3 latach badań były różne gatunki zbóż: pszenżyto jare odm. Nagano, pszenica ozima odm. Figura oraz jęczmień jary odm. Kucyk. Siewy zbóż prowadzono w terminach optymalnych dla danego gatunku zboża. Zabiegi ochrony roślin prowadzono zgodnie z zaleceniami IOR, w zależności od potrzeb.

Czynniki doświadczenia

W prowadzonych badaniach zastosowano 3 czynniki badawcze. Pierwszym czynnikiem były 3 badane produkty z mikroorganizmami pożytecznymi + kontrola: EM Naturalnie Aktywny (Greenland Technologia EM Sp. z o.o.), EmFarma Plus (PrioBiotics Polska), UGmax – Użyźniacz Glebowy (P.P.H.U. BOGDAN) oraz obiekt kontrolny – bez stosowania preparatów mikrobiologicznych (4 obiekty). Drugim czynnikiem badawczym były 3 sposoby stosowania ww. produktów (trzy sposoby aplikowania preparatów): bezpośrednio na ściernisko, na ściernisko + słomę oraz na ściernisko + słomę + 30 kg N. Natomiast trzecim czynnikiem były 3 poziomy

nawożenia N, w pierwszym roku było to: 60 kg N/ha, 120 kg N/ha oraz 180 kg N/ha, a w kolejnych dwu latach (2013-14): O – kg N/ha, 70 kg N/ha oraz 140 kg N/ha. Azot w formie saletry amonowej (NH_4NO_3) stosowano na wiosnę, przy 2 poziomie nawożenia tj. NI - w dwu dawkach, natomiast przy 3 poziomie nawożenia NII – w trzech dawkach dzielonych.

Oznaczanie ogólnej liczebności drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$

Oznaczenia ogólnej liczebności drobnoustrojów wykorzystujących $Ca_3(PO_4)_2$ jako jedyne źródło fosforu określano metodą posiewu wgłębnego na płytkach Petriego na pożywce agarowej zawierającej fosforan trójwapniowy według ogólnie przyjętej metodyki (15, 18). Wyniki podano w jtk$\cdot 10^5 \cdot g^{-1}$ s.m. gleby na podstawie obserwacji stref przejaśnienia wokół kolonii bakterii spowodowanych rozpuszczeniem fosforanu wapnia.

Oznaczenie fosfataz w glebie

Badania aktywności enzymatycznej gleby opierały się na oznaczeniu aktywności fosfataz w glebie (zasadowej pH = 11,0; kwaśnej pH = 6,5). Aktywność powyższych enzymów glebowych oznaczono metodą kolorymetryczną według metodyki opisanej przez Tabatabai i Bremner (1969). Oznaczenia aktywności fosfatazy kwaśnej i zasadowej prowadzono po 1-godzinnej inkubacji próbek w temperaturze 37°C, w obecności p-nitrofenylofosforanu sodu (PNP) jako substratu. Wykonywano pomiar absorpcji uwolnionego p-nitrofenolu w czasie hydrolitycznego rozkładu soli disodowej p-nitrofenylofosforanu przy długości fali 400 nm przy użyciu spektrofotometru *Nicolet Evolution 60* (ThermoScientific). Wyniki podano w μg PNP$\cdot ml^{-1} \cdot h^{-1}$.

Opracowanie statystyczne

Uzyskane wyniki badań opracowano statystycznie, posługując się programem *Statistica* 7.1. W celu oceny istotności różnic wielu średnich zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. Celem tej analizy była weryfikacja hipotezy, że średnie w grupach są jednakowe, wobec hipotezy alternatywnej: co najmniej dwie średnie różnią się między sobą (rozkłady zmiennych były zbliżone do rozkładu normalnego). Za zmienne w analizie wariancji przyjęto: ogólną liczebność drobnoustrojów rozpuszczających fosforany, aktywność fosfatazy kwaśnej i zasadowej.

Dyskusja i wyniki

Wielu autorów podkreśla, że w warunkach polowych trudno jest uzyskać pozytywne efekty stosowania preparatów mikrobiologicznych, głównie ze względu na skomplikowane interakcje z organizmami glebowymi, oddziaływanie zmiennych warunków pogodowych i innych czynników abiotycznych (1, 7). Liczebność mikroorganizmów wprowadzanych do gleby wraz z preparatem mikrobiologicznym jest zwykle redukowana do poziomu naturalnego. Każda gleba w warunkach naturalnych zasiedlona jest przez drobnoustroje, które przystosowały się do życia w danym środowisku i skolonizowały w nim wszystkie dostępne i umożliwiające

egzystencję nisze ekologiczne (2, 3, 4). Fosfor jest usuwany ze środowiska w wyniku immobilizacji przez drobnoustroje oraz odkładania w formie organicznej i nieorganicznej w związku z sorbowaniem go przez cząstki mineralne gleby. W glebach gliniastych i torfowych ilość drobnoustrojów zdolnych do rozpuszczenia związków fosforu nieorganicznego jest 10- krotnie mniejsza niż w glebach lessowych.

W celu oceny istotności różnic wielu średnich zastosowano jednoczynnikową i dwuczynnikową analizę wariancji. Celem tej analizy była weryfikacja hipotezy, że średnie w grupach są jednakowe, wobec hipotezy alternatywnej: co najmniej dwie średnie różnią się między sobą (rozkłady zmiennych były zbliżone do rozkładu normalnego). Za zmienne w analizie wariancji przyjęto ogólną liczebność bakterii rozpuszczających fosforany oraz aktywność fosfataz w glebie (Tab. 2). Na podstawie dwuwymiarowej analizy wariancji nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy średnimi dla poszczególnych zmiennych (Tab. 2). W celu stwierdzenia, które średnie dla analizy jednoczynnikowej i dwuczynnikowej wariancji różnią się między sobą, a które są równe, zastosowano test NIR (najmniejszej istotnej różnicy) oraz test Tukeya.

Tabela 2

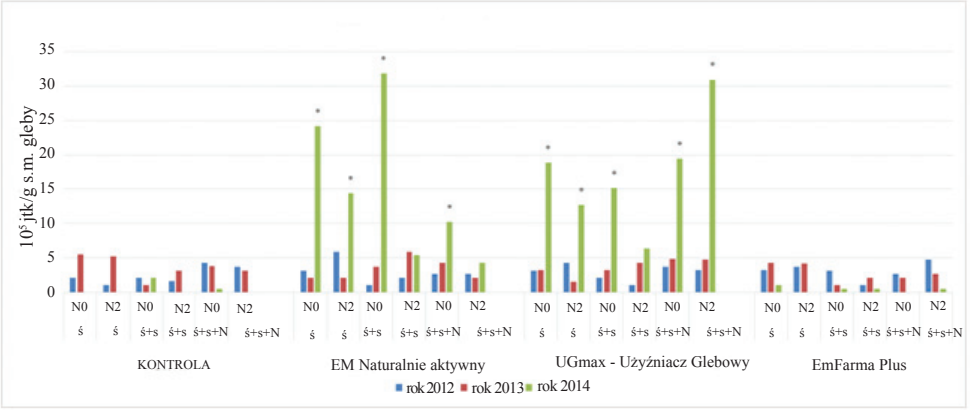
Wyniki dwuwymiarowej analizy wariancji ($\alpha \leq 0,05$) dla całego zbioru danych

Czynnik/Factor	wartość F F values	α
Preparat	104,6*	0,000*
Sposób stosowania produktu	70,0*	0,000*
Rok	35,0*	0,001*
Preparat_sposób stosowania produktu	201,5	0,979
Preparat_nawożenie NPK	104,6	0,844
Sposób stosowania produktu_ nawożenie NPK	70,0	0,912
Preparat_sposób stosowania produktu – nawożenie NPK	201,0	0,996

* zaznaczono istotne statystycznie ($\alpha \leq 0,05$) wartości F i poziomy istotności

Źródło: opracowanie własne

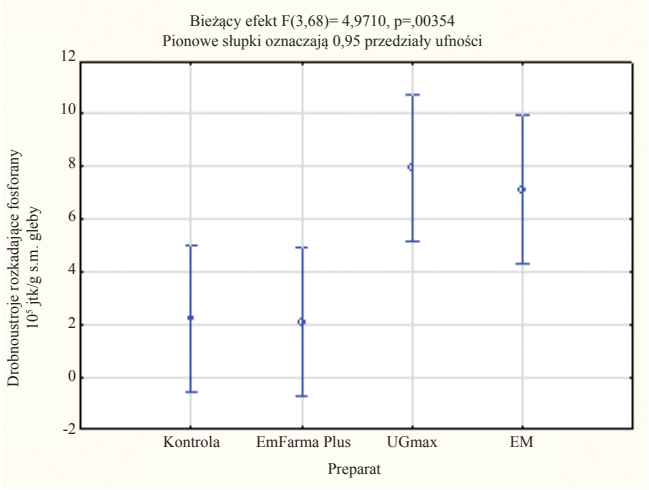
Na podstawie analiz mikrobiologicznych gleby z poszczególnych obiektów doświadczalnych stwierdzono statystycznie istotne różnice pomiędzy obiektami kontrolnymi a obiektami z zastosowanymi preparatami. Najwyższą liczebność drobnoustrojów rozpuszczających fosforany stwierdzono w ostatnim roku badań (2014) po zastosowaniu preparatu EM i UGmax (Rys. 1).

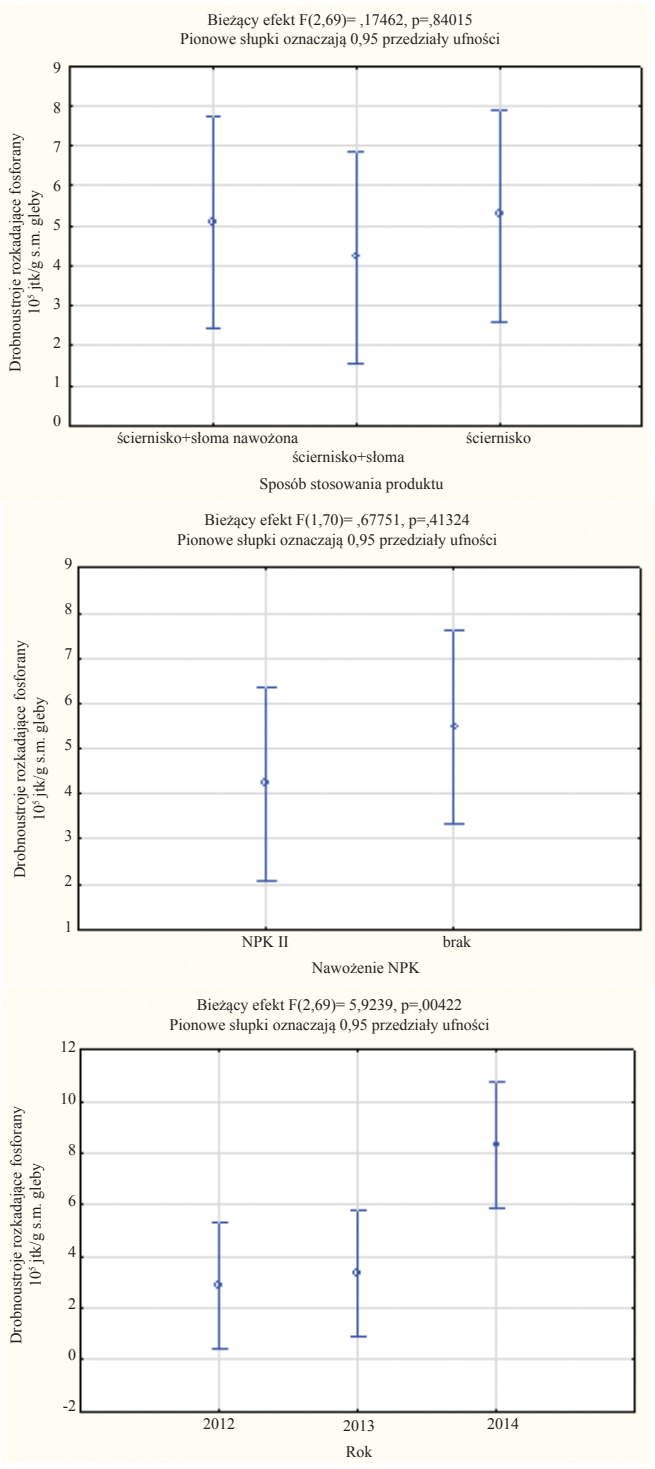


Rys. 1. Ogólna liczebność drobnoustrojów rozkładających fosforany w próbkach glebowych w latach 2012-2014

n=3; K – kontrola, EM – preparat EM, Ug – preparat UGmax, PBE – preparat ProBioEMy: ś – ściernisko; ś+s- ściernisko i słoma; ś+s+N – ściernisko, słoma i nawożenie; N0 – brak nawożenia; N2 – II dawka NPK

Źródło: opracowanie własne





Rys. 2. Jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA dla grup: rok, preparat, sposób stosowania preparatu oraz nawożenie NPK dla $\alpha \leq 0,05$

Źródło: opracowanie własne

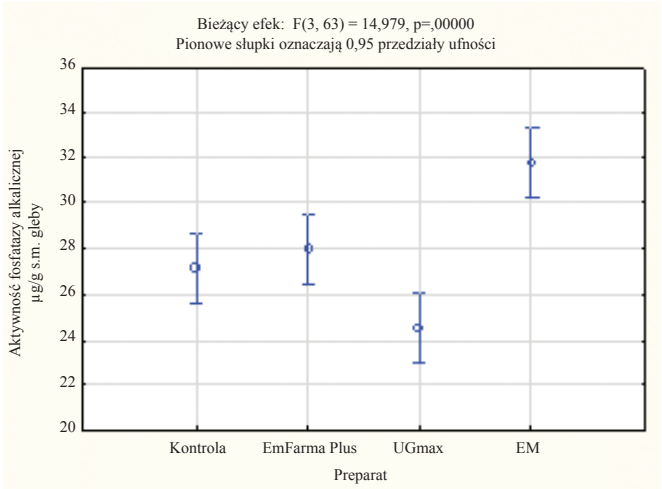
Średnie liczebności drobnoustrojów rozpuszczających fosforany (PSB) w glebie po zastosowaniu preparatu EM i UGmax w roku 2014 różniły się istotnie statystycznie od pozostałych średnich (Rys.2). Nie stwierdzono ponadto istotnego wpływu sposobu stosowania (aplikowania) preparatu i nawożenia na liczebność drobnoustrojów PSB.

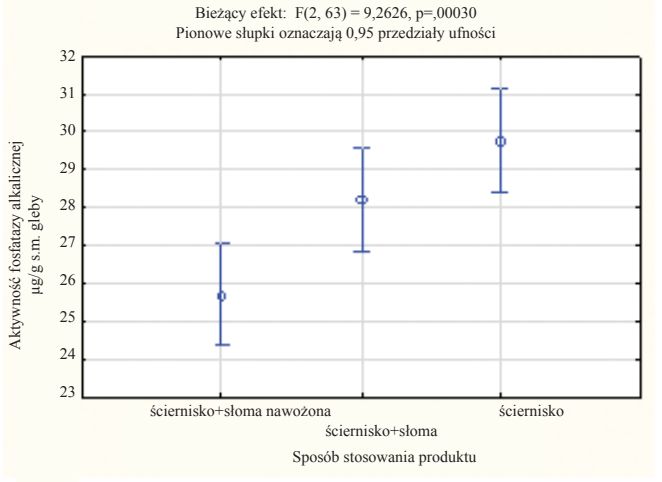
Większość szczepów bakteryjnych uwalnia więcej fosforu z $Ca_3(PO_4)_2$ niż przy rozpuszczaniu $AlPO_4$ i $FePO_4$ (17, 19). Z badań Rodrigez i Fraga (1999) wynika, iż w płynie pohodowlanym szczepu *Pseudomonas fluorescens* oznaczono znacznie większą pulę fosforu (100mg/l) uwolnionego z fosforanu wapnia niż w podłożach z fosforanem glinu i fosforanem żelaza (odpowiednio 92 i 51 mg P/l). Dużą grupę bakterii PSB stanowią bakterie z rodzaju *Bacillus* (*B. megaterium, B. circulans, B. subtilis, B. polymyxa*) (7, 12, 13). Bakterie z rodzaju *Bacillus* w niekorzystnych warunkach wzrostu i rozwoju (mróz, susza) są zdolne do wytwarzania przetrwalników. Stąd też wyselekcjonowanie takich bakterii i wprowadzenie ich do gleby w postaci szczepionki może prowadzić do zwiększenia populacji bakterii PSB w kolejnym sezonie wegetacyjnym nawet po okresie niekorzystnych temperatur (5).

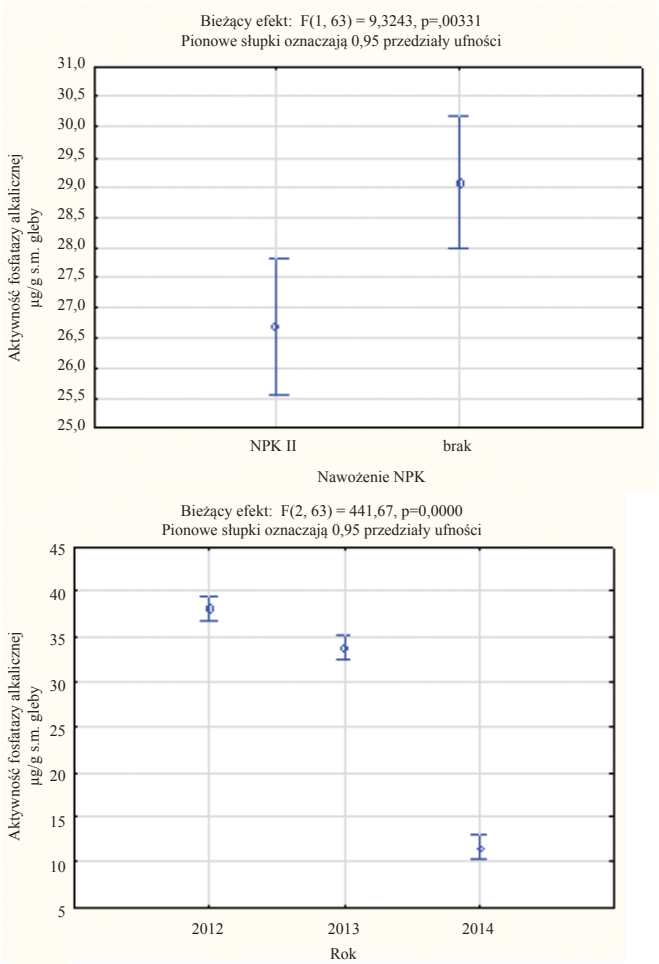
Znane są również tzw. szczepionki mobilizujące, w których zawarte mikroorganizmy zdolne są do mineralizacji organicznych połączeń fosforu (1). Przykładem takiej szczepionki jest fosfobakteryna zawierająca bakterie *Bacillus megaterium* (15). Bakterie te dodatkowo wykorzystują połączenia organiczne fosforu, oddając do środowiska fosforany nieorganiczne. Innym przykładem szczepionki tego typu jest szczepionka zawierająca *Pseudomonias pulidas* (17). W zależności od warunków siedliskowych jak też i specyfiki samego mikroorganizmu rozróżniamy zarówno szczepy zdolne do większej lub mniejszej aktywności immobilizacyjnej fosforu.

Drobnoustroje rozpuszczające fosfor nieorganiczny są bardzo ważnym czynnikiem w biologicznej immobilizacji przyswajalnego fosforu glebowego, ponadto mogą chronić niektóre formy P przed długotrwałym wiązaniem przez części mineralne gleb (15). Czynniki środowiska, takie jak: pH, zawartość składników pokarmowych i materii organicznej, istotnie wpływają na tempo rozpuszczania i ilość rozpuszczanych składników.

Oznaczanie aktywności fosfataz w warunkach niekorzystnych dla aktywności życiowej mikroorganizmów odgrywa istotną rolę w ocenie stopnia mineralizacji materii organicznej (7, 15). Aktywność fosfataz w środowisku glebowym odzwierciedla aktywność enzymów związanych z koloidami glebowymi i substancjami humusowymi, wolnymi fosfatazami w roztworze glebowym oraz fosfatazami związanymi z żywymi i martwymi komórkami roślin. Jednak głównym źródłem fosfataz w środowisku glebowym są przede wszystkim mikroorganizmy glebowe, a także korzenie roślin i fauna glebowa. Fosfatazy mogą być dobrym wskaźnikiem potencjału mineralizacji fosforu organicznego oraz aktywności biologicznej gleby (2, 3).


Bieżący efek: F(3, 63) = 14,979, p=,00000
Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności
Aktywność fosfatazy alkalicznej µg/g s.m. gleby
36
34
32
30
28
26
24
22
20
Kontrola
EmFarma Plus
UGmax
EM
Preparat

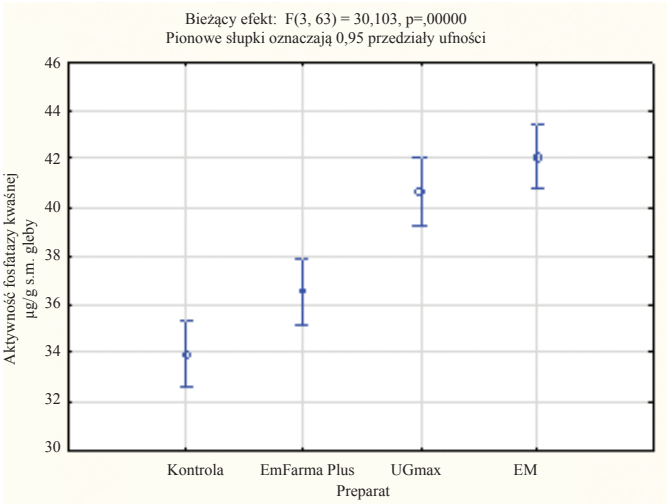

Bieżący efekt: F(2, 63) = 9,2626, p=,00030
Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności
Aktywność fosfatazy alkalicznej µg/g s.m. gleby
32
31
30
29
28
27
26
25
24
23
ściernisko+słoma nawożona
ściernisko+słoma
ściernisko
Sposób stosowania produktu

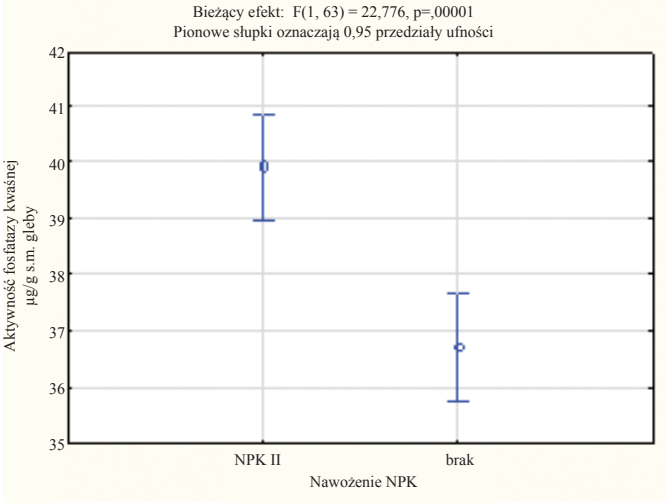


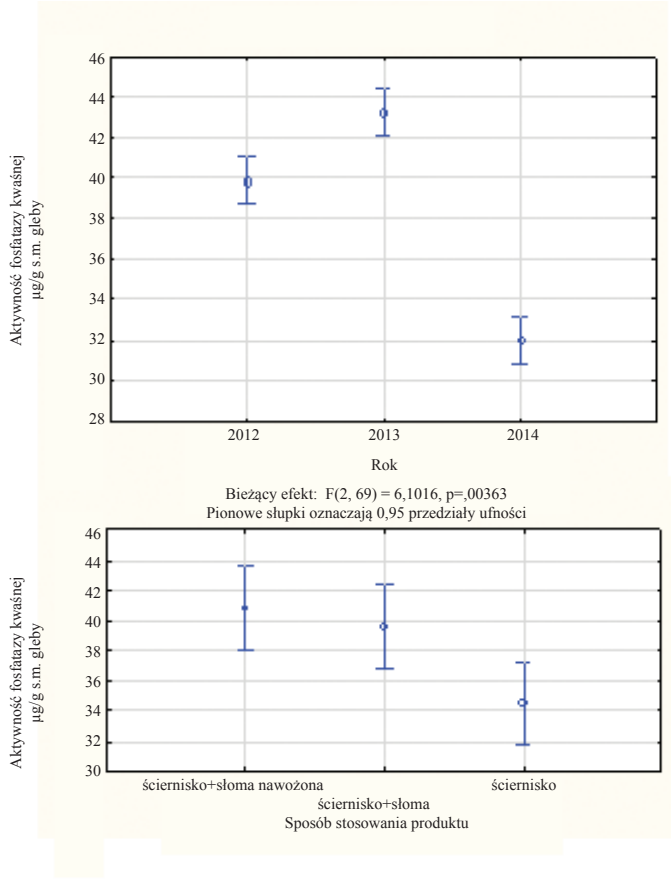
Rys. 3. Jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA dla grup: rok, preparat, sposób stosowania preparatu oraz nawożenie NPK dla $\alpha \leq 0,05$

Źródło: opracowanie własne

Najwyższą aktywność fosfatazy alkalicznej stwierdzono w pierwszym roku badań (2012), natomiast najniższą w ostatnim roku badań (2014); (Rys. 3). Stwierdzono statystycznie istotny spadek aktywności fosfatazy alkalicznej w każdym kolejnym roku badań. Ponadto nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływ zarówno zastosowanego preparatu, sposobu jego dozowania oraz nawożenia na zmiany aktywności fosfatazy alkalicznej w badanych próbkach glebowych.


Bieżący efekt: F(3, 63) = 30,103, p=,00000
Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności
Aktywność fosfatazy kwaśnej µg/g s.m. gleby
46
44
42
40
38
36
34
32
30
Kontrola
EmFarma Plus
UGmax
EM
Preparat


Bieżący efekt: F(1, 63) = 22,776, p=,00001
Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności
Aktywność fosfatazy kwaśnej µg/g s.m. gleby
42
41
40
39
38
37
36
35
NPK II
brak
Nawożenie NPK



Rys. 4. Jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA dla grup: rok, preparat, sposób stosowania preparatu oraz nawożenie NPK dla $\alpha \leq 0{,}05$

Źródło: opracowanie własne

Natomiast w przypadku oznaczeń aktywności fosfatazy kwaśnej stwierdzono statystycznie istotny wpływ zarówno zastosowanego preparatu, sposobu jego za dozowania oraz roku badań na poziom aktywności badanego enzymu. Najwyższą aktywność fosfatazy kwaśnej stwierdzono w pierwszym i drugim roku badań po zastosowaniu preparatu EM i UGmax. Istotnie statystycznie na poziom aktywności fosfatazy kwaśnej wpłynął także sposób stosowania preparatu oraz poziom nawożenia.

Duża intensywność mineralizacji fosforu organicznego ma miejsce w glebach kwaśnych (1). Mineralizacja organicznych związków fosforu zależy od ilości tego pierwiastka w materii organicznej i aktywności enzymów – fosfataz drobnoustrojów. Wiele drobnoustrojów jest zdolnych do rozpuszczania nieorganicznych związków fosforu w glebie (19), w ryzosferze roślin uprawnych (1), i innych gatunkach roślin (14).

Brak dostępności fosforu może być czynnikiem ograniczającym rozwój roślin w wielu lądowych ekosystemach. Ponieważ rośliny wykorzystują jedynie fosfor nieorganiczny, mineralizacja organicznych związków fosforu ma duże znaczenie w rolnictwie i ekonomii. Wprowadzenie do gleby nawozów mineralnych powoduje przejściowy wzrost ilości biodostępnej formy fosforu (jonów: HPO_4^{-2} i $H_2PO_4^{-}$), które są ponownie wiązane przez kationy glebowe (tzw. uwstecznianie fosforu) (7). Wysoce reaktywne aniony fosforanowe w zależności od odczynu gleby mogą przejść w formy nierozpuszczalne. W glebie o pH bliskim neutralnego obie formy jonów ortofosforanowych występują w roztworze glebowym w równej ilości, a w glebie o pH 8 proporcje te się zmieniają i 80 % biodostępnej formy P stanowi HPO_4^{-2}. W roztworze glebowym o pH 4-6 anion H_2PO_4 − stanowi około 100% puli biodostępnego P (10). W glebach kwaśnych większość anionów fosforanowych reaguje z tlenkami i hydroksytlenkami Fe i Al tworząc w procesach strącania i/lub sorpcji trudno rozpuszczalne połączenia P. W glebach zasadowych (pH powyżej 6,5) dominują fosforany wapnia, związki średnio dostępne dla roślin (17).

Dla rolnictwa najważniejsza jest żyzność gleby, czyli zawartość składników zaspokajających życiowe potrzeby roślin. Najczęściej, jeżeli struktura gospodarstwa na to pozwala, stosuje się dobrze przefermentowany obornik, który ma ogromne znaczenie w podniesieniu żyzności gleby i zdrowotności roślin. Łodygi, liście i korzenie stanowią bogate źródło materii organicznej, zasobnej w składniki pokarmowe, które powracają do gleby i będą mogły być wykorzystane przez rośliny następcze. Jednak ich wadą jest szeroki stosunek C:N i wobec tego mineralizację warunkuje dostarczenie do gleby azotu, który można podać w formie mineralnej lub naturalnej, np. nawożąc gnojowicą.

Literatura

1. Chung M.P., Munusamy M., Sundaram S., Jaekyeong S., Hyunsuk C., Tongmin S.: Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. 2005, Soil Biol. Biochem. **37**: 1970-1974.
2. Gałązka A., Kocoń A.: Ocena efektywności działania preparatów z mikroorganizmami pożytecznymi na aktywność enzymatyczną gleb. 2015, Studia i Raporty IUNG: **45**(19): 143-154.
3. Gałązka A., Kocoń A.: Wpływ preparatów z mikroorganizmami pożytecznymi na liczebność i biomasę mikrobiologiczną gleb. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2015, **45**(19): 127-142, 2015.
4. Kocoń A., Gałązka A.: Wpływ preparatów z mikroorganizmami pożytecznymi na właściwości fizykochemiczne i plon roślin. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2015, **45**(19): 113-125.
5. Gałązka A., Gawryjołek K., Kocoń A. The effect of same microbial products on basic biological activities of soil under cereals crop. Plant Soil Environment, 2017, **63(3),** 111-116.
6. Hariprasad P., Niranjana S.R.: Isolation and characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve plant health of tomato. 2009, Plant Soil, **316**: 13-24.
7. Hilda R., Fraga R.: Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. 2000, Biotechnol. Adv. **17**: 319-359.
8. Katzenelson H., Bose B.: Metabolic activity and phosphate dissolving ability of bacterial isolates from wheat roots rhizosphere and non-rhizosphere soil. 1959, Can. J. Microbiol. **5**: 79-85.
9. Kumar A., Bhargava P., Rai L.C.: Isolation and molecular characterization of phosphate solubilizing *Enterobacter* and *Exiguobacterium* species from paddy fields of Eastern Uttar Pradesh, India. 2010, Afr. J. Microbiol. Res. **4(9)**: 820-829.

10. Lis-Krzyścin A., Ostrowska J., Wacławska I.: Rozpuszczanie fosforu nieorganicznego w zróżnicowanych warunkach aktywności biologicznej gleby. Acta Scientarum Polonorum Hortorum Cultus, 2003, **2(2)**: 101-108.
11. Nautiyal C.S.: An efficient microbiological growth medium for screening phosphate-solubilizing microorganisms. FEMS Microbiol. Lett., 1999, **170**: 265-270.
12. Panhwar O.A., Othman R., Rahman Z.A., Meo S.,Mohd R.I.: Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from aerobic rice. African J. Biotech., 2012, **11**(11): 2711-2719.
13. Panhwar Q.A., Naher U.A., Jusop S.., Othman R., Latif M.A.: Biochemical and Molecular Characterization of Potential Phosphate-Solubilizing Bacteria in Acid Sulfate Soils and Their Beneficial Effects on Rice Growth. 2014, PLoS ONE 9(10): e97241. doi:10.1371/journal. pone.0097241.
14. Parasanna A., Deepa V., Balakirashna Murthy P., Deecaraman M., Sridhar R., Dhandapani P.: Insoluble phosphate solubilization by bacterial strains isolated form rice rhizosphere soils from southern India. Int. J. Soil Sci., 2011, **6**(2): 134-141.
15. Paul E.A., Clark, F.E.: Mikrobiologia i biochemia gleb. Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie - Skłodowskiej, Lublin, 2000.
16. Pikovskaya R.I.: Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. 1948, Microbiologiya, **17**: 362- 370.
17. Pikowska R.J.: Mobilizacja fosfatov w poczvie w swiazi s zizniediejatielnostju niekotorych vidov mikrobov. Mikrobiologia, 1948, **5(17)**: 362-371.
18. Reyes I., Valery A., Valduz Z.: Phosphate-solubilizing microorganisms isolated from rhizospheric and bulk soils of colonizer plants at an abandoned rock phosphate mine. Plant Soil, 2006, **287**: 69-75.
19. Rodina A.: Mikrobiologiczne metody badania wód. Warszawa, 1968, ss. 368.
20. Rodriguez H., Fraga R.: Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnol. Adv., 1999, **17**(4-5): 319-339.
21. Tabatabai M.A., Bremner J.M.: Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil Biol. Biochem., 1969, **1**: 301-307.

Adres do korespondencji:

dr Anna Gałązka
Zakład Mikrobiologii Rolniczej
IUNG-PIB
ul. Krańcowa 8, 24-100 Puławy
tel. 81 47 86 950
e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl