Postępy nauk rolniczych

Polska Akademia Nauk
Wydział Nauk
Rolniczych, Leśnych
i Weterynaryjnych

5/2007

Dwumiesięcznik
nr 330 rok 59

Rada Redakcyjna
A. Grzywacz (przewodniczący),
Z. Gertych, J. Haman, T. Krzymowski, J.J. Lipa
A. Rutkowski, F. Tomczak, M. Truszczyński, J. Wilkin

Redakcja
A. Horubała (redaktor naczelny),
J. Buliński, T. Brandyk, A. Gawrońska-Kulesza, W. Kamiński,
J. Zimny, T. Żebrowska,
R. Suska (sekretarz redakcji)

Adres Redakcji
00-901 Warszawa, Pałac Kultury i Nauki, pokój 2102
tel. 826-05-87, 656-60-17
e-mail: Wydzial5@pan.pl

Wydanie publikacji dofinansowane przez Mimisterstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Opracowanie redakcyjne, korekta i skład — Danuta Borecka

PL ISSN 0032-5547

Nakład 200 egz. Ark. wyd. 9,75. Ark. druk. 8,25.
Skład — DABOR 02-795 Warszawa ul. Kazury 22/27,
tel. 0 22 649-18-99, 600-37-29-29
Druk — Warszawska Drukarnia Naukowa PAN,
00-656 Warszawa ul. Śniadeckich 8, tel./faks 0 22 628 87 77

Postępy Nauk Rolniczych nr 5/2007: 3–19

Oszacowanie rozpraszania azotu z rolnictwa polskiego do atmosfery oraz wód powierzchniowych i gruntowych

Tomasz Sosulski, Jan Łabętowicz
Zakład Chemii Rolniczej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
ul. Nowoursynowska 159, 02-686 Warszawa
e-mail: tomasz_sosulski@sggw.pl

Słowa kluczowe: rozproszenie azotu, bilans azotu, rolnicza przestrzeń produkcyjna

Wstęp

Azot w towarowych gospodarstwach rolniczych pochodzi głównie ze źródeł zewnętrznych. Według Majewskiego i in. [27] aż 60–70% całkowitej ilości N dostarczanej do gospodarstwa trafia w postaci nawozów mineralnych, a tylko 10–15% w postaci pasz przemysłowych. Według danych z literaturowy wykorzystanie azotu przez rośliny uprawne waha się od 50 do 70% dawki N w nawozach mineralnych [33]. Natomiast wykorzystanie N w produkcji zwierzęcej jest znacznie mniejsze i nie przekracza 15–20%. Azot niewykorzystany w produkcji zwierzęcej trafia w postaci nawozów naturalnych do produkcji roślinnej. Przy czym, o ilości azotu, jaka ponownie włączana jest do produkcji rolniczej decyduje technologia usuwania odchodów stałych i płynnych z budynków inwentarskich, a przede wszystkim sposób ich przechowywania i stosowania na polach uprawnych. Bowiem na każdym z tych etapów recyklingu azotu w gospodarstwie dochodzi do strat tego składnika, będących następstwem procesów biochemicznych i fizycznych. W praktyce rolniczej należy dążyć do maksymalnego wykorzystania azotu w produkcji roślinnej i zwierzęcej. Niepobrane przez rośliny związki azotu wprowadzane do gleby w nawozach mineralnych i naturalnych podlegają w glebie procesom mikrobiologicznym, chemicznym i fizycznym. Część tych procesów prowadzi do rozproszenia azotu z rolnictwa do środowiska naturalnego [14]. Oznacza to, że rozproszenie azotu z rolniczej przestrzeni produkcyjnej zachodzi na różnych etapach produkcji roślinnej i zwierzęcej powodując obszarowe i punktowe skażenia różnych elementów środowiska przyrodniczego.

Zgodnie z zasadami opracowanymi w Agendzie 2000 Polska została zobligowana do przyjęcia przepisów prawnych i dostosowania systemu administracyjnego do wymogów zawartych w Dyrektywie Azotanowej 91/676 EWG z dn. 12 grudnia 1991. Dyrektywa Azotanowa dotyczy ochrony wód przed zanieczyszczeniem azotanami pochodzących ze źródeł rolniczych. W dokumencie tym zostały sprecyzowane obowiązki państw członkowskich Unii Europejskiej w zakresie monitorowania zawartości azotanów w wodach gruntowych i powierzchniowych, wyznaczenia stref wrażliwych na zanieczyszczenie wód azotanami i opracowania planów działań agrotechnicznych dla tych stref, a także opracowania zaleceń agrotechnicznych w ramach kodeksu dobrych praktyk rolniczych. Dodatkowo dyrektywa narzuca na państwa członkowskie Unii Europejskiej obowiązek monitorowania realizacji wyznaczonych zadań. Realizacja postanowień Dyrektywy azotanowej w Polsce ma wymiar legislacyjny i edukacyjno-informacyjny. Najważniejszymi aktami prawnymi regulującymi zagadnienia w zakresie ograniczenia zanieczyszczenia wód azotem są: Ustawa z dn. 26 lipca 2000 r. o nawozach i nawożeniu, Ustawa z 16 marca 2001 r. o rolnictwie ekologicznym, Ustawa z dn. 27 kwietnia 2001 r. Prawo ochrony środowiska, Ustawa Prawo wodne z dn. 18 lipca 2001 r., Ustawa z dn. 20 lipca 1991 r. o Inspekcji Ochrony Środowiska, Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 1 czerwca 2001 r. dotyczące szczegółowych metod stosowania nawozów i prowadzenia szkoleń z zakresu ich stosowania, Rozporządzenie Ministra Środowiska z dn. 23 grudnia 2002 r. w sprawie kryteriów wyznaczania wód wrażliwych na zanieczyszczenie związkami azotu ze źródeł rolniczych, Rozporządzenie Ministra Środowiska z dn. 23 grudnia 2002 r. w sprawie szczegółowych wymagań, jakim powinny odpowiadać programy działań mających na celu ograniczenie odpływu azotu ze źródeł rolniczych, Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 1 czerwca 2001 r. w sprawie wykonania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu [69].

Głównym celem niniejszej pracy jest ocena skali rozpraszania azotu z rolnictwa polskiego na różnych etapach produkcji rolniczej oraz określenie czynników mających wpływ na zwiększenie lub zmniejszenie rozpraszania azotu do środowiska przyrodniczego.

Rozproszenie azotu do atmosfery w formie amoniaku

Rozpraszanie azotu z rolnictwa do środowiska jest wynikiem ulatniania amoniaku i gazowych produktów denitryfikacji, wymywania azotanów i spływu powierzchniowego [36]. Szacuje się, że na świecie w wyniku działalności człowieka do atmosfery emitowane jest ok. 62 mln t $N–NH_3$ rocznie. Około połowa tej ilości uwalniana jest z obszarów rolniczych. Największą emisję amoniaku w Polsce notowano w latach osiemdziesiątych – ok. 500 tys. t $N–NH_3$ rocznie [7]. Od początku lat dziewięćdziesiątych ilość amoniaku emitowanego z rolnictwa polskiego stale się zmniejsza. Według Sapka i in. [52] emisja amoniaku z obszarów rolniczych w 1996 r. wynosiła ok. 323 tys. ton $N–NH_3$, a w 2000 r. ok. 300 tys. W literaturze panuje pogląd, że udział

produkcji zwierzęcej w emisji amoniaku z obszarów rolniczych wynosi 75%, a produkcji roślinnej tylko 25% [38, 46]. Tak duży udział produkcji zwierzęcej w emisji NH_3 jest spowodowany tym, że gaz ten emitowany jest na wszystkich etapach zagospodarowania odchodów zwierzęcych [28]. Według Marcinkowskiego [28] ulatnianie amoniaku w produkcji zwierzęcej ma miejsce już w oborze. Wielkość strat azotu w postaci amoniaku jest uzależniona od sposobu zagospodarowania odchodów, konstrukcji budynków, zawartości azotu w paszy oraz warunków atmosferycznych i może sięgać nawet 10% ogólnej ilości azotu w odchodach. Znacznie większą ilość amoniaku traci się z masy obornika w trakcie jego przechowywania, może ona wynieść nawet 50% N [24]. Przy poprawnym przechowywaniu obornika na pryzmie w okresie sześciu miesięcy straty azotu nie przekraczają jednak 20–30% [38, 41]. Ostatnim etapem, w którym dochodzi do ulatniania się amoniaku z obornika jest jego stosowanie na polach uprawnych. Przy czym natychmiastowe przyoranie rozrzuconego obornika znacznie ogranicza ulatnianie NH_3. Pozostawienie obornika na polu na jeden dzień bez przyorania powoduje obniżenie jego wartości nawozowej o 20–30%, a przez dwa dni o ok. 20–45% [28, 29]. Pogląd taki potwierdzają w dużej mierze wyniki badań przeprowadzonych przez Shepherda [56]. Jednak wg cytowanego autora straty azotu ze stałych nawozów naturalnych są skutkiem ulatniania się znacznych ilości NH_3 tylko w jesiennym terminie nawożenia. Natomiast przy wiosennym terminie stosowania nawozu, udział NH_3 w ogólnych stratach azotu jest bardzo mały. Straty azotu z gnojowicy są niemal całkowicie związane z ulatnianiem się amoniaku [56]. Dowodzi to, że w Polsce obszarami rolniczymi, z których uwalniane są znaczne ilości amoniaku są rejony z intensywną, a zwłaszcza z przemysłową produkcją zwierzęcą. Wyniki badań przeprowadzonych przez Pietrzaka [40, 41] w gospodarstwach rolniczych prowadzących intensywną produkcją zwierzęcą wskazują, że emisja NH_3 wynosi 23–24 kg $N–NH_3 \cdot ha^{-1}$ rocznie. Natomiast Marcinkowski [29] podaje, że średnia dobowa emisja amoniaku z pryzmy obornika wynosi ok. 25 g $N–NH_3$ od 1 DJP (dużej jednostki przeliczeniowej) bydła i ok. 20 g $N–NH_3$ od 1 DJP trzody chlewnej. Oznacza to, że emisja amoniaku związana z chowem 1 DJP bydła w ciągu 1 roku wynosi ok. 9 kg $N–NH_3$, a 1 DJP trzody chlewnej ok. 7 kg $N–NH_3$. Do kalkulacji emisji amoniaku z produkcji zwierzęcej powszechnie wykorzystywane są współczynniki modelu RAINS. W modelu tym każdej kategorii zwierząt gospodarskich przypisany jest zakres wartości współczynników przeliczeniowych. Wybór właściwej wartości współczynnika musi być poprzedzony wnikliwą analizą wpływu czynników kształtujących poziom emisji amoniaku. Dla poprawnego określenia poziomu emisji NH_3 z produkcji rolniczej w Polsce bardziej przydatne mogą być współczynniki emisji (tab. 1) opracowane w naszych warunkach przez IMUZ [46]. W uzupełnieniu należy nadmienić, że wartości współczynników emisji opracowane przez IMUZ przeważnie mieszczą się w zakresach liczbowych modelu RAINS. W tabeli 1 przedstawiono wielkość emisji NH_3 z produkcji zwierzęcej w Polsce w 2004 r. W celu oszacowania aktualnej emisji amoniaku wykorzystano dane o stanie pogłowia zwierząt z Rocznika Statystycznego GUS.

Tabela 1. Współczynniki emisji amoniaku IMUZ (kg zwierzę), pogłowie zwierząt hodowlanych w Polsce w 2005 r. i emisja amoniaku z produkcji zwierzęcej w Polsce w 2005 r. [tys. t]

Zwierzę	Współczynniki emisji amoniaku IMUZ [kg zwierzę]	Pogłowie zwierząt [tys. sztuk]	Emisja amoniaku [tys. t]
Krowy mleczne	27,8	2800,9	77,9
Inne bydło	12,5	2583,0	32,3
Trzoda chlewna	5,1	18711,3	95,4
Owce	1,9	317,0	0,06
Drób	0,26	130289,0	33,9
Konie	12,5	—	—
Razem emisja			**240,1**

W celu porównania skali emisji amoniaku z produkcji zwierzęcej w Polsce i w innych krajach Europy przeprowadzono obliczenia wykorzystując dane statystyczne dotyczące pogłowia zwierząt w wybranych krajach europejskich w 2004 r. pochodzących z bazy danych EUROSTAT [68] oraz współczynniki modelu RAINS. Z danych zamieszczonych w tabeli 2 wynika, że w większości krajów Wspólnoty Europejskiej w toku produkcji zwierzęcej uwalniane jest znacznie mniej amoniaku niż w Polsce. Wynika to oczywiście ze znacznie mniejszej liczebności stad hodowlanych w tych krajach. W Danii, Holandii, Irlandii z produkcji zwierzęcej uwalniane jest o ok. połowę mniej amoniaku niż w Polsce. W Wielkiej Brytanii, Hiszpanii i we Włoszech poziom emisji NH_3 z produkcji zwierzęcej utrzymuje się na podobnym poziomie jak w Polsce. Jedynie w Niemczech i Francji z produkcji zwierzęcej emitowane jest więcej amoniaku niż w Polsce.

Jak już nadmieniono produkcja zwierzęca jest głównym źródłem NH_3 z rolniczej przestrzeni produkcyjnej. Znacznie mniej amoniaku uwalniane jest z gleb pól uprawnych. Emisja amoniaku z produkcji roślinnej (w warunkach bez nawozów naturalnych) waha się w granicach 2–6 kg · ha^{-1} rocznie. O intensywności tego procesu decyduje przede wszystkim dawka nawozu azotowego i jego forma. W modelu RAINS przyjęto, że największe straty azotu w postaci amoniaku występują po zastosowaniu siarczanu amonowego, mniejsze po zastosowaniu mocznika i saletry amonowej, fosforanu amonowego, a najmniejsze po zastosowaniu saletrzaka i nawozów wieloskładnikowych. Przyjmując za Gonetem i in. [13], że emisja $N–NH_3$ z pól uprawnych wynosi przeciętnie 3 kg N · ha^{-1} rocznie można względnie poprawnie oszacować wielkość emisji amoniaku z gleb użytków rolnych w Polsce i innych krajach Wspólnoty Europejskiej (tab. 3). W wyliczeniach tych przyjęto taki sam poziom jednostkowej emisji amoniaku z gleb użytków rolnych, pomimo nawet znacznego zróżnicowania warunków glebowych, meteorologicznych i niejednokrotnie znacznie większego poziomu nawożenia w krajach UE niż w Polsce. Można bowiem założyć, że przy zastosowaniu znacznie większych dawek nawozów azotowych w krajach zachodnich uzyskiwane są większe plony roślin, lepiej wykorzystujących azot przy wyższym poziomie agrotechniki.

Tabela 2. Współczynniki emisji amoniaku RAINS [kg na 1 zwierzę], pogłowie zwierząt [1000 szt.] w krajach UE w 2004 r. (liczby podane w nawiasach) i emisja amoniaku z produkcji zwierzęcej w krajach UE w 2004 r. [tys. t]

Zwierzę	Krowy	Inne bydło	Świnie	Owce	Kury
Współczynnik emisji RAINS	24,0–35,5	12,4–14,8	4,2–5,3	0,18	0,32
Austria	(799,5) 19,2–28	(1251,5) 15,5–18,5	(3125,2) 13,1–16,6	—	(5159,4) 1,7
Belgia	(1073,1) 25,8–37,6	(1583,8) 19,6–23,4	(6318,7) 26,5–33,5		(11822,9) 3,8
Cypr	(26,1) 0,6–0,9	(34,2) 0,4–0,5	(470,5) 2–2,5		
Czech	(565,3) 13,6–19,8	(802,3) 9,9–11,9	(2915) 12,2–15,4		
Dania	(671) 16,1–23,5	(945) 11,7–14	(13407) 56,3–71,1		(3701) 1,2
Niemcy	(5017,1) 120,4–175,6	(8014,2) 99,4–118,6	(26334,8) 110,6–139,6	(2697) 0,5	(45175) 14,5
Estonia	(119,2) 2,9–4,2	(130,6) 1,6–1,9	(353,7) 1,5–1,9		
Finlandia	(349,5) 8,4–12,2	(601,5) 7,5–8,9	(1435) 6–7,6		(3175) 1,0
Grecja(	284) 6,8–9,9	(356) 4,4–5,3	(994) 4,2–5,3		(14425,2) 4,6
Hiszpania	(3050,5) 73,2–106,8	(3602,6) 44,7–53,3	(24895) 104,6–131,9		(57110,8) 18,3
Holandia	(1590) 38,2–55,7	(2169) 26,9–32,1	(11140) 46,8–59		
Francja	(7949) 190,8–278,2	(10999) 136,4–162,8	(15168) 63,7–80,4		(62175) 19,9
Irlandia	(2272,6) 54,4–79,5	(3938,9) 48,8–58,3	(1757,6) 7,4–9,3	(6777,2) 1,2	(3448) 1,1
Łotwa	(190,8) 4,6–6,7	(180,3) 2,2–2,7	(435,7) 1,8–2,3	(39,3) 0,01	
Litwa	(439,5) 10,5–15,4	(352,5) 4,4–5,2	(1073,3) 4,5–5,7		(3964,8) 1,3
Luksemburg	(71,1) 1,7–2,5	(113,2) 1,4–1,7	(77,1) 0,3–0,4		
Malta	(7,8) 0,2–0,3	(11,6) 0,1–0,2	(76,9) 0,3–0,4		(420) 0,1
Polska	(2800,9) 77,9	(2583,0) 32,3	(18711,3) 95,4	(317,0) 0,6	(130289,0) 33,9
Portugalia	(721,2) 17,3–25,2	(721,5) 8,9–10,7	(2347,9) 9,9–12,4		(8129) 2,6
Słowacja	(231,9) 5,6–6,1	(308,2) 3,8–4,6	(1149,3) 4,8–6,1		
Słowenia	(182,1) 4,4–6,4	(269) 3,3–4	(534) 2,2–2,8		
Szwecja	(562) 13,5–19,7	(989,6) 12,3–14,6	(1920,4) 8,1–10,2	(465) 0,1	(4497,7) 1,4
Węgry	(345) 8,3–12,1	(378) 4,7–5,6	(4059) 17–21,5		
Wielka Brytania	(3885,1) 93,2–136	(6540) 81,1–96,8	(4787,4) 20,1–25,4		(45000) 14,4
Włochy	(2290) 55–80,2	(4225) 52,4–62,5	(8971,8) 37,7–47,6		(58710) 18,8

Tabela 3. Szacunkowa emisja amoniaku z rolniczej przestrzeni produkcyjnej w krajach Unii Europejskiej w 2004 r. (wg danych EUROSTAT)

Kraj	Emisja NH_3 z gleb użytków rolnych [tys. t $N–NH_3$]	Emisja z produkcji zwierzęcej [tys. t N]
Austria	4,1	49,5–64,8
Belgia	2,5	75,7–98,3
Cypr	0,3	3–3,9
Czech	8,2	35,7–47,1
Dania	7,4	85,3–109,8
Niemcy	**35,7**	**345,4–448,8**
Estonia	1,5	6–8
Finlandia	6,7	22,9–29,7
Grecja	8	20–25,1
Hiszpania	**38,3**	**240,8–310,3**
Holandia	3,3	111,9–146,8
Francja	**54,9**	**410,8–541,3**
Irlandia	3,6	111,8–149,4
Łotwa	3	8,6–11,7
Litwa	4,8	20,7–27,6
Luksemburg	0,2	3,5–4,6
Malta	0,03	0,6–0,9
Polska	**37,8**	**240,1**
Portugalia	4,5	38,7–50,9
Słowacja	4,1	14,2–16,8
Słowenia	0,5	9,6–13,2
Szwecja	7,9	35,4–46
Węgry	13,5	30–39,2
Wielka Brytania	**17,6**	**208,8–272,6**
Włochy	**25,3**	**163,9–209,1**

Przedstawione w tabeli 3 wyniki szacunku emisji amoniaku z gleb użytków rolnych państw Unii Europejskiej wskazują, że Polska, ze względu na stosunkowo dużą powierzchnię gruntów użytkowanych rolniczo, należy do grupy państw charakteryzujących się wysokim poziomem emisji NH_3. Pobieżny szacunek pozwala na stwierdzenie, że najwięcej amoniaku emitowane jest z gleb użytkowanych rolniczo we Francji, a następnie Hiszpanii, Polsce i Niemczech. Przedstawione dane mogą być oczywiście obarczone dużym błędem wynikającym z niedostatecznej analizy czynników kształtujących poziom emisji NH_3 z gleb w poszczególnych państwach. Nawet w przypadku kalkulacji przeprowadzonej dla naszego kraju uzyskano wyniki odbiegające od danych statystycznych, jakie prezentowane są w Roczniku Statystycznym GUS. Na przykład w 2003 r. łącznie z rolnictwa i leśnictwa wyemitowane zostało do atmosfery 311,8 tys. t amoniaku, a z produkcji roślinnej – 81,5 tys. t amoniaku (ok. 67 tys. t $N–NH_3$). Jest to blisko dwa razy większy poziom emisji amoniaku od poziomu emisji oszacowanego przez autorów niniejszego opracowania. Tak duża rozbieżność może budzić poważne wątpliwości co do poprawności przeprowadzonych obliczeń. Jednakże wątpliwości może budzić również fakt, że wg danych GUS emisja amoniaku

z gleb uprawnych Polski wynosi ok. 6 kg $N–NH_3 \cdot ha^{-1}$ rocznie, a więc osiąga najwyższy poziom odnotowany w badaniach eksperymentalnych. Dlatego autorzy niniejszej pracy uważają, że emisja amoniaku z gleb użytkowanych rolniczo w Polsce jest mniejsza w stosunku do danych, jakie można było do tej pory odnaleźć w literaturze.

Niezależnie od metody szacunku i uzyskanych wyników, wielkości emisji amoniaku z rolniczej przestrzeni produkcyjnej nie można utożsamiać z ilością azotu rozpraszanego tą drogą z rolnictwa do środowiska przyrodniczego. Amoniak jest bowiem stosunkowo sprawnie (w 70%) usuwany z atmosfery. Według Rocznika Statystycznego GUS w 2004 r. w Polsce wraz z opadem mokrym do gleby docierało z atmosfery przeciętnie 3,9 kg $N–NH_3 \cdot ha^{-1}$.

Tabela 4. Dopływ NH_3 do gleby z opadem mokrym [kg $N–NH_3 \cdot ha^{-1}$] w Polsce w latach 1995–2004 (na podstawie danych zamieszczonych w Roczniku Statystycznym GUS)

Miejscowość	Lata						
	1995	2000	2001	2002	2003	2004	Średnio
Łeba	2,8	3,0	3,4	3,6	2,6	3,1	3,1
Puszcza Borecka	5,5	3,1	4,1	3,3	2,5	3,5	3,7
Warszawa	3,8	4,5	3,7	3,5	3,4	4,9	4,0
Jarczew	3,9	4,2	4,3	3,7	3,4	4,0	3,9
Śnieżka	12,3	4,7	6,5	5,2	3,5	3,9	6,0
Średnio	4,0	3,7	3,9	3,5	3,0	3,9	3,7

Powszechnie uważa się, że w Polsce wraz z opadem mokrym do gleby dostaje się ok. 15–25 kg $N \cdot ha^{-1}$ rocznie (średnio ok. 17 kg $N \cdot ha^{-1}$), przy czym stężenie $N–NH_4^+$ i $N–NO_3^-$ w opadzie jest podobne [49]. Oznacza to, że wraz z wodą opadową do gleby trafia ok. 8–9 kg $N–NH_4^+ \cdot ha^{-1}$. W wodzie opadowej zbieranej w latach 2000–2001 w stacji meteorologicznej na Polu Doświadczalnym SGGW w Skierniewicach blisko 40% azotu znajdowało się w formie amonowej. Ilość $N–NH_4^+$ dostająca się do gleby z opadem wyniosła 7,1 kg $N \cdot ha^{-1}$ rocznie [57]. Przyjmując za Sapkiem i in. [52], że emisja amoniaku w Polsce ze źródeł poza rolniczych nie przekracza 2% można przyjąć, że powracająca do gleby ilość 3,9 kg $N–NH_3$ ha^{-1} (dane GUS) w opadzie mokrym pochodziła w całości z rolnictwa. Uwzględniając powierzchnię użytków rolnych w Polsce w 2004 r. można łatwo wyliczyć, że w skali kraju, w obiegu zamkniętym pomiędzy różnymi elementami rolniczej przestrzeni produkcyjnej przemieściło się ok. 49 tys. t N w formie NH_3. Ilość azotu amonowego ulegającego depozycji wyłącznie na zasadzie mokrego opadu równoważy więc ilość $N–NH_3$, jaka ulatnia się z gleby w wyniku uprawy i nawożenia mineralnego roślin, a nawet ją przewyższa. Reasumując, z rolnictwa do środowiska przyrodniczego ulega aktualnie rozproszeniu ok. 240 tys. t rocznie amoniaku (ok. 200 tys. t $N–NH_3$ rocznie), czyli o ok. 100 tys. t N mniej niż wskazywały dotychczasowe szacunki. Należy zaznaczyć, że przy uwzględnieniu wielkości depozycji amoniaku w opadzie suchym, ilość rozpraszanego NH_3 z rolnictwa polskiego może być jeszcze mniejsza.

Rozpraszanie azotu do wód gruntowych i powierzchniowych

Następną przyczyną rozpraszania azotu z rolniczej przestrzeni produkcyjnej do środowiska przyrodniczego jest wymywanie azotanów z gleb uprawnych do wód gruntowych i powierzchniowych. Powszechnie uważa się, że azotany łatwiej przemieszczają się wraz z wodą opadową infiltrującą profil glebowy niż kation amonowy [45, 53]. Tylko z gleb nienawożonych azotem ilość wymywanego $N–NO_3^-$ i $N–NH_4^+$ jest podobna [58]. Wymywanie $N–NO_3$ związane jest z pionowym ruchem wody w głąb profilu glebowego. W Polsce panują korzystne dla tego procesu warunki klimatyczne, glebowe i agrotechniczne. Średni opad atmosferyczny na przeważającej powierzchni kraju wynosi ok. 500–600 mm. Ocenia się, że na glebach mineralnych 20–30% wody opadowej przemieszcza się w głąb gleby lub w mniejszym stopniu ulega spływowi powierzchniowemu. Wynika z tego, że na powierzchni 1 ha profil glebowy przemywany jest rocznie słupem 100 –150 mm, to jest 1,0–1,5 tys. ton wody. W literaturze panuje pogląd, że ilość i rozkład opadów atmosferycznych jest nadrzędnym czynnikiem kształtującym wielkość strat azotu z gleby. Potwierdzeniem tego jest to, że w latach suchych stwierdza się mniejsze wymycie azotanów niż w latach wilgotnych [21, 23, 64]. O intensywności wymywania azotanów z gleby decyduje również jej skład granulometryczny. Azotany intensywniej wymywane są z gleb lekkich niż ciężkich [35, 58, 63]. Ze względu na fakt, że w Polsce dominują gleby lekkie, skala rozproszenia azotu na drodze wymywania może być znacząca, ale tylko w wypadku zalegania w glebie znacznej ilości NO_3^- po sprzęcie roślin [2, 9, 14, 31]. W trakcie wegetacji wymywanie azotanów jest znacznie ograniczone pobieraniem azotu przez rośliny. Wielu autorów podaje, że istnieje zależność między wielkością dawki azotu, a ilością wymywanych z gleby azotanów [4, 31, 44]. Z drugiej strony wiadomo, że intensywna produkcja roślinna nie przyczynia się bezpośrednio do dużych strat azotu [23, 62]. Ruszkowska i in. [45] i Sapek [53] stwierdzili, że zastosowanie 150–300 kg $N \cdot ha^{-1}$ nie powoduje nasilenia wymywania azotu. Przeprowadzone przez Spychaj-Fabisiak [58] badania wykazały, że wielkość wymycia azotanów z gleby zależy w większym stopniu od układu czynników glebowo-klimatyczno-agrotechnicznych niż od nasilenia się oddziaływania jednego z nich. Pomimo że badaniom nad wymywaniem azotanów poświęca się dużo miejsca w literaturze krajowej i zagranicznej trudno jest jednoznacznie określić ilość azotu podlegająca rozproszeniu na drodze wymywania. Uważa się, że w naszych warunkach przeciętna ilość azotu traconego przez wymywanie waha się w szerokich granicach od kilku kg do ok. 40 kg $N \cdot ha^{-1}$ rocznie [22, 35, 44, 47], a w szczególnych warunkach sięga nawet 60–120 kg $N \cdot ha^{-1}$ [23]. Obok wymienionych czynników różnicujących wielkość wymycia azotanów, zasadniczym czynnikiem utrudniającym poprawną ocenę rozproszenia azotu na drodze wymywania do wód gruntowych i powierzchniowych jest duża intensywność przemian NO_3^- w środowisku przyrodniczym. Zasadniczym typem tych przemian jest redukcja azotanów do tlenków azotu i azotu

cząsteczkowego, zachodząca głównie w tzw. strefie przejściowej. Jest to przestrzeń środowiska przyrodniczego, w której przemieszcza się strumień azotanów pomiędzy przestrzenią rolniczą a wodami gruntowymi i powierzchniowymi. Tworzą ją m.in. strefa nienasycona i nasycona gruntów, podziemne systemy drenarskie, powierzchniowe układy melioracyjne, śródpolne zbiorniki wodne, mokradła itp. W literaturze zachodniej pojawiło się ostatnio wiele doniesień o znaczeniu strefy przejściowej w samooczyszczeniu hydrosfery [3, 6]. Juszczak i Domki [18] podają, że denitryfikacja jest decydującym procesem w usuwaniu nadmiaru azotanów z wody. Igras [17] prowadząc badania w 722 punktach położonych w regionach hydrograficznych dorzecza Wisły, Odry i rzek Przymorza wykazał, że tylko w trakcie migracji azotanów wraz z wodą pomiędzy drenami a rowami melioracyjnymi dochodzi do 2,5–3,5-krotnego zmniejszenia zawartości NO_3^- w wodzie. Rolę strefy przejściowej w zmniejszeniu ładunku azotu z pól uprawnych do wód obrazują wyniki badań Peterjohna i Corrella [37]. W badaniach tych wykazano, że z pola kukurydzy nawożonej 105 kg N · ha^{-1} wraz z wodą gruntowa przemieszczane jest do strefy przejściowej (las) 29 kg N z ha, a ze spływem powierzchniowym 10 kg N z 1 ha. Ze względu na przemiany związków azotowych, pobranie azotu przez roślinność oraz retencję wody w glebie ze strefy przejściowej odpływało do rzeki zaledwie 7 kg N · ha^{-1} wraz z wodami gruntowymi i tylko 2,3 kg N · ha^{-1} w postaci spływu powierzchniowego (łącznie ok. 9 kg N z 1 ha). W Polsce w 2004 r. stosowano przeciętnie 87,7 kg N · ha^{-1}: 895,3 tys. t N w nawozach mineralnych (54,8 kg N · ha^{-1}), 48,8 mln t obornika (ok. 244 tys. t N – 14,9 kg N · ha^{-1}), 93 mln m^3 gnojówki (ok. 180 tys. t N – 11 kg N · ha^{-1}) i 31,5 mln m^3 gnojowicy (113,5 tys. t N – 7 kg N · ha^{-1}). Analizując wyniki badań Peterjohna i Corrella [37] można przypuszczać, że przeciętny ładunek tego pierwiastka do wód powierzchniowych uwalniany z naszych pól na drodze wymywania i spływu powierzchniowego powinien być nieco mniejszy niż 9 kg N · ha^{-1}. Z kalkulacji przeprowadzonych przez Bogacką [1] wynika, że nie przekracza on ok. 3,6 kg N · $1ha^{-1}$ użytków rolnych rocznie. Autorka oszacowała, że przy całkowitym ładunku N do wód powierzchniowych wynoszącym w roku 1993 r. 209,4 tys. t N, ok. 30% czyli 66,3 tys. t N pochodziło z rolnictwa. Mioduszewski i in. [34] podają, że pomiary hydrologiczne przeprowadzone na terenie dorzecza Odry w 1989 r. pozwoliły ocenić roczny ładunek azotu azotanowego do wód gruntowych. Wyniósł on ok. 23 kg N–NO_3^- z 1 ha, z tego około 13 kg N z 1 ha rocznie docierało do rzek. Jeśli przyjmie się za Bogacką [1], że emisja NO_3^- z obszarów rolnych stanowi ok. 30% całkowitej emisji azotanów do wód, to z 1 ha pola przedostawało się do wód powierzchniowych ok. 4 kg N · ha^{-1}. Można zatem przyjąć, że w skali całego kraju, w wyniku wymywania i spływu powierzchniowego z gleb uprawnych rozpraszane jest przeciętnie do wód powierzchniowych nie więcej niż 4 kg N z 1 ha rocznie, to jest 56,4 tys. t N rocznie.

O ile liczne badania jednostkowe [8, 16, 39, 43] i stały monitoring wód powierzchniowych w systemie GIS pozwala na oszacowanie ładunku azotu do Bałtyku (tab. 5), o tyle badania nad ilością azotu jaka pozostaje w wodach gruntowych są wyrywkowe.

Tabela 5. Ładunek azotu [t] wprowadzony do Bałtyku z dorzeczy Odry, Wisły i rzek Pomorza w latach 1992, 1994, 1999 i 2002 [61]

Forma azotu	1992	1994	1999	2002
$N–NH_4^+$	20922	17033	19821	9734
$N–NO_2^-$	858	1066	1219	1070
$N–NO_3^-$	95366	156736	146011	153616
$N_{OGÓLNY}$	166420	254373	245064	235613

Z prostej kalkulacji danych uzyskanych przez Mioduszewskiego i in. [34] wynika, że z wymytej z 1 ha ilości 23 kg N tylko 10 kg zanieczyszczało wody gruntowe (pozostała ilość docierała do rzeki). Jeśli przyjąć, że przeciętnie w Polsce wymywane jest przeciętnie 20 kg N z 1 ha gleb uprawnych i ok. połowa tej ilości zanieczyszcza wody gruntowe, a pozostała ilość częściowo ulega denitryfikacji przemieszczając się do rzek, to rozproszenie tego pierwiastka do wód gruntowych z rolniczej przestrzeni produkcyjnej sięga ok. 163,4 tys. t N. Łącznie z rolniczej przestrzeni produkcyjnej w Polsce ulega rozproszeniu do hydrosfery ok. 220 tys. t N. Wartość tę należy powiększyć o ilość azotu przemieszczającą się z zagrody do wód w wyniku niewłaściwego przechowywania nawozów naturalnych [54]. Na podstawie monitoringu jakości wód gruntowych z terenu gospodarstw wyznaczono miejsca (tzw. gorące punkty) emisji azotu: (I) zagroda i jej otoczenie wraz z miejscami składowania i przechowywania nawozów naturalnych oraz miejsca składowania kiszonek, (II) obory i chlewnie oraz wybiegi dla zwierząt, (III) nie używane studnie, (IV) intensywne pastwiska z nadmierną obsadą zwierząt. W rezultacie można przyjąć, że do wód rozpraszane jest ok. 250 tys. t N rocznie. Wyliczona na podstawie danych literaturowych wielkość wymycia azotu z rolniczej przestrzeni produkcyjnej w Polsce jest znacznie mniejsza w stosunku do prezentowanych we wcześniejszym okresie szacunków. Na przykład Sapek i in. [50] szacują wielkość rozproszenia azotu przez wymywanie na 480 tys. ton $N–NO_3$ rocznie. W naszych obliczeniach uznano jednak, że azot wymywany z rolniczej przestrzeni produkcyjnej trafia do hydrosfery. Nie uwzględniano natomiast tej części azotu, jaka początkowo przemieszcza się wraz z wodami, a następnie ulega procesom prowadzącym do rozproszenia tego pierwiastka w środowisku przyrodniczym na drodze denitryfikacji.

Rozpraszanie azotu do atmosfery w formie produktów denitryfikacji

Proces denitryfikacji, jakiemu podlegają azotany, polega na ich redukcji do tlenków azotu ($NO_x = N_2O + NO + NO_2$) i azotu cząsteczkowego (N_2). Głównym produktem denitryfikacji jest azot cząsteczkowy. Ocena wielkości rozproszenia azotu na drodze denitryfikacji jest możliwa tylko przy zastosowaniu technik izotopowych z azotem ^{15}N [25]. W praktyce do oszacowania emisji N_2 wykorzystuje się wyniki

pomiarów emisji podtlenku azotu. Wiadomo bowiem, że emisja N_2O stanowi około 3–10% całkowitej emisji azotu w procesie denitryfikacji [48]. Przy czym w warunkach sprzyjających częściowej redukcji azotanów (do podtlenku azotu) uwalniane jest mniej N_2, natomiast w warunkach korzystnych dla całkowitej denitryfikacji, emisja N_2O jest znacznie mniejsza. Ma to związek z utrzymywaniem się warunków beztlenowych lub z ograniczonym dostępem tlenu do gleby. Krytyczne wartości potencjału redoks, przy których następuje wydzielanie N_2O mieszczą się w zakresie od 250 mV (przy pH 6,0–8,5) do 300 mV (przy pH ~ 5), natomiast dalsza redukcja N_2O zachodzi przy ok. 200 mV [60, 67]. Ograniczony dostęp tlenu jest przeważnie związany z długotrwałym zaleganiem wody w glebie, o czym decyduje przede wszystkim skład granulometryczny. Wyniki badań Kobusa [20] wykazały, że szybkość denitryfikacji jest największa w glebach wytworzonych z iłów, średnia – w glebach gliniastych, a najmniejsza – w piaskach słabo gliniastych. Z przytoczonych wcześniej danych wynika, że denitryfikacja zachodzi w szerokim zakresie 5–8,5 pH gleby. Jednak optimum pH tego procesu wynosi 6,5–7,0 [19, 20]. Należy zatem oczekiwać, że zakwaszenie gleby zmniejsza aktywność denitryfikatorów. Rola zakwaszenia gleby w ograniczeniu emisji produktów denitryfikacji do atmosfery polega jednak przede wszystkim na zahamowaniu procesu nitryfikacji. Powszechnie uważa się, że zakwaszenie gleby zmniejsza intensywność tego procesu [11, 53], a tym samym ogranicza zawartość azotanów w glebie [4, 26, 30]. Ponieważ przy dopływie resztek roślinnych [65, 66] tempo denitryfikacji wzrasta wraz ze wzrostem zawartości $N–NO_3$ w glebie [32], dlatego zahamowanie nitryfikacji w glebach kwaśnych [5, 26, 30] pośrednio ogranicza emisję N_2O do atmosfery [11]. Nawet w sprzyjających warunkach denitryfikacja zachodzi bardzo intensywnie tylko przez krótki okres. Wskazują na to wyniki badań amerykańskich, w których wykazano, że w skali roku 55–83% N_2O jest uwalniane z gleby w okresie lata, 6–32% wiosną i jesienią, a tylko 1–5% zimą [15]. W badaniach nad emisją podtlenku azotu przeprowadzonych w Polsce wykazano, że najwięcej N_2O uwalniane było z gleby w lipcu, a najmniej w październiku [51]. Przytoczone z literatury poglądy pozwalają na stwierdzenie, że warunki glebowe Polski – znaczny udział gleb lekkich i bardzo lekkich, ponad 60% udział gleb kwaśnych i bardzo kwaśnych o małej zawartości substancji organicznej [10, 61] mogą w dużym stopniu ograniczać straty azotu przez ulatnianie się produktów denitryfikacji. Według Golińskiego i in. [12] tylko 10% powierzchni gleb Polski charakteryzuje się właściwościami sprzyjającymi intensywnej denitryfikacji. Z opracowanej przez tych autorów mapy gleb Polski wynika, że gleby o największej zdolności denitryfikacji występują na Śląsku, w Małopolsce, Podkarpaciu i na Lubelszczyźnie. Natomiast na pozostałym obszarze kraju występują gleby o znacznie mniejszej zdolności denitryfikacji [12]. Odmienny pogląd prezentuje Pietrzak i in. [42]. Autorzy ci oceniają, że najwięcej podtlenku azotu emitowane jest z gleb województw z intensywną produkcją rolniczą: kujawsko-pomorskiego, wielkopolskiego, opolskiego i pomorskiego, natomiast w województwach podkarpackim i dolno-

śląskim występują gleby o najmniejszej emisji N_2O. W literaturze krajowej brak jest jednolitego poglądu co do wielkości emisji N_2O z obszarów rolniczych [32, 42]. W pracach tych przyjęto bowiem różne metody wyliczania emisji N_2O, uwzględniano różne jej źródła i dlatego uzyskano znacząco różne wyniki wyliczeń. Na przykład Mercik i Moskal [32] oszacowali, że przeciętna emisja N_2O z 1 ha gruntów ornych w Polsce wynosi 1,1 kg N. Natomiast Pietrzak i in. [42] podają, że sięga ona 2,6 kg N · ha^{-1}. Emisja podtlenku azotu z użytków zielonych jest znacznie mniejsza i wynosi ok. 0,5 kg N · ha^{-1} [51]. Można zatem łatwo obliczyć, że z gruntów ornych w Polsce rozpraszane jest ok. 15,5–36,6 tys. t N–N_2O, a z użytków zielonych ok. 2 t N–N_2O. Łącznie daje to wielkość emisji rzędu 17,5–38,6 tys. t N w skali kraju. Trudno jest jednoznacznie określić, która z wyliczonych danych przedstawia faktyczny obraz emisji podtlenku azotu z rolniczej przestrzeni produkcyjnej w Polsce, ponieważ szacunki emisji jednostkowej przeprowadzone przez różnych autorów wydają się trafne w świetle cytowanej przez nich literatury. W Roczniku Statystycznym GUS podano, że poziom emisji N_2O wynosi 53 tys. t, to jest ok. 33,7 tys. t N rocznie w skali kraju. Przyjmując tę wielkość można poprawnie ocenić skalę rozproszenia azotu w postaci podtlenku azotu poprzez różnicę tej wartości i ilość N–N_2O znajdującą się w opadzie atmosferycznym (2 g N · ha^{-1}, to jest ok. 0,4 tys. t N rocznie) [51]. Rozproszenie azotu z rolniczej przestrzeni produkcyjnej Polski sięga więc 33,5 tys. t N rocznie. Na podstawie tak oszacowanej emisji podtlenku azotu można ocenić rozproszenie azotu na drodze denitryfikacji (całkowita denitryfikacja = $N_2 + N_2O$). Uwzględniając udział podtlenku azotu w całkowitej ilości azotu ulegającego denitryfikacji, rozproszeniu tego pierwiastka na drodze procesów redukcyjnych w skali kraju ulega ok. 370,7 tys. t N rocznie. Jeśli dodatkowo przyjąć za Igrasem [17], że w trakcie migracji azotanów w strefie przejściowej (pomiędzy drenami a rowem melioracyjnym) na skutek denitryfikacji dochodzi do 2,5–3,5-krotnego zmniejszenia zawartości N–NO_3^- w wodzie, to można przyjąć, że rozproszeniu ulega dodatkowo 84,5–141 tys. t N rocznie. Ilościowo ulatnianie się gazowych produktów denitryfikacji ma więc najważniejsze znaczenie wśród pozycji rozpraszania azotu z rolniczej przestrzeni produkcyjnej Polski i waha się od 455,2–511,7 tys. t N rocznie. W odróżnieniu od innych pozycji rozpraszania azotu z rolnictwa polskiego, ocena ilości N ulatniającego się w gazowych produktach denitryfikacji prezentowana w niniejszej pracy jest zbieżna z ocenami przeprowadzonymi wcześniej przez innych autorów. Na przykład Sapek i in. [51] ocenili poziom rozproszenia azotu na drodze denitryfikacji na ok. 500 tys. t rocznie. Dla porównania w warunkach glebowo-agrotechnicznych Niemiec emisję podtlenku azotu z gleb uprawnych ocenia się na 2 do 4 kg N · ha^{-1} na rok [55]. Autorzy ci stwierdzili najmniejszą emisję N_2O z pól o wysokim stopniu agrotechniki, na których uzyskiwano najmniejsze plony roślin. Natomiast najwięcej podtlenku azotu uwalniane było z gleby pól o największym potencjale produkcyjnym z wysokim poziomem agrotechniki i największymi dawkami azotu. Jeśli przyjąć, że w krajach o największej efektywności produkcji roślinnej (Niemcy, Francja, Wielka Brytania,

Dania, Holandia) poziom emisji N_2O sięga ok. 4 kg N · ha^{-1} rocznie (pola o wysokim potencjale produkcyjnym z konwencjonalnym lub precyzyjnym systemem uprawy), wówczas można oszacować poziom rozproszenia azotu w tych krajach na drodze denitryfikacji (tab. 6). Przeprowadzone w niniejszej pracy szacunki i kalkulacje oparte na danych literaturowych i statystycznych pozwoliły na oceną stopnia rozproszenia azotu z rolniczej przestrzeni produkcyjnej Polski wynoszącego ok. 875,2–931,7 tys. t N (tab. 7).

Tabela 6. Emisja gazowych produktów denitryfikacji w Niemczech, Francji, Wielkiej Brytanii, Danii i Holandii [tys. t na rok]

Kraj	Gleby uprawne [mln ha]	Emisja N_2O z gleb uprawnych [tys. t N]	Opad N_2O [t]	Rozproszenie azotu [tys. t N]	
				N_2	łącznie
Francja	18,31	73,2	36,6	732,2	805,4
Niemcy	11,90	47,6	23,8	476,6	523,5
Wielka Brytania	5,85	23,4	11,7	234,1	257,6
Dania	2,47	9,9	4,9	98,8	108,7
Holandia	1,12	4,5	2,2	44,7	49,1

Tabela 7. Rozproszenie azotu z rolnictwa polskiego w 2004 r.

Rozproszenie azotu	Ilość [tys. t na rok]		%
Ulatnianie amoniaku	200	łącznie 220	22,1
Wymywanie do wód powierzchniowych	56,4		6,2
Wymywanie do wód gruntowych	163,4		18,2
Ulatnianie produktów denitryfikacji	455,2–511,7 (średnio 483,4)		53,5
Łącznie rozpraszanie azotu	875,2–931,7 (średnio 903,4)		100

Podsumowanie

Analiza danych z literatury wskazuje, że główną przyczyną rozproszenia azotu z rolniczej przestrzeni produkcyjnej Polski jest ulatnianie się produktów denitryfikacji, głównie w formie azotu cząsteczkowego. Tą drogą rozpraszane jest ponad 50% całości azotu traconego z rolnictwa. Należy podkreślić, że ulatniający się tą drogą azot cząsteczkowy jest elementem naturalnego procesu obiegu N w przyrodzie i nie tworzy zagrożenia dla środowiska. Procesy denitryfikacji zachodzące w środowisku należy traktować raczej jako mechanizm samooczyszczania środowiska z nadmiaru azotanów i naturalny mechanizm ochrony wód. Z punktu widzenia rolniczego denitryfikacja jest procesem zmniejszającym potencjalne zasoby przyswajalnego dla roślin azotu azotanowego na obszarach rolnych. Ograniczenie tego strumienia rozpraszania polega na podjęciu działań i zabiegów agrotechnicznych zmierzających do zmniejszenia intensywności procesu nitryfikacji, a więc ograniczenia powstawania

azotanów w przestrzeni rolniczej, co jak dotąd jest działaniem o ograniczonej skuteczności.

Drugim co do wielkości strumieniem rozpraszania N z rolnictwa jest wymywanie azotanów do wód, które stanowi prawie 25% całej puli azotu rozpraszanego do środowiska. Należy podkreślić, że wymywanie azotanów do wód gruntowych jest prawie trzykrotnie większe niż do wód powierzchniowych. Tę formę strat azotu z rolnictwa należy uznać za najbardziej uciążliwą dla środowiska.

Ponad 1/5 azotu rozpraszana jest z obszarów rolnych do atmosfery w formie amoniaku. Aż w 75% emisja ta związana jest z produkcją zwierzęcą. Największe znaczenie dla ograniczenia tego strumienia rozpraszania azotu ma sposób zagospodarowania odchodów w gospodarstwie i ich stosowania na użytkach rolnych w formie nawozów naturalnych.

Przedstawiana analiza rozpraszania N z przestrzeni produkcyjnej rolnictwa w Polsce na tle innych krajów w Europie wskazuje, że równolegle z postępującymi procesami intensyfikacji rolnictwa, prowadzącymi do wzrostu produkcji roślinnej i zwierzęcej z jednostki powierzchni muszą być podejmowane działania na rzecz szeroko rozumianego „uszczelnienia agrosystemu". Dotyczy to zarówno potrzeby odpowiednich badań agrotechnicznych jak i zastosowania i wykorzystania opracowanych już w tym zakresie technologii.

Literatura

[1] Bogacka T. 1999. Strategia i działania ograniczające ładunki azotu i fosforu odprowadzane do wód powierzchniowych ze źródeł obszarowych. Podstawy naukowe w strategii ochrony wód w Polsce w świetle przystąpienia do Unii Europejskiej: 23–31.

[2] Ciećko Z., Wyszkowski M., Szagała J. 1996. Wpływ 4-letniego stosowania mineralnych nawozów azotowych na zawartość $N–NO_3$ i $N–NH_4$ w glebach. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol*. 440: 27–33.

[3] Cors M., Tychon B. 2001. Controls on denitrification in riparian buffer strip in small headwater catchment in South Belgium. 11th Nitrogen Workshop 9–12 September Reims France: 61–62.

[4] Cwojdziński W., Majcherczak E. 1993. Badania dynamiki uwalniania składników pokarmowych z gleby na drodze wymywania. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol*. 411: 107–113.

[5] Czępińska-Kamińska D., Rutkowski A., Zakrzewski S. 1999. Sezonowe zmiany zawartości $N–NH_4^+$ i $N–NO_3^-$ w glebach leśnych. *Rocz. Glebozn*. t. L, 4: 47–56.

[6] Dhondt K., Boeckx P., Van Cleemput O., Hofman G., De Troch F. 2001. Nitrate removal and denitrification related ^{15}N isotopic fractionation in a riparian buffer strip. 11th Nitrogen Workshop 9–12 September Reims France: 69–70.

[7] Elvingston P. 1992. The problem of ammonia. *Acid News* 1, March: 14–15.

[8] Filipek T., Skowron P. 1998. Dynamika zawartości azotu i fosforu w wodach drenarskich. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol*. 460: 331–340.

[9] Fotyma E., Pietruch Cz., 1999. Zawartość azotu mineralnego w glebach gruntów ornych Polski po zbiorach roślin jako wskaźnik stanu środowiska. Wyd. IUNG Puławy: 20 ss.

[10] Fotyma M., Gosek S. 1993. Sposoby zapobiegania zakwaszeniu i degradacji chemicznej gleb. Przyrodnicze i antropogeniczne przyczyny oraz skutki zakwaszenia gleb. Lublin: 81–93.

[11] Gibczyńska M. 1998. Wpływ różnych form i dawek wapna na zawartość makroelementów w glebie lekkiej i roślinach oraz na plonowanie. AR Szczecin. Rozprawy nr 185: 73 ss.

[12] Goliński J., Stępniewska Z., Stępniewski W., Ostrowski J., Szmagara A. 2000. A contribution to the assessment of potential denitrification in arable mineral soils of Poland. *J. Water and Land Develop*. 4: 175–183.

[13] Gonet S., Wagner K., Spychaj-Fabisiak E. 1995. Transformations of humus and ammonia volatilization as a function of organic and mineral fertilization. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol*. 421b: 45–50.

[14] Gosek S., 2002. Bilans i przemieszczanie się azotu w glebie nawożonej gnojowicą i nawozami mineralnymi. *Nawozy i Nawożenie* I, 1 (10): 198–203.

[15] Granli T., Bockman O.C. 1994. Nitrous oxide from agriculture. *Norvegian J. Agricult. Sci.* Supplement. 129: 7–128.

[16] Igras J. 2000. Skład chemiczny wód glebowo- gruntowych w Polsce. *Nawozy i Nawożenie* II, 3a (4): 38–48.

[17] Igras J. 2004. Zawartość składników mineralnych w wodach drenarskich z użytków rolnych w Polsce. Monografie i rozprawy naukowe 13 IUNG Puławy. ss. 123.

[18] Juszczak A., Domka F. 1988. Denitryfikacja jako proces katalizy enzymatycznej i jej zastosowanie w technologii oczyszczania ścieków azotowych. *Wiad. Chem*. 42: 261–273.

[19] Juszczak A., Domka F. 1989. Wpływ temperatury i pH na parametry kinetyczne procesu biodenitryfikacji. *Ochr. Środ*. 1 (38): 31.

[20] Kobus J., 1996. Rola mikroorganizmów w przemianach azotu w glebie. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol*. 440: 151–173.

[21] Koc J., Ciećko Cz., Janicka R., Rochwerger A., Solarski K. 1997. Wpływ wielkości opadu na proces wymywania substancji organicznych i mineralnych z gleb. Mat. Konf. II międzynarodowe symp. Nauk nt.: Przyrodnicze i antropogeniczne przyczyny oraz skutki zakwaszenia gleb. Lublin: 64–69.

[22] Koc J., Ciećko Cz., Janicka R., Rochwerger A., Solarski K. 1998. Wpływ wysokości opadu na wymywanie substancji organicznych i mineralnych z gleb uprawnych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 456: 305–310.

[23] Kopeć S., Nowak K., Smoroń S. 1991. Straty składników nawozowych przez wymywanie w zależności od nawożenia i uprawy roślin. *Rocz. Glebozn*. T. XLII(3–4): 97–107.

[24] Koter M. 1987. Chemia Rolna. VIII Nawozy organiczne PWN, Warszawa: 351–390.

[25] Laegreid M., Bockman O.C., Kaarstad E.O. 2000. Agriculture, Fertilizers, the Environment. CABI Publishing: 294 ss.

[26] Łabętowicz J., Rutkowska B. 1996. Dynamika stężenia azotanów i jonu amonowego w roztworze glebowym w różnych warunkach nawozowych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol*. 440: 223–229.

[27] Majewski E., Łabętowicz J.,Wiśniewski J., Laudański Z., Radecki A. 2002. Bilans azotu na przykładzie wybranej populacji gospodarstw rolniczych Polski. *Nawozy i Nawożenie* 1: 158–169.

[28] Marcinkowski T. 1998. Emisja amoniaku z produkcji rolniczej. *Zesz. Edukacyjne* 5: 27–40.

[29] Marcinkowski T. 2002. Emisja amoniaku z gospodarskich składowisk obornika w świetle pomiarów ilościowych. *Zesz. Nauk. AR w Szczecinie* 84: 269–274.

[30] Mazur T., Ciećko Z. 1998. Zawartość mineralnych form azotu w glebach bardzo lekkich. *Bibliot. Fragm. Agronom*. 5: 249–255.

[31] Mazur T., Sądej W. 1999. Wymywanie składników pokarmowych z gleby nawożonej gnojowicą trzody chlewnej, obornikiem i nawozami mineralnymi. *Fol. Univ. Agric. Stetin.* 200 *Agricultura* (77): 257–262.

[32] Mercik S., Moskal S. 2002. Ocena emisji podtlenku azotu w Polsce z rolnictwa w 1999 roku. *Nawozy i Nawożenie* 1: 122–134.

[33] Mercik S., Łabętowicz J., Sosulski T., Stępień W. 2002. Losy azotu z nawozów mineralnych i obornika w doświadczeniach wieloletnich. *Nawozy i nawożenie* IV, 1(10): 228–237.

[34] Mioduszewski W., Danowski R., Deumlich D, Radczuk L. 2000. Nitrogen enters into river of the Odra catchment from agricultural areas. Scientific basis to mitigate the nutrient dispersion into the environment. IMUZ Falenty: 186–197.

[35] Mitchell J.K., Walher S.E., Hirschi M.C., Cooke R.A.C., Banasik K. 1998. Nitrate losses under various nitrogen management system. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol*. 458: 431–442.

[36] Oenema O., Pietrzak S., Sapek A. 1999. Controlling nitrous oxide emission from grassland farming system in Poland; preliminary results. Mat. Konf. Nitrogen cycle and balance in Polish Agriculture. Falenty, Nadarzyn near Warsaw December 1–2 1998: 126–139.

[37] Peterjohn W.T., Correll D.L. 1984. Nutrient dynamics in agricultural watershed: observations on the role of a riparian forest. *Ecology* 65(5): 1466–1475.

[38] Pietrzak S. 2000. Szacowanie emisji amoniaku z produkcji zwierzęce. Problemy intensyfikacji produkcji zwierzęcej z uwzględnieniem ochrony środowiska i przepisów UE. Warszawa IBMER: 177–184.

[39] Pietrzak S. 2000. Gospodarowanie nawozami organicznymi pochodzenia zwierzęcego w aspekcie ochrony jakości wody. Dobre praktyki w rolnictwie. Przysiek: 32–37

[40] Pietrzak S. 2001. Emisja amoniaku do środowiska ze źródeł rolniczych. *Inżynieria Ekologiczna* 5: 117–124.

[41] Pietrzak S. 2001. Sposoby ograniczenia emisji amoniaku z produkcji rolnej. Problemy intensyfikacji produkcji zwierzęcej z uwzględnieniem ochrony środowiska i przepisów UE. Warszawa IBMER: 194–202.

[42] Pietrzak S., Sapek A., Oenema O. 2002. Ocena emisji podtlenku azotu (N_2O) ze źródeł rolniczych w Polsce. *Zesz. Edukacyjne* IMUZ 8: 23–36.

[43] Pondel H. 1989. Wpływ nawożenia mineralnego na chemiczne właściwości gleb oraz na wody glebowo-gruntowe i powierzchniowe. Some aspects of chemical contaminations of soils. MAB Scope, PAN: 11–39.

[44] Pondel H., Ruszkowska M., Sykut S., Terelak H. 1991. Wymywanie składników nawozowych z gleby w świetle badań prowadzonych przez Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa. *Rocz. Glebozn.* TXLII nr 3/4: 97–107.

[45] Ruszkowska M., Stykut S., Kusio M. 1993. Plony roślin i bilans składników pokarmowych w zależności od rodzaju gleby i nawożenia w statystycznym doświadczeniu lizymetrycznym (1977–1989). *Zesz. Naukowe AR w Krakowie* 277 Sesja Naukowa 37: 153–168.

[46] Sapek A. 1995. Emisja amoniaku z produkcji rolnej. *Post. Nauk Rol*. 2: 3–23.

[47] Sapek A. 1996. Zagrożenia zanieczyszczenia wód azotem w wyniku działalności rolniczej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol*. 440: 309–329.

[48] Sapek A. 1998. Emisja gazów cieplarnianych z rolnictwa. Zesz Edukacyjne, IMUZ, 5: 17–26

[49] Sapek A. 1998. Udział azotu z opadu atmosferycznego w zanieczyszczeniu zasobów wody. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol*. 458: 485–494

[50] Sapek A. Sapek B., Pietrzak S. 2000. Rola produkcji zwierzęcej w rozpraszaniu składników nawozowych z rolnictwa do środowiska. Dobre praktyki w rolnictwie. Przysiek 200: 5–31.

[51] Sapek A., Sapek B., Pietrzak S. 2000. Pomiar emisji podtlenku azotu z gleb trwałych użytków zielonych. *Zesz. Edukacyjne*, IMUZ 8: 37–56.

[52] Sapek A., Sapek B., Pietrzak S. 2002. Obieg i bilans azotu w rolnictwie polskim. *Nawozy i Nawożenie* 1: 100–121.

[53] Sapek B. 1995. Wymywanie azotanów oraz zakwaszenie gleby i wód gruntowych w aspekcie działalności rolniczej. Materiały informacyjne 30, IMUZ Falenty: 31 ss.

[54] Sapek B. 2000. Wpływ zagrody i jej otoczenia na jakość wody. Dobre praktyki w rolnictwie. Przysiek 2000: 38–51.

[55] Sehy U., Ruser R., Munch J.C. 2001. Nitrous oxide emmision from an agricultural field subjected to precision farming. 11th Nitrogen Workshop 9–12 September Reims France: 201–202.

[56] Shepherd M. 2002. Managing mineral N in UK lowland agricultural systems. *Nawozy i Nawożenie* 1: 51–65.

[57] Sosulski T. 2002. Straty niewykorzystanego przez rośliny azotu nawozowego w wybranych warunkach glebowo-agrotechnicznych. Praca doktorska. SGGW, Warszawa.

[58] Spychaj-Fabisiak E. 2001. Modelowanie procesów wymywania przyswajalnych związków azotu w zależności od właściwości gleb. Akademia Techniczno-Rolnicza w Bydgoszczy. Rozprawy nr 100: 77 ss.

[59] Stan czystości rzek, jezior i Bałtyku w latach 2001–2002. IOŚ, 2004: 92 ss.

[60] Stępniewska Z., Bennicelli R.P., Weiss U., Włodarczyk T., Stahr K. 2000. Denitrification rate in soils as affected by their redox condition. *J. Water and Land Develop*. 4: 163–173.

[61] Strączyński S. 1999. Stan zakwaszenia i potrzeby wapnowania gleb w Polsce. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol*. 467: 527–532.

[62] Sykut S., Ruszkowska M. 1996. Wpływ nawożenia obornikiem na wymycie $N–NO_3$ z gleb w doświadczeniu lizymetrycznym. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol*. 440: 375–379.

[63] Sykut S. 2000. Wymywanie makroelementów z gleb w lizymetrach. *Nawozy i Nawożenie* 4(5): 18–25.

[64] Szücs M. 1991. Nitrate movement in the soil. *Roczn. Glebozn*. T XLII nr 3/4: 121–128.

[65] Webster C.P., Goulding K. 1998. Influence of soil carbon content on denitrification from fallow land during autumm. *J. Sci Food Agric*. 49: 131–142.

[66] Weier K.L., Doran J.W., Power J.F., Walters D.T. 1993. Denitrification and the denitrogen, nitrogen nitrons oxide ratio as affected by soil water available carbon and nitrate. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57: 66–72.

[67] Włodarczyk T. 2000. Emisja i absorpcja N_2O na tle emisji CO_2 w glebach brunatnych w zróżnicowanych warunkach oksydoredukcyjnych. *Acta Agrophisica* 28 Monografia: 32 ss.

[68] www. eurostat.com

[69] www. mos.gov.pl

Estimation of nitrogen dispersion from Polish agriculture to atmosphere, surface and ground waters

Key words: nitrogen dispersion, nitrogen balance, agricultural area

Summary

This review identifies the sources and estimates the amount of nitrogen dispersion from agricultural area to the environment in Poland.Total nitrogen emission from agricultural area to the environment was estimated to approximate 900 thousand tons N per year. Emission of denitrification products is one of the main routes of nitrogen dispersion from agriculture (480 thousand tons N per year). The significant contribution of N_2, N_2O, NO_x emission to total nitrogen dispersion results from the fact that denitrification occurs not only in agricultural area, but also in the unsaturated and saturated zones, drainage systems, intrafield water holes, wetlands, etc., as well as in the surface- and groundwaters. This is a main course of significant decrease of ntrogen emision to surface- and groundwaters (220 thousand tons N per year). Emission of NH_3 is estimated at 200 thousand tons N per year and occurs mainly during manure storage and organic fertilization.

Postępy Nauk Rolniczych nr 5/2007: 21–36

Biologiczna ochrona roślin przed chorobami – mechanizmy i perspektywy rozwoju

Adam Okorski

Katedra Diagnostyki i Patofizjologii Roślin,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
ul. Plac Łódzki 5, 10-727 Olsztyn
e-mail: adam.okorski@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: biologiczna ochrona, antybioza, konkurencja, mikopasożytnictwo, ISR, BCA

Wstęp

Według klasycznej definicji biologiczna ochrona roślin polega na wykorzystaniu żywych organizmów do zwalczania organizmów szkodliwych w produkcji roślinnej. Cook i Baker [18] biologiczną ochronę roślin określają jako redukcję ilości inokulum lub też intensywności choroby wywołanej przez czynnik patogeniczny, która spowodowana jest działalnością jednego lub większej liczby czynników biologicznych. Definicję tę bardziej szczegółowo przedstawiają Alabouvette i in. [6], według których biologiczna ochrona obejmuje stosowanie niepatogenicznych lub hypowirulentnych szczepów mikroorganizmów, wykorzystywanie antagonistycznych właściwości mikroorganizmów, a także ich wpływ na gospodarza (roślinę) poprzez aktywację jego reakcji obronnej. Pierwsze doświadczenia związane z zastosowaniem metody biologicznej wywołały ogromny entuzjazm wśród badaczy. Jednak prowadzenie ich w warunkach laboratoryjnych spowodowało, że nie uwzględniono, bardzo istotnego czynnika, a mianowicie wpływu środowiska na wynik eksperymentu. Jeżeli doświadczenia z biologiczną ochroną prowadzi się na szerszą skalę, np. w gospodarstwie rolnym, czynniki biologicznej ochrony (BCA – Biological Control Agents) zachowują się nieprzewidywalnie i bardzo często rezultat ich działania jest niewidoczny [45]. Na efektywność biologicznej ochrony wpływ ma wiele parametrów związanych z produkcją preparatów jak też okresem ich przechowywania oraz sposobem przygotowania do aplikacji. Aktywność preparatu zależy zasadniczo od jakości szczepionki i warunków środowiska, do którego ją wprowadzamy. Efektywne użycie

w biologicznej ochronie czynników BCA wymaga znajomości ich ekologii, sposobu kolonizacji oraz interakcji z rośliną.

Ochronę biologiczną powinno się stosować w ściśle ustalony sposób, tzn. odpowiednie mikroorganizmy w określonych uprawach dla konkretnego zmianowania, typów gleb i sposobu uprawy. Czynniki biologiczne (BCA) powinny być dobrane tak, by ich aktywność była najwyższa, ze szczególnym uwzględnieniem pH gleby, temperatury i dostępności składników pokarmowych [50].

W tym sposobie ochrony roślin przed chorobami wykorzystuje się antagonistyczne właściwości mikroorganizmów, które obejmują wiele zjawisk, wśród nich wyróżnia się: antybiozę, konkurencję, nadpasożytnictwo oraz indukowanie systemicznej odporności [15, 49, 62].

Antybioza

Zjawisko antybiozy, polegające na syntezie metabolitów wtórnych, jakimi są antybiotyki, zostało opisane u wielu organizmów, między innymi u promieniowców, bakterii, grzybów, alg, korali, gąbek, roślin i stosunkowo rzadko zwierząt. Antybiotyki blokują biosyntezę ściany komórkowej, hamują wydzielanie enzymów biorących udział w syntezie jej komponentów, dezorganizują strukturę błony komórkowej, uniemożliwiając prawidłowe jej funkcjonowanie, a także wpływając na syntezę białek zakłócają podziały komórkowe. Metabolity te działają też pośrednio na metabolizm przez ograniczenie produkcji enzymów potrzebnych do biosyntezy substancji niezbędnych w prawidłowym funkcjonowaniu protoplastu [70]. Antybiotyki mogą mieć szerokie spektrum działania, a więc zwalczać wiele mikroorganizmów. Mogą także wykazywać specyficzne działanie zorientowane na określonego patogena [30]. Synteza antybiotyków jest jednym ze sposobów oddziaływań antagonistycznych. Pozwala ona mikroorganizmom na zabezpieczenie niezbędnej do prawidłowego funkcjonowania ilości składników odżywczych, pokrywających potrzeby pokarmowe mikroorganizmu, który je wydziela [83]. Stosujący taką strategię organizm zdobywa przewagę nad innymi z nim współzawodniczącymi, przez co może w łatwy sposób zdominować niszę ekologiczną. Skuteczność antybiozy w glebie może być bardzo zmienna. Antybiotyki mogą być wiązane przez cząsteczki glebowe, mogą zostać zdegradowane przez działalność mikrobiologiczną, jak też mogą być spłukiwane wraz z wodami do stref gleby odległych od ryzosfery [35].

Na skuteczność antybiozy mają wpływ warunki środowiska. Wiele antybiotyków o specyficznym mechanizmie ukierunkowanym na określony czynnik chorobotwórczy działa tylko w określonych warunkach środowiskowych [58]. Fravel [30] podaje, iż zdolności mikroorganizmów do tworzenia antybiotyków w warunkach in vitro często nie znajdują odzwierciedlenia w warunkach naturalnych. Stack i in. [75] obserwowali zmianę właściwości antybiotycznych w zależności od stosunku węgla do azotu w glebie. Ponadto zauważyli, że na tworzenie antybiotyków istotny wpływ

ma temperatura gleby, pH, a także dostępność w niej wody. Badania Knudsena i in. [45] wykazały, że w glebie poddanej sterylizacji zawartość antybiotyków utrzymuje się na podobnym poziomie. Natomiast w glebie nie poddanej temu zabiegowi zawartość antybiotyków obniżała się już po trzech dniach, a po 14 dniach występowały one w ilościach śladowych.

Promieniowce syntetyzują 75% wszystkich opisanych antybiotyków, 17% substancji o takich właściwościach produkują grzyby. Około 40% substancji antybiotycznych syntetyzowanych przez grzyby i promieniowce organizmy te wytwarzały, gdy wyizolowano je świeżo ze środowiska naturalnego. Promieniowce (*Streptomyces*) produkują ponad 180 różnych wtórnych metabolitów, co czynni je potencjalnymi konkurentami grzybów w skolonizowaniu nisz glebowych [13, 22, 23]. W związku z tym gatunki *Streptomycetes* mogą odgrywać znaczną rolę w promowaniu wzrostu rośliny, a także w zwalczaniu czynników chorobotwórczych dla korzeni roślin uprawnych [33, 84]. *Streptomyces griseus* (Krainsky) Waksman & Henrici produkuje ponad 25 różnych metabolitów, w tym antybiotyków, a jedną z jego innych właściwości jest katalizowanie w roślinach produkcji flawonoidów [59].

Między bakteriami a grzybami zasiedlającymi środowisko glebowe obserwuje się bardzo intensywną konkurencję. Bakterie tworzą związki antygrzybowe, np. cyjanowodór, antybiotyki oraz enzymy powodujące lizę grzybni. Bakterie właściwe produkują około 9% wszystkich substancji antybiotycznych. Spośród bakterii najsilniejszymi zdolnościami antybiotycznymi charakteryzują gatunki rodzaju *Bacillus*, które syntetyzują wiele antybiotyków: bacillomycynę A i R, eumycynę, fengymycynę, fungistatynę, selenomycynę, subsporynę, iturynę, toksymycynę, mikobacylinę, mikosubtylinę, a także polimyksynę B [62]. Liczne wtórne metabolity o antybiotycznych właściwościach produkują przedstawiciele rodzaju *Pseudomonas*, między innymi: fenazynę, pyrrolonitrinynę, oomycynę, geldanamycynę, pioluteorynę, pjocjaninę [28, 35, 62, 81]. Innymi gatunkami bakterii, których zastosowanie może ograniczać występowanie sprawców chorób roślin są *Myxobacteria* i *Collimonas* produkujące enzymy i wtórne metabolity [11, 21].

Spośród grzybów najczęściej wykorzystywanymi w biologicznej ochronie są przedstawiciele rodzajów *Trichoderma* i *Gliocladium*. Mają one bardzo zróżnicowany mechanizm oddziaływania na patogena. Jednym z nich jest tworzenie antybiotyków: gliovirydyny i gliotoksyny [35]. Innymi gatunkami grzybów o zdolnościach antybiotycznych są: *Chaetomium globosum* (Kunze), *Minimedusa polyspora* (JW Hotson) Weresub & PM LeClair i *Verticillium biguttatum* W. Gams [81].

W biologicznej ochronie duże znaczenie odgrywają substancje lotne i enzymy syntetyzowane przez antagonistów [58]. *Enterobacter cloacae* (Jordan) Hormaeche & Edwards wytwarza amoniak, oddziaływujący na wzrost *Pythium ultimum* Throw., *Rhizoctonia solani* Kühn i *Verticillium dahliae* Klebahn. Pirony alkilowe syntetyzuje *Trichoderma harzianum* Rafai przeciwko *Rhizoctonia solani*, natomiast *Pseudomonas fluorescens* (Flügge) Migula produkuje cyjanek wodoru niezbędny w zwalczaniu *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Br.) Ferraris.

W mechanizm pasożytnictwa grzybowego włączona jest produkcja enzymów, przy czym istnieją enzymy, których sposób oddziaływania na patogena powoduje, że zaliczono je do oddziaływań antybiotycznych. Przykładem jest *Talaromyces flavus* (Klöcker) Stolk & Samson produkujący oksydazę glukozową, której efektem działania jest synteza nadtleneku wodoru zabijającego mikrosklerocja grzyba *Verticillium dahliae* [30, 45].

Konkurencja

Dostępność składników pokarmowych jest w dużym stopniu wyznacznikiem występowania różnorodności mikrobiologicznej. Wraz z przemianami zachodzącymi w materii organicznej zmienia się aktywności mikroorganizmów glebowych. Jednym z najważniejszych mechanizmów wykorzystywanych w biologicznej ochronie jest konkurencja. Zjawisko współzawodniczenia między organizmami zachodzi w tym samym środowisku, kiedy wymagania pokarmowe mikroorganizmów dotyczą tego samego składnika, który musi działać ograniczająco na ich populacje. Najsilniejszą konkurencję obserwuje się między szczepami danego gatunku oraz między organizmami blisko spokrewnionymi. Czynnikami, które decydują o zdolnościach konkurencyjnych mikroorganizmów, są tempo wzrostu oraz intensywność ich zarodnikowania, pozwalające na lepsze wykorzystanie substancji pokarmowych i szybszą kolonizację mikroniszy. Duże znaczenie dla konkurencji między organizmami mają abiotyczne czynniki środowiskowe. Mikroorganizmy, które wykształciły mechanizm adaptacji do zmiennych warunków środowiskowych łatwo zdobywają przewagę w kolonizacji środowiska glebowego [82].

Konkurencja między mikroorganizmami dotyczy m.in. przestrzeni życiowej, światła, tlenu, źródeł węgla, fosforu, azotu, żelaza, witamin i innych śladowych pierwiastków [15]. Wykorzystanie makroskładników, a przede wszystkim mikroskładników przez organizmy antagonistyczne, zmniejsza aktywność oraz żywotność fitopatogenów.

Jednym z najobficiej występujących związków organicznych w skali naszej planety jest celuloza, która stanowi ogromne źródło energii dla mikroorganizmów. Rozkład celulozy odbywa się zarówno w warunkach tlenowych, w tym przypadku odpowiedzialne za niego są grzyby, oraz w warunkach beztlenowych, w których prowadzą go bakterie i promieniowce: *Streptomyces* i *Micromonospora* [20].

Mechanizm rozkładu celulozy przez grzyby i bakterie jest zbieżny, gdyż w obu przypadkach ostatecznym produktem jest glukoza [54]. To właśnie dostępność celulozy oraz forma jej występowania w glebie stanowi element konkurencji między grzybami a celulitycznymi bakteriami i promieniowcami. Czynnikiem, który wpływa na występowanie mikroorganizmów rozkładających celulozę jest pH gleby. Kwaśne sprzyja rozwojowi grzybów, wyższe i obojętne powoduje, że za przemianę tego związku odpowiedzialne są promieniowce.

Bardzo istotnym pierwiastkiem potrzebnym do wzrostu wszystkich żywych organizmów jest żelazo. Jego niedobór w środowisku glebowym jest powodem silnej konkurencji między mikroorganizmami glebowymi. Niektóre z nich wykształciły zdolność chelatowania tego pierwiastka na drodze syntezy sideroforów. W ten sposób dochodzi do zmniejszenia populacji organizmów patogenicznych, a w szczególności patogenów grzybowych występujących w glebach [52, 53]. Zdolność do produkcji sideroforów mają bakterie, promieniowce, grzyby i glony [50]. Największymi zdolnościami do syntezy tych związków charakteryzują się: *Pseudomonas fluorescens* oraz gatunki z rodzajów *Erwinia*, *Nocardia*, *Penicillium*, *Trichoderma* oraz *Candida* i *Rodothorula* [25, 50, 52].

Brak w środowisku tego ważnego pierwiastka hamuje kiełkowanie zarodników, a także różnych form przetrwalnikowych grzybów [63]. Na przykład chlamydospory *Fusarium oxysporum* SCHLTDL. do kiełkowania wymagają egzogennego źródła żelaza. Jeśli w glebach występuje *Pseudomonas fluorescens*, to na skutek deficytu żelaza w środowisku chlamydospory pozostają nieaktywne [58].

Konkurencja wewnątrzgatunkowa dotyczy patogenicznych i saprotroficznych szczepów *Fusarium oxysporum*. Dochodzi między nimi do rywalizacji o przestrzeń życiową, a także źródła węgla. Ma ona miejsce także po rozpoczęciu procesu infekcyjnego, a dotyczy szczególnie miejsca infekcji [72].

Pasożytnictwo

Mikopasożytnictwo ma miejsce wtedy, gdy organizm pasożytuje na grzybni, pobierając bezpośrednio lub pośrednio składniki pokarmowe. Między pasożytem a potencjalnym żywicielem nawiązywany i utrzymywany jest kontakt fizyczny, często poprzedzony tworzeniem antagonistycznych metabolitów niezbędnych do podjęcia pasożytnictwa. Relacje mikopasożytnicze obejmują biochemiczne i fizjologiczne reakcje, włączając formowanie appressoriów, penetrację, tworzenie haustoriów oraz degradację cytoplazmy. Wydzielanie pozakomórkowych metabolitów wyprodukowanych przez mikopasożyty jest jednym z elementów mikopasożytnictwa. Liza komórek grzybowych może być wynikiem enzymatycznego działania β-1,3-, β-1,4-, β-1,6-glukanazy, β-1,4-chitobiozydazy i chitynazy, celulazy i proteazy [81].

Pasożytnicze strzępki mocowane są do grzybni żywiciela za pomocą lektyny, a także przez połączone działanie aglutyniny z węglowodanami [9, 39, 57]. W zależności od sposobu oddziaływania na żywiciela pasożyty występujące na grzybach podzielono na biotroficzne i nekrotroficzne [41]. Pierwsze pozyskują składniki pokarmowe bezpośrednio z grzybni gospodarza, który pozostaje z pasożytem w swoistej relacji przez dłuższy czas, przy tym nie wykazując objawów infekcji. Wskaźnik wzrostu żyjącego gospodarza, jego zarodnikowanie oraz metabolizm mogą być w tym okresie zmienione w niewielkim stopniu. W porównaniu z nekrotrofami

biotroficzne mikopasożyty mają bardziej ograniczony zakres żywicieli i co charakterystyczne tworzą haustoria. W ich przypadku nie stwierdzono zdolności do syntetyzowania enzymów o charakterze litycznym. Penetracja gospodarza odbywa się za pomocą ssawek, które otacza plazmalema gospodarza.

Inną grupę mikopasożytów stanowią wewnątrzkomórkowe biotrofy, do których należą organizmy grzybopodobne *Chytridiomycota* i *Oomycota*. Penetrują one strzępki gospodarza i wprowadzają thallus do jego cytoplazmy. Innym sposobem atakowania gospodarza charakteryzują się tzw. fusion biotrophs, w przypadku których grzybnia pasożyta ściśle przylega do ściany komórkowej gospodarza, a ich protoplasty są połączone intercellularnymi kanałami [41]. Przykładem biotroficznych pasożytów są grzyby z rodzaju *Ampelomyces*, które występują na wielu gatunkach z rzędu *Erysiphales*. Z piknidów *Ampelomyces*, tworzonych wewnątrz strzępek żywiciela, wydostają się zarodniki, po wykiełkowaniu których rozpoczyna się penetracja strzępek gospodarza. Następnie mikopasożyt tworzy piknidia w grzybni, w trzonkach konidialnych, a także w młodych chasmotecjach. Oprócz zarodników konidialnych źródłem zakażenia sprawców mączniaków mogą być fragmenty strzępek *Ampelomyces* przenoszone przez wiatr. *Ampelomyces quisqualis* Ces. jest gatunkiem pasożytującym na sprawcach mączniaków różnych roślin praktycznie na całym świecie, co czyni go wartościowym gatunkiem w aspekcie zastosowania w biologicznej ochronie [44].

Nekrotrofy uśmiercają swojego żywiciela w rezultacie pasożytniczej aktywności. Mają szeroki zakres żywicielski oraz niewyspecjalizowany mechanizm pasożytnictwa. Często wydzielają toksyny i enzymy lityczne do środowiska, przy czym nie tworzą zwykle wyspecjalizowanych struktur infekcyjnych. Ich sposób bytowania przypomina nekrotroficzne grzyby pasożytujące na roślinach [41]. Nekrotrofy są pasożytami penetrującymi strzępki gospodarza, rozwijając się w nich, powodują stopniową nekrozę i rozpad jego grzybni przez syntezę toksyn oraz enzymów litycznych. Mogą również bytować na gospodarzu nie wnikając do niego, a syntetyzowane przez nie egzoenzymy mogą powodować rozpad jego strzępek.

Grzyby z rodzajów *Trichoderma* i *Gliocladium* należą do gatunków nekrotroficznych. Grzyby te okręcają się wokół strzępek gospodarza, a następnie syntetyzują enzymy glukanolityczne i chitynolityczne pozwalające na degradację ściany komórkowej i lizę strzępek, co w konsekwencji prowadzi do penetracji protoplastu [76]. Innymi przedstawicielami pasożytniczych nekrotrofów są *Talaromyces flavus* (Klöcker) Stolk & Samson atakujący *Rhizoctonia solani*, *Verticillium* i *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary oraz *Coniothyrium minitans* Campb., który jest pasożytem *Sclerotinia sclerotiorum* [15].

Znacznie mniej przypadków pasożytnictwa na grzybach opisano w przypadku bakterii. Jedynie na grzybach rdzawnikowych stwierdzono destrukcyjne działanie bakterii z rodzajów *Erwinia*, *Bacillus* i *Xantomonas*. Sobiczewski [73] opisał destrukcyjnie oddziaływanie gatunku *Bacillus subtylis* na konidia grzyba *Monilinia fructicola* (Winter) Honey.

Indukcja systemicznej odporności

Rośliny dzięki wykształconemu przez nie mechanizmowi obronnemu potrafią rozpoznawać i zwalczać organizmy je atakujące. Na mechanizm ten składają się odporność genetyczna i nabyta. Pierwsza warunkowana jest czynnikami morfologiczno-anatomicznymi, chemicznymi oraz fizjologicznymi i obejmuje odporność bierną (przedinfekcyjną) i czynną (poinfekcyjną) [32]. Odporność nabyta (indukowana), którą rośliny uzyskują na skutek infekcji może mieć charakter lokalny lub dotyczyć organów nieobjętych porażeniem. Ten rodzaj odporności, określony jako Systemic Acquired Resistance (nabyta odporność systemiczna) – SAR, mogą aktywować różne czynniki, zarówno o charakterze abiotycznym jak i biotycznym [37]. SAR definiowana jest jako odporność, która jest aktywowana zarówno w wyniku syntezy kwasu salicylowego, pełniącego w tym przypadku rolę substancji sygnałowej, jak i białek PR (patogenesis related proteins) obejmujących β-1,3-glukanazy, chitynazy, lizozym, białka traumatynopodobne i osmotynopodobne, białka bogate w cysteinę, inhibitory proteaz, chitozanazy, peroksydazy, lektyny i tioniny [48]. Jednym z wyznaczników zainicjowania reakcji SAR jest akumulacja w tkankach roślin białek PR o właściwościach bakteriobójczych i grzybobójczych, z tego właśnie powodu w stosunku do nich używa się określenia markery SAR [34].

Indukcję odporności SAR można osiągnąć poprzez zastosowanie mniej zjadliwych form organizmów patogenicznych lub szczepów saprotroficznych [2, 51]. Zdaniem Terry i Joyce [77] zastosowanie modulatorów i elicitorów aktywujących NDR (Natural Disease Resistance) jest bardzo atrakcyjną alternatywą konwencjonalnej ochrony z zastosowaniem fungicydów.

Kiedy odporność roślin wywołują saprotrofy – PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), wówczas określana jest ona mianem indukowanej odporności systemicznej – ISR (Induced Systemic Resistance). Aktywacja mechanizmu obronnego ISR uruchamiana jest przez niepatogeniczne bakterie i grzyby ryzosferowe, które pobudzają syntezę peroksydaz oraz enzymów odpowiedzialnych za syntezę fitoaleksyn, białek PR oraz endochitynaz [68]. Elicytorami, czyli substancjami inicjującymi reakcje obronne, odpowiedzialnymi za uruchamianie mechanizmu ISR, są lipopolisacharydy (LPS) stanowiące składnik budulcowy błon komórkowych bakterii Gram-ujemnych [26]. LPS mają część lipidową, znajdującą się w błonie zewnętrznej oraz część wielocukrową położoną na zewnętrznej powierzchni błony zewnętrznej. Jak podają Van Loon i Bakker [78] zastosowane w celu indukcji ISR fragmenty ściany komórkowej *Pseudomonas fluorescens*, a także oczyszczone lipopolisacharydy, tak samo efektywnie aktywowały reakcję obronną, jak zastosowane żywe szczepy ryzobakterii. Obecność bakteryjnych sideroforów może także aktywować reakcje obronne na takim samym poziomie jak LPS [68]. Indukcja mechanizmu ISR wynikająca z obecności bakterii ryzosferowych uruchamia transdukcję sygnału, w której etylen pełni rolę cząsteczki sygnałowej. Badania prowadzone na rzodkiewniku potwier-

dziły, że poza etylenem kluczową rolę w uruchamianiu odporności ISR odgrywa kwas jasmonowy (JA) [68, 79]. Zdaniem Conrath i in. [17] poza wyżej wymienionym istnieją inne szlaki metaboliczne, które uruchamiają mechanizmy odpornościowe w roślinach, jednak nie są one do końca wyjaśnione.

Zaprawianie nasion PGPR wywołuje strukturalne zmiany w komórkach roślinnych obejmujące: lignifikację ścian komórkowych, tworzenie papilli, akumulację związków fenolowych o charakterze obronnym, a także uruchomienie bariery kallozowej. Zmiany te utrudniają nawiązanie kontaktu patogena z rośliną oraz umożliwiają uruchomienie w roślinie innych mechanizmów obronnych [68, 79].

Bakterie ryzosferowe indukują odporność ISR przeciwko bardzo szerokiemu spektrum czynników chorobowych obejmujących grzyby, bakterie i wirusy. Skuteczność aktywacji ISR potwierdzono w przypadku rzodkiewnika, tytoniu, fasoli, ogórka oraz pomidora [64]. Raj i in. [67] wykazali, że zastosowanie zaprawiania nasion bakteriami PGPR oraz doglebowa ich aplikacja powodują poprawę cech morfometrycznych, a także zdrowotności *Pennisetum glaucum* L. Obserwowali oni lepsze ukorzenienie się roślin, w wyniku syntetyzy cytokinin, fitohormonów odpowiedzialnych za lepszy ich wzrost. W Chinach od ponad 20 lat PGPR stosuje się w komercyjnych preparatach, a chroniona nimi jest powierzchnia ponad 20 mln. ha [14]. Zdaniem Adikaram i in. [4] oraz Droby i in. [24] organizmy antagonistyczne mogą indukować reakcje obronne roślin. Rolę induktorów odporności mogą pełnić komórki drożdży, a także fragmenty ich ściany komórkowej [3, 25].

Perspektywy metody biologicznej w zwalczaniu chorób roślin

Dokładne poznanie i zrozumienie zjawisk oddziaływania między mikroorganizmami oraz ich odpowiednie zastosowanie z pewnością pozwolą na zwiększenie skuteczności antagonistycznego oddziaływania, a w rezultacie zwiększenie efektywności biologicznej ochrony. Rozwój genetyki i biologii molekularnej oferuje zupełnie nowe możliwości biologicznej ochrony. W genetycznej manipulacji wykorzystywana jest mutageneza wywołana substancjami chemicznymi oraz promieniowaniem UV, fuzja protoplastów oraz transformacja [56, 74]. W przypadku grzybów z rodzaju *Trichoderma* fuzja protoplastów umożliwiła zwiększenie aktywności produkowanej przez nie chitynazy. Prabavathy i in. [66] podają, że w wyniku zastosowania fuzji protoplastów zwiększyła się aktywność szczepów *Trichoderma harzianum*, które hamowały w 100% rozwój grzyba *Rhizoctonia solani*. Transformacja genowa umożliwia rozszerzenie zakresu antybiozy na większą grupę mikroorganizmów patogenicznych. Wprowadzenie do mikroorganizmów genów odpowiedzialnych za produkcję dodatkowych sideroforów umożliwi optymalizację konkurencji o żelazo między mikroorganizmami. Transformacje genetyczne mogą poprawić tolerancję mikroorganizmów na abiotyczne warunki środowiska: temperaturę, wilgotność, zasolenie, obecność metali ciężkich.

Jednym ze sposobów oddziaływania nadpasożytów jest produkcja enzymów litycznych, takich jak chitynazy, proteazy czy glukanazy, które degradują ściany komórkowe czynnika chorobotwórczego. Gen odpowiadający za syntezę chitynazy został zlokalizowany w wielu mikroorganizmach antagonistycznych [74]. Vernekar i in. [80] wyizolowali z gleby szczepy *Streptomyces* syntetyzujące inhibitor alkalicznej proteazy (API) o wysokiej aktywności antygrzybowej.

Inhibitory proteaz są bardzo liczną grupą białek znalezionych w roślinach, zwierzętach i mikroorganizmach. Ich rola polega na kontroli działania proteaz, które mają duże znaczenie w tworzeniu prekursorów białka. Inhibitory te dobrze znane są w królestwie roślin, występują w nasionach i organach spichrzowych, a aktywowane są w wyniku zranienia. Odgrywają one dużą rolę w ochronie tkanek roślinnych przed atakiem szkodników oraz czynników chorobotwórczych. Obecność inhibitorów proteaz stwierdzono w kapuście, z której wyekstrahowano inhibitor trypsyny i chemotrypsyny, o zdolnościach grzybobójczych w stosunku do *Botrytis cinerea* Pers. i *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *pisi*.

Niewielka grupa inhibitorów proteazy zidentyfikowanych w roślinach ma zdolność fungistatyczną. API przypuszczalnie hamuje syntezę zasadowej grzybowej seryny, która jest niezbędna do wzrostu i zarodnikowania grzybów. API uzyskany ze szczepów *Streptomyces* hamował w warunkach in vitro rozwój grzybów *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme* Sheld., *Alternaria solani* (Ellis & G. Martin) L.R. Jones & Grout, *Trichoderma reesei*, *Rhizoctonia solani*. [80]. Dzięki metodom transformacji genetycznej możliwe jest wprowadzenie genu odpowiedzialnego za syntezę API do różnych gatunków roślin uprawnych w celu uzyskania form odpornych na fitopatogeniczne grzyby.

Zwiększenie skuteczności ochrony roślin można osiągnąć przez połączenie metody biologicznej z chemiczną [27]. Taka strategia pozwala na zmniejszenie dawki fungicydu. W przypadku łączenia metod ochrony roślin efektywność działania BCA jest wyższa, co wynika z osłabienia populacji patogena [38]. W przypadku łączenia ochrony chemicznej z biologiczną ważne jest, aby zastosowane mikroorganizmy były odporne na substancję aktywną fungicydu [29, 31]. W celu optymalizacji ochrony biologicznej wykorzystuje się naturalnie znalezione odporne na fungicydy mutanty, mutanty uzyskane przez zastosowanie promieniowania UV, oraz przez fuzję protoplastów [1, 56, 65]. Zastosowanie fungicydu powoduje, że ograniczeniu ulega populacja patogena, a jego miejsce w niszach glebowych zajmują BCA [38].

Innym sposobem pozwalającym na zwiększenie skuteczności ochrony biologicznej jest łączenie hodowli różnych mikroorganizmów w kultury mieszane. Ma to bardzo duże znaczenie, gdyż w naturalnych warunkach bardzo rzadko mamy do czynienia z infekcją wywołaną przez jeden organizm patogeniczny. Taka strategia umożliwia jednoczesne zwalczanie większej liczby patogenów, bowiem rozszerzone jest w ten sposób spektrum działania biopreparatu [74].

Wzrost efektywności zabiegu biologicznej ochrony poprawić mogą szczepionki doglebowe zawierające większą liczbę PGPR [43]. Takie rozwiązanie jest jednak

dosyć trudne, gdyż wymaga dobrego wyboru mikroorganizmów, by osiągnąć efekt synergiczny. Przypadki łączenia kilku mikroorganizmów w biologicznej ochronie są już znane. Efekt synergiczny został osiągnięty w przypadku łącznego stosowania niepatogenicznych szczepów *Fusarium oxysporum* i bakterii *Pseudomonas fluorescens* do zwalczania *F.oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* [5]. Saprotroficzny *Fusarium oxsporum* konkuruje z patogenem o źródła węgla, natomiast *Pseudomonas fluorescens* produkuje siderofory chelatujące żelazo, powoduje więc deficyt tego pierwiastka w ryzosferze. Park i in. [60] dowiedli, że połączenie saprotroficznego *Fusarium oxysporum* z bakterią *Pseudomonas putida* pozytywnie wpływało na zwalczanie *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. Połączenie aplikacji różnych specyficznie działających antagonistów może spowodować wzmocnienie efektu ochronnego. W swoich badaniach Raupach i Kloepper [69] wykazali, iż połączone stosowanie trzech różnych bakterii PGPR korzystnie wpływało na wzrost roślin oraz poszerzało skuteczność biologicznej ochrony przeciwko różnorodnym chorobom ogórka. Zdaniem Becker i in. [8] i Davelos i in. [19], tworzenie „koktajli" zawierających bardzo dużą różnorodność mikroorganizmów o właściwościach antagonistycznych poprawi skuteczność biologicznej ochrony roślin.

Podsumowanie

Mimo dynamicznego rozwoju metod biologicznych rynek biopestycydów obejmuje tylko 1% rynku globalnego pestycydów [12]. Poważnym problemem w wielu rejonach świata jest rejestracja biologicznych środków ochrony, wysoki koszt jej przeprowadzenia, a także brak odpowiednich przepisów regulujących możliwość stosowania tej formy ochrony roślin. Ze względu na trudności związane z wprowadzeniem środków biologicznych do obrotu, koncerny chemiczne nie są zainteresowane ich produkcją. Preparaty biologiczne produkują więc niewielkie firmy z pominięciem procedur rejestracyjnych [6].

Obecnie w Europie biologiczna ochrona stosowana jest w niewielkim zakresie, zarejestrowanych i stosowanych jest jedynie kilka preparatów biologicznych w porównaniu do kilkuset stosowanych np. w USA. Wykorzystanie ochrony roślin, w tym także biologicznej ochrony w Europie regulują dyrektywy Komisji Europejskiej 91/414/EEC oraz modyfikująca ją dyrektywa 2001/36/EC z 1 maja 2001 roku.

Przepisy unijne precyzują bardzo szczegółowo warunki rejestracji i stosowania preparatów biologicznych w ochronie roślin. Jednym z kluczowych elementów złożonego wniosku jest identyfikacja organizmu i jego pełna charakterystyka na podstawie przeprowadzonych badań oraz w oparciu o całokształt dostępnej wiedzy na jego temat a także o dokumentację literaturową np. określenie stopnia pokrewieństwa z mikroorganizmami patogenicznymi, wpływ na inne mikroorganizmy występujące w środowisku, wrażliwość na elementy środowiska, stabilność genetyczną BCA, informację dotyczącą syntetyzowanych metabolitów. W dokumentacji preparatu

musi znajdować się także informacja na temat występowania wnioskowanego drobnoustroju na obszarze przewidzianym do jego stosowania. Wniosek powinien zawierać także pełną charakterystykę organizmu lub organizmów zwalczanych, informacje dotyczące produkcji, kontroli czystości i jakości środka biologicznego, a także procedury niszczenia i unieszkodliwiania. Bardzo ważna jest także dokumentacja środka biologicznego w aspekcie jego bezpieczeństwa dla środowiska i człowieka. Ciccillo i in. [16] zauważyli, że po zastosowaniu niektórych szczepionek zawierających mikroorganizmy antagonistyczne, doszło do zmian w równowadze mikrobiologicznej gleby, co w konsekwencji spowodowało ograniczenie wzrostu roślin. Jednak zmiany zachodzące w składzie gatunkowym populacji mikroorganizmów zasiedlających ryzosferę, są spowodowane nie tylko wprowadzeniem czynników biologicznej ochrony, ale są bezpośrednio związane z fazą rozwojową rośliny [47]. Tak więc niezbędne wydaje się prowadzenie analiz, dotyczących zmian zachodzących w ryzosferze pod wpływem zastosowanych szczepionek biologicznych, które mogą dostarczyć informacji czy efekt kolonizacji jest korzystny dla środowiska.

Najtrudniejsze do wyeliminowania, w związku ze stosowaniem biologicznej ochrony, są złe warunki w trakcie przygotowywania preparatów oraz brak właściwych warunków podczas transportu, które obniżają przeżywalność i wigor mikroorganizmów [82]. Problemem związanym z zastosowaniem biologicznej ochrony w warunkach polowych jest często obserwowany brak skuteczności preparatów wynikający z nieodpowiedniej ich aplikacji, złych warunków transportu oraz wpływu warunków środowiska, które w dużej mierze decydują o skuteczności wykonanego zabiegu [55, 61]. Zastosowanie biologicznej ochrony w praktyce poprzedzają zawsze badania laboratoryjne, chociaż często wyniki badań in vitro są rozbieżne z badaniami polowymi. Różnice w uzyskiwanych wynikach widoczne są już we wstępnych badaniach laboratoryjnych szczególnie dotyczących antybiotycznych właściwości mikroorganizmów. Brown i in. [10] badając antybiotyki syntetyzowane przez *Epicoccum purpurascens* EHRENB. stwierdzili, że na ilość wyprodukowanych antybiotyków ma wpływ skład chemiczny pożywki użytej do hodowli. Tak więc o skuteczności biologicznej ochrony może decydować dostępność składników pokarmowych w środowisku, a wstępnym warunkiem zwiększenia efektywności BCA jest pomyślna kolonizacja ryzosfery. Dopiero z czasem populacja BCA osiąga próg, po przekroczeniu którego jej działalność staje się widoczna. Koch [46] zwrócił uwagę, że na skuteczność biologicznej ochrony istotny wpływ ma także znajomość indywidualnych wymagań siedliskowych poszczególnych mikroorganizmów wykorzystywanych w ochronie biologicznej. Dlatego BCA łatwiej stosować w szklarniach, ze względu na możliwość kontrolowania większej liczby czynników środowiska [7]. W izolowanych warunkach, jakie można uzyskać w szklarni, skuteczność zabiegu biologicznego może być większa dzięki prawidłowej agrotechnice. W przypadku upraw szklarniowych, w których stosuje się odkażanie podłoża, po wykonaniu zabiegu istnieje bardzo duże ryzyko rekolonizacji gleby przez organizmy patogeniczne. Dlatego ważne jest, aby

wprowadzić organizmy antagonistyczne na początku produkcji, gdyż uniemożliwia to rozwój i dominację patogenów [40].

Najbardziej obiecujące wyniki badań polowych z praktycznym zastosowaniem biologicznej ochrony uzyskano w przypadku grzybów z rodzaju *Trichoderma*. Należy podkreślić fakt, że grzyby te są stałym elementem rdzennej flory glebowej [42], nie są więc obcymi mikroorganizmami, których wprowadzenie do środowiska mogłoby stanowić ekologiczne zagrożenie. Grzyby z tego rodzaju zasiedlają ryzosferę, jak też epidermę wielu gatunków roślin. Charakteryzują się one dużym potencjałem w zwalczaniu czynników chorobotwórczych przenoszonych w środowisku glebowym. Opisano aktywność grzybów tego rodzaju w zwalczaniu grzybów z rodzajów *Fusarium* i *Sclerotinia*, a także gatunków *Rhizoctonia solani*, *Bipolaris sorokiniana* (SACC.) SHOEM. [71]. Według Harman i in. [36] potencjał tych grzybów w walce z czynnikami chorobotwórczymi dla roślin przenoszonymi ze środowiskiem glebowym, znacznie przewyższa preparaty chemiczne. Ponadto użycie tych gatunków w rolnictwie nie jest tak szkodliwe dla środowiska jak ochrona chemiczna.

W biologicznej ochronie roślin wykorzystuje się wiele zależności dotyczących mikroorganizmów obejmujących ekologię, fizjologię, biochemię, a nawet biotechnologię. Tak wielokierunkowe prowadzenie programów badawczych może pozwolić na dalszy rozwój tej metody.

Literatura

[1] Abd-El Moity T.H., Papavizas G.C., Shatla m. N. 1982. Induction of new isolates of *Trichoderma harzianum* tolerant to fungicides and their experimental use for control of white rot of onion. *Phytopathology* 72: 396–400.

[2] Adikaram N.K.B. 1990. Possibility of control of post-harvest fungal diseases by manipulation of host defence system. W: Proceedings of the Third Conference on Plant Protection in the Tropics. *Genting Highlands*. 5: 31–36.

[3] Adikaram N.K.B., Brown A.E., Swinburne T.R. 1988. Phytoalexin induction as a factor in the protection of *Capsicum annuum* L. fruits against infection by *Botrytis cinerea* PERS. *J. Phytopathol.* 122: 267–273.

[4] Adikaram N.K.B., Joyce D.C., Terry L.A. 2002. Biocontrol activity and induced resistance as a possible mode of action of *Aureobasidium pullulans* against grey mould of strawberry fruit. *Aust. Plant Pathol*. 31: 223–229.

[5] Alabouvette C., Lemanceau P., Steinberg C. 1996. Biological control of fusarium wilts: opportunities for developing a commercial product. W: Hall R. (red.), Principles and Practice of Managing Soilborne Plant Pathogens. APS Press, St Paul, United States: 192–212.

[6] Alabouvette C., Olivain C., Steinberg C. 2006. Biological control of plant diseases: the European situation. *Europ. J. Plant Pathol.* 114: 329–341.

[7] Albajes R., Gullino M.L., Van Lenteren J.C., Elad Y. 1999. Integrated pest and diseases management in greenhouse crops. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands: 568 ss.

[8] Becker D.M., Kinkel L.L., Schottel J.L. 1997. Evidence for interspecies communication and its potential role in pathogen suppression in a naturally occurring disease suppressive soil. *Can. J. Microbiol*. 43: 985–990.

[9] Benhamau N., Chet I. 1993. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: ultrastructure and cythochemistry of the antagonistic process. *Phytopathology* 83: 1062–1071.

[10] Brown A.E., Finlay R., Ward J.S. 1987. Antifungal compounds produced by *Epicoccum purpurascens* against soil-borne plant pathogenic fungi. *Soil. Biol. Biochem*. 19: 657–664.

[11] Bull C.T. 2002. Interactions between myxobacteria, plant pathogenic fungi, and biocontrol agents. *Plant Dis.* 86: 889–896.

[12] Butt T.M., Jackson C.W., Magan N. 2001. Fungi as biocontrol agents – progress, problems and potential. CABI Publishing, Wallingford, Great Britain: 390 ss.

[13] Challis G.L., Hopwood D.A. 2004. Synergy and contingency as driving forces for the evolution of multiple secondary metabolite production by *Streptomyces* species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100 (suppl. 2): 14555–14561.

[14] Chen Y., Mei R., Lu S., Liu L., Kloepper J.W. 1996. The use of yield increasing bacteria (YIB) as plant growth-promoting rhizobacteria in Chinese agriculture. W: Utkhede R.S., Gupta V.K. (red.), Management of soil borne diseases. Kalyani Publishers, New Delhi, India: 165–176.

[15] Chet I., Inbar J., Hadar Y. 1997. Fungal antagonists and mycoparasites W: The Mycota IV, Environmental and Microbial Relationships (Esser K., Lemke P.A. red.) Springer Verlag, Berlin, Germany: 165–184.

[16] Ciccillo F., Fiore A., Bevivino A., Dalmastri C., Tabacchioni S., Chiarini L. 2002. Effects of two different application methods of *Burkholderia ambifaria* MCI 7 on plant growth and rhizospheric bacterial diversity. *Environ. Microbiol*. 4: 238–245.

[17] Conrath U., Thulke O., Katz V., Schwindling S., Kohler A. 2001. Priming as a mechanism in induced systemic resistance of plants. *Europ. J. Plant Pathol*. 107: 113–119.

[18] Cook R.J., Baker K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St Paul, MN, USA, American Phytopathological Society Press: 539 ss.

[19] Davelos A.L., Kinkel L.L., Samac D.A. 2004. Spatial variation in frequency and intensity of antibiotic interactions among *Streptomycetes* from prairie soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 1051–1058.

[20] De Boer W., Folman L.B., Summerbell R.C., Boddy L. 2005. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacteria niche development. *FEMS Microbiology Reviews* 29(4): 795–811.

[21] De Boer W., Klein Gunnewiek P.J.A., Kowalchuk G.A., Van Veen J.A. 2001. Growth of chitinolytic dune soil b-subclass *Proteobacteria* in response to invading fungal hyphae. *Appl. Environ. Microbiol*. 67: 3358–3362.

[22] Demain A.L., Fang A. 2000. The natural functions of secondary metabolites. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 69: 1–39.

[23] Dombou C.L., Salove M.K.H., Crawford D.L., Beaulieu C. 2001. *Actinomycetes*, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. *Phytoprotection* 82: 85–101.

[24] Droby S., Vinokur V., Weiss B., Cohen L., Daus A., Goldschmid E., Porat R. 2002. Induction of resistance to *Penicillium digitatum* in grapefruit with the biocontrol agent *Candida oleophila*. *Phytopathology* 92: 393–399.

[25] El-Tarabily K.A.,· Sivasithamparam K. 2006. Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Mycosci.* 47: 25–35.

[26] Erbs G., Newman M.A. 2003. The role of lipopolysaccharides in induction of plant defence responses. *Molecular Plant Pathology* 4(5): 421–425.

[27] Errampalli D., Brubacher N.R. 2006. Biological and integrated control of postharvest blue mold (*Penicillium expansum*) of apples by *Pseudomonas syringae* and cyprodinil. *Biological Control.* 36: 49–56.

[28] Fernando W.G.D., Ramarathnam R., Krishnamoorthy A.S., Savchuk S.C. 2005. Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. *Soil Biol. Biochem.* 37: 955–964.

[29] Figueras-Roca M., Cristani C., Vannacci G. 1996. Sensitivity of *Trichoderma* isolates and selected resistant mutants to DMI fungicides. *Crop Protect*. 15(7): 615–620.

[30] Fravel D.R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Annu. Rev. Phytopathol*. 26: 75–91.

[31] Fravel D.R., Deahl K.L., Stommel J.R. 2005. Compatibility of the biocontrol fungus *Fusarium oxysporum* strain CS-20 with selected fungicides. *Biological Control*. 34: 165–169.

[32] Grzesiuk S., Koczowska I., Górecki R.J. 1999. Fizjologiczne podstawy odporności roślin na choroby. Wydawnictwo UWM w Olsztynie: 286.

[33] Hamby M.K., Crawford D.L. 2000. The enhancement of plant growth by selected *Streptomyces* species. Abstracts of the 100th General Meeting of the ASM, American Society for Microbiology, Washington DC: 567.

[34] Hammerschmidt R, Métraux J.P, Van Loon L.C. 2001. Inducing resistance: A summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases, Corfu, May 2000. *Europ. J. Plant Pathol*. 107: 1–6.

[35] Handelsman J., Stabb E.V. 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *The Plant Cell.* 8: 1855–1869.

[36] Harman G. E., Howell C. R., Viterbo A., Chet I., Lorito M. 2004. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol*. 2(1): 43–56.

[37] Heil M., Bostock R.M. 2002. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defenses. *Ann. of Botany.* 89: 503–512.

[38] Hjeljord L., Tronsmo A. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. W: Harman G.E., Kubicek C.P. (red.), *Trichoderma* & Gliocladium – Enzymes, Biological Control and Commercial Applications. Taylor & Francis Ltd, London, Great Britain: 131–151.

[39] Inbar J., Chet I. 1991. Evidence that chitinase produced by *Aeromonas caviae* is involved in the biological control of soil-borne plant pathogens by this bacterium. *Soil Biol. Biochem*. 23: 973–978.

[40] Jarvis W.R. 1989. Epidemiology of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicislycopersici*. W: Tjamos E.C., Beckman C. (red.), Vascular Wilt Diseases of Plants, NATO ASI Series H28. Springer, Berlin, Germany, pp. 397–411.

[41] Jeffries P. 1997. Mycoparasitism. The Mycota. Enviromental and Microbial Relationships. Springer-Verlag Berlin Heidelberg:.49–163.

[42] Jensen D.F., Lumsden R.D. 1999. Biological control of soilborne pathogens. W: Albajes R., Gullino M.L., Van Lenteren J.C., Elad Y. (red.), Integrated Pest and Diseases Management in Greehouse Crops. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands: 319–337.

[43] Kennedy I.R., Choudhury A.T.M.A., Kecske´s M.L. 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? *Soil Biol. Biochem.* 36: 1229–1244.

[44] Kiss L. 1998. Natural occurrence of *Ampelomyces* intracellular mycoparasites in mycelia of powdery mildew fungi. *New Phytol*. 140: 709–714.

[45] Knudsen I.M.B., Hockenhull J., Funck Jensen D., Gerhardson B., Hokeberg M., Tahvonen R., Teperi E., Sundheim L., Henriksen B. 1997. Selection of biological control agents for controlling soil and seed-borne diseases in the field. *Europ. J. Plant Pathol*. 103: 775–784.

[46] Koch E. 1999. Evaluation of commercial products for microbial control of soil-borne plant diseases. *Crop Protection* 18: 119–125.

[47] Kozdrój J., Trevors J.T., Elsas J.D. 2004. Influence of introduced potential biocontrol agents on maize seedling growth and bacterial community structure in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem*. 36: 1775–1784.

[48] Kozłowska M., Konieczny G. 2003. Biologia odporności roślin na patogeny i szkodniki. Wydawnictwo AR Poznań:173 ss.

[49] Kryczyński S. 2001. Podstawy fitopatologii. Wyd. Fundacja Rozwój SGGW: 264 ss.

[50] Księżniak A., Kobus J. 1993. Udział drobnoustrojów ryzosfery pszenicy jęczmienia i owsa w produkcji sideroforów. *Pamiętnik Puławski* 102: 77–89.

[51] Kuć J. 2000. Development and future direction of induced systemic acquired resistance in plants. *Crop Protection* 19: 859–861.

[52] Kurek E., Jaroszuk-Ściseł J. 2003. Rye (*Secale cereale*) growth promotion by *Pseudomonas fluorescens* strain and their interactios with *Fusarium culmorum* under various soil conditions. *Biological Control*. 26: 48–56.

[53] Loper J.E., Lindow S.E. 1994. A biological sensor for iron available to bacteria in their habitats on plant surfaces. *App. and Environm. Microbiol*.: 1934–194.

[54] Lynd L.R., Weimer P.J., Van Zyl W.H., Pretorius I.S. 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*. 66: 506–577.

[55] Mathre D.E., Cook R.J., Callan N.W. 1999. From discovery to use – traversing the world of commercializing biocontrol agents for plant disease control. *Plant Dis*. 83: 972–983.

[56] Minucci C., Migheli Q., Gullino M.L. 1991. Protoplast fusion for the production of superior strains of antagonistic *Fusarium* spp. W: Beemster A.B.R., Bollen G.J., Gerlagh M., Ruissen M.A., Schippers B., Tempel A. (red.), Biotic interactions and soil-borne diseases. Elsevier, Amsterdam, Netherlands: 316–321.

[57] Monacha M.S., Sahai A.S. 1993. Mechanisms of recognition in necrotrophic and biotrophic mycoparasities. *Can. Journ. Microbiology* 39: 269–275.

[58] Ownley B H., Windham M.T. 2003. Plant Pathology: Concepts & Laboratory Exercises. Biological Control of Plant Pathogens. CRC Press LLC: 323–332.

[59] Parales R.E., Bruce N.C., Schmid A., Wackett L.P. 2002. Biodegradation, biotransformation, and biocatalysis. *App. and Environm. Microbiol*. 68(10): 4699–4709.

[60] Park C.S., Paulitz T.C., Baker R. 1988. Biocontrol of *Fusarium* wilt of cucumber resulting from interactions between *Pseudomonas putida* and nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 78: 190–194.

[61] Paulitz T.C., Belanger R.R. 2001. Biological control in greenhouse systems. Annu. Rev. Phytopathol. 39: 103–133.

[62] Pięta D. 1997. Wybrane zagadnienia z fitopatologii. Wyd. AR Lublin: 88 ss.

[63] 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.

[64] Pieterse C.M.J., Van Pelt J.A., Van Wees S.C.M., Ton J., Leon-Kloosterziel K.M., Keurentjes J.J.B., Verhagen B.W.M., Knoester M., Van der Sluis I., Bakker P.A.H.M., Van Loon L.C. 2001. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance: triggering, signaling and expression. *Europ. J. Plant Pathol*. 107: 51–61.

[65] Postma J., Luttikholt A.J.G. 1993. Benomyl-resistant *Fusarium* isolates in ecological studies on the biological control of *Fusarium* wilt in carnation. *Neth. J. Plant Pathol.* 99: 175–188.

[66] Prabavathy V.R., Mathivanan N., Sagadevan E., Murugesan K., Lalithakumari D. 2006. Self-fusion of protoplasts enhances chitinase production and biocontrol activity in *Trichoderma harzianum*. *Bioresource Technology* 97: 2330–2334.

[67] Raj S.N., Deepak S.A., Basavaraju P., Shetty H.S., Reddy M.S., Kloepper J.W. 2003. Comparative performance of formulations of plant growth promoting rhizobacteria in growth promotion and suppression of downy mildew in pearl millet. *Crop Protection 2*2: 579–588.

[68] Ramamoorthy V., Viswanathan R. , Raguchander T., Prakasam V., Samiyappan R. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection* 20: 1–11.

[69] Raupach G.S., Kloepper J.W. 1998. Mixtures of plant growth promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology* 88: 1158–1164.

[70] Romero-Tabarez A.M. 2005. Discovery of the new antimicrobial compound 7-O-malonyl Macrolactin. Von der Gemeinsamen Naturwissenschaftlichen Fakultät der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig zur Erlangung des grades einer Doktorin der Naturwissenschaften. Dysertacja: 167 ss.

[71] Sarrocco S., Mikkelsen L., Vergara M., Jensen D.F., Lubeck M., Vannacci G. 2006. Histopathological studies of sclerotia of phytopathogenic fungi parasitized by a GFP transformed *Trichoderma virens* antagonistic strain. *Mycol. Research* 110: 179–187.

[72] Selosse M.A., Baudoin E., Vandenkoornhuyse P. 2004. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. *C.R. Biologies* 327: 639–648.

[73] Sobiczewski P. 1994. Bakterie jako czynnik biologicznej ochrony roślin przed chorobami. *Post. Nauk Rol*. 5: 19–31.

[74] Spadaro D., Gullino M.L. 2005. Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens. *Crop Protection*. 24: 601–613.

[75] Stack J.P., Kenerley C., Mand Pettit R.E. 1987. Influence of carbon and nitrogen sources, relative carbon and nitrogen concentrations, and soil moisture on the growth in non sterile soil of soil borne fungal antagonists. *Can. J. Microbiol*. 33: 626–631.

[76] Suarez M.B., Sanz L., Chamorro M.I., Rey M., Gonzalez F.J., Llobell A., Monte E. 2005. Proteomic analysis of secreted proteins from *Trichoderma harzianum* identification of a fungal cell wall-induced aspartic protease. *Fung. Gen. and Biol*. 42: 924–934.

[77] Terry L.A., Joyce D.C. 2004. Elicitors of induced disease resistance in post harvest horticultural crops: a brief review. *Postharvest Biol. and Technology* 32: 1–13.

[78] Van Loon L.C., Bakker P.A.H.M. 2005. Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria. Z.A. Siddiqui (red.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization, 39–66. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

[79] Van Loon L.C., Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36: 453–83.

[80] Vernekar J.V., Ghatge J.V., Deshpande V.V. 1999. Alkaline protease inhibitor: a novel class of antifungal proteins against phytopathogenic fungi. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 262: 702–707.

[81] Whipps J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journ. Exp. Bot*. 52: 487–511.

[82] Whipps J.M. 2004. Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canad. J. Bot*. 82: 1198–1227.

[83] Winding A., Binnerup S.J., Pritchard H. 2004. Non-target effects of bacterial biological control agents suppressing root pathogenic fungi. *FEMS Microbiol. Ecology* 47: 129–141.

[84] Yuan W.M., Crawford D.L. 1995 Characterisation of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. *App. and Environ. Microbiol*. 61: 3119–3128.

Biological control of plant diseases – mechanisms and development perspectives

Keywords: biological control, competition, antibiosis, mycoparasitism, ISR, BCA

Sumary

Biological control (BC) of plant diseases is one of the promising method in plant protection. BC is considered as environmentally friendly and safe for human health. This method is based on the use of mechanisms: competition between micro-organisms, antibiosis, parasitism and induction of Induced Systemic Resistance in plants. In order to increase the efficiency of Biological Control Agents (BCA), biotechnological techniques are currently being utilized. After successful laboratory tests, the BCA are used in practical field experiments. However, in vitro tests often differ from the results obtain in the field. The reported problem of BCA is the lack of efficiency in field experiments. Biological control products contain living microorganisms, thus the efficiency of BCA depends on the colonizing level of environmental niche. Still, there is a need of further studies including ecological, physiological, biochemical and biotechnological aspect of BCA.

Postępy Nauk Rolniczych nr 5/2007: 37–49

Wzajemne oddziaływanie roślin w siewach jednogatunkowych i mieszanych na przykładzie mieszanek lucerny z trawami

Anna Jelinowska, Mariola Staniak

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
e-mail: staniakm@iung.pulawy.pl

Słowa kluczowe: mieszanki, konkurencja roślin, lucerna, trawy

Wstęp

Jedną z ważnych form produkcji pasz objętościowych dla przeżuwaczy na gruntach ornych jest uprawa mieszanek wieloletnich roślin motylkowatych z trawami. Stanowi ona również zalecane ogniwo rolnictwa ekologicznego i zrównoważonego. Wyniki wielu doświadczeń wskazują na możliwość uzyskiwania z mieszanek wyższych plonów niż z jednogatunkowych zasiewów każdego z komponentów. Jednocześnie jednak trudno jest sformułować niezawodne zalecenia odnośnie doboru gatunków i ich udziału, zabiegów uprawowych i systemów użytkowania mieszanek ze względu na dużą zmienność efektów, wywołaną czynnikami siedliskowymi, a wyrażającą się między innymi, zróżnicowaniem udziału komponentów w łanie mieszanki. Proporcje składników w mieszance – motylkowatego i trawiastego wynikają z wzajemnego oddziaływania roślin, dlatego – jak uważają Zannone i in. [25] – utworzenie mieszanek zdolnych do wyprodukowania większej ilości masy niż zasiewy jednogatunkowe wymaga różnych strategii w zależności od rodzaju wzajemnych stosunków między partnerami w mieszance w porównaniu z siewem jednogatunkowym. Poznanie tych stosunków może być więc pomocne w ustaleniu zabiegów optymalizujących uprawę mieszanek.

W ostatnich dziesięcioleciach przeprowadzano szereg badań zmierzających do bliższego poznania zjawisk zachodzących w łanie mieszanki. Zwięzłe ich przedstawienie i omówienie może być przydatne do zaplanowania i przeprowadzenia prac zmierzających do uzyskania właściwych efektów w uprawie mieszanek.

Znaczenie zasiewów mieszanych w produkcji roślinnej na gruntach ornych

Mieszanki międzygatunkowe i międzyodmianowe stosowane są głównie w uprawie zbóż i roślin pastewnych. Komponentami mieszanek roślin pastewnych są najczęściej roślina motylkowata i niemotylkowata, a więc partnerzy o znacznie różniącym się zapotrzebowaniu na czynniki siedliska. Pozytywny efekt uprawy roślin w zasiewach mieszanych dotyczy zarówno roślin jednorocznych jak i wieloletnich, przy czym w przypadku roślin jednorocznych zjawiska te przebiegają w krótkim czasie. Mieszanki roślin wieloletnich, oprócz podstawowej roli, jaką jest produkcja pasz, skutecznie ograniczają zachwaszczenie, chronią glebę przed erozją oraz zapewniają większą trwałość porostu [3, 4]. Ponadto zmniejszają ryzyko uprawy i dają paszę bardziej urozmaiconą. Mimo że może zachodzić antagonizm między roślinami w mieszance, wywołany bądź czynnikami allelopatycznymi, bądź konkurencją o zasoby siedliska, to produktywność ogólna nie zawsze podlega ograniczeniu z tego powodu [14]. Dwa gatunki o odmiennym pokroju, układzie pędów bocznych, rozmieszczeniu liści, wysokości, rozmieszczeniu korzeni, pobraniu składników mineralnych lub innych cechach morfologicznych bądź fizjologicznych zawsze mogą bardziej efektywnie wykorzystywać warunki siedliskowe niż zasiewy jednogatunkowe, a tym samym wytwarzać większy plon lub przynajmniej poprawiać stabilność plonowania w latach [21]. Najczęściej w mieszance dochodzi do dominacji jednego gatunku nad drugim i wówczas nabiera ona charakteru kompensacyjnego. Pełna kompensacja następuje wtedy, gdy zwiększenie plonu jednego gatunku w mieszance powoduje proporcjonalne zmniejszenie plonu gatunku drugiego, w związku z czym suma względnych plonów wynosi 1. Jeśli kompensacja plonów jest tylko częściowa, np. gdy zwiększeniu plonu gatunku dominującego nie towarzyszy proporcjonalne zmniejszenie plonu gatunku zdominowanego, wtedy całkowity plon względny jest większy od 1, a biologiczna efektywność mieszanki jest większa, niż jej komponentów uprawianych w siewie czystym. Zjawisko takie nazywane nadprodukcyjnością mieszanki wynika głównie z osłabienia konkurencji wewnątrzgatunkowej i odmiennego rytmu wytwarzania masy każdego z komponentów [12, 22]. Wyższe plonowanie mieszanek lucerny z niektórymi trawami, w porównaniu ze średnim plonem obu komponentów w siewach jednogatunkowych, wykazali Haynes [11] oraz Zannone i in. [25], przy czym plony suchej masy mieszanek często przewyższały plon najproduktywniejszego komponenta. W polskich warunkach większą wydajność mieszanek lucerny z trawami niż czystych zasiewów rośliny motylkowatej uzyskali m.in. Borowiecki [2] oraz Kitczak [16]. Stopień nadprodukcyjności mieszanki zależy od szeregu czynników, takich jak warunki siedliskowe czy przebieg pogody w latach. Wartość współczynnika nadprodukcyjności zmienia się również w zależności od poziomu nawożenia i gatunku trawy, uprawianej z lucerną. Przeanalizowanie tego współczynnika dostarcza więc dodatkowych informacji o plonowaniu i zjawiskach zachodzących w łanie mieszanki.

Zawartość składników pokarmowych oraz wartość paszowa roślin motylkowatych i traw jest dobrze poznana. Wiadomo, że pasza z każdej z tych grup roślin oddzielnie nie jest zbilansowana zgodnie z potrzebami inwentarza, natomiast pasza z mieszanek w pełni zaspakaja potrzeby zwierząt przeżuwających. Przykładem tego są wyniki badań Ostrowskiego i Borowieckiego [18]. Największe przyrosty masy ciała tryków w okresie 40 dni żywienia, a także największe przyrosty dzienne uzyskano w warunkach żywienia zwierząt mieszanką lucerny z *Festulolium*, w której dominowała trawa, a najmniejsze, gdy zwierzęta karmiono samą lucerną. Skład paszy z mieszanki jest lepszy, gdyż ma większą koncentrację energii niż pasza z roślin motylkowatych oraz więcej białka i składników mineralnych niż pasza z traw. Trudność stanowi natomiast możliwość przewidywania wartości paszy z mieszanki, gdyż jest ona uzależniona od udziału komponentów, który wykazuje znaczną zmienność, będącą efektem wzajemnych oddziaływań roślin w zespole mieszanym. Stąd duże znaczenie badań, których wyniki umożliwiłyby większą przewidywalność i stabilność udziału partnerów mieszanki. Zawartość białka ogólnego w pełnowartościowej pod względem pokarmowym paszy dla przeżuwaczy powinna wynosić 12–16% suchej masy [20] oraz 10% cukrów rozpuszczalnych w wodzie [19]. Badania przeprowadzone przez Szponar-Krok i Kasperczyka [24] wykazały, że mieszanki lucerny z trawami były bogatsze w białko od traw w siewach czystych, natomiast nie stwierdzono wyższej niż w jednogatunkowych zasiewach traw zawartości cukrów.

Wyższy poziom plonowania mieszanek motylkowato-trawiastych niż zasiewów jednogatunkowych, lepsza efektywność w żywieniu zwierząt, jak również dodatkowe korzyści związane z mniejszą wrażliwością na niekorzystne warunki siedliska i większą stabilnością plonowania wskazują na celowość uprawy tych roślin w takiej formie.

Zjawiska wzajemnego oddziaływania roślin

Rośliny oddziałują na siebie zarówno w zespołach jedno- jak i wielogatunkowych. Wzajemne oddziaływanie roślin może polegać na wspomaganiu, opozycji lub współzawodnictwie. Brak wzajemnego oddziaływania określa się jako neutralność. Taki przypadek opisują Zannone i in. [25]; w warunkach ograniczonej wilgotności (brak deszczowania) stwierdzono brak wzajemnego oddziaływania kostrzewy i lucerny, tzw. neutralizm. Przy dostatku wody natomiast wystąpiła silniejsza konkurencja ze strony kostrzewy. Wspomaganie widoczne jest najczęściej w fazie wschodów, gdy sąsiedztwo większej liczby siewek, zwłaszcza drobnych nasion powoduje łatwiejsze przezwyciężanie oporu mechanicznego wierzchniej warstwy gleby. Może też być efektem działania allelopatycznego substancji wydzielanych przez rośliny tego samego lub towarzyszącego gatunku. Opozycja natomiast polega na wzajemnym ujemnym oddziaływaniu i najczęściej jest efektem oddziaływań allelopatycznych.

Współzawodnictwo składa się z szeregu oddziaływań, z których najbardziej poznanym jest konkurencja. Zjawisko to określane jest w literaturze angielsko-

i francuskojęzycznej jako competition; w tej pracy proponujemy tłumaczenie tego pojęcia jako konkurencja. Zjawiska konkurencji występują we wszystkich naturalnych zbiorowiskach roślinnych oraz w zbiorowiskach roślin uprawianych. Malcolm [17] uważa, że na sytuację konkurencji wskazuje pojawienie się efektów depresyjnych w odniesieniu do produkcji masy poszczególnych osobników w porównaniu z produkcją w warunkach izolacji. Inna definicja [9] mówi, że dwie rośliny konkurują ze sobą wówczas, gdy wzrost jednej z nich lub obu został osłabiony, czy też pokrój zmodyfikowany w porównaniu ze wzrostem czy kształtem roślin rosnących w izolacji. Zjawiska te, występujące w łanach jednogatunkowych, określamy jako konkurencję wewnątrzgatunkową, a poznanie jej zakresu i efektów służy określeniu optymalnego zagęszczenia roślin. Podobne lub identyczne zapotrzebowanie na wodę i składniki pokarmowe wszystkich sąsiadujących ze sobą osobników powoduje silną konkurencję, której efektem jest spadek masy poszczególnej rośliny w miarę zwiększania liczby roślin na jednostce powierzchni. Natomiast plon z jednostki powierzchni wzrasta wraz z zagęszczeniem, ale tylko do pewnej granicy, po przekroczeniu której następuje jego spadek. W pobliżu tej granicy znajduje się obszar optymalnej gęstości łanu, której osiągnięcie mają zapewnić właściwe zabiegi agrotechniczne [6].

Konkurencja międzygatunkowa, jako jeden z czynników produkcji roślinnej występuje w zasiewach mieszanych, kiedy na skutek zamierzonej działalności rolnika łan rośliny uprawnej składa się z osobników różnych gatunków lub odmian, wykazujących zróżnicowane zapotrzebowanie na poszczególne czynniki siedliska. W mieszance wielogatunkowej występują jednocześnie zjawiska konkurencji wewnątrz- i międzygatunkowej, przy czym im bardziej zbliżone są potrzeby dwu organizmów tym silniej konkurują one ze sobą, dlatego konkurencja wewnątrzgatunkowa jest silniejsza od międzygatunkowej [11]. Przejście od zasiewu jednogatunkowego do mieszanek jest równoznaczne z zastąpieniem części konkurencji wewnątrzgatunkowej przez konkurencję międzygatunkową. Stwierdzane w wielu badaniach korzystne efekty uprawy roślin w zasiewach mieszanych mogą wynikać z lepszego wykorzystania zasobów siedliska na skutek zróżnicowanej zdolności każdego z uprawianych łącznie gatunków bądź na skutek osłabienia konkurencji wewnątrzgatunkowej, co pozwala na większe zagęszczenie łanu, a tym samym zwiększa plon roślin z jednostki powierzchni. Jako przykład lepszego wykorzystania zasobów siedliskowych można podać wyniki badań porównawczych Jelinowskiej i Magnuszewskiej [13] dotyczące pobrania składników mineralnych przez mieszankę lucerny z trawą i każdego z gatunków uprawianych w zasiewach jednogatunkowych. Ilości pobrane przez mieszankę są znacznie większe niż przez poszczególne gatunki w odniesieniu do tej samej powierzchni.

Wzajemne oddziaływanie roślin w łanie może mieć różny charakter. Określenie tych relacji oraz stopnia ich nasilenia jest możliwe przy zastosowaniu właściwych metod badawczych. Pozwalają one na wyodrębnienie konkurencji międzygatunkowej i wewnątrzgatunkowej oraz na określenie stopnia jej nasilenia.

Metodyka badań konkurencji

Znaczna większość prac nad mieszankami motylkowatych z trawami odnosi końcowe wyniki do plonu masy z jednostki powierzchni. Charakteryzują one produktywność mieszanek w określonych warunkach, nie dają natomiast podstawy do poznania oddziaływań roślin na siebie w łanie mieszanki, a tym samym wpływu na proporcje składników. Również polskie badania nie uwzględniają tego parametru i większość wyników odnosi się do łanu roślin [2, 12, 16, 22, 24]. Znajomość wzajemnych stosunków między partnerami jest potrzebna dla zestawienia mieszanek bardziej produktywnych od zasiewów jednogatunkowych. Z tego względu konieczne jest poznanie efektów oddziaływania na siebie poszczególnych roślin [17, 25]. Zasadniczym warunkiem uzyskania informacji o zachowaniach roślin w warunkach konkurencji jest takie ich rozmieszczenie, które pozwala na przeprowadzenie obserwacji i pomiarów na pojedynczych roślinach. Powinny one rosnąć w zagęszczeniu wywołującym wystąpienie konkurencji, ale jednocześnie muszą być porównane do roślin niekonkurujących ze sobą. Ustalając metodykę badań trzeba uwzględnić:

- wybór właściwego schematu rozmieszczenia roślin,
- zakres oznaczeń i pomiarów oraz okres i termin ich wykonywania,
- przewidywany sposób przetworzenia uzyskanych wyników.

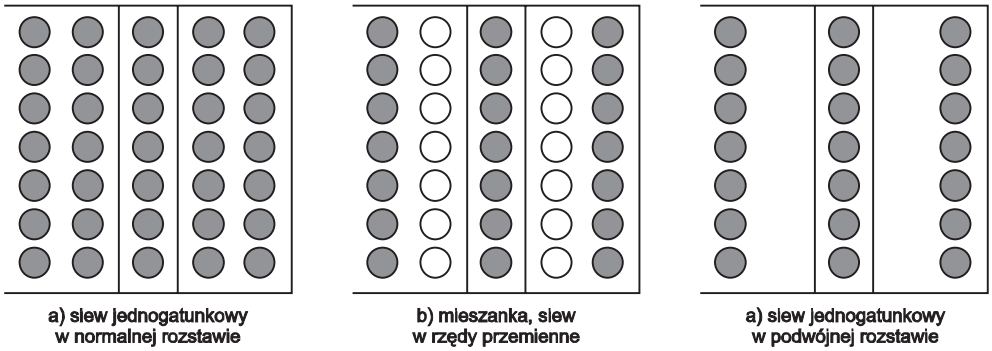
Schematy rozmieszczenia roślin mogą być różne. Sobkowicz [23] za najbardziej typowe do badania konkurencji międzygatunkowej uważa schemat addytywny i substytucyjny. W schemacie addytywnym do łanu roślin o zagęszczeniu właściwym dla danego gatunku (lub odmiany) wprowadza się dodatkowo zamierzoną liczbę osobników drugiego gatunku, powiększając tym samym zagęszczenie łączne. Natomiast schemat substytucyjny polega na zastąpieniu części osobników jednego gatunku roślinami drugiego gatunku przy stałym łącznym zagęszczeniu w łanie. Miarą efektów konkurencji w obu schematach jest proporcjonalna zmiana plonu jednego gatunku, jaka może nastąpić w wyniku konkurencji z drugim gatunkiem.

Określenie masy pojedynczej rośliny w warunkach konkurencji międzygatunkowej i porównanie z analogicznymi danymi w warunkach konkurencji wewnątrzgatunkowej pozwala na ocenę ilościową wpływu konkurencji między osobnikami dwu gatunków za pomocąy tzw. współczynnika konkurencji (CR – competitive ratio), który jest stosunkiem plonów względnych gatunku *i* do gatunku *j* [23],

$$CR_{ij} = \frac{Y_{ij}}{Y_{ii}} \div \frac{Y_{ji}}{Y_{jj}}$$

gdzie: CR_{ij} oznacza współczynnik konkurencji gatunku *i* w stosunku do gatunku *j*.

Wartość współczynnika zbliżona do 1 wskazuje, że siły wzajemnych oddziaływań konkurencyjnych równoważą się, a rozdział limitowanych czynników siedliskowych między oba gatunki jest proporcjonalny. Stosowanie schematu addytywnego w bada-



Rysunek 1. Schematy rozmieszczenia roślin w zasiewach jednogatunkowych i mieszanych [8]

niach nad mieszankami zakłada komplementarne wykorzystanie czynników siedliska przez partnerów mieszanki, co powoduje zwiększenie wydajności łanu, również przez większe jego zagęszczenie. Schemat substytucyjny natomiast pozwala na porównanie wpływu konkurencji wewnątrz- i międzygatunkowej na wielkość masy roślin. Można tym sposobem stwierdzić, czy wyższa produktywność mieszanki spowodowana jest przez zmniejszenie wpływu konkurencji wewnątrzgatunkowej, ograniczającej produktywność roślin, a co za tym idzie także produktywność łanu.

Do porównania efektów konkurencji wewnątrz- i międzygatunkowej w mieszance lucerny z kupkówką Cruz [8] stosował trzy sposoby rozmieszczenia roślin (rys. 1). Porównanie obiektów a i c pozwalało na ocenę konkurencji wewnątrzgatunkowej, b i c – międzygatunkowej, natomiast a i b dawało bilans efektów obu rodzajów konkurencji. Koniecznym warunkiem przy tym było zachowanie jednakowej odległości roślin w rzędzie.

Właściwości roślin wpływające na zjawiska konkurencyjności

Charakter konkurencji między komponentami mieszanki zależy m.in. od różnic morfologicznych i fizjologicznych. Ważnym czynnikiem kształtującym konkurencję o światło i przestrzeń na powierzchni gleby jest pokrój rośliny, który w dużej mierze zależy od warunków siedliskowych. Odmiany lucerny uprawiane w Ameryce Północnej mają tendencję do dominowania w mieszankach z trawą przez cały sezon wegetacyjny [6]. Wynika to z korzystnej struktury ulistnienia rośliny motylkowatej, pozwalającej na głęboką penetrację światła i efektywniejsze wykorzystanie energii świetlnej. W Europie zaś i w Australii trawy często mają większą zdolność konkurencji o światło niż lucerna, co jest szczególnie widoczne w odroście wiosennym. Trawy są wówczas wyższe i bardziej rozkrzewione ze względu na szybszy początkowy wzrost (współczynnik wzrostu traw wiosną jest wyższy niż towarzyszącej motyl-

kowatej). Prowadzi to do zacienienia pąków w szyjce korzeniowej lucerny, które nie rozwijają się intensywnie. Z kolei w pokosach letnich dominują rośliny motylkowate, które korzystając ze zgromadzonych w szyjkach korzeniowych materiałów zapasowych szybciej odrastają po defoliacji. Efektem tego jest wysoka produktywność mieszanki przez cały sezon. Zdolność konkurencyjna roślin o światło zależy również od kąta ustawienia liści i powierzchni liściowej. Motylkowate mają liście ustawione bardziej poziomo i absorbują światło tylko na niewielu piętrach, podczas gdy w runi traw światło przenika do głębszych warstw z powodu bardziej pionowego ustawienia liści. Dlatego też motylkowate są bardziej wrażliwe na zacienienie w warunkach konkurencji ze strony komponenta trawiastego mieszanki [12]. Pokrój rośliny może wpływać także na konkurencję o przestrzeń na powierzchni gleby, ale te relacje modyfikowane są głównie przez sposób i częstotliwość defoliacji. Zabiegi te muszą być zatem planowane w dostosowaniu do pokroju roślin i specyfiki odrastania ze szczególnym uwzględnieniem potrzeby utrzymania roślin motylkowatych w runi.

Morfologia systemu korzeniowego jest istotnym czynnikiem wpływającym na konkurencyjność roślin o wodę i składniki pokarmowe (zwłaszcza P, K i S). Konkurencja w strefie korzeniowej ma większe znaczenie i prawdopodobnie rozpoczyna się wcześniej niż w strefie nadziemnej. Korzenie trawy rozmieszczone są głównie w warstwie do 20 cm pod powierzchnią gleby, podczas gdy lucerny znacznie głębiej. Głębokość ukorzenienia jest bardzo ważnym czynnikiem w konkurencji o wodę. Szereg gatunków traw wieloletnich, np. kupkówka, ma zdolność przetrwania okresów suszy w stanie uśpienia, podczas gdy trawy jednoroczne i rośliny motylkowate (z wyjątkiem lucerny) szybko wypadają. W przypadku lucerny głębokie korzenie dają jej przewagę nad trawami, jeśli dostępność wody i składników pokarmowych w wierzchniej warstwie gleby jest ograniczona, a w poziomie głębszym istnieje możliwość ich pobierania. Wytwarzanie głębokiego i rozbudowanego systemu korzeniowego przez lucernę w początkowym okresie wzrostu powoduje wolniejszy niż u traw wzrost części nadziemnej, co wzmacnia konkurencję trawy. W dalszych odrostach natomiast motylkowate szybciej wytwarzają masę nadziemną, korzystając z zapasów zgromadzonych w szyjce korzeniowej. W mieszankach lucerny z trawami szczególne znaczenie ma konkurencja o potas. Przy wysokim stopniu zaopatrzenia w ten pierwiastek lucerna dominuje w mieszance, natomiast przy jego niedoborze dominuje trawa. W warunkach suszy powierzchniowo stosowane nawozy mogą być bardziej dostępne dla płytko korzeniących się traw. Lucerna ma dwukrotnie większą zdolność wymienną kationów dwuwartościowych. Trawy mają więc mniejszą zdolność pobierania wapnia i konkurują z lucerną o ten pierwiastek w warunkach jego niedoboru [6, 10].

Czynniki siedliska wpływające na udział komponentów w runi

Utrzymanie właściwej proporcji trawy i rośliny motylkowatej w mieszance można uzyskać poprzez właściwy dobór gatunków i odmian, terminu i gęstości siewu, nawożenia oraz terminu i wysokości koszenia [6].

Gatunek i odmiana. Dobór traw do mieszanek z lucerną uzależniony jest przede wszystkim od warunków siedliskowych. Badania francuskie [25] wykazały, że najbardziej produktywne są mieszanki składające się z plennej odmiany lucerny i wczesnej odmiany trawy, wykorzystującej możliwości przyrostu masy zanim lucerna osiągnie okres maksymalnego wzrostu. Poza wczesnością odmiany traw powinny odznaczać się dużym wigorem, trwałością, wysoką aktywnością fotosyntetyczną, również przy ograniczonym dostępie światła i wyrównanym plonem poszczególnych pokosów. Z kolei lucerna powinna być wczesna, żywotna, trwała (odbudowa rezerw korzeniowych w fazie pąkowania) i równo plonować w kolejnych pokosach. Według Casler i Walgenbach [5] dobrą trawą do mieszanek z lucerną, na trudne warunki związane z okresowym deficytem wody, jest wczesna kostrzewa trzcinowa, a następnie średnio późna odmiana kupkówki. Odmiany późne kupkówki są mniej produktywne, a wczesne charakteryzują się dużą agresywnością, stąd mniejsza ich przydatność. W lepszych warunkach wilgotnościowych dobrze sprawdzają się wczesne odmiany tymotki łąkowej oraz stokłosa bezostna, pomimo jej wolniejszego odrastania. Badania Casler [4] wykazały, iż w grupie życic zaskakującą zimotrwałością wykazała się życica wielokwiatowa, która uważana przez autora za gatunek jednoroczny była zdolna do dobrego przezimowania w mieszankach z lucerną w rejonach umiarkowanych o wystarczającej pokrywie śnieżnej. W takich warunkach życica wielokwiatowa i mieszańcowa okazały się lepszym komponentem do mieszanek niż życica trwała ze względu na wyższą produktywność w okresie letnim. W rejonach o niewystarczającej pokrywie śnieżnej życica trwała dłużej utrzymywała się w runi niż wielokwiatowa. W tej grupie gatunków dobrym komponentem do mieszanek okazało się też festulolium, ze względu na dobrą trwałość i wysoką produktywność w okresie letnim [5].

Przytoczone wyniki wskazują, że warunki klimatyczne i glebowe znacznie modyfikują przydatność określonych odmian i gatunków roślin do mieszanek, dlatego w naszych warunkach siedliskowych zachowanie poszczególnych gatunków roślin może się znacznie różnić i przeniesienie tych zaleceń jest niemożliwe. Tempo przyrostu wiosennego – pierwszy pokos – jest uzależnione od strefy klimatycznej. Wczesna kupkówka w warunkach Polski jest trawą agresywną i wiosną dość wcześnie przechodzi w fazę generatywną, natomiast lucerna jako roślina ciepłolubna charakteryzuje się stosunkowo wolnym wzrostem wiosennym. Dlatego też w naszych warunkach klimatycznych do mieszanek z lucerną zalecane są późne odmiany kupkówki, co potwierdzają wyniki badań przeprowadzonych w IUNG [2, 12].

Tabela 1. Plony suchej masy lucerny i jej mieszanek z trawami [2]

Zasiew	Plony suchej masy [t · ha^{-1}]			
	rok siewu (2 pokosy)	I rok pełnego użytkowania (3 pokosy)	II rok pełnego użytkowania (4 pokosy)	III rok pełnego użytkowania (3 pokosy)
Kupkówka pospolita	8,83 a	21,9 d	21,1 a	18,2
Rajgras wyniosły	9,03 b	23,2 d	21,7 a	18,6
Stokłosa obiedkowata	9,10 b	21,7 d	23,0 b	18,0
Kostrzewa łąkowa	8,67 a	17,8 b	20,8 d	18,8
Tymotka łąkowa	8,33 a	19,3 c	22,9 b	19,1
Lucerna mieszańcowa bez trawy	7,67 a	15,0 a	22,3 b	18,0
NIR (α = 0,05)	1,242	1,11	2,01	r. n.

Największe plony uzyskiwano z mieszanek lucerny z kupkówką, natomiast na średnim poziomie plonowały mieszanki ze stokłosą uniolowatą, rajgrasem wyniosłym i tymotką. Najsłabszą wydajnością zaś wykazały się mieszanki z kostrzewą łąkową (tab. 1).

Gęstość i proporcje wysiewu. Gęstość siewu jest krytycznym czynnikiem przy porównywaniu produktywności mieszanek i zasiewów jednogatunkowych, dlatego każdy gatunek powinien rosnąć w optymalnym zagęszczeniu. U rośliny wysianej w większej gęstości występuje w mieszance depresja wzrostu. Według Chamblee i Collinsa [6] duża ilość wysiewu trawy redukuje liczbę wschodów lucerny i odwrotnie. Według badań IUNG [12] zróżnicowanie proporcji wysiewu komponentów (25% trawy + 75% lucerny, 50% trawy + 50% lucerny i 75% trawy + 25% lucerny w stosunku wagowym) nie powodowało znaczących różnic w wielkości plonu mieszanek, dlatego też w stosunku do badanych gatunków traw (kupkówka, rajgras wyniosły, stokłosa bezostna, kostrzewa łąkowa, tymotka) proponowana proporcja wysiewu w mieszance 50% lucerny + 50% trawy wydaje się właściwa i nie wymagająca dalszych badań. Znaczna rozpiętość proporcji komponentów przy wysiewie nie powodowała analogicznego zróżnicowania udziału obu gatunków w plonie. Istotnie większa była zależność składu botanicznego od nawożenia azotowego.

Nawożenie. Trawy uważane są za bardziej konkurencyjne o azot glebowy niż roślina motylkowata. Pogląd ten opiera się głównie na stwierdzeniu, że skutkiem nawożenia azotem mineralnym jest wzrost udziału komponenta trawiastego, który silniej konkuruje o światło, wodę i składniki pokarmowe z rośliną motylkowatą [10]. Konkurencja o azot między motylkowatą a trawą stanowi zjawisko bardzo specyficzne, ponieważ pobranie tego składnika przez trawy zależy od rośliny motylkowatej w dwojaki sposób. Roślina motylkowata może powiększać ilość azotu dostępnego dla trawy w zasięgu jej korzeni, lecz może także konkurować o azot mineralny. Równowaga między konkurencją, a transferem azotu zmienia się w zależności od fazy rozwojowej roślin. Ilość azotu związanego przez roślinę motylkowatą, a wykorzystywanego przez trawę, może wynosić od 0 do nawet 75% [11]. W początkowym okresie wzrostu, a zwłaszcza wiosną konkurencja lucerny o azot mineralny z gleby

może być kompensowana przez intensywniejsze wiązanie azotu atmosferycznego. Wiązanie azotu jest niewystarczające dla lucerny w okresach jej intensywnego wzrostu, a więc latem. Cruz i Lemaire [7] obserwowali reakcję kupkówki na nawożenie azotem w mieszance z lucerną. Analiza krzywej wzrostu trawy wskazywała na znacznie słabszą reakcję na azot w mieszance z lucerną, niż w siewie jednogatunkowym. Wskazuje to na silną konkurencję wewnątrzgatunkową lucerny, większą niż międzygatunkową z kupkówką, zarówno przy nawożeniu azotem, jak i bez nawożenia. Agresywność kupkówki w stosunku do lucerny jest znacznie mniejsza niż lucerny między sobą, pomimo szybszego tempa wzrostu kupkówki spowodowanego wysokim nawożeniem [8]. Można więc sądzić, że intensywność konkurencji nie wynika bezpośrednio z szybkiego przyrostu masy, ale ze zdolności do pochłaniania światła, uwarunkowanej szybkością przyrostu wskaźnika powierzchni liści i geometrią ulistnienia.

Termin i wysokość defoliacji. Relacje między konkurującymi gatunkami są modyfikowane przez światło oraz częstotliwość i intensywność defoliacji. Zabiegi te muszą być planowane nie tylko ze względów gospodarczo-organizacyjnych, lecz również w dostosowaniu do pokroju rośliny, specyfiki odrastania ze szczególnym uwzględnieniem potrzeby utrzymania rośliny motylkowatej w runi. Kluczowe znaczenie ma wysokość umieszczenia wierzchołka wzrostu (merystemu) na poziomie powierzchni gleby, poniżej poziomu urywania przez pasące się zwierzęta lub ucinania przez maszyny do zbioru. W przypadku traw zarówno pędy ściernianki, jak i blaszki liściowe mają zdolność do kontynuowania wzrostu po defoliacji. Odrastanie rozpoczyna się od inicjacji nowych liści z pączków bocznych; tkanki merystematyczne znajdują się dostatecznie nisko, aby uniknąć stałego uszkadzania, dlatego możliwe jest odrastanie. W okresie kwitnienia stożek wzrostu traw znajduje się powyżej poziomu wypasania, bądź koszenia dlatego defoliacja w okresie kwitnienia jest szkodliwa dla odrastania. Reakcja traw na defoliację jest różna w zależności od wielu czynników, m.in. zaopatrzenia w wodę i składniki pokarmowe, usunięcie lub pozostawienie wierzchołka wzrostu pędów, ilości dostępnych produktów fotosyntezy, zacienienie. Trawy o pokroju wyprostowanym, jak tymotka, kupkówka wolniej regenerują po defoliacji. Haynes [10] stwierdził znaczne zmniejszenie wigoru kupkówki po intensywnym wypasie, natomiast przy umiarkowanym wypasaniu wzrost jej był szybki i dominowała w runi. Mniejszą depresją plonów przy intensywnym wypasaniu odznaczały się natomiast rajgrasy.

Tolerancja na defoliację roślin motylkowatych zależy od ich pokroju. Gatunki o pędach tworzących rozłogi unikają większych uszkodzeń przy wypasie w przeciwieństwie do roślin o pokroju wyprostowanym, takich jak lucerna. Ich tolerancja na defoliację zależy od położenia szyjki korzeniowej, z której wyrastają nowe pędy, gdy stare zostaną skoszone. Merystem wierzchołkowy z zaczątkami liści jest unoszony do góry wraz z wydłużaniem się pędów, tak więc po skoszeniu lucerna pozbawiona jest punktów wzrostu. Langer [1973, cyt. za 11] uważa, że występują rytmiczne sekwencje aktywności pędów. Intensywny wzrost elongacyjny nowych pędów z szyjki

następuje, gdy poprzednio wytworzone pędy osiągają określoną fazę rozwojową, co na ogół następuje wraz z początkiem kwitnienia. Ze względu na specyfikę odrastania lucerna często bardziej niż trawy cierpi na skutek defoliacji, co może powodować dominację traw w runi. Lucerna nie utrzymuje się w runi pastwisk intensywnie użytkowanych przez owce (niskie przygryzanie).

W doświadczeniach przeprowadzonych w Pensylwanii [15] z mieszankami lucerny z trawami stwierdzono, że wydłużenie okresu między pokosami z 20 do 40 dni powodowało wzrost plonu suchej masy o 50% i zwiększenie udziału lucerny w masie mieszanki. W tych warunkach udział życicy trwałej w masie mieszanki malał z 49 do 18%. Według Borowieckiego [1] mieszanki lucerny z trawami, w celu uzyskania dobrej paszy użytkuje się w Polsce czterokrotnie. W warunkach zbioru trzech pokosów otrzymuje się większe plony, ale paszę gorszą jakościowo. Jest to wówczas ekstensywne użytkowanie mieszanek, ale okres ich trwania wydłuża się z dwóch do trzech lat.

Wyniki doświadczeń przeprowadzonych w IUNG w latach 1968–1991 wykazały, że spośród czynników kontrolowanych duże znaczenie miały: gatunek trawy uprawianej w mieszance, siew w roślinę ochronną (gatunek, nawożenie, termin zbioru), nawożenie – zwłaszcza azotem oraz terminy użytkowania. Nie stwierdzono znaczącego wpływu doboru odmiany (zarówno trawy, jak i lucerny), proporcji komponentów przy wysiewie, ani sposobu rozmieszczenia nasion (siew w odrębne rzędy lub nasionami zmieszanymi). Wykazano też dużą zależność wielkości plonów od czynników niekontrolowanych: warunków lokalnych i przebiegu pogody (tab. 2).

Tabela 2. Wpływ poszczególnych czynników na plony suchej masy mieszanek [13]

Czynnik	Różnice plonu suchej masy wywołane działaniem badanego czynnika [%]
Czynniki kontrolowane	
1. Dobór gatunku	10
2. Dobór odmiany	2–8
3. Siew	
• proporcje wysiewu	1–7
• rozmieszczenie nasion	0
• roślina ochronna	5–30
4. Nawożenie	
• wapnowanie	10–15
• nawożenie potasem	10–15
• nawozenie azotem	10–50
5. Użytkowanie	
• termin koszenia I odrostu	10–40
Czynniki niekontrolowane	
6. Pogoda	30
7. Warunki lokalne	40

Podsumowanie

Pasza z roślin motylkowatych uprawianych w mieszankach z różnymi gatunkami traw pastewnych jest lepiej zbilansowana pod względem energetycznym i białkowym, niż z każdej z tych grup roślin oddzielnie. Jednak możliwość przewidzenia dokładnej wartości paszy z mieszanki jest trudna, ponieważ jest ona uzależniona od udziału komponentów w runi, a czynnik ten wykazuje dużą zmienność w zależności od warunków siedliskowych i sposobu użytkowania.

Oprócz dostarczania wartościowej paszy mieszanki pełnią ważną funkcję ekologiczną. Korzystanie przez komponenta trawiastego z azotu, wiązanego przez bakterie symbiotyczne rośliny motylkowatej, a także wzbogacenie w ten składnik gleby w środowisku po mieszance umożliwia ograniczenie stosowania azotu mineralnego, jak również pozostawia dobre stanowisko dla roślin następczych. Korzystna funkcja ekologiczna mieszanek zaznacza się wyraźnie przy odpowiednio zbilansowanym składzie botanicznym runi.

Dotychczasowe prace wskazują na możliwość uzyskania większego plonu z mieszanek niż z zasiewów jednogatunkowych. Spowodowane jest to głównie ograniczeniem zjawiska konkurencji wewnątrzgatunkowej oraz możliwością wykorzystywania składników pokarmowych z różnych warstw gleby, co pozwala na większe zagęszczenie łanu, a tym samym większy plon z jednostki powierzchni. Trudno jest jednak sformułować niezawodne zalecenia odnośnie doboru gatunków, ich udziału oraz sposobu użytkowania ze względu na niedostateczną znajomość relacji między roślinami w łanie, a to poważnie ogranicza możliwości sterowania składem botanicznym. Końcowe wyniki charakteryzują przeważnie produktywność mieszanek w określonych warunkach, nie dają natomiast podstaw do poznania wzajemnych oddziaływań roślin w łanie, a tym samym wywierania wpływu na proporcje składników. Badania umożliwiające uzyskanie potrzebnych informacji wymagają zastosowania odmiennej metodyki, pozwalającej na głębsze poznanie zjawisk konkurencji.

Literatura

[1] Borowiecki J. 1993. Utilisation des légumineuses pour une production fourragère extensive en Pologne. *Fourrages* 134: 165–169.

[2] Borowiecki J. 1994. Porównanie plonowania mieszanek lucerny z trawami w zależności od sposobu siewu i nawożenia azotem. *Pam. Puł.* 104: 89–100.

[3] Borowiecki J. 2000. Mieszanki roślin motylkowatych z trawami w polowej produkcji pasz. *Post. Nauk Rol.* 1: 83–94.

[4] Casler M.D. 1988. Performance of orchardgrass, smooth bromegrass and raygrass in binary mixtures with alfalfa. *Agron. J.* 80(3): 509–514.

[5] Casler M.D., Walgenbach R.P. 1990. Ground cover potential of forage grass cultivars mixed with alfalfa at divergent locations. *Crop Sci*. 30(4): 825–831.

[6] Chamble D.S., Collins M. 1988. Relationships with other species in a mixture. Rozdział monografii: Alfalfa and alfalfa improvement. Editor Hanson A.A. Nr 29 in the series Agronomy, Madison Wisconsin: 439–457.

[7] Cruz P., Lemaire G. 1986. Analyse des relations de competition daus une association de Luzerne (*M. sativa* L.) et de dactyle (*Dactylis glmerata* L.) II. Effets sur la nutrition azotée des deux éspèces. *Agronomie* 6(8): 735–742.

[8] Cruz P. 1985. Rélations de compétition daus une association luzerne – dactyle. Thèse à l'Université de Paris – Sud.

[9] Eddowes M. 1972. Podstawy uprawy roślin. Adaptacja pod redakcją A. Listowskiego. Wyd. PWRiL.

[10] Fairey N.A., Lefkovitch L.P. 1994. Herbage production as influenced by stand arrangement, nitrogen fertility and supplement water. *Cauad. Journ. Plant Science* 74(1): 115–120.

[11] Haynes R.J. 1980. Competitive aspects of the grass-legume association. *Advances in Agron.* 33: 227–261.

[12] Jelinowska A. 1999. Czynniki warunkujące plonowanie mieszanek lucerny z trawami w świetle wyników doświadczeń IUNG. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie* 347: 153–168.

[13] Jelinowska A., Magnuszewska K. 1999. Nadprodukty wność mieszanek lucerny z trawami. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie* 347: 169–176.

[14] Jolliffe P.A., Wanjan F.M. 1999. Competition and productivity in crop mixtures: some properties of productive intercrops. *J. Agricult. Sci*. 132(4): 425–436.

[15] Jung G.A., Shaffer J.A., Everhart J.R. 1996. Utilisation frequency and cultivar influence on yield and protein of alfalfa-reygrass mixtures. *Agron. J.* 88(5): 817–822.

[16] Kitczak T. 1997. Plonowanie lucerny siewnej (*Medicago sativa* L.) i stokłosy obiedkowatej (*Bromus unioloides* HUMB. et KUNTH.) w siewie czystym i mieszanym w warunkach zróżnicowanego nawożenia azotowego i nawadniania. *Biul. Oc. Odm*. 29: 167–171.

[17] Malcolm W.N. 1966. Biological interactions. *Bot. Rev*. 32(3): 243–254.

[18] Ostrowski R., Borowiecki J. 1997. Wartość pokarmowa siana i kiszonki z lucerny oraz mieszanek lucerny z *Festulolium* lub kostrzewą łąkową ocenianą na owcach. *Rocz. Nauk. Zoot*. 24(3): 173–185.

[19] Podkówka W., Podkówka E. 1985. Wpływ jakości pasz na pobieranie przez krowy suchej masy i energii. *Nowe Rolnictwo* 5: 23–25.

[20] Preś J., Ruszczyc Z. 1981. Dodatek pasz węglowodanowych w letnim żywieniu krów. *Rocz. Nauk. Zoot*. 19: 39–45.

[21] Rudnicki F., Jaskulski D. 2006. Ocena wzajemnego oddziaływania konkurencyjnego pomiędzy roślinami uprawnymi a chwastami w łanach. *Acta Scientiarum Polonorum. Agricultura (Agronomia)* 5(1): 45–52.

[22] Sobkowicz P. 1999. Wpływ konkurencji między jęczmieniem, owsem i pszenżytem w mieszankach uprawianych w zróżnicowanej ilości wysiewu na plon białka. *Rocz. AR Poznań* CCCXXV. *Rol*. 58: 111–123.

[23] Sobkowicz P. 2001. Nadziemna i podziemna konkurencja między jęczmieniem i owsem w mieszance w początkowym okresie wzrostu. *Frag. Agron*. XVIII, 2(70): 103–119.

[24] Szpunar-Krok E., Kasperczyk M. 2001. Wartość paszowa trzech gatunków traw oraz ich mieszanek z roślinami motylkowatymi. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie* 383: 89–97.

[25] Zannone L., Rotili P., Paoletti R., Scotti C. 1986. Experimental studies of grass-legume associations. *Agronomie* 6(10): 931–940.

Interaction of plants in single-species and mixed sowing on an example of lucerne-grasses mixtures

Key words: mixtures, plants competition, lucerne, grasses

Summary

The aim of this paper was to presents the competition effects on legume-grasses mixtures. There were discussed some issues related to influence of different factors on the interspecific competition. Yielding potential of the mixtures depends on productive possibilities of the components and their participation in plant association, what is determined by habitat conditions. Research of the competition effects is necessary to effective control of field by proportions of sowing to cultivated measures, especially fertilization and utilization.

Postępy Nauk Rolniczych nr 5/2007: 51–63

Nowoczesne metody w badaniach ryzosfery roślin sadowniczych

Lidia Sas-Paszt, Sławomir Głuszek
Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach
ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice
Lidia.Sas-Paszt@insad.pl

Słowa kluczowe: proekologiczne metody nawożenia, ryzosfera, rośliny sadownicze, wzrost i rozwój korzeni

Wstęp

Ryzosfera stanowi 1–5 mm warstwę gleby (mikrośrodowisko gleby) ściśle przylegającą do powierzchni korzeni roślin [67, 68]. Strefa ta charakteryzuje się aktywnym oddziaływaniem wszystkich jej komponentów oraz dużą dynamiką przebiegu procesów bio-fizyko-chemicznych. Do procesów tych zaliczamy m.in. zmiany pH, pobieranie wody i składników mineralnych oraz substancji toksycznych, zmiany stężeń składników mineralnych, pobieranie O_2 i wydzielanie CO_2, zmiany potencjału oksydoredukcyjnego, zmiany stężeń wydzielin korzeniowych (protonów, anionów, związków organicznych lub mineralnych), aktywność mikroorganizmów, aktywność enzymów korzeniowych, grzybowych i bakteryjnych.

Badania ryzosfery prowadzone są w wielu placówkach naukowych na świecie, jednak badania dotyczące roślin sadowniczych są bardzo trudne i niewiele jest ośrodków naukowych na świecie podejmujących tę tematykę [13, 56]. Są one jednak szczególnie istotne z powodu rozwoju nowych technologii uprawy roślin sadowniczych w polu i pod osłonami oraz niewystarczającego stanu wiedzy na temat dawek, terminów nawożenia i form podstawowych składników mineralnych niezbędnych do prawidłowego wzrostu i plonowania ważnych gospodarczo odmian i gatunków roślin sadowniczych. Prawidłowe odżywianie mineralne nie jest możliwe bez rozpoznania właściwości roślin i gleby oraz wpływu nawożenia na glebę i roślinę. Przy określaniu wymagań pokarmowych należy uwzględnić potrzeby pokarmowe odmian roślin, efektywność pobierania składników mineralnych w ryzosferze oraz zawartość i dostępność składników mineralnych w glebie. Poznanie procesów zachodzących w ryzosferze roślin sadowniczych pozwoli na precyzyjne określenie potrzeb nawozowych tych roślin oraz zwiększy ich wzrost i plonowanie. Pomimo dużej czasochłonności, trudności oraz kosztowności badań nad ryzosferą istnieje potrzeba systematycznego rozwijania tej dziedziny nauki dla roślin sadowniczych.

Badania korzeni oraz procesów zachodzących w ryzosferze

Badania ryzosfery mają charakter wielodyscyplinarny i obejmują swym zasięgiem fizjologię, anatomię i morfologię roślin, a szczególnie korzeni, biologię molekularną i biochemię, mikrobiologię, mikologię, ekologię, gleboznawstwo i nawożenie roślin, ekotoksykologię oraz modelowanie na poziomie rośliny i ekosystemów. Techniki ryzosferowe są powszechnie stosowane w badaniach dotyczących m.in.:

- określenia długości życia korzeni drobnych (fine roots) i krótkich korzeni mikoryzowych (mycorrhizal short roots) [65];
- charakterystyki formowania się i tempa wzrostu korzeni w zależności od czynników agrotechnicznych czy warunków glebowo-klimatycznych [52, 53, 54, 56];
- oceny biomasy i stanu żywotności korzeni drobnych, tj. formowanie się, zanikanie, obumieranie, rozkład i demineralizacja [1, 26];
- monitorowania dynamiki wzrostu i rozwoju korzeni [59, 66];
- określenia wskaźników stresów środowiskowych w różnych ekosystemach i regionach świata (opracowanie stosunków zawartości składników mineralnych np. Ca/Al w glebie i w korzeniach jako istotnych wskaźników stresów środowiskowych i korzeniowych) [37, 55];
- identyfikowania korzeni drobnych na poziomie gatunków i pojedynczych drzew w ekosystemach wielogatunkowych, tj. sady, lasy, łąki, tereny uprawowe [14];
- porównania i oceny istniejących metod badania wzrostu korzeni drobnych [29];
- modelowania dynamiki wzrostu i rozkładu korzeni drobnych w różnych warunkach środowiskowych [7, 70];
- określenia roli i funkcji korzeni drobnych w akumulacji węgla, azotu i innych pierwiastków w glebie [17];
- pobierania składników odżywczych z gleby przez korzenie drobne [56];
- badania wpływu zróżnicowanego nawożenia na aktywność strefy przykorzeniowej [12, 25];
- badania wpływu chemicznych środków ochrony roślin na aktywność ryzosfery [63];
- badania bioróżnorodności mikroorganizmów glebowych [61, 38];
- badania wpływu wydzielin korzeniowych roślin na bioróżnorodność i wielkość populacji mikroorganizmów ryzosferowych oraz wzrost roślin (np. allelopatię) [27];
- badania oddziaływań pomiędzy grzybami mikoryzowymi i saprotroficznymi, bakteriami i promieniowcami oraz ich wpływu na wzrost roślin [2, 3, 5, 6, 15, 16, 20, 24, 28, 35, 36, 42, 46];
- badania oddziaływań antagonistycznych (konkurencja, pasożytnictwo, drapieżnictwo) między biologicznymi komponentami ryzosfery, istotnych w ochronie roślin przed patogenami i szkodnikami [11, 41, 43, 44, 64];
- izolacji i selekcji szczepów mikroorganizmów o korzystnym wpływie na wzrost i plonowanie roślin w celu produkcji komercyjnych szczepionek doglebowych [40, 62].

Prowadzone w wielu ośrodkach na świecie badania interakcji między rośliną, glebą a mikroorganizmami znajdują już praktyczne zastosowanie w rolnictwie zrównoważonym i ekologicznym [4, 57], w leśnictwie, ochronie środowiska naturalnego i fitoremediacji terenów zanieczyszczonych metalami ciężkimi i związkami organicznymi [8, 9, 10; 18, 19, 21, 22, 23, 58], w rozwoju nowych technologii uprawy i nawożenia oraz ochrony roślin [56, 69], a także w modelowaniu procesów zachodzących w ryzosferze [39, 61].

W dobie rozwoju nowych proekologicznych technologii uprawy roślin w warunkach zrównoważonego środowiska naturalnego niezbędne jest poznanie i praktyczne wykorzystanie procesów zachodzących w ryzosferze w celu zwiększenia efektywności pobierania i przyswajania składników mineralnych. Badania ryzosfery wnoszą nowe informacje na temat aktywnej modyfikacji tej strefy przez korzenie w procesach mineralnego odżywiania roślin [34, 45, 47, 48, 50, 51, 52, 53, 54, 55]. Na przykład, zmiany pH, wydzieliny korzeniowe (kwasy organiczne, związki fenolowe) oraz ektoenzymy zwiększają dostępność i pobieranie składników odżywczych w ryzosferze, a przez to poprawiają stan odżywienia roślin oraz ich lepszy wzrost i plonowanie [34, 50, 51, 53]. Procesy biologiczno-chemiczne zachodzące w ryzosferze mają także istotny wpływ na wzrost i rozwój roślin w niekorzystnych warunkach środowiska glebowego [30, 31, 32, 33].

Ilościowa i jakościowa ocena procesów zachodzących w ryzosferze posłuży poznaniu i modelowaniu tych procesów, istotnych w odżywianiu roślin, szczególnie w rozwoju proekologicznych metod uprawy roślin. Dalszy rozwój tej dziedziny nauki umożliwi lepsze poznanie procesów zachodzących w ryzosferze oraz ich wpływu na różnorodność biologiczną gleby, bioróżnorodność genotypów roślin oraz odmianowe różnice w reakcji korzeni roślin i aktywności ryzosfery. Poznanie procesów zachodzących w ryzosferze przyczyni się do rozwoju nowych, proekologicznych metod uprawy roślin, ograniczających stosowanie nawozów mineralnych, pestycydów, herbicydów i innych chemicznych środków produkcji. Praktyczne wykorzystanie procesów zachodzących w ryzosferze przyczyni się do zmniejszenia zanieczyszczenia środowiska nie tylko metalami ciężkimi i związkami organicznymi, ale także jonami azotu i fosforu, które są główną przyczyną eutrofizacji wód powierzchniowych. Wiąże się to z koniecznością przywrócenia i utrzymania naturalnej równowagi ekologicznej na plantacjach roślin sadowniczych i w ich otoczeniu.

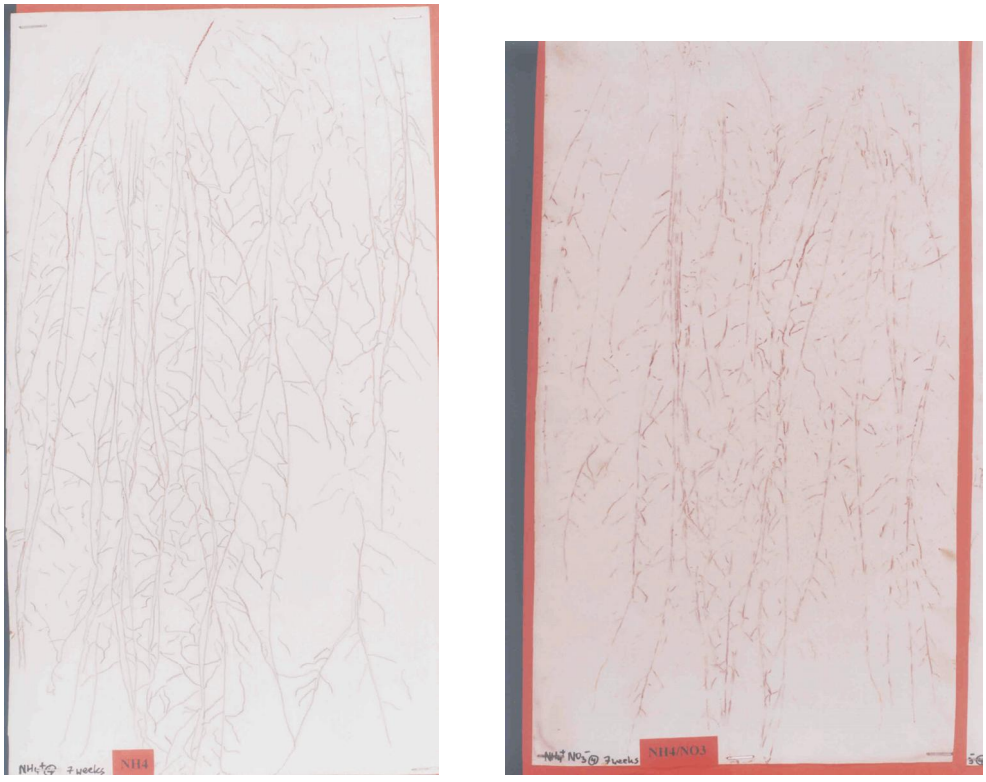
Nowe metody badania ryzosfery roślin sadowniczych

Badania ryzosfery roślin sadowniczych mają na celu określenie funkcji i morfologii korzeni oraz biologii strefy przykorzeniowej w pobieraniu i przyswajaniu składników mineralnych, ich wzroście i plonowaniu oraz ochronie roślin przed patogenami glebowymi i szkodnikami. Doświadczenia w tym zakresie prowadzone są w warunkach szklarniowych, a także polowych z użyciem mikroorganizmów

Rysunek 1. Rośliny truskawki rosnące w skrzyniach korzeniowych tzw. ryzoboksach (z lewej) i odsłonięte korzenie truskawki po zdjęciu przezroczystej ściany ryzoboksu (z prawej)

Rysunek 2. Pozyskiwanie wydzielin korzeniowych roślin truskawki rosnących w kulturach hydroponicznych

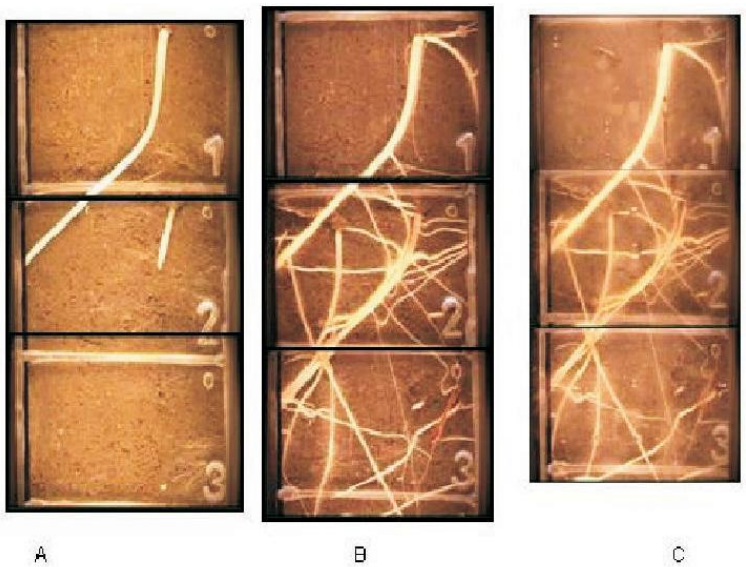
(m.in. bakterii PGPR i inokulów mikoryzowych) oraz przyjaznych dla środowiska bionawozów i ściółek organicznych. Doświadczenia szklarniowe prowadzone są w skrzyniach korzeniowych tzw. ryzoboksach (rys. 1) lub w kulturach hydroponicznych (rys. 2), co umożliwia wykonywanie testów korzeni i ryzosfery w różnych fazach wzrostu i rozwoju roślin. W badaniach aktywności ryzosfery stosowane są niedestrukcyjne (nieniszczące roślin) techniki i testy [49, 50]. Wykonywane są ilościowe i jakościowe analizy zmian przebiegu procesów zachodzących w ryzosferze, w zależności od oddziaływania naturalnych komponentów biosfery gleby i innych czynników agrotechnicznych (rys. 3). W badaniach procesów zachodzących w ryzosferze odsłonięte korzenie pokrywane są bibułami testowymi lub filtrami agarowymi (rys. 4). Wydzieliny korzeniowe (aniony kwasów organicznych i związki fenolowe) analizowane są ilościowo i jakościowo z użyciem HPLC (chromatografia wysokociśnieniowa) oraz testów enzymatycznych. Analizy składu mineralnego i organicznego roślin, wydzielin korzeniowych oraz ryzosferowego roztworu glebowego umożliwią określenie efektywności pobierania i przyswajania składników odżywczych przez ważne gospodarczo gatunki i odmiany roślin sadowniczych. Modyfikacje wzrostu



Rysunek 3. Niedestrukcyjny test na oznaczanie aktywności kwaśnej fosfatazy korzeniowej w ryzosferze roślin truskawki, przy zróżnicowanym nawożeniu azotowym; mniejsza aktywność kwaśnej fosfatazy korzeniowej pod wpływem nawożenia NH_4NO_3 (lewa bibuła testowa) i wyższa przy odżywianiu roślin NH_4^+ w formie $(NH_4)_2SO_4$ (prawa bibuła wskaźnikowa)

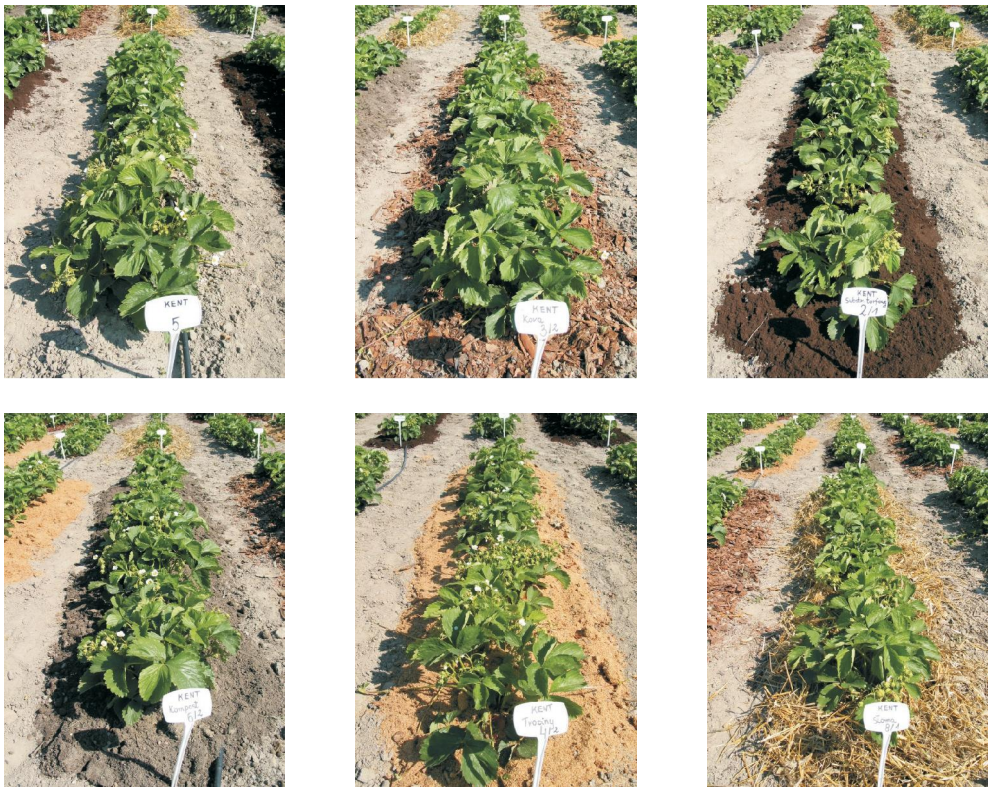
Rysunek 4. Badanie procesów zachodzących w ryzosferze roślin truskawki; z lewej wizualizacja zmian pH w ryzosferze pod wpływem zróżnicowanego nawożenia azotowego, z użyciem filtrów agarowych; z prawej pozyskiwanie wydzielin korzeniowych z użyciem krążków bibułowych

i rozwoju korzeni badane są z użyciem skanera korzeniowego (Firmy Hewlett Packard). Badania z użyciem miniryzotronu (Firmy Bartz Technology Corp., USA) prowadzone są w naturalnych warunkach wzrostu roślin i służą określeniu dynamiki wzrostu i morfologii korzeni drobnych przy zróżnicowanym statusie mineralnym roślin, gleby i ryzosfery (rys. 5).



Rysunek 5. Zdjęcia młodych korzeni jabłoni wykonane z użyciem miniryzotronu, w tej samej lokalizacji, w odstępach kilku tygodniowych (Sad Pomologiczny ISK, jesień 2006 r.):
A – połowa września 2006 r. (2 tygodnie po instalacji tub miniryzotronowych)
B – koniec września 2006 r. (4 tygodnie po instalacji tub miniryzotronowych)
C – koniec października 2006 r. (8 tygodni po instalacji tub miniryzotronowych)

Praktycznym aspektem badań ryzosfery roślin sadowniczych jest określenie wpływu czynników agrotechnicznych (m.in. nawożenia mineralno-organicznego, substratów bakteryjno-mikoryzowych,) na cechy wzrostu korzeni i stan odżywienia roślin. Badana jest także rola wydzielin korzeniowych, pH ryzosfery, procesów utleniania i redukcji w zwiększaniu dostępności przyswajalnych form składników mineralnych w ryzosferze oraz ich efektywnym pobieraniu przez korzenie roślin. Bardzo ważnym elementem tych badań są oddziaływania naturalnych komponentów biosfery gleby na cechy wzrostu pędów (m.in. intensywność zielonej barwy liści, wielkość roślin, pokrój krzewu, średnicę pnia), intensywność kwitnienia oraz wielkość i jakość plonowania roślin. Badany jest także wpływ zróżnicowanego nawożenia mineralnego oraz ściółkowania (kompost, torf, kora drzewna, trociny, obornik, substrat mikoryzowy, słoma) na wzrost korzeni i pędów, aktywność mikrobiologiczną gleby ryzosferowej oraz plonowanie roślin (rys. 6). Badania w tym zakresie wykazały korzystny wpływ mikoryzacji oraz ściółkowania roślin na zwiększoną absorpcję N, P, K, Zn, Mn, Cu i wody z gleby, poprawę właściwości fizykochemicznych gleby oraz

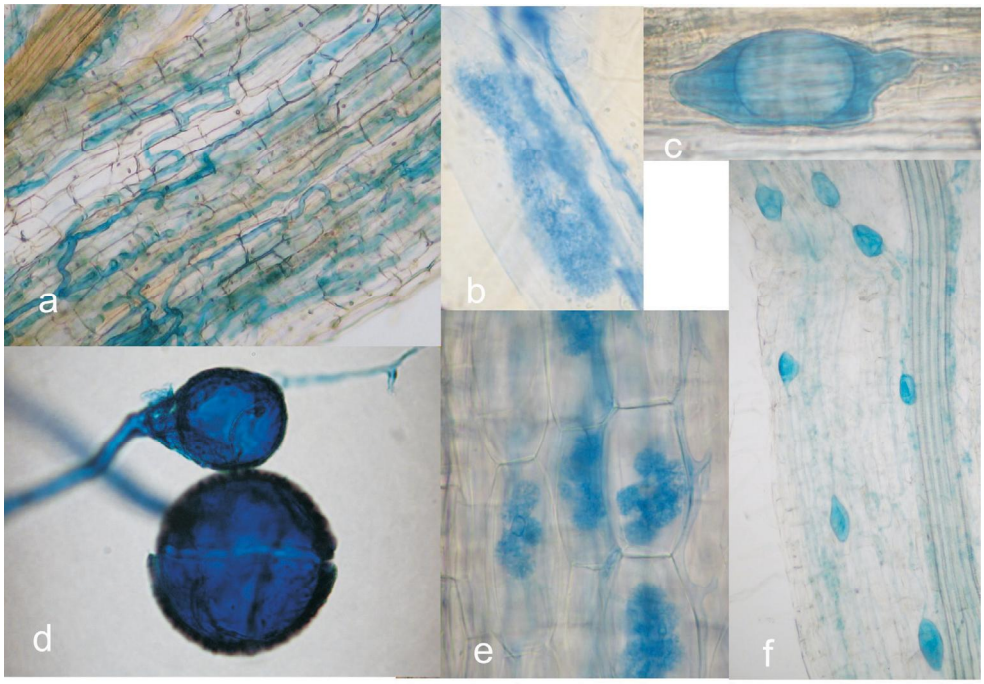


Rysunek 6. Doświadczenie polowe nad wpływem ściółek organicznych na wzrost i plonowanie roślin truskawki oraz aktywność mikrobiologiczną gleby ryzosferowej (Sad Pomologiczny ISK, 2006)

zwiększenie zawartości składników mineralnych w glebie ryzosferowej. Stwierdzono także różnice odmianowe roślin sadowniczych we wzroście korzeni i modyfikowaniu procesów zachodzących w ryzosferze (np. zakwaszenie w ryzosferze związane z wydzielaniem przez korzenie jonów H^+, różnice we wzroście korzeni drobnych oraz w pobieraniu składników mineralnych). Badania ryzosfery roślin sadowniczych obejmują także doświadczenia mające na celu określenie wskaźników stresów korzeniowych (np. współczynnika frekwencji mikoryzowej w korzeniach, tempa wzrostu korzeni, stosunku Ca : Al. w korzeniach) w warunkach zakwaszenia gleby, toksyczności glinu, niedoboru lub nadmiaru składników mineralnych (rys. 7).

Trudności badania ryzosfery wiążą się z wieloma problemami pojawiającymi się zarówno w badaniach in situ (w warunkach naturalnych i sztucznych), jak i ex situ (w laboratoryjnych badaniach oddzielonych od siebie komponentów ryzosfery). Spowodowane są one wieloma czynnikami, m.in.:

- Dynamicznym oddziaływaniem wszystkich komponentów ryzosfery powodującym kontynuacyjne zmiany procesów zachodzących w ryzosferze (m.in. zmiany aktywności korzeni, zmiany potencjału oksydoredukcyjnego, stężeń jonów składników mineralnych, aktywności ektoenzymów, zmiany pH, wydzielania korzeniowego, aktywności mikroorganizmów, wpływu czynników środowiska zewnętrznego).



Rysunek 7. Korzenie truskawki z widocznymi strukturami grzybów mikoryzowych: a – strzępki grzybni w korzeniu; b, e – arbuscule w komórkach korzenia; c, f – pęcherzyki (vesicles) grzybów mikoryzowych; d – zarodniki

- Utrudnionym izolowaniem gleby ryzosferowej od korzeni roślin i cząsteczek otaczającej gleby.
- Zmianami fizykochemicznymi i biologicznymi gleby ryzosferowej po jej wyizolowaniu od korzeni i otaczającej gleby (zmiany pH, potencjału redoks, wilgotności próbek).
- Problemami w izolacji i hodowli mikroorganizmów ryzosferowych, zwłaszcza anaerobowych i mikroaerofilnych bakterii, promieniowców, arbuskularnych grzybów mikoryzowych lub endosymbiotycznych bakterii.
- Trudnym pozyskiwaniem wydzielin korzeniowych w ryzosferze i z roztworu glebowego.
- Utrudnioną ekstrakcją i identyfikacją związków organicznych z wydzielin korzeniowych (pozyskiwanych z krążków bibułowych lub z roztworu glebowego).
- Biodegradacją wydzielin korzeniowych przez mikroorganizmy glebowe (duże tempo rozkładu).
- Antagonistycznymi oddziaływaniami między biologicznymi komponentami ryzosfery.
- Brakiem nieinwazyjnych metod badania mikroorganizmów ryzosferowych.
- Brakiem całkowicie niedestrukcyjnych metod badania korzeni.
- Formowaniem się i zanikaniem korzeni w okresie pomiędzy poszczególnymi pomiarami.
- Zasłanianiem starych korzeni przez nowo formujące się korzenie lub strzępki grzybów.
- Zakłóceniami obserwacji korzeni spowodowanymi obumieraniem korzeni lub ich zjadaniem przez szkodniki glebowe.
- Niemożnością zastosowania pewnych metod (m.in. miniryzotron) obserwacji korzeni m.in. w sadzie w okresie zimy lub trudnych warunków pogodowych.
- Trudnością w interpretowaniu zdjęć korzeni i uzyskanych wyników badań.

Literatura

[1] Aerts R., Berendse F., Klerk N.M., Bakker C. 1989. Root production and root turnover in two dominant species of wet heatlands. *Oecologia* 81: 374–378.

[2] Andrade G., Mihara K.L., Linderman R.G., Bethlenfalvay G.J. 1997. Bacteria from the rhizosphere and hyphorhizosphere soils of different arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 192(1): 71–79.

[3] Azcon-Aguilar C., Jaizme-Vega M.C., Calvet C. 2002. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil-borne plant pathogens. W: Gianinazzi S., Schuepp H. (red.), Mycorrhizal Technology: from Genes to Bioproducts? Achievements and Hurdles in Arbuscular Mycorrhiza Research. Birkhauser, Basel: 187–198.

[4] Barea J.M. 2000. Rhizosphere and mycorrhizae of field crops. W: Toutant P., Balazs E., Galante E., Lynch J.M., Shepers J.S., Werner D., Werry P.A. (red.), Biological Resource Management, Connecting Science and Policy (OECD). INRA and Springer, Berlin, Heidelberg, New York.

[5] Barea J.M., Gryndler M., Lemananceau P., Schuepp H., Azcon R. 2002. The Rhizosphere of mycorrhizal plants. W: Gianinazzi S., Schuepp H., Barea J.M., Haselwandter K. (red.), Mycorrhizal Technology in Agriculture: from Genes to Bioproducts. Birkhauser, Basel.

[6] Behl R.K., Sharma H., Kumar V., Narula N. 2003. Interactions among mycorrhiza, *Azobacter chroococcum* and root characteristics of wheat varieties. *J. Agron. & Crop Sci*. 189(3):151–155.

[7] Bułaj B. 2006. Fizjologia i długość życia drobnych korzeni populacjach sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) z różnych szerokości geograficznych w Europie. Katedra Hodowli Lasu. Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, Wydział Leśny. Praca doktorska wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Jerzego Modrzyńskiego: 157 ss.

[8] Chaudhry T.M., Khan A.G. 2002. Role of symbiotic organisms in sustainable plant growth on heavy metal contaminated industrial sites. W: Rajak R.C. (red.), Biotechnology of Microbes and Sustainable Utilization. Scientific Publishers, Jodhpur, India: 270–279.

[9] Chaudhry T.M., Khan A.G. 2003. Plants growing on abandoned mine site and their root symbionts. W: Gorban G.R., Lepp N. (red.), Proceedings 7th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden: 134–135.

[10] Chaudhry T.M., Hayes W.J., Khan A.G., Khoo C.S. 1998. Phytoremediation-focusing on accumulator plants that remediate metal-contaminated soil. *Aust. J. Ecotox*. 4: 37–51.

[11] Chin-A-Woeng T.F.C., Bloemberg G.V., Lugtenberg B.J.J. 2003. Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas bacteria*. *New Phytol*. 157(3): 503–523.

[12] Clark R.B., Zeto S.K. 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *J. Plant Nutri*. 23: 867–902.

[13] Eissenstat D.M., Wells C.E., Wang L. 2001. Root efficiency and mineral nutrition in apple. *Acta Hort*. 564: 165–184.

[14] Fitter A.H., Self G.K., Brown T.K., Bogie D.S., Graves J.D., Benham D., Ineson P. 1999. Root production and turnover in a upland grassland subjected to artificial soil warming respond to radiation flux and nutrients, not temperature. *Oecologia* 120: 575–581.

[15] Garbaye J. 1994. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* 128(2):197–210.

[16] Glick B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol*. 41: 109–117.

[17] Guo D.L. Mitchell R.J., Hendricks J.J. 2004. Fine root branch orders respond differentially to carbon source-sink manipulations in a longleaf pine forest. *Oecologia* 140: 450–457.

[18] Hayes W.J., Chaudhry T.M., Buckney R.T., Khan A.G. 2003. Phytoaccumulation of trace metals at the Sunny Corner mine, New South Wales, with suggestions for a possible remediation strategy. *Aust. J. Toxicol*. 9:69–82.

[19] Jamal A., Ayub N., Usman M., Khan A.G. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance zinc and nickel uptake from contaminated soil by soybean and lentil. *Int. J. Phytoremed*. 4(3): 205–221.

[20] Kapulnik Y. 1996. Plant growth promotion by rhizosphere bacteria. W: Waisel Y., Eshel A., Kafkafi U. (red.), Plant Roots – The Hidden Half. Dekker, New York: 769–781.

[21] Khan A.G., Kuek C., Chaudhry T.M., Khoo C.S., Hayes W.J. 2000. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 41(1–2): 197–207.

[22] Khan A.G. 2001. Relationships between chromium biomagnification ratio, accumulation factor, and mycorrhizae in plants growing on tannery effluent-polluted soil. *Environ. Int*. 26(5–6):17–423.

[23] Khan A.G. 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace element contaminated soils in phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 18(4): 355–364.

[24] Klyuchnikov A.A., Kozherin P.A. 1990. Dynamics of P*seudomonas fluorescensl* and *Azospirillium brasilense* populations during the formation of the vesicular arbuscular mycorrhiza. *Microbiology* 59: 449–452.

[25] Koper J., Lemanowicz J., Igras J. 2004. Wpływ nawożenia na aktywność fosfatazy i zawartość wybranych frakcji fosforu. *Annales UMCS*, Sec. E, 59(2): 679–686.

[26] Kosola K.R., Eissenstat D.M., Grahm J.H. 1995. Root demography of mature citrus trees: the influence of *Phytophthora nicotianae*. *Plant Soil* 171: 283–288.

[27] Leszczyńska D., Grabiński J. 2004. Kiełkowanie zbóż w układach mieszanych – aspekt allelopatyczny. *Annales UMCS*, Sec. E, 59(4): 1977–1984

[28] Linderman R.G., Paulitz T.C. 1990. Mycorrhizal-rhizobacterial interactions. W: Hornb D. (red.), Biological Control of Soil-borne Plant Pathogens. CAB International, Wallingford: 261–283.

[29] Majdi H. 1996. Root sampling methods – applications and limitations of the minirhizotron technique. *Plant and Soil* 185: 255–258.

[30] Marschner H. 1988. Mechanism of manganese acquisition by roots from soils. W: Graham R.D., Hannam R.J. and Uren N.C. (red.). Manganese in soils and plants. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands: 191–204.

[31] Marschner H., Treeby M. Römheld V. 1989. Role of root-induced changes in the rhizosphere for iron acquisition in higher plants. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk*. 152: 197–204.

[32] Marschner H. 1991. Root-induced changes in the availability of micronutrients in the rhizosphere. W: Waisel Y., Eshel A. and Kafkafi U. (red.). The plant roots, the hidden half. Marcel Dekker, New York, USA: 503–528.

[33] Marschner H. 1991. Mechanism of adaptation of plants to acid soils. *Plant and Soil* 134: 1–20.