

ZMIANY LICZEBNOŚCI *AZOSPIRILLUM* I *AZOTOBACTER* W GLEBIE POD UPRAWĄ KUKURYDZY (*ZEA MAYS* L.) Z ZASTOSOWANIEM RÓŻNYCH NAWOZÓW ORGANICZNYCH

JUSTYNA STARZYK¹, ALICJA NIEWIADOMSKA, AGNIESZKA WOLNA-MARUWKA, DOROTA SWĘDRZYŃSKA

*Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,
ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań*

Synopsis. Kukurydza przewyższa swoimi wymaganiami pokarmowymi inne rośliny zbożowe. Silnie reaguje na niedobory azotu, który wpływa na wzrost rośliny oraz reguluje zawartość białka. Drobnoustroje diazotroficzne odgrywają w glebie ważną rolę w przemianach związków azotowych. Dość powszechnie obecną bakterią endofityczną, wiążącą azot w glebach klimatu umiarkowanego jest *Azospirillum*. Rodzaj ten spotkać można w asocjacji z korzeniami wielu roślin o dużym znaczeniu gospodarczym, np. kukurydzy i pszenicy. Ponadto dość powszechnym wolnożyjącym glebowym diazotroфом jest *Azotobacter*, spotykanym w wielu niezbyt silnie zakwaszonych glebach. Celem pracy było zbadanie dynamiki rozwoju *Azospirillum* oraz *Azotobacter* pod uprawą kukurydzy nawożonej różnymi rodzajami nawozów organicznych. Materiałem badawczym były próbki gleby pobierane w latach 2007–2008 z poletek różniących się rodzajem i dawką nawozów organicznych z części ryzosferowej kukurydzy. Analizy przeprowadzono w kolejnych terminach doświadczalnych opartych o kolejne fazy rozwojowe kukurydzy. Na podstawie uzyskanych odczytów określano najbardziej prawdopodobne liczby komórek *Azospirillum* przy ilości równoległych próbek, posługując się tablicami McCrady'ego. Liczebność *Azotobacter* oznaczano na podstawie posiewów płytkowych. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono stymulujący wpływ nawożenia organicznego na rozwój populacji bakterii wiążących azot atmosferyczny, który był ponadto uzależniony od stopnia rozwoju rośliny oraz warunków klimatycznych. Uzyskane wyniki wykazały, że najmniej korzystnym rodzajem nawozu organicznego dla rozwoju *Azospirillum* i *Azotobacter* okazało się zastosowanie 5 t s.m. słomy pszenicy·ha⁻¹ + 15 kg N mineralnego·t⁻¹ słomy pszenicy.

Słowa kluczowe: *Azospirillum*, *Azotobacter*, wiązanie azotu, kukurydza, nawozy organiczne

WSTĘP

Azot, to składnik najbardziej plonotwórczy spośród wszystkich pierwiastków. Jego dostępność w glebie decyduje o długości okresu wegetacji, czyli o wzroście roślin i terminie dojrzewania. Nadmierne dawkowanie nawozów azotowych może być powodem wytworzenia dużej masy wegetatywnej, opóźnienia dojrzewania oraz przedłużenia okresu wegetacji. Częściej jednak obserwuje się niedobory tego pierwiastka, w skutek których rośliny zmieniają barwę chlorofilu na kolor żółty, są stosunkowo małe, skracają okres wegetacji, a owoce i nasiona są zwykle źle wykształcone [Barabasz 1992, Kozłowska i in. 2007].

Dobrym, naturalnym sposobem zapewnienia roślinom odpowiedniego poziomu azotu w glebie jest zastosowanie mikroorganizmów glebowych, mających zdolność do wiązania azotu cząsteczkowego z powietrza. Zjawisko to znalazło praktyczne zastosowanie w produkcji szczepionek zawierających hodowle bakterii symbiotycznych dla upraw roślin motylkowatych,

¹ Adres do korespondencji – *Corresponding address*: jstarzyk@up.poznan.pl

ze względu na efektywność prowadzonego przez nie procesu wiązania azotu. Poza bakteriami brodawkowymi, zdolność wiązania azotu oraz efektywnej kolonizacji tkanki korzeniowej roślin niemotylikowatych posiadają również bakterie endofityczne, takie jak *Acetobacter*, *Herbaspirillum* czy *Azospirillum* [Król i Perzyński 2001]. Ponadto pewną rolę w uprzystępnianiu tego pierwiastka w środowisku glebowym odgrywają również diazotrofy swobodnie żyjące w glebie, np. *Azotobacter* i *Clostridium*.

W ostatnich latach zaczęto zwracać szczególną uwagę na rolę bakterii endofitycznych, nie tylko ze względu na ich zdolność wiązania azotu atmosferycznego, ale również wytwarzania substancji wzrostowych, które powodują lepszy rozwój i rozgałęzienie się systemu korzeniowego, a tym samym usprawnienie gospodarki wodnej rośliny, co ma odzwierciedlenie w zwiększeniu plonów [Krzywy 2000]. Jednym z czynników wpływających na liczebność mikroorganizmów w glebie jest dostępność podstawowych związków organicznych, wnoszonych do gleby często za pośrednictwem nawozów naturalnych.

Celem pracy było określenie zmian liczebności bakterii diazotroficznych z rodzajów *Azospirillum* oraz *Azotobacter* w glebie pod uprawą kukurydzy (*Zea mays* L.) w zależności od rodzaju nawożenia organicznego.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie polowe założono w latach 2007–2008 na terenie Rolniczego Gospodarstwa Doświadczalnego w Swadzimiu (52°29' N, 16°46' E) należącego do Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Gleba, na której założono doświadczenie należy do grupy gleb pływych, typowych, utworzonych z utworów polodowcowych, z piasków gliniastych lekkich, które płytko zalegają na glinie lekkiej. Należą do IV klasy bonitacyjnej. Charakterystykę chemiczną gleby przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka chemiczna gleby ujętej w doświadczeniu (średnio 2007–2008)
Table 1. Chemical characterization of soil recognized in the experiment (mean 2007–2008)

Parametr – Parameter	Warstwa gleby (0–30 cm) Soil layer (0–30 cm)
pH – 1 M KCl	5,25
C organiczny – Organic C g·kg ⁻¹ gleby – soil	9,5
N ogólny – Total N g·kg ⁻¹ gleby – soil	0,81
C/N	9,5
Mg g·kg ⁻¹ gleby – soil	40,1
P g·kg ⁻¹ gleby – soil	203
K g·kg ⁻¹ gleby – soil	172

Materiałem badawczym były próbki gleby pobierane części ryzosferowej kukurydzy, z poletek o powierzchni 50 m² każde, różniących się rodzajem i dawką nawozów. W doświadczeniu zastosowano kukurydzę odmiany Felicja, mieszaniec pojedynczy, średnio późny FAO 270–280. Analizę przeprowadzono w kolejnych pięciu terminach doświadczalnych opartych o kolejne

fazy rozwoju kukurydzy: I – wschody, II – 2–3 liści, III – 2-go kolanka, IV – wyrzucanie wiech (kwitnienie), V – pełna dojrzałość mleczna.

Na poletkach doświadczalnych zastosowano następujące kombinacje nawozowe: monokultura (kontrola), 30 t s.m. obornika·ha⁻¹, 5 t s.m. słomy pszenicy·ha⁻¹ + 15 kg azotu·t⁻¹ słomy pszenicy, 5 t s.m. słomy pszenicy·ha⁻¹ + 40 m³ gnojowicy·ha⁻¹ oraz 5 t s.m. osadu ściekowego·ha⁻¹.

Z każdego poletka pobierano mieszane próbki gleby, które następnie poddano analizie mikrobiologicznej. Liczebność *Azospirillum* określano metodą NPL (Najbardziej Prawdopodobnej Liczby). Hodowlę drobnoustrojów prowadzono w próbkach na półpłynnym podłożu NFB [Döbereiner 1980]. Na powierzchnię podłoża nawarstwiano 0,1 ml odpowiedniego rozcieńczenia glebowego. Wykonywano po 3 powtórzenia dla każdej z prób. Inkubację prowadzono w temp. 28°C przez 5 dni. Na podstawie uzyskanych odczytów określano najbardziej prawdopodobne liczby komórek przy ilości trzech równoległych próbek posługując się tablicami Mc Cradego. Liczebność *Azotobacter* określono metodą płytkową, na podstawie posiewów gleby na podłożu wg Jansena [Fenglerowa 1970].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy zastosowaniu programu Statistica ver. 10 [Ott 1984].

WYNIKI I DYSKUSJA

Zaobserwowano znaczące różnice liczebności analizowanych rodzajów bakterii uzyskanych w dwóch kolejnych latach prowadzonych doświadczeń. Analizując liczebność *Azospirillum* w glebie pod uprawą kukurydzy w 2007 roku, można zaobserwować, iż najlepszym nawozem dla rozwoju tych bakterii okazało się 5 ton s.m. słomy pszenicy·ha⁻¹ z dodatkiem 15 kg N·t⁻¹ słomy pszenicy (tab. 2). Największą różnicę pomiędzy powyższą kombinacją nawożenia a kontrolą

Tabela 2. Liczebność *Azospirillum* w glebie nawożonej różnymi nawozami organicznymi pod uprawą kukurydzy w 2007 roku

Table 2. Number of *Azospirillum* in the soil fertilized with different types of organic fertilizers under the maize cultivation in 2007

Kombinacje nawożenia <i>Fertilization treatments</i>	Termin pobrania próbek glebowych <i>Term of soil samples taking</i>				
	I*	II	III	IV	V
	Liczba bakterii n·10 ⁶ w 1 g gleby <i>Number of bacteria n·10⁶ in 1 g of soil</i>				
Monokultura (kontrola) <i>Monoculture (control)</i>	15	25	110	121	140
30 t świeżej masy obornika·ha ⁻¹ <i>30 t of manure fresh matter·ha⁻¹</i>	0,9	0,6	4,0	2,0	140
5 t s.m. słomy pszenicy·ha ⁻¹ +15 kg N mineralnego·t ⁻¹ słomy <i>5 t DM wheat straw·ha⁻¹ + 15 kg mineral N·t⁻¹ straw</i>	110	121	110	25	140
5 t s.m. słomy pszenicy·ha ⁻¹ + 40 m ³ gnojowicy·ha ⁻¹ <i>5 t DM wheat straw·ha⁻¹ + 40 m³ cattle slurry·ha⁻¹</i>	1,5	1,2	20	3,5	110
Osad ściekowy (5 t s.m.·ha ⁻¹) <i>Sewage sludge (5 t DM·ha⁻¹)</i>	45	3,0	1,1	45	3,0

* I – wschody – *germination*; II – 2-3 liść – *2-3 leaves*; III – 2 kolanko – *2th node*; IV – wyrzucanie wiech – *tasseling*; V – pełna dojrzałość mleczna – *full milk maturity*

zanotowano w początkowych fazach rozwojowych rośliny – wschodów i 2-3 liści, w których notowano średnio ponad siedmiokrotny wzrost liczebności w porównaniu do wartości zanotowanej w monokulturze. Jednocześnie liczebność *Azospirillum* w tej kombinacji nawozowej była średnio o 59% wyższa od pozostałych zastosowanych sposobów nawożenia. Największy spadek liczebności *Azospirillum* zaobserwowano po zastosowaniu nawożenia w postaci 30 t świeżej masy obornika·ha⁻¹, które spowodowało spadek ilości analizowanych bakterii średnio o 64% w stosunku do monokultury oraz średnio o 32% w porównaniu do pozostałych kombinacji nawozowych. Największy, 80% spadek liczebności bakterii po zastosowaniu tego rodzaju nawożenia zaobserwowano w odniesieniu do kontroli w fazie wyrzucania wiech. Również mało korzystnym sposobem nawożenia w początkowych fazach rozwoju roślin okazało się 5 t s.m. słomy pszenicy·ha⁻¹ + 40 m³ gnojowicy·ha⁻¹, którego działanie spowodowało spadek liczby *Azospirillum* średnio o 67% w stosunku do kontroli. W tej kombinacji nawozowej odnotowano największy 97% spadek liczby bakterii w stosunku do kontroli również w fazie wyrzucania wiech.

W 2008 roku, mimo założenia analogicznego powtórzenia doświadczenia na tej samej glebie, zaobserwowano znaczący spadek liczebności *Azospirillum*, wynoszący 92% (tab. 3). W tym roku

Tabela 3. Liczebność *Azospirillum* w glebie nawożonej różnymi nawozami organicznymi pod uprawą kukurydzy w 2008 roku

Table 3. Number of *Azospirillum* in the soil fertilized with different types of organic fertilizers under the maize cultivation in 2008

Kombinacje nawożenia <i>Fertilization treatments</i>	Termin pobrań próbek glebowych <i>Term of soil samples taking</i>				
	I*	II	III	IV	V
	Liczba bakterii n·10 ⁶ w 1 g gleby <i>Number of bacteria n·10⁶ in 1 g of soil</i>				
Monokultura (kontrola) <i>Monoculture (control)</i>	2,7	1,6	2,0	3,0	3,8
30 t świeżej masy obornika·ha ⁻¹ <i>30 t of manure fresh matter·ha⁻¹</i>	7,0	20,0	3,3	3,0	0,8
5 t s.m. słomy pszenicy·ha ⁻¹ +15 kg N mineralnego·t ⁻¹ słomy <i>5 t DM wheat straw·ha⁻¹ + 15 kg mineral N·t⁻¹ straw</i>	1,7	1,3	1,3	1,3	1,7
5 t s.m. słomy pszenicy·ha ⁻¹ + 40 m ³ gnojowicy·ha ⁻¹ <i>5 t DM wheat straw·ha⁻¹ + 40 m³ cattle slurry·ha⁻¹</i>	4,1	6,3	6,3	0,8	3,4
Osad ściekowy (5 t s.m.·ha ⁻¹) <i>Sewage sludge (5 t DM·ha⁻¹)</i>	5,5	7,5	9,6	0,8	3,4

* oznaczenia jak w tabeli 2 – explanation in table 2

najlepszy rozwój bakterii zanotowano w początkowych fazach wzrostu kukurydzy, szczególnie w fazie 2–3 liści oraz 2-go kolanka, natomiast w kolejnych analizowanych fazach (wyrzucania wiech oraz pełnej dojrzałości młecznej) liczebność *Azospirillum* znacznie malała, niezależnie od zastosowanej kombinacji doświadczałnej. Analizując wpływ rodzaju i dawki aplikowanych nawozów organicznych, najkorzystniejszym dla rozwoju analizowanych endofitów okazało się zastosowanie 30 t świeżej masy obornika·ha⁻¹ gleby, w przypadku którego zanotowano 160%

wzrost liczebności w stosunku do monokultury. Ponadto korzystnymi kombinacjami nawozowymi dla rozwoju *Azospirillum* okazały się 5 t s.m. słomy pszenicy·ha⁻¹ + 40 m³ gnojowicy·ha⁻¹ oraz 5 t s.m. osadu ściekowego·ha⁻¹. Najmniejszą liczebność analizowanych bakterii zanotowano w przypadku zastosowania 5 t s.m. słomy pszenicy·ha⁻¹ + 15 kg azotu·t⁻¹ słomy, która była o 42,5% niższa w stosunku do monokultury. Szulc i in. [2002] wskazują również znaczący wpływ nawożenia azotowego, w tym z zastosowaniem obornika i gnojowicy, na różnicowanie populacji *Azospirillum* w ryzosferze zbóż.

Bakterie z rodzaju *Azospirillum* cechuje słaba przeżywalność w glebie przez dłuższy okres, a decydujący wpływ ma tu wspólne oddziaływanie wielu czynników chemicznych (azot, materia organiczna, zasolenie) i fizycznych (zwięzłość, uwilgotnienie) [Döbereiner 1980]. Porównywalne warunki założonych doświadczeń w 2007 i 2008 roku wykluczają wiele różnicujących czynników. Należy więc przypuszczać, że dodatkowym, istotnym czynnikiem różnicującym stan mikroflory endofitycznej są warunki pogodowe. Na glebach uprawnych nie bez znaczenia pozostaje również gatunek rośliny uprawnej, nawożenie oraz faza rozwojowa rośliny [Kalinińska 1988, Rekosz-Burlaga 2007]. Przyjmuje się, że często najbardziej sprzyjającą fazą rozwojową rośliny dla namnażania się *Azospirillum* jest pełnia kwitnienia. Nie potwierdzają jednak powyższej tezy wyniki uzyskane w 2007 r., w którym obserwowano znaczący wzrost liczebności omawianych bakterii w ostatnim terminie doświadczenia, w fazie pełnej dojrzałości młeczej rośliny.

Słoma jest ważnym źródłem składników energetycznych dla organizmów glebowych, głównie dla tych, które są w stanie wiązać wolny azot [Król i in. 2007]. Potwierdzają to wyniki liczebności *Azospirillum* uzyskane w 2007 r. w kombinacji 5 t s.m. słomy pszenicy·ha⁻¹ z dodatkiem azotu. Wolne tempo degradacji słomy może być jednak czynnikiem, który jest w stanie ograniczyć intensywność tego procesu [Kaszubiak i in. 1990]. W omawianym przypadku spadku liczebności *Azospirillum* w 2008r. nawet dodatek 15 kg azotu nie wpłynął na poprawę stanu liczebności badanej grupy bakterii. Z badań wielu autorów wynika, że stosowanie wysokich dawek azotu mineralnego obniża liczebność lub eliminuje diazotrofy ze strefy korzeniowej roślin [Kłama 2004, Król 2006]. Porównując wpływ nawożenia na kształtowanie się liczebności *Azospirillum* w glebie w 2008 r., najlepszym dla bakterii źródłem materii organicznej okazał się nawóz zwierzęcy. Podobne wyniki w doświadczeniu polowym z kukurydzą uzyskała Kłama, stwierdzając najkorzystniejszy wpływ na rozwój *Azospirillum* kombinacji słomy pszennej z gnojowicą [Kłama i in. 2008].

Kukurydza jest gatunkiem sprzyjającym występowaniu i rozwojowi *Azospirillum* w jej strefie ryzosferowej ze względu na dużą ilość wydzielin korzeniowych, cechujących rośliny o cyklu fotosyntezy typu C-4. Bakterie te licznie zasiedlają powierzchnię korzeni i przestrzenie międzykomórkowe, znajdując tam bardzo dobre warunki asocjacji [Döbereiner 1980, Górlach i Mazur 2001]. Wiele szczepów z rodzaju *Azospirillum* sp. wymagają do wzrostu i rozwoju obecności w podłożu między innymi witamin, biotyny i pirydoksyny oraz śladowych pierwiastków [Lopez i Lovell 1993]. Zanotowane wzrosty liczebności *Azospirillum* w 2008 r. w fazach 2–3 liści oraz 2-go kolanka należy wiązać ze znaczną produkcją wydzielin korzeniowych produkowanych przez roślinę, które prawdopodobnie promowały namnażanie się analizowanych mikroorganizmów.

Analizując zmiany liczebności *Azotobacter* w dwóch latach prowadzonego doświadczenia (tab. 4 i 5) zaobserwowano w 2008 r. porównywalny do *Azospirillum* spadek liczebności, wynoszący aż 94%. Pozwala to przypuszczać, że warunki meteorologiczne miały znaczący wpływ na zmiany liczebności mikroorganizmów w glebie. W 2007 roku dobrą kombinacją nawozową dla rozwoju *Azotobacter* okazało się nawożenie 30 t świeżej masy obornika·ha⁻¹. Najwyższą istotną różnicę pomiędzy powyższą kombinacją nawozową a kontrolą zanotowano w fazie 2 kolanka, w której odnotowano 102% wzrost w stosunku do monokultury. Jednocześnie liczeb-

Tabela 4. Liczebność *Azotobacter* w glebie nawożonej różnymi nawozami organicznymi pod uprawą kukurydzy w 2007 roku

Table 4. Number of *Azotobacter* in the soil fertilized with different types of organic fertilizers under the maize cultivation in 2007

Kombinacje nawożenia <i>Fertilization treatments</i>	Termin pobrań próbek glebowych <i>Term of soil samples taking</i>				
	I*	II	III	IV	V
	Liczba jtk w 1 g gleby <i>Number of cfu in 1 g of soil</i>				
Monokultura (kontrola) <i>Monoculture (control)</i>	44,2 a	36,8 a	21,0 c	56,2 a	20,3 bc
30 t świeżej masy obornika·ha ⁻¹ <i>30 t of manure fresh matter·ha⁻¹</i>	36,9 b	36,9 a	42,6 a	53,2 a	17,5 c
5 t s.m. słomy pszenicy·ha ⁻¹ +15 kg N mineralnego·t ⁻¹ słomy <i>5 t DM wheat straw·ha⁻¹ + 15 kg mineral N·t⁻¹ straw</i>	24,9 c	9,1 b	21,7 c	43,3 b	26,0 b
5 t s.m. słomy pszenicy·ha ⁻¹ + 40 m ³ gnojowicy·ha ⁻¹ <i>5 t DM wheat straw·ha⁻¹ + 40 m³ cattle slurry·ha⁻¹</i>	36,7 b	12,5 b	16,3 c	43,5 b	32,5 a
Osad ściekowy (5 t s.m.·ha ⁻¹) <i>Sewage sludge (5 t DM·ha⁻¹)</i>	23,8 c	28,4 a	30,1 b	31,7 c	23,0 b

* oznaczenia jak w tabeli 2 – explanation in table 2

Średnie wartości w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie na poziomie $\alpha = 0,05$

Mean value in columns marked with the same letters don't differ significantly at level $\alpha = 0.05$

Tabela 5. Liczebność *Azotobacter* w glebie nawożonej różnymi nawozami organicznymi pod uprawą kukurydzy w 2008 roku

Table 5. Number of *Azotobacter* in the soil fertilized with different types of organic fertilizers under the maize cultivation in 2008

Kombinacje nawożenia <i>Fertilization treatments</i>	Termin pobrań próbek glebowych <i>Term of soil samples taking</i>				
	I*	II	III	IV	V
	Liczba jtk w 1 g gleby <i>Number of cfu in 1 g of soil</i>				
Monokultura (kontrola) <i>Monoculture (control)</i>	0,4 c	3,2 a	3,3 a	0,7 b	1,3 b
30 t świeżej masy obornika·ha ⁻¹ <i>30 t of manure fresh matter·ha⁻¹</i>	1,9 b	3,3 a	0,8 c	1,9 a	2,7 a
5 t s.m. słomy pszenicy·ha ⁻¹ +15 kg N mineralnego·t ⁻¹ słomy <i>5 t DM wheat straw·ha⁻¹ + 15 kg mineral N·t⁻¹ straw</i>	0,4 c	2,2 b	0,7 c	1,5 ab	1,2 b
5 t s.m. słomy pszenicy·ha ⁻¹ + 40 m ³ gnojowicy·ha ⁻¹ <i>5 t DM wheat straw·ha⁻¹ + 40 m³ cattle slurry·ha⁻¹</i>	0,8 bc	1,2 c	3,6 a	2,3 a	2,9 a
Osad ściekowy (5 t s.m.·ha ⁻¹) <i>Sewage sludge (5 t DM·ha⁻¹)</i>	3,8 a	1,6 c	1,6 b	2,9 a	2,6 a

* oznaczenia jak w tabeli 2 – explanation in table 2

Średnie wartości w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie na poziomie $\alpha = 0,05$

Mean value in columns marked with the same letters don't differ significantly at level $\alpha = 0.05$

ność *Azotobacter* w tej kombinacji nawozowej była średnio o 12% wyższa od pozostałych zastosowanych rodzajów nawożenia. Najmniej korzystną kombinacją nawozową dla *Azotobacter* okazała się świeża masa słomy pszenicy z dodatkiem azotu, po zastosowaniu której liczebność analizowanych bakterii spadła średnio o 24% w porównaniu do kontroli oraz średnio o 20% w porównaniu do pozostałych sposobów nawożenia. W powyższej kombinacji nawożenia, w fazie 2-3 liści zaobserwowano najniższą wartość liczebności *Azotobacter*, która różniła się istotnie statystycznie o 75% w odniesieniu do kontroli. Również mało korzystnym sposobem nawożenia okazał się osad ściekowy, po zastosowaniu którego, nastąpił spadek liczebności bakterii średnio o 18% w stosunku do monokultury oraz średnio o 14% w porównaniu do pozostałych kombinacji nawozowych. W przypadku zastosowania osadu ściekowego w dawce 5 ton suchej masy·ha⁻¹, zaobserwowano wysoce istotną różnicę spadku liczebności analizowanej grupy bakterii w fazie wyrzucania wiech i była ona o 43% niższa w porównaniu z kontrolą.

W 2008 r. najmniej korzystnym rodzajem nawozu dla rozwoju *Azotobacter* okazało się, podobnie jak w przypadku omawianego *Azospirillum*, zastosowanie 5 t s.m. słomy pszenicy·ha⁻¹ + 15 kg azotu·t⁻¹ słomy, dając aż 30,3% spadek liczebności w porównaniu do kontroli oraz 50,1% spadek w porównaniu do 5 t suchej masy osadu ściekowego·ha⁻¹, który to rodzaj nawożenia okazał się najbardziej sprzyjający rozwojowi *Azotobacter* w glebie. Analizując liczebność *Azotobacter* w glebie pod uprawą kukurydzy nawożonej różnymi nawozami organicznymi, stwierdza się dużą zmienność w zależności od fazy rozwojowej rośliny. Najlepszy rozwój bakterii zanotowano w fazie 2-3 liści, co koresponduje również z omawianymi zmianami liczebności *Azospirillum*. Natomiast najniższe wyniki liczebności *Azotobacter* w glebie zanotowano w fazie wschodów, które okazały się aż o 37,0 % niższe od fazy 2-3 liści.

Stopień rozwoju mikroorganizmów w glebie, jest funkcją czynników agroekologicznych, zarówno jej właściwości chemicznych i fizycznych, zwłaszcza w zasobność materii organicznej [Myśków i Kobus 1986]. *Azotobacter* silnie reaguje w glebie na czynniki chemiczne i fizyczne, dlatego wahania liczebności tych bakterii można uznać za dobry wskaźnik zmian w środowisku [Pajewska i Kaszubiak 1975]. Systematyczne nawożenie obornikiem lub gnojowicą stwarza korzystne warunki do rozwoju tych bakterii. Stwierdzenie to potwierdzają uzyskane wyniki, które poza korzystnym wpływem osadu ściekowego w zastosowanych kombinacjach nawozowych, wskazują na stymulujący wpływ dodatku 30 t świeżej masy obornika·ha⁻¹ oraz 5 t s.m. słomy pszenicy·ha⁻¹ + 40 m³ gnojowicy·ha⁻¹. Stwierdzono również, że nawożenie gleby NPK oraz obornikiem powoduje intensywne rozmnażanie się bakterii *Azotobacter*. Natomiast najlepsze rezultaty daje dodatek samego obornika [Mazur 1999].

WNIOSKI

1. Znaczące różnice liczebności analizowanych diazotrofów w kolejnych latach prowadzonego doświadczenia wskazują na decydujący wpływ warunków pogodowych na kształtowanie się populacji tych mikroorganizmów w glebie.
2. Najmniej efektywny rozwój badanych diazotrofów w glebie zaobserwowano po zastosowaniu kombinacji bez dodatku nawozu pochodzenia zwierzęcego, w przypadku aplikacji 5 t s.m. słomy pszenicy·ha⁻¹ + 15 kg azotu·t⁻¹ słomy pszenicy. Dodatek azotu mógł się okazać czynnikiem hamującym aktywność i liczebność diazotrofów.
3. Porównując zmiany liczebności badanych bakterii w zależności od faz rozwojowych kukurydzy, najsilniej stymulujący efekt wpływu rośliny na badane diazotrofy zaznaczył się w fazie 2–3 liści.

PIŚMIENNICTWO

- Barabasz W. 1992. Mikrobiologiczne przemiany azotu glebowego. Post. Mikrobiol. 31(1): 3–24.
- Döbereiner J. 1980. Forage grasses and grain crops. In: Methods for evaluating biological nitrogen fixation. Bergesen F.J. (eds.). John Wiley and Sons, Inc. New York. pp. 535-555.
- Fenglerowa W. 1970. Simple method for counting *Azotobacter* in soil samples. Acta Microbiol. Pol. 14(2): 203–206.
- Gorlach E., Mazur T. 2001. Chemia Rolna. Podstawy żywienia i zasady nawożenia roślin. PWN Warszawa: ss. 346.
- Kalininskaja T.A. 1988. The influence of different forms of combined nitrogen on nitrogen fixing activity of *Azospirillum* the rhizosphere of rice plants. In: Develop. Soil Sci., Amsterdam 18: 283–286.
- Kaszubiak H., Kaczmarek W., Pędziwiłk Z., Sawicka M., Muszyńska M., Durska G. 1990. Zespoły drobnoustrojów pod uprawami roślin w monokulturze i w zmianowaniu. W: Ekologiczne procesy w monokulturowych uprawach zbożowych Wyd. UAM Poznań: 77–90.
- Kłama J. 2004. Współżycie endofitów bakteryjnych z roślinami. Acta Sci. Pol., Agricultura 3(1): 19–28.
- Kłama J., Niewiadomska A., Wolna-Maruwka A. 2008. Zmiany liczebności *Azospirillum* w glebie pod uprawą kukurydzy. Ekol. Tech. 16(5a): 73–77.
- Kozłowska M., Bandurska H., Floryszak-Wieczorek J., Politycka B. 2007. Reakcje roślin na niekorzystne czynniki środowiska. W: Fizjologia roślin: od teorii do nauk stosowanych. Kozłowska M. (red.). PWRiL Poznań: 466-532.
- Król J.M. 2006. *Azospirillum* - asocjacyjne bakterie wiążące wolny azot. Wyd. IUNG Puławy, Monogr. Rozpr. Nauk. 15: ss. 163.
- Król M.J., Perzyński A., Leśniak A. 2007. Wykorzystanie słomy jako źródła węgla w wiązaniu wolnego azotu przez bakterie z rodzaju *Azospirillum*. Pam. Puł. 146: 21–31.
- Król M.J., Perzyński A. 2001. Charakterystyka bakterii ryzosfery zbóż z rodzaju *Azospirillum*. Folia Univ. Agric. Stetin., Agricultura 88: 111–116.
- Krzywy E. 2000. Nawożenie gleb i roślin. Wyd. AR Szczecin: 66–74.
- Lopez-de Victoria G., Lovell C.R. 1993. Chemotaxis of *Azospirillum* species to aromatic compounds. Appl. Environ. Microbiol. 59: 2951–2955.
- Mazur T. 1999. Rolnicze i ekologiczne znaczenie nawożenia organicznego i mineralnego. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 467: 151–157.
- Myśków W., Kobus J. 1986. Międzynarodowe sympozjum na temat biologii gleby i ochrony biosfery (Sorpon, 1985). Post. Mikrobiol. 24: 249.
- Ott L. 1984. An introduction to statistical methods and data analysis. PWS Publishers/Duxbury, Boston, MA.
- Pajewska M., Kaszubiak H. 1975. Wpływ różnych form azotu i organicznego węgla na rozwój Azotobaktera w glebie. Pam. Puł. 63: 177–182.
- Rekosz-Burlaga H. 2007. Występowanie bakterii z rodziny *Azospirillum* w ryzosferze kukurydzy oraz ich aktywność wiązania. Ochr. Środ. Zas. Nat. 31: 260–264.
- Szulc W., Rutkowska B., Jaśkowska H. 2002. Występowanie bakterii z rodzaju *Azospirillum* w ryzosferze roślin zbożowych. Naw. Nawoż./Fert. Fertiliz. 1(10): 300–306.

J. STARZYK, A. NIEWIADOMSKA, A. WOLNA-MARUWKA, D. SWĘDRZYŃSKA

CHANGES IN THE NUMBER OF *AZOSPIRILLUM* AND *AZOTOBACTER* IN SOIL UNDER MAIZE CULTIVATION (*ZEA MAYS* L.) WITH DIFFERENT ORGANIC FERTILIZERS

Summary

Maize exceeds your needs nutrients other cereal crops. Highly responsive to nitrogen deficiency, which affects plant growth and regulates the protein content. Microorganisms play an important role in the transformations of nitrogen compounds in the nature. *Azospirillum* is a rather commonly present endophytic, nitrogen fixing bacterium in soils in moderate climatic conditions. This genus can be met in association with roots of many plants with a high economic importance, e.g. in the company of maize and wheat. Moreover, the rather common free-living soil diazotroph is *Azotobacter*, common in many not highly acidic soils. The objective of this work was the investigation of the dynamics of *Azospirillum* and *Azotobacter* development for the cultivation of maize fertilized with different types of organic fertilizers. Research material consisted of soil samples taken in 2007–2008 from plots differing by the type and dose of organic fertilizers from the rhizosphere zone of maize. Analyses were carried out in successive experimental terms based on successive developmental phases of maize. On the basis of the obtained read-outs, the most probable number of *Azospirillum* cells was determined with a parallel number of samples using McCarty's tables. The number of *Azotobacter* was determined based on plate method. On the basis of the analyzes stated a stimulating effect of organic fertilization on the development of populations of nitrogen-fixing bacteria, which was also dependent on the degree of plant development and climatic conditions. The results showed that the negative kind of organic fertilizer for the development of *Azospirillum* and *Azotobacter* was to apply 5 t DM of wheat straw·ha⁻¹ + 15 kg mineral N·t⁻¹ wheat straw.

Key words: *Azospirillum*, *Azotobacter*, nitrogen fixation, maize, organic fertilizers

Zaakceptowano do druku – *Accepted for print*: 30.10.2013

Do cytowania – *For citation*:

Starzyk J., Niewiadomska A., Wolna-Maruwka A., Swędrzyńska D. 2013. Zmiany liczebności *Azospirillum* i *Azotobacter* w glebie pod uprawą kukurydzy (*Zea mays* L.) z zastosowaniem różnych nawozów organicznych. *Fragm. Agron.* 30(4): 147–155.