

HANNA KWAŚNA, PIOTR ŁAKOMY, ROMAN GORNOWICZ, ARTUR MIKICIŃSKI, JOLANTA BOROWCZYK-BEHNKE, STANISŁAW GAŁĄZKA

Struktura zbiorowisk grzybów i bakterii w glebie 1-roczej uprawy i 10-letniego młodnika w zależności od sposobu przygotowania gleby*

Structure of fungal and bacterial communities in 1-year and 10-year-old plantations of Scots pine after different pre-planting preparation of soil

ABSTRACT

Kwaśna H., Łakomy P., Gornowicz R., Mikiciński A., Borowczyk-Behnke J., Gałązka S. 2015. Struktura zbiorowisk grzybów i bakterii w glebie 1-roczej uprawy i 10-letniego młodnika w zależności od sposobu przygotowania gleby. Sylwan 159 (1): 71-81.

Effects of post-harvest wood-debris utilization and pre-planting soil preparation in clear-cut forest on the community structure of soil fungi and bacteria and their possible biological activity towards *Armillaria* and *Heterobasidion* were studied in 1- and 10-year-old Scots pine plantations in Bierzwnik and Międzychód Forest Districts (W Poland). Post-harvest wood-debris utilization included: (i) removal from the surface, (ii) spread of the coarse or chipped wood-debris on the surface and (iii) mixing of the chipped wood debris with the soil. Pre-planting soil preparation included: (i) deep furrowing, (ii) shallow turning of the topsoil, (iii) ridging and (iv) no ground preparation. The soil-dilution method was used for detection of fungi and bacteria in soil. Morphotyping was used for identification of fungi. Phenotypic traits and biochemical properties were used for identification of bacteria. Molecular method, MID-66 or BIOLOG® systems were additionally applied for identification of the most common bacteria. Removal of post-harvest wood-debris from the surface of the clear-cut land and shallow turning of the topsoil or ridging before planting increased abundance of fungi in soil of 1-year-old Scots pine plantation. Deep furrowing resulted in increased abundance of fungi and no ground preparation in increased abundance of bacteria in soil of 10-year-old Scots pine plantation. Increased abundance of fungi and bacteria was associated with increased abundance of taxa considered as antagonistic to *Armillaria* and *Heterobasidion*. Removal of the post-harvest wood debris and moderate or no mechanical intervention into the soil habitat on the clear-cut site before planting of Scots pine seedlings seems to create the habitat, which may be beneficial for the growth of young trees.

KEY WORDS

Armillaria, *Heterobasidion*, Scots pine, silvicultural techniques, soil biological activity

ADDRESSES

Hanna Kwaśna ⁽¹⁾ – e-mail: kwasna@up.poznan.pl
 Piotr Łakomy ⁽¹⁾ – e-mail: plakomy@up.poznan.pl
 Roman Gornowicz ⁽²⁾ – e-mail: gornowic@up.poznan.pl
 Artur Mikiciński ⁽³⁾ – e-mail: Artur.Mikicinski@insad.pl
 Jolanta Borowczyk-Behnke ⁽¹⁾ – e-mail: jbehnke@up.poznan.pl
 Stanisław Gałązka ⁽⁴⁾ – e-mail: sgalazka@up.poznan.pl

*Badania zostały sfinansowane ze środków Dyrekcji Generalnej Lasów Państwowych.

(1) Katedra Fitopatologii Leśnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu;
ul. Wojska Polskiego 71c, 60-625 Poznań

(2) Katedra Techniki Leśnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu;
ul. Wojska Polskiego 71c, 60-625 Poznań

(3) Zakład Ochrony Roślin Sadowniczych, Instytut Ogrodnictwa;
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

(4) Katedra Przyrodniczych Podstaw Leśnictwa, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu;
ul. Wojska Polskiego 71d, 60-625 Poznań

Wstęp

Trendem globalnym jest obecnie ograniczanie stosowania chemicznych środków ochrony roślin. Poszukuje się bezpieczniejszych i ekologicznych alternatyw w ramach biologicznej ochrony roślin, która wykorzystuje do zwalczania patogenów czynniki niechemiczne. Są nimi często mikroorganizmy antagonistyczne, których rozwój można stymulować przez właściwą modyfikację środowiska naturalnego.

Istnienie gleb opornych, na których uprawiane rośliny nie chorują mimo obecności czynnika chorobotwórczego, obserwowano już w XIX wieku [Atkinson 1892]. Oporność gleby kształtowana jest przede wszystkim przez aktywność fauny, flory i mikrobioty glebowej, ale również przez jej właściwości fizykochemiczne. Mniej lub bardziej udane próby indukcji oporności gleby w stosunku do patogenów glebowych były częściej podejmowane w rolnictwie i ogrodnictwie niż leśnictwie. Sierota i Kwaśna [1998a, b, 1999] oraz Kwaśna i Sierota [1999] badali wpływ trocin iglastych na mikrobiologiczne właściwości gruntów porolnych i nieużytków zalesianych sosną zwyczajną. Na stanowiskach ubogo zasiedlonych przez mikroorganizmy antagonistyczne występuje znaczne zagrożenie porażenia upraw sosnowych przez *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. W uprawach i młodnikach, z uwagi na obecność bazy pokarmowej (pozostałości zrębowe) i wzrost zdolności regeneracyjnych ryzomorf przerwanych w trakcie zabiegów mechanicznych, wzrasta zagrożenie ze strony *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink. Okazało się, że w pierwszym roku po dodaniu trocin, w wyniku wzrostu zawartości węgla, wapnia i potasu oraz podwyższenia kwasowości gleby, wzrosła liczebność grzybów, w tym gatunków z rodzaju *Trichoderma*: głównie *T. harzianum* Rifai i *T. pubescens* Bissett. Ten pierwszy należy do najskuteczniejszych antagonistów *Armillaria* i *Heterobasidion*. Oba gatunki *Trichoderma*, posiadając aparat enzymatyczny umożliwiający rozkład celulozy, hemicelulozy, ligniny i białka drewna [Bååth, Söderström 1980], zasiedliły trociny, skolonizowały je, wzmocniły się na nich, zaczęły obficie zarodnikować i doprowadziły do wzrostu populacji *Trichoderma* w glebie, zwiększając oporność gleby w stosunku do patogenów korzeni.

Celem prezentowanych badań było poznanie wpływu różnych sposobów przygotowania gleby (po różnym postępowaniu z pozostałościami zrębowymi) na zrębie przed założeniem uprawy na: (i) ilościowy skład zbiorowisk mikroorganizmów glebowych, (ii) zakres bioróżnorodności gatunkowej, (iii) obecność potencjalnych antagonistów i stymulantów *Armillaria* i *Heterobasidion*, (iv) potencjalną oporność gleby w stosunku do patogenów korzeni, w pierwszym roku (uprawa) i po 10 latach (młodnik) od zabiegu. Założono, że różne sposoby postępowania wpłyną na zróżnicowanie właściwości fizykochemicznych gleby, a te spowodują zróżnicowanie właściwości biologicznych gleby kształtujących oporność gleby w stosunku do patogenów korzeni. Uznano, że trwałość efektu oporności gleby będzie zależała głównie od stopnia rozdrobnienia materii organicznej i stopnia jej zmieszania z glebą – większe fragmenty pozostałości zrębowych pozostawione na powierzchni zrębu wydłużą efekt oporności gleby i zmniejszą porażenie sosny przez

Armillaria i *Heterobasidion* nawet po 10 latach od zabiegu. Przypuszczano, że wariant optymalny z punktu widzenia ochrony sosny przed *Armillaria* i *Heterobasidion* pozwoli opracować zalecenia hodowlane ograniczające rozwój patogenów korzeni drzew.

Material i metody

POWIERZCHNIA DOŚWIADCZALNA I JEJ CHARAKTERYSTYKA. Powierzchnie założone dla celów doświadczalnych, z 1-roczną uprawą i 10-letnim młodnikiem sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.), znajdowały się w północno-zachodniej Polsce, w Nadleśnictwie Bierzwnik, oddz. 89g (53°02'08"N 15°39'54"E) i Międzychód, oddz. 194d (52°36'03,60"N 15°53'23,58"E). Na badanych powierzchniach występuje gleba rdzawa (Bierzwnik) i bielkowa (Międzychód) na piasku słabogliniastym zalegającym płytko na piasku luźnym. Zawiera piasek luźny – 93 i 95,5%, pyły – 3,5 i 4%, ropy – 1,5% i frakcje szkieletowe – 2,2% (średnio). Średnia zawartość składników odżywczych w poziomie próchnicznym w uprawie (Bierzwnik) i młodniku (Międzychód) w momencie pobierania prób wynosiła: węgiel organiczny (C) – 45 i 25,80%, azot (N) – 1,34 i 1,60%, fosfor (P) – 139,50 i 121,2 mg/kg, potas (K) – 569,25 i 750,00 mg/kg, wapń (Ca) – 2227,00 i 1704,50 mg/kg, magnez (Mg) – 165,00 i 169,50 mg/kg. Stosunek C:N wynosił 34 i 16, odpowiednio w Bierzwniku i Międzychodzie.

Na zrębach powierzchni doświadczalnych zastosowano przed założeniem upraw następujące sposoby postępowania z pozostałościami zrębowymi: I – usunięcie pozostałości zrębowych z powierzchni doświadczalnej, II – pozostawienie cienkich gałęzi (Bierzwnik) i wszystkich pozostałości zrębowych w całości (Międzychód) na powierzchni, III – rozdrobnienie wszystkich pozostałości zrębowych i pozostawienie na powierzchni, IV – rozdrobnienie wszystkich pozostałości zrębowych i wymieszanie z glebą pługiem talerzowym (Międzychód). Przygotowanie gleby obejmowało: 1 – wyoranie bruzd na głębokość 40-50 cm pługiem LPZ-75, 2 – wyoranie bruzd na głębokość 20 cm pługiem talerzowym aktywnym (Międzychód), 3 – wzruszenie gleby na głębokość 10 cm frezem (Bierzwnik), 4 – tworzenie wału naorywaczem wałków (Bierzwnik), 5 – brak przygotowania gleby. Kombinacja obejmowała postępowanie z pozostałościami zrębowymi + przygotowanie gleby. Zastosowano cztery losowo rozmieszczone powtórzenia (po 400 m²) w każdej kombinacji. Kontrolę stanowiły pas uprawy (Bierzwnik) i młodnika (Międzychód) okalające powierzchnie doświadczalne. Na powierzchniach kontrolnych przed sadzeniem pozostawiano wszystkie pozostałości zrębowe w całości, a glebę przygotowano przez wyoranie bruzd na głębokość 40-50 cm pługiem LPZ-75. W Międzychodzie postępowanie w kontroli było identyczne jak w kombinacji III. Powierzchnie kontrolne znajdowały się poza powierzchnią doświadczalną.

SPOSÓB POBIERANIA I PRZYGOTOWANIA GLEBY DO ANALIZ. W lipcu 2010 roku (Bierzwnik) i we wrześniu 2009 roku (Międzychód) z każdego powtórzenia każdej kombinacji pobierano 10×100 g gleby z poziomu A1 (10-15 cm głębokości), z miejsc odległych od siebie o 5-6 m. W laboratorium próby indywidualne łączono, przesiewano przez sito o średnicy oczek 3 mm i dokładnie mieszano przez 20-minutowe toczenie, tworząc w ten sposób próbę zbiorczą gleby.

IZOLACJA I IDENTYFIKACJA GRZYBÓW GLEBOWYCH. Izolację zbiorowisk grzybów glebowych wykonano metodą rozcieńczeń Warcupa [1950] w modyfikacji Mańki [1964]. Kultury reprezentacyjne identyfikowano na podstawie cech morfologicznych na pożywkach specjalistycznych.

IZOLACJA I IDENTYFIKACJA BAKTERII GLEBOWYCH. Izolację wykonano metodą posiewu ilościowego po 3-krotnym seryjnym rozcieńczeniu przesącza z gleby. Kultury reprezentacyjne identyfi-

kowano na podstawie cech fenotypowych i właściwości biochemicznych oraz metodą molekularną (sekwencjonowanie 16S rRNA) i zestawem Microgen MID-66.

OCENA ZDROWONOŚCI SOSNY. Zamarłe i zamierające sosny oceniano w 2011 i 2012 roku na podstawie objawów (głównie etiologicznych) powodowanych przez obecność *Armillaria* i *Heterobasidion* (płaty grzybniowe, wycieki żywicy, ryzomorfy, owocniki, zgnilizna drewna). Z owocników i drewna izolowano grzybnię i zidentyfikowano gatunki za pomocą testów zgodności genetycznej [Korhonen 1978 a, b].

ANALIZA STATYSTYCZNA. Różnice między liczebnością mikroorganizmów w poszczególnych kombinacjach analizowano przy pomocy testu χ^2 , zgodnie ze wzorem:

$$\chi^2 = \sum (n_i - nP_i)^2 / nP_i, i=1$$

gdzie:

n – liczba izolatów,

P – prawdopodobieństwo wystąpienia.

Wyniki

W glebie 1-roczej uprawy sosny zwyczajnej (Bierzwnik) i 10-letniego młodnika sosny zwyczajnej (Międzychód) stwierdzono występowanie przedstawicieli gromady *Oomycota* (sporadyczny *Phytophthora citricola* Sawada w Bierzwniku), grzybów z gromad *Zygomycota* (rzadkie *Mortierellales+Mucorales*) i *Ascomycota* oraz bakterii. W uprawie było 67, a w młodniku 45 gatunków grzybów i po kilka gatunków bakterii.

Gromada *Ascomycota* grzybów reprezentowana była głównie przez rodzaje *Penicillium* (23 gatunki w uprawie i 21 w młodniku) i *Trichoderma* (8 gatunków w uprawie i 6 w młodniku). Rodzaj *Penicillium* reprezentowany był głównie przez *P. adametzii* Zaleski, *P. citreonigrum* Dierckx, *P. daleae* Zaleski, *P. glabrum* (Wehmer) Westling, *P. janczewskii* Zaleski, *P. montanense* M. Chr. & Backus, *P. simplicissimum* (Oudem.) Thom, *P. spinulosum* Thom, *P. steckii* Zaleski i *P. terlikowskii* Zaleski. W rodzaju *Trichoderma* najliczniej wystąpiły *T. aureoviride* Rifai, *T. harzianum* Rifai, *T. koningii* Oudem., *T. minutisporum* Bissett, *T. pseudokoningii* Rifai, *T. pubescens* Bissett, *T. strigosum* Bissett, *T. virens* (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Arx i *T. viride* Pers. Grzyby mykoryzowe (*Oidiodendron griseum* Robak i *O. tenuissimum* (Peck) S. Hughes) oraz potencjalne entomo- i nematofagi (*Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill.+*Lecanicillium psalliotae* (Treschew) Zare & W. Gams +*Paecilomyces carneus* (Duché & R. Heim) A.H.S. Br. & G. Sm.+*Sagenomella striatispora* (Onions & G.L. Barron) W. Gams) wystąpiły w uprawie i młodniku sporadycznie lub lokalnie (tab. 1, 2).

Najwięcej grzybów określanych w literaturze jako antagonistyczne w stosunku do *Armillaria* i *Heterobasidion* (tj. *Gliocladium+Penicillium+Trichoderma*) stwierdzano: (i) w uprawie, po utworzeniu wału naorywaczem wałków (ogółem 5798) lub wzruszeniu gleby na głębokość 10 cm frezem (ogółem 2603), po usunięciu pozostałości zrębowych z powierzchni doświadczalnej, (ii) w młodniku, po wyoraniu bruzd na głębokość 40-50 cm pługiem LPZ-75 (5851), po usunięciu pozostałości zrębowych z powierzchni doświadczalnej. Tylko w uprawie sporadycznie wystąpiły grzyby potencjalnie stymulujące wzrost *Armillaria* (tj. *Aureobasidium pullulans* (de Bary) G. Arnaud, *Hormiactis candida* Höhn i *Phialophora pinicola* Morgan-Jones).

Z bakterii najczęściej i najliczniej wystąpiły *Actinomycetes* spp., *Arthrobacter ilicis*, *Bacillus* spp., *Brevibacillus* spp., *Paenibacillus* spp. i *Viridibacillus* spp. Bakterie wystąpiły w uprawie szczególnie licznie w wariacie braku przygotowania gleby (14 347) oraz po usunięciu pozostałości zrębowych z powierzchni doświadczalnej, a najmniej licznie po wzruszeniu gleby na głębokość

Tabela 1.

Liczebność grzybów oraz bakterii w glebie jednorocznej uprawy sosny zwyczajnej na glebie przygotowanej przez wyoranie bruzd na głębokość 40–50 cm pługiem LPZ–75 (Pług LPZ), wruszenie gleby na głębokość 10 cm frezem (Frez), tworzenie walu naorywaczem wałków (Waly) oraz w wariantcie bez przygotowania gleby (Brak) i kontrolnym (Kontrola) w zależności od sposobu zagospodarowania pozostałości poźrębowych (I – usunięcie, II – pozostawienie gałęzi cienkich, III – rozdrobnienie i pozostawienie na powierzchni)

Abundance of fungi and bacteria in soil under 1-year-old Scots pine plantation growing on soils prepared by deep furrowing (Pług LPZ), shallow turning of the top-soil (Frez), ridging (Waly) or in variant without pre-planting soil preparation (Brak) and in the control variant (Kontrola) in relation to the way post-harvest residuals are dealt with (I – removal, II – spread out of the thin branches, III – spread of the chipped wood debris)

Takson Taxon	Pług LPZ			Frez			Waly			Brak			Kontrola
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	
<i>Mortierellales+Mucorales</i>	1	0	0	2	0	20	0	3	0	2	1	0	1
Grzyby z gromady <i>Zygomycota</i> Fungi from division <i>Zygomycota</i>													
<i>Gliocladium</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> spp.	8	23	22	98	65	86	135	104	50	38	90	79	28
<i>Penicillium</i> spp.	144	134	358	1073	451	807	3212	1549	744	168	285	152	54
<i>Tolyocladium geodes</i> W.Gams	3	0	4	0	0	1	0	1	0	0	2	0	8
Grzyby mykoryzowe Mycorrhizal fungi	2	1	1	0	0	0	0	21	0	0	16	0	2
Entomofagi i nematofagi Entomophagous and nematophagous fungi	3	2	0	0	0	1	0	0	0	8	0	2	0
Liczba izolatów wszystkich grzybów Number of isolates of all fungi	165a	178a	391aef	1233a	530ac	922aef	3351a	1682ac	797aef	219a	404ac	240af	106
Potencjalni antagoniści <i>Armillaria</i> i <i>Heterobasidium</i> Potential antagonists of <i>Armillaria</i> and <i>Heterobasidium</i>	156a	157a	384a	1173a	516a	914a	3347a	1657a	794a	208a	378a	231a	
Potencjalni antagoniści – ogółem Potential antagonists – in total	697a			2603a			5798a			817a			91

Tabela 1. c.d.

Takson Taxon	Pług LPZ			Frez			Waty			Brak			Kontrola
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	
Potencjalne stymulanty <i>Armillaria</i>	2	1	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0
Potential stimulants of <i>Armillaria</i>													
Liczba izolatów wszystkich grzybów		734a			2685ab			5830abc			863abcd		106
Number of isolates of all fungi													
					Bakterie								
					Bacteria								
<i>Actinomyces</i> spp. ¹	2	10	2	2	3	15	24	3	2	5	1	1	4
<i>Arthro bacter</i> sp. ¹ / <i>A. ilicis</i> ²	34	8	116	17	61	40	83	53	24	21	2	21	46
<i>Bacillus simplex</i> ² / <i>B. badius</i> ³ / <i>Pseudomonas</i> sp. ¹	52	20	28	38	58	24	16	17	16	221	4	162	18
<i>B. subtilis</i> ² / <i>B. methylotrophicus</i> ³	73	30	87	55	79	44	12	32	27	1423	300	216	21
<i>Bacillus</i> spp. ¹	1351	120	776	298	287	239	1225	496	240	8572	1974	1328	579
<i>Brevibacillus brevis</i> ²	3	11	9	23	35	32	8	15	5	9	14	14	11
<i>Corynebacterium</i> spp. ¹			2	1	5	1							3
<i>Paenibacillus</i> sp. ² / <i>P. polymyxa</i> ³	39	20	46	10	15	8	4	10	6	7	3	8	12
Liczba izolatów bakterii z uwzględnieniem taksonów nieoznaczonych	1580a	232ae	1092aef	489a	583ae	439af	1409a	651ae	357aef	10271a	2311ae	1765aef	741
Number of isolates of bacteria including unidentified taxons		2904a			1511a			2417a			14347a		741

a, b, c, d, e, f – istnienie różne odpowiednio od kontroli (P<0,001), wyorania bruzd pługiem LPZ-75 (P<0,001), wzruszenia gleby frezem (P<0,001), tworzenia walu naorywaczem walców (P<0,001), usunięcia pozostałości zrębowych (P<0,001) lub pozostawienia cienkich gałęzi w całości (P<0,001) (test χ^2), 1 – według cech fenotypowych i właściwości biochemicznych, 2 – oznaczony metodą molekularną; 3 – oznaczony zestawem MID-66

a, b, c, d, e, f – significant difference respectively from the control (P<0,001) and in comparison to deep furrowing (P<0,001), shallow turning of the topsoil (P<0,001) ridging (P<0,001), removal of the post-harvest wood-debris (P<0,001), and spread of the thin, whole branches on the surface (P<0,001) (test χ^2), 1 – based on the phenotypic traits and biochemical properties, 2 – identified with the molecular method, 3 – identified with MID-66 system

Tabela 2.

Liczebność grzybów oraz bakterii w glebie 10-letniego młodnika sosny zwyczajnej rosnącego na glebie przygotowanej przez wyoranie bruzd na głębokość 40-50 cm pługiem LPZ-75 (Pług LPZ), wyoranie bruzd na głębokość 20 cm pługiem talerzowym aktywnym (Pług talerzowy) oraz w wariancie bez przygotowania gleby (Brak) i kontrolnym (Kontrola) w zależności od sposobu zagospodarowania pozostałości pożrebowych (I – usunąć, II – pozostawienie, III – rozdrobnienie i pozostawienie na powierzchni, IV – rozdrobnienie i wymieszanie z glebą)

Abundance of fungi and bacteria in soil of 10-year-old Scots pine plantation growing on soils prepared by deep furrowing (Pług LPZ), shallow furrowing (Pług talerzowy) or in variant without pre-planting soil preparation (Brak) and in the control variant (Kontrola) in relation to the way post-harvest residuals are dealt with (I – removal, II – spread out, III – spread of the chipped wood debris, IV – spread out of the wood debris mixed with soil)

Takson Taxon	Pług LPZ				Pług talerzowy				Brak				Kontrola			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
<i>Mortierellales+Mucorales</i>	1	3	0	4	0	3	1	2	1	0	0	1	0	0	0	1
Grzyby z gromady <i>Zygomycota</i> Fungi from division <i>Zygomycota</i>																
<i>Gliocladium</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> spp.	518	30	13	23	15	31	110	218	12	54	14	15	6			
<i>Penicillium</i> spp.	1831	1842	657	821	1594	794	576	473	835	658	1633	702	692			
<i>P. adametsii</i>	208a	270a	416a	660b	1206a	511b	409a	223a	494	516b	519b	560	601ab			
<i>P. adametsii</i> ogółem		1554				2349				2089			601			
<i>P. adametsii</i> altogether																
<i>T. geodes</i>	21	2	44	41	29	2	15	36	12	0	0	33	11			
Entomofagi	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0			
Entomophagous fungi																
Liczba izolatów wszystkich grzybów Number of isolates of all fungi	2371a	1891ae	714ef	899aefg	1642a	828be	703ef	733ef	860a	714e	1656aef	751eg	716			
Potencjalni antagoniści <i>Armillaria</i> i <i>Heterobasidium</i>																
Potential antagonists of <i>Armillaria</i> and <i>Heterobasidium</i>	2371a	1877ae	714ef	889aefg	1638a	830be	702ef	729ef	860a	712e	1647aef	751eg	709			
Potencjalni antagoniści – ogółem Potential antagonists – in total		5851a				3899ac				3970ac			709			
Liczba izolatów wszystkich grzybów Number of isolates of all fungi		5875a				3906ac				3981ac			716			

Tabela 2. c.d.

Takson Taxon	Pług LPZ				Pług talerzowy				Brak				Kontrola			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Bakterie																
Bacteria																
<i>Bacillus cereus</i> ^{1,2}	1	6	5	4				3	1							1
<i>Lysinibacillus sphaericus</i> ¹ / <i>B. badius</i> ²			1													
<i>Paenibacillus amyloxyticus</i> ¹	1	6	14		28	31		1	6	3	26	31	7			
<i>P. macquariensis</i> ¹				4	7	9		1			4					
<i>Paenibacillus</i> sp. ¹ / <i>B. lentus</i> ²	3	3	1		3	2	15		16	2	1	4				
<i>Viridibacillus arvi</i> ¹ / <i>B. megaterium</i> ²		13			3	6	4	8	5		34	4				
Liczba izolatów bakterii z uwzględnieniem taksonów nieoznaczonych	108a	351ae	306ae	275acf	132a	509ae	253acf	130afg	324a	439ae	234aef	379acfg	826			
Number of isolates of bacteria including unidentified taxa		1040a				1022a				1376ad			826			

a, b, c, d, e, f, g – istnienie różne odpowiednio od kontroli (P<0.001), od kontroli (P<0.05), wyorania bruzd pługiem LPZ-75 (P<0.001), wyorania bruzd pługiem talerzowym (P<0.001), usunięcia pozostałości zrębowych (P<0.001) pozostawienia pozostałości w całości (P<0.001) i pozostawienia rozdrobionych pozostałości (P<0.001) (test χ^2), 1 – oznaczony metodą molekularną, 2 – oznaczony zestawem MID-66

a, b, c, d, e, f, g – significant difference respectively from the control (P<0.001) from the control (P<0.05), in comparison to deep furrowing (P<0.001) shallow furrowing (P<0.001), removal of the post-harvest wood-debris (P<0.001), spread of the post-harvest wood-debris (P<0.001) and spread of the chipped post-harvest wood-debris (P<0.001) (test χ^2), 1 – identified with the molecular method, 2 – identified with MID-66 system

10 cm frezem (1511). W młodniku bakterie wystąpiły najliczniej przy braku przygotowania gleby (1376), a najmniej licznie po wyoraniu bruzd na głębokość 40-50 cm pługiem LPZ-75 (1040), na głębokość 20 cm pługiem talerzowym aktywnym (1022) oraz po usunięciu pozostałości zrębowych z powierzchni doświadczalnej. Pozostawienie pozostałości zrębowych w całości na powierzchni sprzyjało mnożeniu się bakterii.

Zwiększonej liczebności bakterii często towarzyszyła zmniejszona liczebność grzybów. Wyższa zawartość węgla, fosforu i wapnia w uprawie (stosunek C:N=34) w porównaniu z młodnikiem (stosunek C:N=16) zaowocowała spadkiem liczebności grzybów i wzrostem liczebności bakterii. Główną przyczyną zamierania drzew w młodniku był *H. annosum* (korzeniowiec sosnowy). Tylko jedna sosna porażona była przez *A. ostoyae* (opieńkę ciemną).

Dyskusja

W pracy przedstawiono wyniki badań nad wpływem różnych warunków pokarmowych i środowiskowych wynikających z różnego postępowania z pozostałościami zrębowymi i przygotowania gleby na liczebność, różnorodność i przypuszczalną aktywność zbiorowisk mikroorganizmów glebowych w stosunku do dwóch groźnych patogenów korzeni drzew, tj. *Armillaria* i *Heterobasidion*. Ze szczególną uwagą zanalizowane zostały zbiorowiska grzybów glebowych. W glebach leśnych, z uwagi na niską kwasowość gleby i obecność drewna zasiedlanego chętnie przez grzyby, dominują one w zbiorowiskach mikroorganizmów. Uwzględniono również bakterie, które stwierdzano jednak nielicznie. Reprezentowane one były przez pojedyncze taksony.

Według Korhonena i Stenlida [1998] oraz Stenlida i Redferna [1998] mniejsze porażenie przez *Armillaria* i *Heterobasidion* związane jest ze wzrostem liczebności grzybów antagonistycznych w glebie, zwłaszcza *Penicillium* i *Trichoderma*. Wśród typowych glebowych gatunków grzybów i bakterii stwierdzono występowanie taksonów uważanych za antagonistyczne w stosunku do *Armillaria* i *Heterobasidion*, tj. *Gliocladium*+*Trichoderma*, *Mortierella* i *Mucorales*, *Penicillium* (najczęściej *P. adametzii*, *P. citrinum*, *P. janczewskii*, *P. spinulosum*), *Tolypocladium geodes* i *Actinomycete* spp. oraz *Bacillus* [Vasilev 1968; Kwaśna 1997a, b, c, 2001, 2002; Baumgartner, Warnock 2006; Mańka i in. 2006; Sz wajkowska-Michałek i in. 2012]. Mechanizmy działania organizmów antagonistycznych obejmują konkurencję o przestrzeń życiową i pokarm, antybiozę, mykopasożytnictwo oraz indukcję odporności roślin.

W 1-roczej uprawie i 10-letnim młodniku liczebność grzybów, w tym gatunków uważanych za antagonistyczne, była odpowiednio większa po płytkim i głębokim mechanicznym traktowaniu gleby (w uprawie – po utworzeniu wału naorywaczem wałków lub wzruszeniu gleby na głębokość 10 cm frezem, w młodniku – po wyoraniu bruzd na głębokość 40-50 cm pługiem LPZ-75). Wcześniejsze usunięcie pozostałości zrębowych z powierzchni doświadczalnej na ogół sprzyjało wzrostowi liczebności grzybów. Zarówno w 1-roczej uprawie, jak i 10-letnim młodniku rezygnacja z przygotowania gleby sprzyjała wzrostowi liczebności bakterii, które prawdopodobnie w zastępstwie grzybów realizują funkcje fitosanitarne gleby. Należy więc przypuszczać, że w warunkach opisywanego doświadczenia wzrost oporności gleby w różnym czasie (w uprawie i młodniku) będzie efektem różnych zabiegów i wywołują go różne organizmy.

Utrzymanie populacji i zdolności biokontrolujących antagonistów na poziomie gwarantującym skuteczność działania w zmiennych warunkach środowiska jest podstawowym wymogiem ochrony biologicznej. Rodzaj *Trichoderma* należy do głównych antagonistów. Generalnie twierdzi się, że wzrost liczebności i aktywności *Trichoderma* następuje przy wyższej temperaturze (15-32°C), pH w granicach 5,5-8,5, umiarkowanej wilgotności gleby, dużej zawartości materii organicznej oraz braku mechanicznej interwencji w glebie. Liczebności *Trichoderma* w różnych

kombinacjach prezentowanego doświadczenia wskazują, że większość z tych zależności występuje tylko w pierwszym roku po zabiegu. Dziesięć lat po zabiegu silny wzrost populacji *Trichoderma* nastąpił po zdecydowanej mechanicznej interwencji w środowisko glebowe (po wyoraniu bruzd na głębokość 40-50 cm) i małej zawartości materii organicznej (po usunięciu pozostałości zrębowych z powierzchni gleby). Niewykluczone, że był to efekt braku konkurencyjnych grzybów z gromady *Basidiomycota*, które zawsze towarzyszą drewnu. Brak drewna zubożył populację grzybów z gromady *Basidiomycota*, a brak konkurencji z ich strony spowodował wzrost populacji *Trichoderma*.

Po 10 latach od zabiegu porażenie sosny w młodniku przez *H. annosum* było największe po wyoraniu bruzd na głębokość 40-50 cm pługiem LPZ-75 i niewielkie w wariancie braku przygotowania gleby (Łakomy, dane niepublikowane).

Obserwowany efekt chorobowy jest wynikiem procesów chemicznych i biologicznych zachodzących w środowisku poszczególnych kombinacji w ciągu 10 lat trwania uprawy i młodnika. Na badanych powierzchniach w trakcie trwania doświadczenia nie wykonywano żadnych zabiegów pielęgnacyjnych. Można więc porównać finalny status mikrobiologiczny poszczególnych kombinacji i spróbować odnieść go do zdrowotności drzew. Największemu porażeniu towarzyszyła spora finalna populacja antagonistycznych *Gliocladium+Penicillium+Trichoderma* spp., w tym spadek liczebności *P. adametzii*. Niewielkiemu porażeniu towarzyszyła umiarkowana populacja *Gliocladium+Penicillium* (w tym *P. adametzii*) +*Trichoderma* spp. i wzrost liczebności bakterii. Brakowi porażenia towarzyszył wzrost liczebności *Gliocladium+Trichoderma* spp. oraz umiarkowana liczebność *P. adametzii* i bakterii. Powodem lokalnego braku efektu ochronnego może być duże zróżnicowanie gatunkowe oraz zmiany w funkcji i w stopniu aktywności grzybów antagonistycznych w zależności od warunków fizykochemicznych i biologicznych gleby [Szwajkowska-Michałek i in. 2012]. Przyczyn należy jednak również szukać w zagrożeniach związanych z mechanicznym ingerowaniem w środowisko glebowe. Orka głęboka powoduje przerwanie i przemieszczenie ryzomorf *Armillaria* i korzeni zasiedlonych przez *Armillaria* i *Heterobasidion*, zwiększając zagrożenie ze strony obu patogenów [Rykowski 1985, 1990; Sierota 2013].

Podsumowanie

Usuwanie pozostałości zrębowych z powierzchni zrębu i płytkie wruszenie gleby (frezem do 10 cm głębokości lub tworzenie wału naorywaczem wałków) lub rezygnacja z przygotowania gleby przed założeniem uprawy są zabiegami korzystnymi z mikrobiologicznego punktu widzenia. Zabiegi te skutkują wzrostem liczebności grzybów i bakterii, w tym potencjalnych antagonistów *Armillaria* i *Heterobasidion* zwiększających ewentualną oporność gleby w stosunku do patogenów korzeni. Wyoranie bruzd (do 40-50 cm głębokości) zaowocowało wzrostem liczebności grzybów antagonistycznych w stosunku do patogenów korzeni 10 lat po zabiegu. Z uwagi jednak na zwiększone właściwości regeneracyjne ryzomorf po ich przerwaniu zabieg ten może zwiększać zagrożenie ze strony *Armillaria*, zwłaszcza na tzw. terenach opieńkowych.

Literatura

- Atkinson G. F. 1892. Some diseases of cotton. Alabama Agricultural Experiment Station 41: 65.
 Baumgartner K., Warnock A. E. 2006. A soil inoculant inhibits *Armillaria mellea* *in vitro* and improves productivity of grapevines with root disease. Plant Disease 90: 439-444.
 Bååth E., Söderström B. E. 1980. Degradation of macromolecules by microfungi isolated from different podzolic soil horizons. Canadian Journal of Botany 58: 422-425.
 Korhonen K. 1978a. Intersterility groups of *Heterobasidion annosum*. Communicationes Instituti Forestalis Fenniae 94: 1- 25.
 Korhonen K. 1978b. Interfertility and clonal size in *Armillaria mellea* complex. Karstenia 18: 31-42.

- Korhonen K., Stenlid J. 1998. Biology of *Heterobasidion annosum*. W: Woodward S., Stenlid J., Karjalainen R., Hüttermann A. [red.]. *Heterobasidion annosum* biology, ecology, impact and control. CAB International. Wallingford, UK. 43-70.
- Kwaśna H. 1997a. Antagonistic effect of fungi communities from Scots pine fine roots on *Heterobasidion annosum* (Fr.) and *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink growth. *Phytopathologia Polonica* 13: 133-146.
- Kwaśna H. 1997b. Antagonistic effect of fungi from Scots pine stump roots on *Heterobasidion annosum* and *Armillaria ostoyae*. *Acta Mycologica* 32: 369-381.
- Kwaśna H. 1997c. Fungi on the surface of roots of Scots pine and its stumps and effect on *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. And *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink growth. *Roczniki Nauk Rolniczych E* 26: 109-123.
- Kwaśna H. 2001. Fungi in the rhizosphere of common oak and its stumps and their possible effect on infection by *Armillaria*. *Applied Soil Ecology* 17: 215-227.
- Kwaśna H. 2002. Changes in microfungus communities in roots of *Quercus robur* stumps and their possible effect on colonization by *Armillaria*. *Journal of Phytopathology* 150: 403-411.
- Kwaśna H., Sierota Z. 1999. Structure of fungal communities in barren post agricultural soil 1- and 2-years after pine sawdust application. *Phytopathologia Polonica* 15: 126-130.
- Mańka K. 1964. Próby dalszego udoskonalenia zmodyfikowanej metody Warcupa izolowania grzybów z gleby. *Prace Komisji Nauk Rolniczych i Leśnych PTPN* 17: 29-43.
- Mańka M., Tyszkiewicz Z., Stępniewska-Jarosz S. 2006. Soil fungi communities effect on the growth of *Heterobasidion annosum* versus forest environment pollution. *Phytopathologia Polonica* 40: 43-56.
- Rykowski K. 1985. Niektóre troficzne uwarunkowania patogeniczności *Armillaria mellea* (Vahl.) Quél. w uprawach sosnowych. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa* 640: 1-138.
- Rykowski K. 1990. Opieńkowa zgnilizna korzeni. *Choroby Drzew Leśnych* 4. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Poznań.
- Sierota Z. 2013. *Heterobasidion* root rot in forests on former agricultural lands in Poland: Scale of threat and prevention. *Scientific Research and Essays, Academic Journals* 8: 2298-2305.
- Sierota Z., Kwaśna H. 1998a. Changes in fungal communities in abandoned farm land soil enriched with pine sawdust. *Folia Forestalia Polonica. Series A Forestry* 40: 85-93.
- Sierota Z., Kwaśna H. 1998b. Effect of pine sawdust on structure of soil fungi communities in the soils of post-agricultural land. *Acta Mycologica* 33: 77-90.
- Sierota Z., Kwaśna H. 1999. Ocena mikologiczna zmian zachodzących w glebie gruntu porolnego po dodaniu trocin iglastych. *Sylwan* 143 (4): 57-66.
- Stenlid J., Redfern D. 1998. Spread within the tree and stand. W: Woodward S., Stenlid J., Karjalainen R., Hüttermann A. [red.]. *Heterobasidion annosum* biology, ecology, impact and control. CAB International. Wallingford. UK. 125-142.
- Szwajkowska-Michalek L., Kwaśna H., Łakomy P., Perkowski J. 2012. Inhibition of *Armillaria* and *Heterobasidion* growth by *Penicillium adametzii* isolated from *Pinus sylvestris* forest soil. *Forest Pathology* 42: 454-466.
- Vasilev O. A. 1968. Using the antagonism of fungi and bacteria in wood protection. *Nauc. Trudy Leningrad Lesotekhnicheskaja Akademija* 110: 28-33.
- Warcup J. H. 1950. The soil-plate method for isolation of fungi from soil. *Nature* 166: 117-118.