

**WPLYW MIĘDZYPLONÓW Z GORCZYCY BIAŁEJ
I ŻYTA OZIMEGO ORAZ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM*
I IZOFLAWONOIDÓW NA ZAWARTOŚĆ N_{MIN} W PROFILU
GLEBOWYM ORAZ NODULACJĘ I ZAOPATRZENIE ROŚLIN
GROCHU SIEWNEGO W AZOT***

JANUSZ PRUSIŃSKI, EWA KASZKOWIAK, MAGDALENA BOROWSKA

*Katedra Szczegółowej Uprawy Roślin
Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy*

janusz.prusinski@utp.edu.pl

Synopsis. Ścisłe dwuczynnikowe doświadczenie polowe z grochem siewnym pastewnym ‘Hubal’ wykonano w latach 2008–2011 w Stacji Badawczej Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii UTP w Mochełku w układzie losowanych podbloków na glebie kompleksu żytanego bardzo dobrego. Schemat doświadczenia obejmował uprawę grochu na nasiona po międzyplonach z gorczycy i żyta ozimego oraz szczepienie nasion *Rhizobium leguminosarum* z lub bez dodatku izoflawonoidów: hisperedyny i naringeniny. Uprawa międzyplonów na glebie klasy IIIa nie wpłynęła na znaczące zmniejszenie zawartości N_{min} wczesną wiosną w warstwie 0–30 cm. Zawartość N_{min} wczesną wiosną w warstwie 0–30 cm nie była na tyle wysoka, żeby hamować lub ograniczać nodulację, stąd też nie udowodniono istotnego wpływu szczepienia nasion i izoflawonoidów na rozmiary brodawkowania. Międzyplon z gorczycy pozostawionej na zimę w formie mulczu stwarzał najmniej korzystne warunki do przeżycia i zdolności do nawiązywania symbiozy przez bakterie symbiotyczne pozostałe w glebie po zbiorze grochu siewnego. Przebieg warunków wilgotnościowych wskazuje na szczególną wrażliwość nodulacji na niedobór lub nadmiar wody w ryzosferze. Stan odżywienia roślin azotem nie był kształtowany przez czynniki doświadczenia, podobnie jak indeks żniwny azotu i efektywność wykorzystania N pobranego z gleby i symbiozy.

Słowa kluczowe – *key words*: groch siewny – *field pea*, międzyplony – *intercrops*, *Rhizobium*, izoflawonoidy – *isoflavones*, nodulacja – *nodulation*

WSTĘP

Gatunki uprawiane w przedplonie mogą mieć istotny wpływ na zasiedlenie ryzosfery rośliny następczej. Stwierdzono, że międzyplon z rzepaku nie modyfikował składu mikroflory glebowej [Scott i Knudsen 1999], a uprawa konserwująca znacząco zwiększała nodulację grochu oraz efektywność symbiozy [Hoflich i in. 1999]. Idea uprawy konserwującej sprowadza się do zastosowania roślin pobierających azot nie wykorzystany przez roślinę uprawianą w plonie głównym lub uwalniający się w czasie mineralizacji materii organicznej. Międzyplony zbierane jesienią w częściach nadziemnych gromadzą 68,3–80,5% pobranego azotu usuwając z profilu glebowego od 20 do 100 kg azotu z ha [Dzienia i Boligłowa 1992, Duer 1996, Jaskulski i Jaskulska 2004, Wilczewski 2009]. Z reguły zawartość N_{min} jest wyższa jesienią niż wczesną wiosną,

* Praca wykonana w ramach projektu badawczego N N310 148135 pt. Azot mineralny vs. azot cząsteczkowy w uprawie roślin strączkowych.

co dowodzi, że jest silnie zależna od pobierania przez rośliny oraz intensywności mineralizacji materii organicznej, a także przemian samego azotu w glebie [Sosulski i Mercik 2009].

Negatywny wpływ zbyt wysokiej zawartości N_{\min} w glebie na aktywność rizobiów u roślin bobowatych znany jest od dawna [Luciński i in. 2002]. Infekcja korzeni przez rizobia rozpoczyna się, gdy zawartość N_{\min} w glebie ulegnie zmniejszeniu w wyniku pobrania N przez rośliny lub jego utraty na skutek utleniania lub wypłukania w głąb profilu glebowego [Buttery i Gibson 1990]. Opóźnienie w powstawaniu brodawek korzeniowych prowadzi do istotnego zmniejszenia zdolności i efektywności wiązania N_2 [Kipe-Nolt i in. 1993, Voisin i in. 2002].

Jednym ze sposobów zwiększenia infekcji oraz liczby i masy brodawek korzeniowych jest stosowanie izoflawonoidów zawartych m.in. w nasionach i korzeniach roślin bobowatych [Koslak i in. 1987]. Skracają one czas do rozpoczęcia wiązania azotu atmosferycznego, a także polepszają proces nodulacji [Begum i in. 2001, Pan i in. 2001], co może mieć szczególne znaczenie przy stosowaniu wczesnych terminów siewu roślin strączkowych. Ich wpływ polega na stymulowaniu ekspresji zwykłych genów *nod* [Zaat 1988].

Niewielka liczba rizobiów w glebie ogranicza potencjalne możliwości roślin do tworzenia zasiedlonych przez bakterie brodawek. Z kolei dominacja szczepów nieefektywnych w danym środowisku powoduje, że brodawki są tworzone, ale zasiedlane przez rhizobia wiążące azot w ilościach znacznie niższych niż potrzebne do stymulowania wzrostu roślinnego gospodarza [Marek-Kozaczuk i in. 2006]. Biorąc pod uwagę aktualne niewielkie znaczenie roślin bobowatych w strukturze zasiewów w Polsce stosowanie inokulantów (szczepionek) i kontrola efektywności symbiozy wydają się być koniecznością.

Celem badań własnych była ocena możliwości czasowego zmniejszenia zawartości N_{\min} w glebie w strefie nodulacji wczesną wiosną poprzez uprawę międzyplonów, co powinno przyspieszyć i zwiększyć brodawkowanie roślin grochu siewnego, zwłaszcza po szczepieniu nasion *Rhizobium leguminosarum* w obecności izoflawonoidów.

MATERIAŁ I METODY

Ścisłe dwuczynnikowe doświadczenie polowe z grochem siewnym pastewnym 'Hubal' wykonano w latach 2008–2011 w Stacji Badawczej Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Mochełku (53°13' N, 17°51' E, 98,5 m npm) w układzie losowanych podbloków w 4 powtórzeniach, na glebie kompleksu żytniego bardzo dobrego, klasy bonitacyjnej IIIa. Schemat doświadczenia obejmował następujące czynniki:

A – uprawa grochu siewnego po międzyplonach (pierwsze międzyplony wysiano w sierpniu 2008 roku)

- a1 – kontrola – bez międzyplonu (przedplon – pszenica ozima),
- a2 – z gorczycy białej Bardena zebranej z pola przed nastaniem mrozów,
- a3 – z gorczycy białej Bardena pozostawionej na zimę w formie mulczu,
- a4 – z żyta ozimego Pastar zaoranego wiosną.

B – sposób przygotowania nasion do siewu

b1 – kontrola – nasiona zaprawiane preparatem Sarfun 50 WP w dawce 200 g·100 kg⁻¹ nasion, nie szczepione,

b2 – nasiona zaprawiane preparatem Sarfun 50 WP i szczepione agarową szczepionką zawierającą *Rhizobium leguminosarum*,

b3 – nasiona zaprawiane preparatem Sarfun 50 WP i szczepione agarową szczepionką zawierającą *Rhizobium leguminosarum* z dodatkiem mieszaniny dwóch izoflawonoidów: hisperedyny (3',5,7-trihydroksy-4'-metoksyflawon) i naringeniny (4',5,7-trihydroksyflawon).

W kombinacji b2 agarową zawiesinę bakterii *Rhizobium leguminosarum* przygotowywaną każdorazowo przez Zakład Mikrobiologii Rolniczej IUNG Puławy rozpuszczano w wodzie destylowanej, a następnie przez 24 godziny wytrząsano na wytrząsarce laboratoryjnej w pokojowej temperaturze. W kombinacji b3 – do tak przygotowanej szczepionki dodawano 120 μM hesperedyny i naringeniny, które rozpuszczono uprzednio w 1 ml metanolu i ponownie wytrząsano przez 24 godziny. Nasiona spryskiwano *Rhizobium leguminosarum* lub *Rhizobium leguminosarum* z izoflawonoidami, a po ich przeschnięciu tego samego dnia wysiewano.

Wczesną wiosną w latach 2009–2011 zastosowano nawożenie mineralne w wysokości 35–40 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ P_2O_5 i 57–90 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ K_2O i wykonano orkę (na obiekcie kontrolnym tylko agregat uprawowy) na głębokość 20 cm, a przed siewem pole dokładnie doprawiano za pomocą agregatu uprawowego. Nawożenia azotowego nie stosowano. Nasiona grochu wysiewano siewnikiem Oyord na głębokość 6–8 cm i w rozstawie rzędów 20 cm. Termin siewu w kolejnych latach badań przypadał na 7., 8. i 5. kwietnia. Dla ustalenia normy wysiewu założono obsadę 100 roślin na 1 m^2 . Powierzchnia poletek do siewu wynosiła 16,8 m^2 , a do zbioru 13,2 m^2 . Bezpośrednio po siewie stosowano Afalon Dyspersyjny 450 SC w dawce 1,4 $\text{dm}^3\cdot\text{ha}^{-1}$, a po wschodach 2-krotne bronowanie w poprzek rzędów. Przeciwno strąkowcowi grochowemu zastosowano Sumi Alpha 050 EC lub Nurelle D 550 EC. Zbiór wykonano kombajnem poletkowym Wintersteiger.

Rozmiary brodawkowania grochu siewnego oznaczano siedmiokrotnie na 10 roślinach pobieranych z każdego poletka. Po dokładnym wypłukaniu części podziemnej każdej rośliny liczono brodawki, a w fazie kwitnienia określono także ich suchą masę po wysuszeniu w temperaturze 60°C przez 24 godziny.

Występowanie i liczebność bakterii symbiotycznych określano po zbiorze nasion metodą biotestu NPL (Najbardziej Prawdopodobnej Liczebności), umożliwiającej stwierdzenie zarówno obecności (lub braku) jak i oszacowania liczebności rizobiów [Martyniuk i in. 2000].

Pomiary absorpcji światła przez liść przy dwóch długościach fal: 650 i 940 nm wykonano za pomocą chlorofilometru w fazie pełni kwitnienia roślin. Zawartość chlorofilu w liściach wyrażona w jednostkach SPAD (*Soil and Plant Analysis Development*) pośrednio świadczy o stopniu odżywienia roślin azotem. Z kolei średni indeks żniwny azotu N_{iz} (*N harvest index*) określono w fazie pełnej dojrzałości nasion jako stosunek ilości N w plonie nasion grochu do całkowitej zawartości N ogółem w roślinach, a indeks W_{gn} (*nitrogen utilization efficiency*) wyrażający efektywność wykorzystania N glebowego i symbiotycznego obliczono z ilorazu plonu nasion i całkowitej ilości azotu w roślinie.

Próby glebowe do oznaczenia zawartości N_{min} [Polska Norma 1997] pobierano 3-krotnie za pomocą próbnika gruntu typu KRET: przed siewem międzyplonów i przed siewem grochu siewnego oraz po zbiorze grochu. Próby po pobraniu zamrażano w temperaturze – 18°C i poddawano ocenie zawartości N_{min} w listopadzie każdego roku.

Uzyskane wyniki poddano analizie wariancji dla układu losowanych podbloków, a istotności różnic weryfikowano za pomocą testu Tukey'a na poziomie $\alpha = 0,05$. W obliczeniach statystycznych wykorzystano program ANWAR FR. Średnie w tabelach oznaczone tymi samymi literami nie różniły się istotnie. Istotność różnic na wykresach podano w ich podpisie.

W latach 2009 i 2010 odnotowano znacznie niższe od średnich wieloletnich sumy opadów w kwietniu (tab. 1). W 2009 roku susza kwietniowa opóźniła wschody polowe jednak dalsza vegetacja roślin przebiegała w sprzyjających warunkach termicznych i wilgotnościowych, a opady w lipcu opóźniły ich dojrzewanie. W 2010 roku skrajnie suche warunki panowały w czerwcu i dwóch pierwszych dekadach lipca. Ich niekorzystny wpływ na szybkie zakończenie vegetacji potęgowała bardzo wysoka temperatura powietrza w tym czasie. Ponad 100 mm opad w III dekadzie lipca i 81 mm w I dekadzie sierpnia tego roku nie miał praktycznie wpływu na plonowanie grochu. Najbardziej korzystne i wyrównane warunki wilgotnościowe i termicz-

Tabela 1. Średnia temperatura i sumy opadów według notowań Stacji Badawczej w Mochełku
 Table 1. Mean temperature and rainfall according to the Mochelek Experimental Station

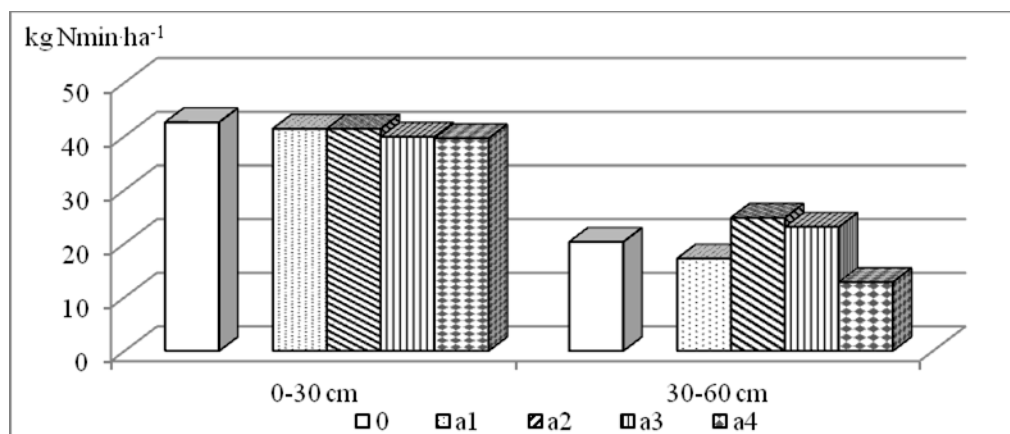
Wyszczególnienie <i>Specification</i>	Rok <i>Year</i>	Miesiąc – <i>Month</i>					
		IV	V	VI	VII	VIII	IX
Temperatura <i>Temperature</i> (°C)	2009	9,8	13,2	14,5	18,6	18,2	13,7
	2010	7,8	11,5	16,7	21,6	18,4	12,2
	2011	10,5	13,5	17,7	17,5	17,7	14,3
	1949–2011	7,4	12,7	16,2	18,0	17,5	13,2
Opady <i>Rainfall</i> (mm)	2009	0,4	85,3	57,4	118,0	17,6	34,4
	2010	33,8	92,6	18,1	107,4	150,7	74,7
	2011	13,5	38,4	100,8	132,5	67,7	37,0
	1949–2010	27,7	43,2	52,9	72,2	53,0	41,4

ne dla wzrostu i rozwoju obu gatunków stwierdzono w 2011 roku. Zróżnicowanie warunków wodnych w okresie wegetacji grochu dotyczyło w największym stopniu czerwca – od 18,1 mm w 2010 roku do 100,8 mm w 2011 roku. Średnio w wieloleciu warunki wodne w okresie wegetacji były podobne – od 252 mm w 2010 roku do 285 w 2011. Z kolei średnia temperatura powietrza w okresie IV–VIII była w latach 2010–2011 podobna do wieloletniej, a długość okresu wegetacji grochu siewnego w kolejnych latach badań wynosiła odpowiednio: 130, 105 i 123 dni. W maju 2011 roku odnotowano skrajnie niekorzystne warunki cieplne – temperatura przy powierzchni gruntu spadła do -9°C , nie czyniąc jednak żadnych szkód w obsadzie roślin.

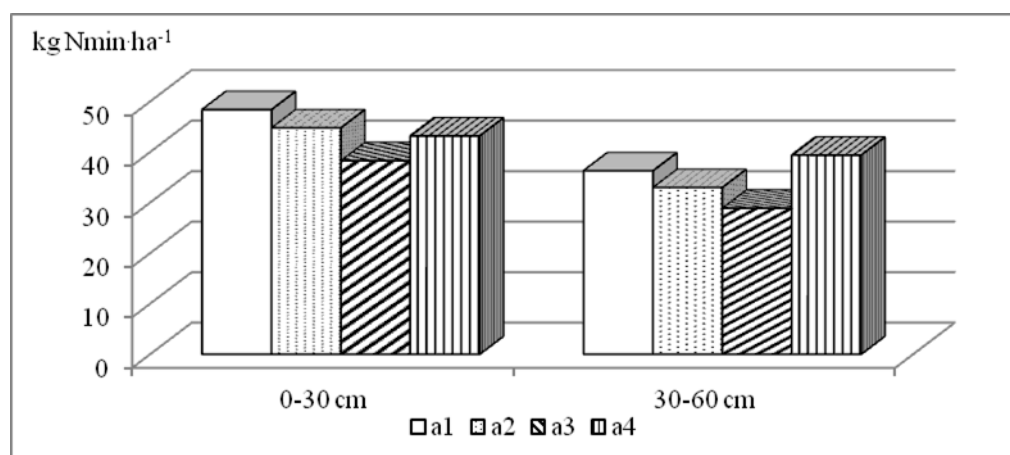
WYNIKI I DYSKUSJA

Wbrew założeniom i niektórym danym literaturowym [Dzienia i Boligłowa 1992, Duer 1996, Jaskulski i Jaskulska 2004, Wilczewski 2009] uprawa międzyplonów nie przynosiła spodziewanego obniżenia zawartości N_{\min} w glebie wczesną wiosną. Przed siewem międzyplonów średnia za 3 lata badań zawartość N_{\min} w warstwie 0–30 cm wynosiła $42,6 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, a w warstwie 30–60 cm – $20,3 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ (rys. 1). Z kolei przed siewem grochu stwierdzono tylko nieco niższą zawartość N_{\min} , odpowiednio do głębokości profilu glebowego: $40,5$ i $19,5 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$. Zdaniem niektórych autorów uprawa międzyplonów może przyczyniać się do zmniejszenia zawartości N_{\min} jesienią, ale i zwiększenia wiosną [Płaza i in. 2009].

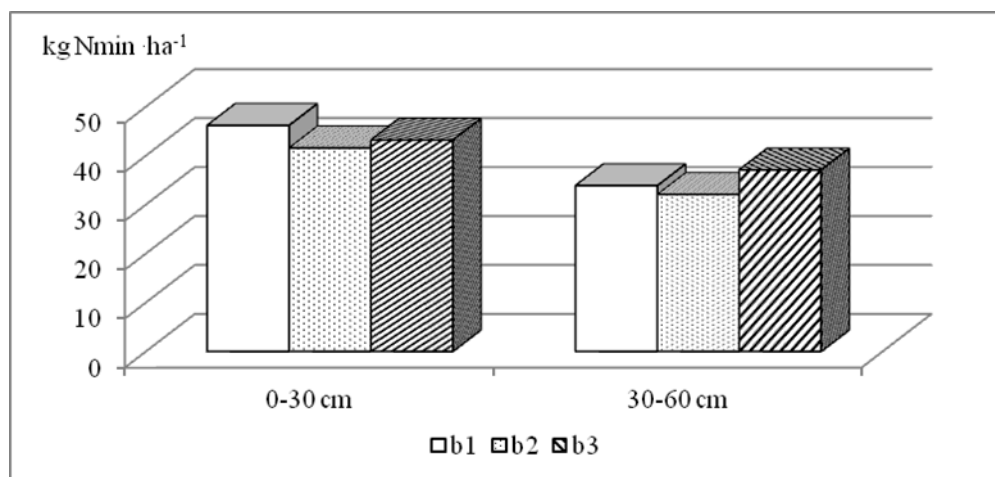
Wartość przedplonowa roślin strączkowych, w tym wzbogacanie gleby w azot jest powszechnie znana [Andrzejewska 2002]. Z badań własnych wynika, że rodzaj międzyplonu po którym uprawia się groch siewny może mieć istotne znaczenie dla jego wartości przedplonowej. Po zbiorze grochu uprawianego po gorczycy, a szczególnie tej pozostawionej na zimę w formie mulczu (a3) – ilość N_{\min} była znacznie (20,8%) mniejsza, i to w obu badanych warstwach (rys. 2). Różnice w zawartości N_{\min} na poszczególnych obiektach czynnika B nie przekraczały 10% w warstwie 0–30 cm i 13,5% w warstwie 30–60 cm (rys. 3), co wskazuje na brak znaczącego wpływu szczepienia nasion i stosowania izoflawonoidów na wartość stanowiska po grochu siewnym.



Rys. 1. Średnia zawartość N_{min} w glebie przed siewem międzyplonów (0) i grochu siewnego w zależności od rodzaju zastosowanego międzyplonu (a1-a4) i głębokości profilu glebowego
 Fig. 1. Mean content of N_{min} in the soil before sowing of intercrops (0) and pea depending on intercrop types (a1-a4) and the depth of soil profile



Rys. 2. Średnia zawartość N_{min} po zbiorze grochu siewnego w zależności od zastosowanych międzyplonów (a1-a4) i głębokości profilu glebowego
 Fig. 2. Mean content of N_{min} following pea harvest depending on intercrop types used (a1-a4) and the depth of soil profile

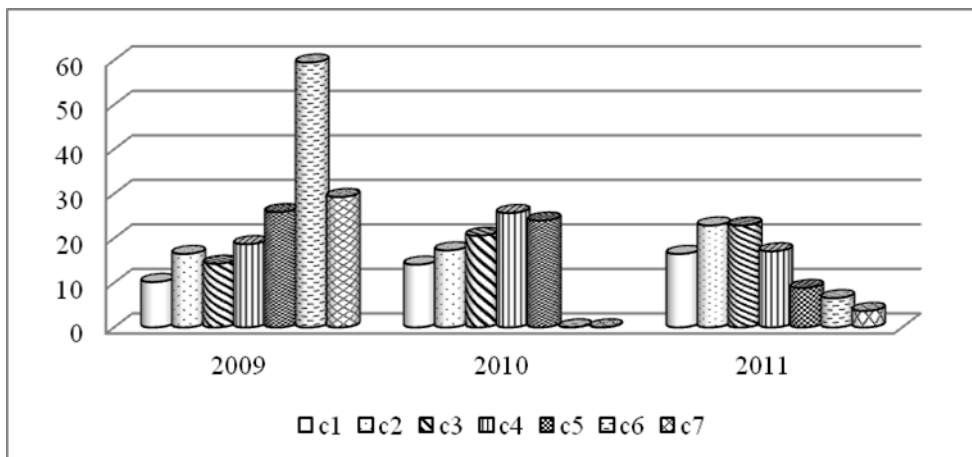


Rys. 3. Średnia zawartość N_{min} po zbiorze grochu siewnego w zależności od sposobu przygotowania nasion do siewu (b1–b3) i głębokości profilu glebowego
 Fig. 3. Mean content of N_{min} after pea harvest depending on the methods of seed preparation (b1–b3) and the depth of soil profile

Z badań wykonanych przez IUNG na terenie całego kraju wynika, że średnia zawartość N_{min} wczesną wiosną w profilu glebowym do głębokości 90 cm wynosi od 71 kg na glebach bardzo lekkich do ponad 100 kg na glebach ciężkich, w tym w warstwie 0–30 cm, która jest źródłem azotu w początkowych fazach wzrostu i rozwoju roślin – 33–49 kg $N \cdot ha^{-1}$ [Fotyma i Pietruch 2000]. W warunkach przeprowadzonego doświadczenia zawartość N_{min} w strefie nodulacji nieco tylko przekraczała 40 kg $N \cdot ha^{-1}$ i zapewne nie utrudniała infekcji korzeni przez rizobia. Zdaniem Voisin i in. [2002] zawartość N_{min} przekraczająca 56 kg ha^{-1} może uniemożliwiać lub co najmniej opóźniać nodulację do czasu, kiedy jego poziom nie ulegnie obniżeniu [Buttery i Gibson 1990]. Trudności w zapoczątkowaniu infekcji włośników przez rizobia przy wysokiej zawartości N_{min} w glebie powodują opóźnienie w tworzeniu brodawek i ich mniejszą efektywność w wiązaniu N_2 [Kipe-Nolt i in. 1993].

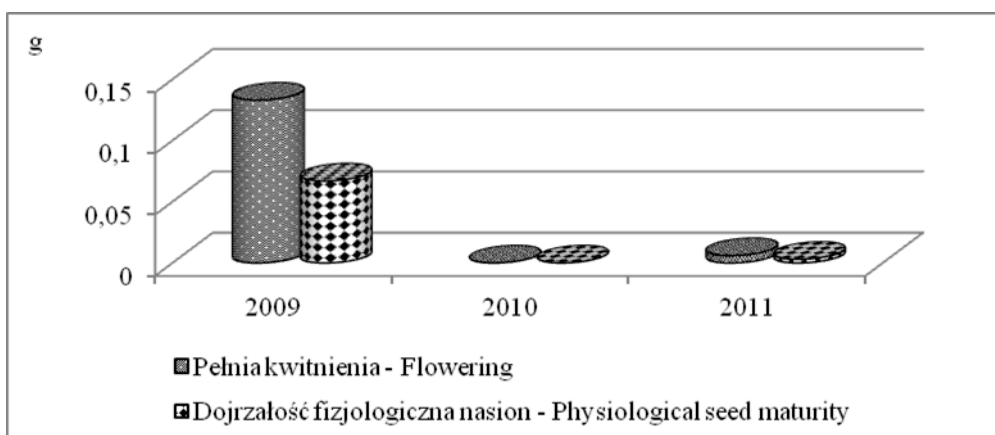
Zdaniem Martyniuka i in. [2003] populacja bakterii brodawkowych w glebach Polski jest coraz mniejsza, a ich zróżnicowanie i przystosowanie do symbiozy po wielu latach jej braku nastęrczą może potencjalne trudności w budowie wydajnego układu symbiotycznego, stąd konieczność szczepienia nasion rizobiami.

Pierwsze brodawki obserwowano już 7 dni po wschodach (c1) (rys. 4). Brodawki grochu tworzą pałeczkowate zgrubienia na wielu rozgałęzieniach korzenia i stąd są łatwe do policzenia, ale też szybko ulegają zamieraniu. Intensywność wiązania azotu w brodawkach zależy od wielu czynników wewnętrznych (właściwości genetyczne roślin i bakterii, faza rozwojowa) i zewnętrznych (natężenie światła, stężenie CO_2 , warunki wodne, co udowodniono w badaniach własnych. W 2009 roku liczba brodawek korzeniowych ulegała zwiększeniu do fazy kwitnienia (c6), w 2010 do 35 dnia od wschodów (c5), a w 2011 roku tylko do 28 dnia (c4) od wschodów, co wskazuje na bardzo dużą wrażliwość procesu nodulacji grochu na wilgotność gleby w warstwie 0–30 cm.



$NIR_{0,05} - LSD_{0,05}$: 2009 – 6,8; 2010 – 2,2; 2011 – 2,9

Rys. 4. Dynamika brodawkowania roślin grochu siewnego
 Fig. 4. Dynamics of pea plant nodulation



$NIR_{0,05} - LSD_{0,05}$: 2009 – 0,016; 2011 – 0,002

Rys. 5. Dynamika suchej masy brodawek na jednej roślinie grochu siewnego w g w fazach kwitnienia i dojrzałości fizjologicznej nasion
 Fig. 5. Dynamics of dry matter of pea plants nodules in g over flowering and physiological seed maturity phases

W 2010 roku z powodu suszy glebowej w fazie kwitnienia i później (suma opadów od 1 czerwca do 20 lipca wyniosła 17,2 mm) nie znaleziono brodawek w ogóle, tymczasem w 2011 roku notowano bardzo wysokie opady w czerwcu (101 mm) i lipcu (132,5 mm), co być może na skutek pogorszenia się warunków tlenowych w strefie korzeniowej mogło być także przyczyną ich zamierania.

Liczba brodawek na korzeniach grochu siewnego nie zależała istotnie od zastosowanego przedplonu ani sposobu przygotowania nasion do siewu (tab. 2). Średnio na jednej roślinie stwierdzono 18,9 brodawek, od 27,7 w 2009 roku do 14–14,5 w pozostałych latach badań; ich sucha masa wynosiła 0,046 g (tab. 3). Wg Andrzejewskiej [2002] na jednej roślinie grochu w fazie kwitnienia spodziewać się można średnio nieco ponad 30 brodawek o suchej masie około 0,024 g.

Tabela 2. Średnia liczba brodawek na jednej roślinie grochu siewnego
Table 2. Mean number of nodules per pea plant

Rodzaj międzyplonu <i>Typ of intercrop</i>	Sposób przygotowania nasion do siewu <i>Method of seed preparation for sowing</i>			Średnia <i>Mean</i>
	Sarfun 50WP	Sarfun 50WP + <i>Rhizobium leguminosarum</i>	Sarfun 50WP + <i>Rhizobium leguminosarum</i> + izoflawonoidy (<i>isoflavones</i>)	
Kontrola – <i>Control</i>	18,2 Aa	19,1 ABa	20,2 Aa	19,2 a
Gorczyca biała zebrana z pola przed nastaniem mrozów <i>White mustard harvested before winter time</i>	19,2 Aa	19,9 Aa	18,4 ABa	19,2 a
Gorczyca biała pozostawiona na zimę w formie mulczu <i>White mustard left for the winter in the form of mulch</i>	20,2 Aa	16,6 Bb	17,1 Bab	18,0 a
Żyto ozime zaorane wiosną <i>Winter rye plowed in the spring</i>	19,0 Aa	18,6 ABa	19,7 ABa	19,1 a
Średnia – <i>Mean</i>	19,2 A	18,6 A	19,0 A	18,9

Średnie zaznaczone tymi samymi dużymi literami w wierszach i małymi w kolumnach nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$

Mean values followed by the same capital letters in rows and lower-case letters in columns did not differ significantly at $\alpha = 0.05$

Tabela 3. Średnia sucha masa brodawek w g na jednej roślinie grochu siewnego
Table 3. Mean dry weight of nodules per pea plant in g

Rodzaj międzyplonu <i>Typ of intercrop</i>	Sposób przygotowania nasion do siewu <i>Method of seed preparation for sowing</i>			Średnia <i>Mean</i>
	Sarfun 50WP	Sarfun 50WP + <i>Rhizobium leguminosarum</i>	Sarfun 50WP + <i>Rhizobium leguminosarum</i> + izoflawonoidy (+ <i>isoflavones</i>)	
Kontrola – <i>Control</i>	0,037	0,039	0,048	0,041 a
Gorczyca biała zebrana z pola przed nastaniem mrozów <i>White mustard harvested before winter time</i>	0,065	0,050	0,041	0,052 a

Tabela 3. cd.
Table 3. cont.

Gorczyca biała pozostawiona na zimę w formie mulczu <i>White mustard left for the winter in the form of mulch</i>	0,053	0,037	0,042	0,044 a
Żyto ozime zaorane wiosną <i>Winter rye plowed in the spring</i>	0,046	0,044	0,055	0,048 a
Średnia – Mean	0,050 A	0,042 A	0,046 A	0,046

Średnie zaznaczone tymi samymi dużymi literami w wierszach i małymi w kolumnach nie różniły się istotnie przy $\alpha = 0,05$

Mean values followed by the same capital letters in rows and lower-case letters in columns did not differ significantly at $\alpha = 0.05$

Jednym ze sposobów zwiększenia infekcji oraz liczby i masy brodawek korzeniowych jest zastosowanie izoflawonoidów zawartych m.in. w nasionach i korzeniach roślin bobowatych [Kosłak i in. 1987]. W badaniach własnych korzystne ich oddziaływanie stwierdzono tylko na liczbę brodawek u grochu, którego nasiona siewne zaprawiano Sarfunem i wysiewano po gorczycy; poza tym innych efektów działania izoflawonoidów nie obserwowano, zapewne z powodu niestresowej dla procesu nodulacji zawartości N_{\min} wczesną wiosną.

Warto wspomnieć, że wyniki niektórych badań [Marek-Kozaczuk i in. 2006] wskazują, że rozmiary brodawkowania nie zależą od poziomu N w glebie ani od populacji autochtonicznych rizobiów specyficznych dla danego gatunku. Stąd też zapewne słaba reakcja roślin bobowatych na przedsiewne mineralne nawożenie azotem (na zawartość N_{\min}) oznacza, że są one w stanie korzystać z obu form azotu – mineralnego i symbiotycznego w zależności od ich dostępności w glebie. Stwierdzenia niektórych autorów, że rozmiary nodulacji nie są czynnikiem decydującym o wysokości plonu nasion grochu siewnego [Andrzejewska 2002] wydają się być uzasadnione.

W ocenie liczebności *Rhizobium leguminosarum* spod uprawy polowej grochu rośliną testową był groch (tab. 4). Rosnącą liczbę bakterii symbiotycznych obserwowano na obiekcie kontrolnym wraz ze szczepieniem nasion siewnych z dodatkiem izoflawonoidów. Najmniej korzystne warunki do ich przeżycia i aktywności nawiązywania symbiozy stwarzała uprawa międzyplonu z gorczycy białej pozostawianej na zimę w formie mulczu. Być może obecność specyficznych substancji wydzielanych przez system korzeniowy gorczycy była przyczyną słabszej przeżywalności rizobiów [Scott i Knudsen 1999].

Niedestrukcyjną metodą oceny stopnia odżywienia roślin azotem jest wykorzystanie chlorofilometru (N-testera). Średnia wartość SPAD dla roślin grochu siewnego w fazie kwitnienia wynosiła 40,8, od 40,3 w 2010 roku do 42,5 w 2011 roku i nie zależała istotnie od czynników doświadczenia ani ich współdziałania (tab. 5). Podobnie średni indeks żniwny azotu N_{iz} (*N harvest index*) grochu siewnego (66,5%) i indeks W_{gn} (17 kg) nie były istotnie zróżnicowane przez badane czynniki ani ich współdziałanie. Średnia zawartość N w nasionach grochu siewnego wynosiła niespełna 4%, od 3,35 w 2009 roku do 4,61% w 2010 roku i też nie zależała istotnie od czynników doświadczenia.

Mimo niewielkiego udziału roślin bobowatych w strukturze zasiewów w naszym kraju i obaw, że w glebach Polski nie ma zdolnych do asymilacji N_2 bakterii brodawkowych, zastosowane metody zwiększenia nodulacji nie przyniosły zdecydowanie pozytywnych rezultatów.

Tabela 4. Średnia liczebność bakterii symbiotycznych (w g⁻¹ sm gleby) po zbiorze nasion grochu siewnego

Table 4. Mean number of symbiotic bacteria (in g⁻¹ dry soil) after harvest of pea seeds

Rodzaj międzyplonu <i>Typ of intercrop</i>	Sposób przygotowania nasion do siewu <i>Method of seed preparation for sowing</i>		
	Sarfun 50WP	Sarfun 50WP + <i>Rhizobium leguminosarum</i>	Sarfun 50WP + <i>Rhizobium leguminosarum</i> + izoflawonoidy (+ <i>isoflavones</i>)
Kontrola – <i>Control</i>	6,9 x 10 ²	8,2 x 10 ²	> 8,3 x 10 ⁴
Gorczyca biała zebrana z pola przed nastaniem mrozów <i>White mustard harvested before winter time</i>	6,9	6,9	1,7 x 10
Gorczyca biała pozostawiona na zimę w formie mulczu <i>White mustard left for the winter in the form of mulch</i>	0,7	0	1,7 x 10
Żyto ozime zaorane wiosną <i>Winter rye plowed in the spring</i>	2,0 x 10	6,9	6,9 x 10 ²

Tabela 5. Średnie wartości wskaźników stanu odżywienia azotem roślin grochu

Table 5. Mean values of nitrogen nutritional status of pea plants

Wyszczególnienie <i>Specification</i>	Lata – <i>Years</i>			Średnia <i>Mean</i>
	2009	2010	2011	
Stan odżywienia roślin azotem <i>Nitrogen nutritional status, SPAD units</i>	41,0	40,3	42,4	40,8
N _{iz} – Indeks żniwny – <i>N harvest index (%)</i>	66,2	67,1	66,2	66,5
W _{gn} – efektywność wykorzystania N pobranego z gleby oraz z symbiozy – <i>N utilization efficiency (kg)</i>	17,2	16,9	16,2	16,7
Zawartość N ogółem w suchej masie korzeni (g kg ⁻¹) <i>N content in dry matter of under-ground parts (g kg⁻¹)</i>	30,0	30,2	30,2	30,1
Zawartość N ogółem w suchej masie liści (g kg ⁻¹) <i>N content in dry matter of above-ground parts (g kg⁻¹)</i>	37,0	36,8	36,7	36,8
Zawartość N w suchej masie nasion (g kg ⁻¹) <i>N content in dry matter of seeds (g kg⁻¹)</i>	33,5	46,4	40,0	40,0

WNIOSKI

1. Uprawa międzyplonów na glebie klasy III nie wpłynęła na istotne zmniejszenie zawartości N_{\min} wiosną w warstwie 0–30 cm.
2. Zawartość N_{\min} wczesną wiosną w warstwie 0–30 cm nie była na tyle wysoka, żeby hamować lub ograniczać nodulację, stąd też nie udowodniono istotnego wpływu szczepienia nasion i izoflawonoidów na rozmiary brodawkowania grochu siewnego.
3. **Gorczyca pozostawiona na zimę stwarzała najmniej korzystne warunki do przeżycia i zdolności do nawiązywania symbiozy przez bakterie symbiotyczne pozostałe w glebie po zbiorze grochu siewnego.**
4. Przebieg warunków pogodowych, a zwłaszcza wilgotnościowych wskazuje na szczególną wrażliwość brodawek na niedobór lub nadmiar wody w ryzosferze – w obu tych przypadkach notowano drastyczne zmniejszanie liczby i suchej masy brodawek lub nawet ich zaniekanie już w 28–35 dni po wschodach grochu.
5. Stan odżywienia roślin azotem nie był kształtowany przez czynniki doświadczenia i wynosił w fazie kwitnienia od 40,3 do 42,5 jednostek SPAD.
6. Średni indeks żniwny azotu i efektywność wykorzystania N pobranego z gleby i związanego w wyniku symbiozy przez rośliny grochu siewnego nie były istotnie różnicowane przez badane czynniki ani ich współdziałanie.

PIŚMIENNICTWO

- Andrzejewska J. 2002. Agrotechniczne uwarunkowania plonowania i brodawkowania zróżnicowanych odmian grochu siewnego (*Pisum sativum* L.) Wyd. ATR Bydgoszcz, Rozpr. 105: ss. 92.
- Begum A.A., Leibovitch S., Migner P., Zhang F. 2001. Inoculation of pea (*Pisum sativum* L.) by *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* preincubated with naringenin and hesperetin or application of naringenin and hesperetin directly into soil increased pea nodulation under short season conditions. *Plant Soil* 237: 71–80.
- Borucki W. 1998. Struktura i funkcjonowanie brodawek korzeniowych roślin motylkowatych. *Wiad. Bot.* 42(1): 41–61.
- Buttery B.R., Gibson H. 1990. The effect of nitrate on the time course of nitrogen fixation and growth in *Pisum sativum* and *Vicia faba*. *Plant Soil* 127: 143–146.
- Duer I. 1996. Mulczujący wpływ międzyplonu na plonowanie jęczmienia jarego oraz zawartość wody i azotanów w glebie. *Fragm. Agon.* 13(1) 29–43.
- Dzienia S., Boligłowa E. 1992. Ochrona gleby i wody przy użyciu nowych technologii uprawy roślin okopowych. *Mat. konf. „Konfrontacja systemów rolniczych”*, Olsztyn-Przysiek, 7–8 października 1992: 79–82.
- Fotyma E., Pietruch Cz. 2000. Monitoring zawartości azotu mineralnego w glebach ornych Polski – możliwości praktycznego wykorzystania. *Biul. Inf. IUNG* 12: 18–25.
- Hofflich G., Tauschke M., Kukn G., Werner K., Frielinghaus M., Hohn W. 1999. Influence of long-term conservation tillage on soil and rhizosphere microorganisms. *Biol. Fertil. Soils* 29: 81–86.
- Jaskulski D., Jaskulska I. 2004. Wpływ nawożenia słomą, międzyplonów ścierniskowych i zróżnicowanej uprawy roli na niektóre właściwości gleby w ogniwie pszenica ozima – jęczmień jary. *Acta Sci. Pol., Agricultura* 3(2): 151–163.
- Kipe-Nolt J.A., Vargas H., Giller K.E. 1993. Nitrogen fixation in breeding lines of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Soil* 152: 103–106.
- Kosslak R.M., Rookland R., Barkei J., Paaren H.E., Appelbaum E.R. 1987. Induction of *Bradyrhizobium japonicum* common nod genes by isoflavones isolated from *Glycine max*. *USA Proceed. Nat. Acad. Sci.* 34: 7428–7432.

- Luciński R., Polcyn W., Ratajczak L. 2002. Nitrate reduction and nitrogen fixation in symbiotic association *Rhizobium*-legumes. *Acta Bioch. Pol.* 49(2): 537–546.
- Marek-Kozaczuk M., Wielbo J., Dobrowolski R., Skorupska A. 2006. Wpływ poziomu azotu w glebie na wielkość populacji szczepów *Rhizobium* i ich zdolność do symbiotycznego wiązania azotu. *Zesz. Nauk. UP Wrocław* 546, Rol. 89: 249–258.
- Martyniuk S., Oroń J., Martyniuk M. 2003. Występowanie bakterii brodawkowych łubinu (*Bradyrhizobium lupini*) w glebach Polski. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 495: 367–373.
- Martyniuk S., Woźniakowska A., Martyniuk M., Oroń J. 2000. A new sand pouch-plant infection technique for enumeration of rhizobia in soil. *Acta Soc. Bot. Polon.* 69: 257–261.
- Pan B., Vessey J.K., Smith D.L. 2001. Response of field-grown soybean to co-inoculation with the plant growth promoting rhizobacteria *Serratia proteamaculans* or *Serratia liquefaciens*, and *Bradyrhizobium japonicum* pre-incubated with genistein. *Eur. J. Agron.* 17: 143–153.
- Polska Norma PN-R-04028, 1997. Analiza chemiczna gleby. Metoda pobierania próbek i oznaczania zawartości jonów azotanowych i amonowych w glebach mineralnych. PKN. Dokument normalizacyjny przeznaczony do celów edukacyjnych. UTP Bydgoszcz.
- Płaza A., Ceglarek F., Gąsiorowska B., Buraczyńska D., Królikowska M. 2009. Wpływ międzyplonów na zawartość azotu mineralnego w profile glebowym w okresie jesienno-zimowym. *Mat. konf. „Azot w środowisku przyrodniczym”*. Olsztyn, 21–22 maja 2009. *Streszczenia/Abstracts*: 69.
- Scott J.S., Knudsen G.R. 1999. Soil amendment effects of rape (*Brassica napus*) residues on pea rhizosphere bacteria. *Soil Biol. Bioch.* 31: 1435–1441.
- Sosulski T., Mercik S. 2009. The dynamics of mineral nitrogen movements in the soil profile in long-term experiments. *Mat. konf. „Azot w środowisku przyrodniczym”*. Olsztyn, 21–22 maja 2009. *Streszczenia/Abstracts*: 81.
- Voisin A.S., Salon Ch., Munier-Jolain N.G., Ney B. 2002. Quantitative effects of soil nitrate, growth potential and phenology on symbiotic nitrogen fixation of pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Soil* 243: 31–42.
- Wilczewski E. 2009. Zagospodarowanie azotu i innych makroskładników przez rośliny niemotylkowe uprawiane w międzyplonie ścierniskowym. *Mat. konf. „Azot w środowisku przyrodniczym”*. Olsztyn, 21–22 maja 2009. *Streszczenia/Abstracts*: 99.
- Zaat S.A.J., Wijffelman C.A., Mulders I.H.M., van Brussel A.A.N., Lugtenberg B.J.J. 1988. Exudates of various host plants of *Rhizobium leguminosarum* contain different sets of inducers of rhizobium nodulation genes. *Plant Physiol.* 86: 1298–1303.

J. PRUSIŃSKI, E. KASZKOWIAK, M. BOROWSKA

**EFFECT OF WHITE MUSTARD AND WINTER RYE INTERCROPS,
RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM AND ISOFLAVONES ON THE CONTENT OF N_{MIN}
IN SOIL PROFILES AS WELL AS NODULATION AND SUPPLY OF PEA PLANT
IN NITROGEN**

Summary

The strict two-factor field experiment with pea forage ‘Hubal’ was performed in 2008–2011 at the Research Station of the Faculty of Agriculture and Biotechnology Mochełek UTP in the randomized block design on the soil of very good rye complex. Experiment consisted of growing pea seeds after white mustard and winter rye intercrops and *Rhizobium leguminosarum* inoculation with or without isoflavones: hisperetin and naringenin. Growing intercrops on soil class IIIa did not affect the substantial reduction of N_{min} content in the early spring in the layer 0–30 cm. Early spring N_{min} content in the layer 0–30 cm was not high enough to inhibit or restrict nodulation, hence no significant effect of seed inoculation and isoflavones was proved on the nodulation. Intercrop of white mustard left for the winter in the form of mulch created

the least favorable conditions for survival and ability to establish symbiosis symbiotic bacteria remaining in the soil after pea harvest. Moisture conditions indicate the particular sensitivity of nodulation to a deficiency or excess water in the rhizosphere. Nitrogen nutritional status of plants as well as nitrogen harvest index and N utilization efficiency were not affected by the factors of experiment.