

**Wpływ wydzielin korzeniowych różnych roślin uprawnych  
na skład populacji bakterii i grzybów ze szczególnym  
uwzględnieniem grzybów patogenicznych  
przeżywających w glebie**

**DANUTA PIĘTA, ELŻBIETA PATKOWSKA**

Akademia Rolnicza, Katedra Fitopatologii, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Department of Phytopathology, Agricultural University,

Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, Poland

Effect of root exudates of various plants on composition of bacteria and fungi communities  
with special regard to pathogenic soil-borne fungi

(Otrzymano: 14. 02. 2001)

**Summary**

The purpose of the studies conducted in the years 1996 – 1998 was to determine the composition of bacteria and fungi populations in the rhizosphere of winter wheat, spring wheat, soybean and potato, and in non-rhizosphere soil. Besides, the effect of root exudates of these plants on the formation of pathogenic fungi communities was established. The microbiological analysis showed that the greatest total number of bacteria was found in the rhizospheres of potato and soybean, and the lowest number in non-rhizosphere soil. The smallest total number of fungi was found in the rhizosphere of winter wheat, and the largest in the rhizosphere of soybean. Pathogenic fungi dominated in the rhizospheres of soybean and potato, while non-rhizosphere soil was the poorest in these microorganisms. Among the pathogenic fungi, *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum* and *F. solani* were most frequently isolated. Soybean roots exudated the greatest amount of aminoacids, and acidic aminoacids, which have a positive effect on the development of phytopathogens, dominated in their content. On the other hand, the best quantitative and qualitative composition of aminoacids was found out in the root exudates of winter wheat, since they contained big amounts of alkaline and aromatic aminoacids.

Key words: root exudates, sour, alkaline and aromatic aminoacids, pathogenic fungi

## WSTĘP

Na aktywność biologiczną gleby duży wpływ mają rośliny uprawiane w zmianowaniu. Prawidłowe następstwo roślin warunkuje dobre, fitosanitarne stanowisko dla rośliny głównej. Natomiast rośliny poprzez własne wydzieliny korzeniowe, jak i substancje powstające w wyniku rozkładu resztek poźniwnych oddziałują w różny sposób na mikroorganizmy glebowe (F u n c k - J e n s e n, H o c k e n h u l l, 1984, S c h o r u v i t z, Z e i g l e r, 1989). W skład wydzielin korzeniowych mogą wchodzić aminokwasy, węglowodany, kwasy organiczne, enzymy, jony metali (R o v i r a, 1969, F u n c k - J e n s e n, H o c k e n h u l l, 1984). Substancje te hamują lub stymulują wzrost i rozwój mikroorganizmów, zarówno patogenicznych, jak i saprofitycznych (B a c k e r, C o o k, 1974, P a r k e, 1990, S c h o r u v i t z, Z e i g l e r, 1989, S c h r o t h, W e i n h o l d, 1986). Cukry proste oraz aminokwasy kwaśne stymulują rozwój fitopatogenów, natomiast związki fenolowe, aminokwasy aromatyczne i aminokwasy zasadowe mają działanie inhibicyjne (P i ę t a, 1988, 1994).

Celem prezentowanych badań było określenie wpływu wydzielin korzeniowych pszenicy ozimej, pszenicy jarej, soi i ziemniaka na skład populacji bakterii i grzybów (ze szczególnym uwzględnieniem grzybów patogenicznych) w ryzosferze tych roślin oraz w glebie pozaryzosferowej.

## MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono w latach 1996-1998 na doświadczeniu Katedry Ogólnej Uprawy Roli i Roślin AR w Lublinie, zlokalizowanym w Gospodarstwie Doświadczalnym w Czesławicach k/Nałęczowa. Przedmiotem badań była gleba ryzosferowa roślin pszenicy ozimej odm. Kobra, pszenicy jarej odm. Sigma, soi odm. Polan i ziemniaka odm. Bronka oraz gleba pozaryzosferowa. Wymienione gatunki roślin uprawiano w zmianowaniu z 25%-owym udziałem soi – ziemniak, pszenica jara, soja, pszenica ozima. Natomiast gleba pozaryzosferowa pochodziła z pasów między poletkami, utrzymanych mechanicznie w czarnym ugorze.

Doświadczenie założono w układzie bloków losowych w trzech powtórzeniach, na glebie płowej wytworzonej z utworów lessowych, stanowiącej drugi kompleks rolniczej przydatności (pszenny dobry).

W każdym roku badań, glebę ryzosferową pobierano w okresie pełni kwitnienia analizowanych gatunków roślin. Pobieranie gleby ryzosferowej, a następnie sposób przeprowadzenia analizy mikrobiologicznej, w celu ustalenia składu populacji mikroorganizmów, były takie same jak w metodzie opisanej przez M a r t y n i u k a i i n. (1991). Uzyskane wyniki dotyczące liczebności bakterii i grzybów opracowano statystycznie, a istotność różnic określono na podstawie przedziałów ufności Tukey'a (O k t a b a, 1987).

W doświadczeniu fitotronowym określono ilość cukrów rozpuszczalnych w wodzie oraz skład ilościowy i jakościowy aminokwasów w wydzielinach korzeni badanych gatunków roślin. Sposób uzyskania wodnego roztworu wydzielin korzeniowych roślin oraz analizy chemiczne przeprowadzono według metod opisanych przez Pięte (1988).

## WYNIKI

Przeprowadzone badania wykazały, że najmniejszą liczebnością bakterii charakteryzowała się gleba pozaryzosferowa (średnio  $4,24 \times 10^6$  kolonii), natomiast największą gleba ryzosferowa ziemniaka (średnio  $5,97 \times 10^6$  w 1g s.m. gleby) (tab. 1).

Liczebność bakterii z rodzaju *Bacillus* w 1g s.m. gleby wahała się od  $1,19 \times 10^6$  do  $3,0 \times 10^6$  kolonii. Najwięcej kolonii *Bacillus* spp. było w 1g s.m. gleby ryzosferowej pszenicy jarej (średnio  $2,10 \times 10^6$ ), mniej zaś w ryzosferze soi (średnio  $1,93 \times 10^6$ ) i w glebie pozaryzosferowej ( $1,91 \times 10^6$  kolonii) (tab. 1). Istotnie najmniej izolatów *Bacillus* spp. wyosobniono z 1g s.m. gleby ryzosferowej pszenicy ozimej (średnio  $1,43 \times 10^6$  kolonii). Odwrotna zależność wystąpiła w przypadku bakterii z rodzaju *Pseudomonas*. Mniej tych bakterii stwierdzono w ryzosferze pszenicy jarej (średnio  $1,70 \times 10^6$ ), najwięcej zaś w ryzosferze pszenicy ozimej (średnio  $2,31 \times 10^6$  kolonii w 1g s.m. gleby). Najmniejszą liczebnością *Pseudomonas* spp. charakteryzowała się gleba pozaryzosferowa.

Liczebność grzybów w 1g s.m. gleby, w poszczególnych latach badań wahała się od  $16,16 \times 10^3$  do  $123,74 \times 10^3$  kolonii. Najmniej kolonii grzybów (średnio  $28,59 \times 10^3$ ) wyosabniano z 1g s.m. gleby ryzosferowej pszenicy ozimej, a najwięcej ( $93,41 \times 10^3$  kolonii) z gleby ryzosferowej soi. Małą liczebnością grzybów charakteryzowała się także gleba pozaryzosferowa. Ponadto w ryzosferze pszenicy jarej stwierdzono prawie dwukrotnie więcej kolonii grzybów, aniżeli w ryzosferze pszenicy ozimej (tab. 1).

Skład gatunkowy grzybów wyodrębnionych z gleby pozaryzosferowej i ryzosferowej poszczególnych gatunków roślin był różny. Z gleby ryzosferowej pszenicy jarej wyosobniono 44 gatunki grzybów, z gleby ryzosferowej pszenicy ozimej – 41, ziemniaka – 31, soi – 21, a z gleby pozaryzosferowej 26 gatunków grzybów.

Spośród grzybów patogenicznych najczęściej wyosabnianymi okazały się gatunki z rodzaju *Fusarium*. Największy udział izolatów *Fusarium* spp., a zwłaszcza gatunku *Fusarium oxysporum* zanotowano w glebie ryzosferowej soi (rys. 1). Ponadto gatunek ten oraz *F. solani* licznie wyosabniano także z gleby ryzosferowej ziemniaka, a udział izolatów tych grzybów stanowił odpowiednio 9,8% i 10,2% wszystkich wyosobnień. Najmniej *Fusarium* spp. uzyskiwano z gleby pozaryzosferowej (26 izolatów). Z gleby ryzosferowej pszenicy ozimej i pszenicy jarej poszczególne gatunki *Fusarium* spp. (*F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. solani*) wyosabniano z podobną częstotliwością, przy czym nieznacznie rzadziej w przypadku pszenicy ozimej (rys. 1). Ponadto w obrębie grzybów patogenicznych izolowano jeszcze *Phoma exigua* i *Pythium irregulare*. Grzyby te wyosabniano tylko z gleby ryzosferowej ziemniaka i soi (rys. 1).

W wyniku analizy chemicznej wydzielin korzeniowych soi, pszenicy ozimej i jarej oraz ziemniaka stwierdzono, że najwięcej aminokwasów, bo 1,088 mg/ml roztworu, wydzielają korzenie soi, najmniej zaś (odpowiednio 0,148mg/ml i 0,153mg/ml roztworu) korzenie pszenicy jarej i ziemniaka. W przypadku pszenicy ozimej ilość wolnych aminokwasów wynosiła 0,484 mg/ml roztworu.

Spośród 15 wolnych aminokwasów oznaczonych w wydzielinach korzeni analizowanych gatunków roślin, dominującymi okazały się kwas asparaginowy i kwas glutaminowy, zaliczane do grupy aminokwasów kwaśnych. Ich udział w wydzielinach korzeni soi i ziemniaka wynosił odpowiednio 54% i 69% ogólnej ilości wolnych aminokwasów. Najmniejszy udział tych związków stwierdzono u pszenicy jarej (39,8%) i pszenicy ozimej (39% ogólnej ilości wolnych aminokwasów) (rys. 2).

Korzenie badanych roślin wydzielają również aminokwasy zasadowe, takie jak lizyna, histydyna i arginina. Najmniej aminokwasów zasadowych wydzielają korzenie ziemniaka (8,5%). Większy udział tych aminokwasów (22,5%) był w wydzielinach korzeni pszenicy ozimej, aniżeli pszenicy jarej (9,5% ogólnej ilości omawianych związków). Ponadto w wydzielinach korzeni stwierdzono występowanie wolnych aminokwasów aromatycznych, do których zalicza się tyrozynę i fenyloalaninę. Najwięcej tych związków wydzielają korzenie pszenicy ozimej (21%), a najmniej korzenie ziemniaka (7% ogólnej ilości wolnych aminokwasów) (rys. 2).

Oprócz aminokwasów, korzenie pszenicy jarej wydzielają śladowe ilości cukrów rozpuszczalnych w wodzie. Korzenie pszenicy ozimej i soi wydzielają nieco więcej tych związków, bo odpowiednio 0,117mg/ml i 0,121mg/ml wodnego roztworu. Natomiast najwięcej cukrów rozpuszczalnych w wodzie było w wydzielinach korzeniowych ziemniaka (0,363mg/ml wodnego roztworu).

## DYSKUSJA I WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono różny skład zbiorowisk bakterii i grzybów w glebie ryzosferowej badanych gatunków roślin oraz w glebie pozaryzosferowej. Ryzosfera pszenicy ozimej miała najkorzystniejszy skład mikroorganizmów, bowiem zawierała najmniejszą ogólną liczebność grzybów oraz największą liczebność bakterii z rodzaju *Pseudomonas*. Ponadto korzystne warunki dla rozwoju bakterii *Bacillus* spp. i *Pseudomonas* spp. stwarzała także pszenica jara. Według K e l a (1992), L y n c h a, E b b e n a (1986) i W e l l e r a (1988) bakterie z rodzaju *Pseudomonas* są zdolne do aktywnej kolonizacji korzeni roślin, dzięki czemu efektywnie konkurują z patogenami o składniki pokarmowe dostępne w wydzielinach korzeniowych i stają się czynnikiem biologicznej ochrony roślin. Ważną rolę w rozwoju grzybów chorobotwórczych odgrywają również metabolity wytwarzane przez *Bacillus* spp. i *Pseudomonas* spp., które działają fungistatycznie lub fungitoksycznie na patogeny (D o w l i n g, O'G a r a, 1994, K l o e p p e r i n., 1999, W e l l e r, 1988).

Analiza mikrobiologiczna gleby wykazała, że grzyby patogeniczne dominowały w ryzosferze soi i ziemniaka, a najuboższa w te mikroorganizmy była gleba pozaryzosferowa. Spośród grzybów patogenicznych najczęściej wyosabniano *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum*, *F. solani*. Uzyskane wyniki potwierdziły dotychczasowe ustalenia, że na kształtowanie się zbiorowisk drobnoustrojów (w tym również i patogenów) w ryzosferze ma wpływ przede wszystkim gatunek rośliny (F u n c k – J e n s e n, H o c k e n h u l l, 1984).

W prezentowanych badaniach, spośród gatunków roślin wchodzących w skład zmianowania, korzenie soi wydzielają największą ilość aminokwasów, przy czym w ich składzie dominowały aminokwasy kwaśne uznane za korzystnie wpływające na rozwój fitopatogenów (F u n c k – J e n s e n, H o c k e n h u l l, 1984, P i ę t a, 1988). Natomiast najbardziej właściwy skład ilościowy i jakościowy aminokwasów wystąpił w wydzielinach korzeni pszenicy ozimej, bowiem zawierały one duże ilości aminokwasów zasadowych i aromatycznych. Aminokwasy te przez wielu badaczy uznawane są za inhibitory grzybów chorobotwórczych (C u r l, 1982, P i o t r o w s k i, 1981, P i ę t a, 1988). Ponadto według D a r c y (1982), F u n c k – J e n s e n a, H o c k e n h u l l a (1984), P i ę t y (1988) substancje wydzielane przez korzenie soi są bogate w aminokwasy, a resztki pożywne zawierają dużo białka, a więc uprawa takich roślin wpływa stymulująco na rozwój grzybów chorobo-twórczych.

Uzyskane rezultaty pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Skład ilościowy i jakościowy aminokwasów oraz ilość cukrów rozpuszczalnych w wodzie wydzielanych przez korzenie do środowiska glebowego były zróżnicowane i zależały od gatunku rośliny. Najwięcej aminokwasów wydzielają korzenie soi, a najmniej korzenie pszenicy jarej.
2. Stymulujący wpływ aminokwasów, a zwłaszcza kwasu glutaminowego i kwasu asparaginowego, na rozwój bakterii wystąpił w ryzosferze ziemniaka i soi.
3. Hamujący wpływ na rozwój grzybów, w tym i patogenicznych, miały wydzieliny korzeniowe pszenicy ozimej, zawierające duże ilości aminokwasów aromatycznych i zasadowych.
4. Spośród grzybów patogenicznych zasiedlających uprawne środowisko glebowe, najczęściej występującymi okazały się *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum* i *F. solani*.

## LITERATURA

- B a k e r K. F. C o o k R. J., 1974. Biological Control of Plant Pathogens. W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- C u r l A. E. 1982. The rhizosphere: relation to pathogen behavior and root disease. Plant Dis. 66: 623-630.
- D a r c y A. L. 1982. Study of soya and lens exudates. I. Kinetics of exudation of phenolic compounds, amino acids and sugars in the first days of plant growth. Plant Soil 68: 399-403.
- D o w l i n g D. N., O'G a r a F. 1994. Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. Trends in Biotechnology 12, 4:133-141.

- Funck-Jensen D., Hockenhull J. 1984. Root exudation, rhizosphere microorganism and disease control. Växtskyddsnötiser 48: 49-54.
- Keel C. J. 1992. Bacterial antagonists of plant pathogens in the rhizosphere: mechanisms and prospects. Bull. OILB/SROP, XV, 1: 93-99.
- Klopper J. W., Rodriguez-Kabana R., Zehnder G. W., Murphy J. F., Sikora E., Fernandez C. 1999. Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and extension to systemic and foliar diseases. Austr. Pl. Pathology, 28: 21-26.
- Lynch J. M., Ebben M. H. 1986. The use microorganisms to control plant disease. J. App. Bacteriol. Symp. Suppl.: 1155-1265.
- Martyniuk S., Masiak D., Stachyra A., Mysłów W. 1991. Populacje drobnoustrojów strefy korzeniowej różnych traw i ich antagonizm w stosunku do *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Pam. Puł. Pr. IUNG 98: 139-144.
- Oktaba W. 1987. Metody statystyki matematycznej w doświadczałnictwie. PWN. Warszawa. 488 pp.
- Parke J. L. 1990. Root colonization by indigenous and introduced microorganisms. In: The Rhizosphere and Plant Growth. D. L. P. B. Gegan, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands: 33-42.
- Pięta D. 1988. Mikozy występujące w uprawach fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.) i podatność różnych odmian na porażenie przez niektóre grzyby. Seria Wydawnicza – Rozpr. Nauk. AR Lublin.
- Pięta D. 1994. Biochemiczne czynniki warunkujące odporność fasoli na porażenie przez grzyby patogeniczne. Biul. Warzyw. XLI: 117-122.
- Piotrowski J. 1981. Zawartość niektórych związków oraz aktywność enzymów genotypów chmielu, różnych pod względem odporności na choroby uwiadowe wraz z oceną towaroznawczą. Praca doktorska, AR Lublin.
- Rovira A. D. 1969. Plant root exudates. Bot. Rev. 35: 35-57.
- Schoruvitz R., Zeigler H. 1989. Interaction of maize roots and rhizosphere microorganisms. Z. Pflanzenkrachr., Bodenb., 152: 217-222.
- Schroth M. N., Weinhold A. R. 1986. Root – colonizing bacteria and plant health. Hort. Sci. 21 (6): 1295-1298.
- Weller D. M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 26: 379-407.

### **Wpływ wydzielin korzeniowych różnych roślin uprawnych na skład populacji bakterii i grzybów ze szczególnym uwzględnieniem grzybów patogenicznych przeżywających w glebie**

#### **Streszczenie**

Celem badań przeprowadzonych w latach 1996-1998 było określenie składu populacji bakterii i grzybów w ryzosferze pszenicy ozimej i jarej, soi, ziemniaka oraz w glebie pozaryzosferowej. Ponadto określono wpływ wydzielin korzeniowych tych roślin na kształtowanie się zbiorowisk grzybów patogenicznych. Analiza mikrobiologiczna wykazała, że najwięcej bakterii ogółem wystąpiło w ryzosferze ziemniaka oraz soi, najmniej zaś w glebie pozaryzosferowej. Najmniej grzybów ogółem było w ryzosferze pszenicy ozimej, a najwięcej w ryzosferze soi. Grzyby

patogeniczne dominowały w ryzosferze soi i ziemniaka, a najuboższa w te mikroorganizmy była gleba pozaryzosferowa. Spośród grzybów patogenicznych najczęściej wyosabniano *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum* i *F. solani*. Korzenie soi wydzielały największą ilość aminokwasów, przy czym w ich składzie dominowały aminokwasy kwaśne uznane za korzystnie wpływające na rozwój fitopatogenów. Natomiast najbardziej właściwy skład ilościowy i jakościowy aminokwasów wystąpił w wydzielinach korzeni pszenicy ozimej, bowiem zawierały one duże ilości aminokwasów zasadowych i aromatycznych.

Tabela 1 Liczebność bakterii i grzybów w glebie ryzosferowej oraz pozaryzosferowej (średnia z lat 1996-1998)

Table 1 The number of bacteria and fungi in the plant rhizosphere and non- rhizosphere soil (mean from the years 1996-1998)

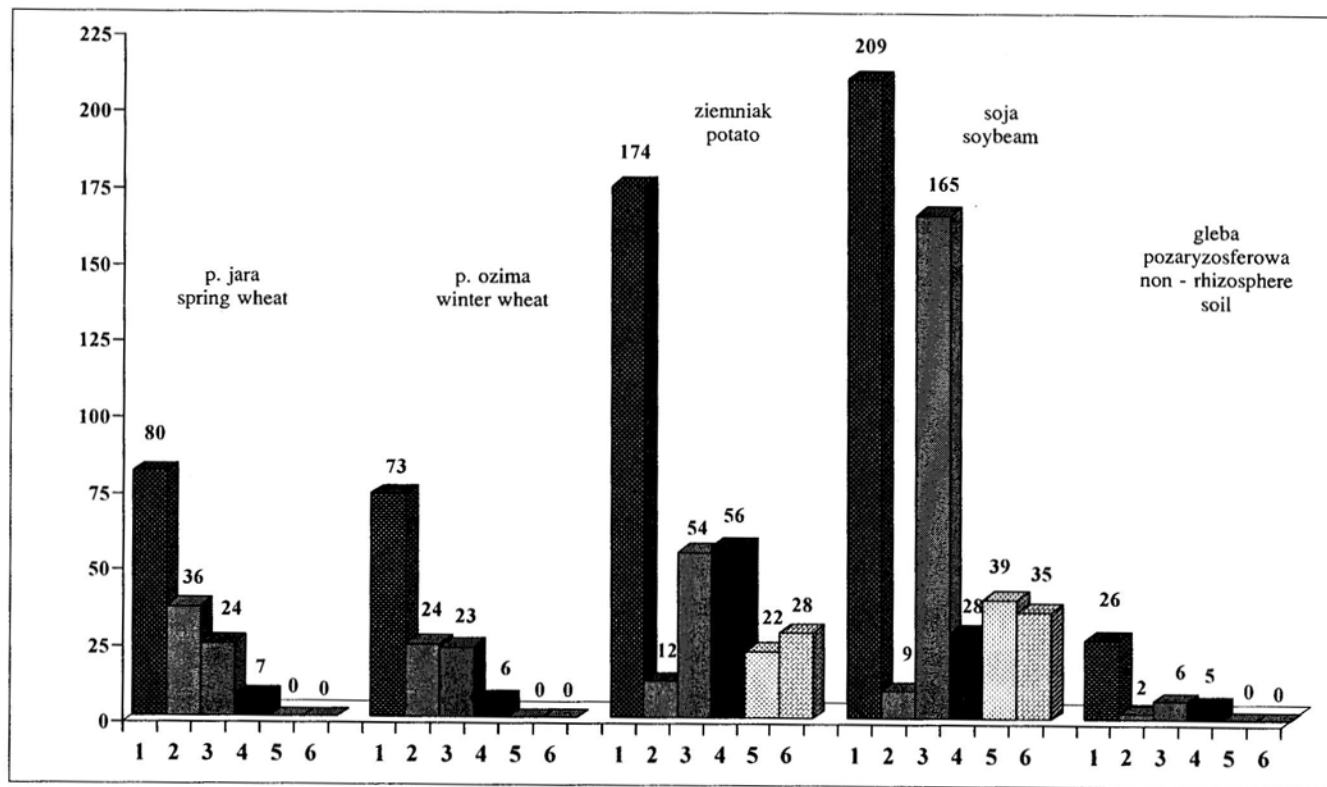
Wyszczególnienie Specification	Badana gleba    Type of soil				
	ryzosfera pszenicy ozimej rhizosphere of winter wheat	ryzosfera pszenicy jarej rhizosphere of spring wheat	ryzosfera soi rhizosphere of soybean	ryzosfera ziemniaka rhizosphere of potato	gleba pozaryzosferowa non-rhizosphere soil
Ogólna liczebność bakterii (mln/1g s.m. gleby) Total number of bacteria (mln/1 g dw. of soil)	5,07 <sup>b</sup>	4,94 <sup>ab</sup>	5,50 <sup>bc</sup>	5,97 <sup>c</sup>	4,24 <sup>a</sup>
Ogólna liczebność <i>Bacillus</i> spp. (mln/1g s.m. gleby) Total number of <i>Bacillus</i> spp. (mln/1 g dw. of soil)	1,43 <sup>a</sup>	2,10 <sup>c</sup>	1,93 <sup>c</sup>	1,80 <sup>b</sup>	1,91 <sup>c</sup>
Ogólna liczebność <i>Pseudomonas</i> spp. (mln/1g s.m. gleby) Total number of <i>Pseudomonas</i> spp. (mln/1 g dw. of soil)	2,31 <sup>c</sup>	1,70 <sup>b</sup>	1,43 <sup>b</sup>	1,63 <sup>b</sup>	1,63 <sup>b</sup>
Ogólna liczebność grzybów (tys./1g s.m. gleby) Total number of fungi (thous./1g d. w. of soil)	28,59 <sup>a</sup>	45,08 <sup>b</sup>	93,41 <sup>c</sup>	52,41 <sup>b</sup>	33,88 <sup>a</sup>

Średnie wartości w wierszach różnią się istotnie ( $P \leq 0,05$ ), jeśli nie są oznaczone tą samą literą.

Mean in lines differ significantly ( $P \leq 0.05$ ), if they are not marked with the same letter.



Rys. 1. Grzyby chorobotwórcze wyizolowane z ryzosfery roślin oraz z gleby pozaryzosferowej (suma izolatów z lat 1996-1998)  
 Fig. 1. Pathogenic fungi isolated from the plant rhizosphere and non-rhizosphere soil (total of isolates from the years 1996-1998)



1 - ogółem (total) *Fusarium* spp., 2 - *F. culmorum*, 3 - *F. oxysporum*, 4 - *F. solani*, 5 - *Phoma exigua*, 6 - *Pythium irregulare*

Rys. 2. Udział niektórych aminokwasów w wydzielinach korzeni roślin

Fig. 2. Participation of some amino acids in the exudates of plant roots

