

Wpłynęło 17.09.2014 r.  
Zrecenzowano 25.11.2014 r.  
Zaakceptowano 26.11.2014 r.

A – koncepcja  
B – zestawienie danych  
C – analizy statystyczne  
D – interpretacja wyników  
E – przygotowanie maszynopisu  
F – przegląd literatury

# WYSTĘPOWANIE PROMIENIOWCÓW CELULOLITYCZNYCH I KSYLANOLITYCZNYCH W WYBRANYCH GLEBACH ŁĄKOWYCH POLSKI

**Beata ZIELIŃSKA-POLIT<sup>ABC</sup>, Anna KILISZCZYK<sup>E</sup>,  
Katarzyna SADOWIEC<sup>F</sup>, Beata CHAŁUPCZYŃSKA<sup>F</sup>,  
Stefan RUSSEL<sup>AD</sup>**

Instytut Technologiczno-Przyrodniczy w Falentach, Zakład Jakości Wody i Higienizacji Wsi

## Streszczenie

Promieniowce to istotna grupa mikroorganizmów zasiedlających naturalne ekosystemy glebowe. Mineralizacja i utylizacja materii organicznej przez promieniowce celulolityczne i ksyłanolityczne w przyrodzie to na ogół procesy korzystne, zapewniające obieg pierwiastków oraz przyczyniające się do ochrony środowiska, dzięki oczyszczaniu go z uciążliwych odpadów. Celem badań było określenie liczebności promieniowców celulolitycznych i ksyłanolitycznych w wybranych glebach łąkowych. Do badań wytypowano gleby z siedlisk łąkowych zlokalizowanych w pobliżu Gdańska, Gorzowa Wielkopolskiego, Krakowa i Poznania. Próbkę pobrano z trzech głębokości: 1–30, 31–60 oraz 61–90 cm. W materiale oznaczono zawartość węgla organicznego i odczyn oraz liczebność promieniowców celulolitycznych i ksyłanolitycznych metodą płytkową. Wykazano, że siedliska łąkowe o większej zawartości węgla organicznego oraz o wyższym pH odznaczają się liczniejszym występowaniem bakterii z rzędu *Actinomycetales*. Badania wykazały, że liczebność promieniowców w badanych próbach była skorelowana z głębokością poboru prób.

**Słowa kluczowe:** gleby łąkowe, promieniowce celulolityczne, promieniowce ksyłanolityczne

## WSTĘP

Promieniowce są Gram-dodatnimi bakteriami powszechnie izolowanymi z gleby, która jest ich naturalnym środowiskiem występowania [WAKSMAN 1950]. Odgrywają

---

**Do cytowania For citation:** Zielińska-Polit B., Kiliszczyk A., Sadowiec K., Chałupczyńska B., Russel S. 2015. Występowanie promieniowców celulolitycznych i ksyłanolitycznych w wybranych glebach łąkowych Polski. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 15. Z. 1 (49) s. 133–141.

one bardzo ważną rolę w wielu procesach biochemicznych w środowisku glebowym, m.in. w humifikacji, przemianach złożonych związków węgla i azotu w formy bardziej przyswajalne dla roślin i innych organizmów glebowych, ograniczaniu rozwoju patogenów [BURGES, RAW (red.) 1971; KACZMAREK i in. 2008; PĘDZIWIŁK 1974]. Występowanie drobnoustrojów celulozowych i ksylanolitycznych w glebie jest dobrym wskaźnikiem jej aktywności biologicznej. Promieniowce wytwarzają cząsteczki śluzu, które korzystnie wpływają na trwałość struktury gruzelkowej gleby. Udział drobnoustrojów w kształtowaniu żyzności i zdrowotności gleby jest powszechnie znany [RUSSEL 1974]. Dzięki zdolności do syntezy zewnątrzkomórkowych enzymów promieniowce aktywnie uczestniczą w biodegradacji różnych polimerów, zarówno pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego (np. skrobi, pektyn, chityny, ligniny, długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, kwasów huminowych, węglowodorów aromatycznych) [GEORGE i in. 2012; OSKAY i in. 2004; SOLECKA i in. 2013]. Istotną właściwością promieniowców jest zdolność produkowania wtórnych metabolitów, takich jak antybiotyki czy witaminy [STRZELCZYK i in. 1969].

Z rezultatów badań przedstawionych w literaturze światowej wynika, że liczebność promieniowców w glebie jest uwarunkowana czynnikami środowiskowymi, m.in. klimatem oraz właściwościami gleby. Na rozmieszczenie i rozwój promieniowców w glebie mają wpływ m.in.: zawartość substancji organicznej, stosunki tlenowe, odczyn oraz wilgotność, ale także czynniki biotyczne, takie jak obsada roślin czy obecność innych mikroorganizmów [BADURA, SMYŁŁA 1979; BURGES, RAW (red.) 1971; WAKSMAN 1950].

Celem pracy była ocena liczebności promieniowców celulozowych i ksylanolitycznych w wybranych glebach łąkowych Polski.

## METODY BADAŃ

Obiekt badawczy stanowiły gleby łąkowe położone na terenie działania Okręgowych Stacji Chemiczno-Rolniczych w Poznaniu, Gdańsku, Gorzowie Wielkopolskim i Krakowie. Glebę do analiz mikrobiologicznych i fizykochemicznych pobrano z trzech głębokości: 0–30; 31–60 i 61–90 cm.

W celu pełniejszego zobrazowania aktywności oraz rozmieszczenia populacji mikroorganizmów w badaniach uwzględniono właściwości fizykochemiczne gleb. W górnych warstwach gleby oznaczono węgiel organiczny metodą Tiurina, a pomiary odczynu wykonano w zawieszynie KCl (tab. 1).

W laboratorium reprezentatywne próbki gleby przesiano przez sito o średnicy oczek 2 mm. Następnie sterylnie pobierano po 10 g świeżej gleby z odpowiednich próbek i przenoszono je do butelek zawierających 100 ml jałowej wody wodociągowej. Całość wytrząsano przez 15 minut w celu uzyskania rozcieńczenia  $10^{-1}$ . Tak przygotowane rozcieńczenie podstawowe służyło do przygotowania szeregu dalszych rozcieńczeń roboczych, do  $10^{-6}$ .

**Tabela 1.** Lokalizacja punktów poboru prób glebowych oraz właściwości fizyczno-chemiczne badanych gleb**Table 1.** Location of soil sampling sites and their physical and chemical properties

Numer próby Sample number	Okręgowa Stacja Chemiczno-Rolnicza Chemical and Agricultural Stations	Miejscowość Locality	Województwo Voivodeship	Gleba Soil	pH	Corg.
I	Gorzów Wlkp.	Żółtwin	lubuskie	organiczna organic	6,50	16,08
II	Kraków	Myślenice	małopolskie	mineralna mineral	3,90	1,38
III	Poznań	Perkowo	wielkopolskie	mineralna mineral	5,90	4,33
IV	Poznań	Klonówiec	wielkopolskie	organiczna organic	7,10	3,33
V	Gdańsk	Bolesławowo	pomorskie	mineralna mineral	5,90	1,69
VI	Gdańsk	Nowy Podleś	pomorskie	organiczna organic	6,80	13,47

Źródło: opracowanie własne na podstawie danych Okręgowych Stacji Chemiczno-Rolniczych.

Source: own elaboration based on data from Chemical and Agricultural Stations.

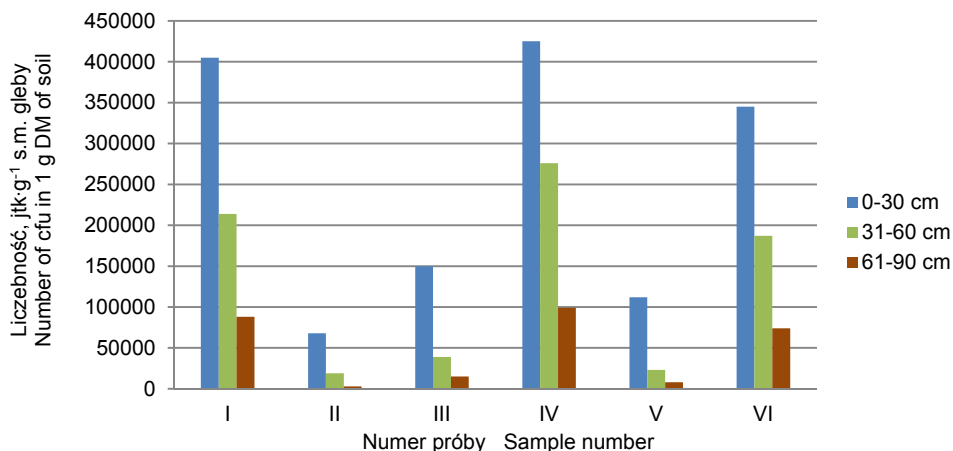
Analizy mikrobiologiczne wykonano metodą płytkową (w trzech powtórzeniach dla każdej zawiesiny glebowej) z zastosowaniem podłoża z dodatkiem nystatyny w ilości  $50 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ . Ogólną liczbę promieniowców ksylanolitycznych określono z zastosowaniem podłoża wg Dubosa (w skład pożywki wchodzi woda destylowana, agar-agar,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4$  i  $\text{KCl}$ ) z 1% dodatkiem otrąb pszennych, jako źródła ksylanu. W celu oznaczenia liczebności promieniowców celulolitycznych wykorzystano agar odżywczy (bulion odżywczy, agar, woda destylowana) z solami dla drobnoustrojów celulolitycznych (ekstrakt drożdżowy,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{MnSO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4$ ) oraz krążkami bibuły filtracyjnej. Materiał inkubowano przez 14 dni w temperaturze  $28^\circ\text{C}$  [BADURA, SMYŁŁA 1979; WAKSMAN 1950].

Liczbę badanych mikroorganizmów wyrażono w jednostkach tworzących kolonie (jtk) w przeliczeniu na 1 gram suchej masy gleby.

Uzyskane wyniki analiz mikrobiologicznych zweryfikowano za pomocą jedno- i dwuczynnikowej analizy wariancji, z wykorzystaniem programu Statgraphics Plus 5.0. Grupy jednorodne wyznaczono testem Tuckeya dla  $\alpha = 0,05$ . Oszacowano również współczynniki korelacji (na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ ) pomiędzy liczebnością badanych organizmów a wartością pH oraz zawartością węgla organicznego.

## WYNIKI BADAŃ

Z analiz mikrobiologicznych wynika, że liczba promieniowców celulołitycznych w poszczególnych profilach gleb łąkowych na różnych głębokościach wynosiła od  $3 \cdot 10^3$  do  $425 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby (rys. 1). We wszystkich badanych glebach łąkowych największą średnią liczebność mikroorganizmów celulołitycznych stwierdzono w powierzchniowych warstwach gleb (średnio  $250,8 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby), mniejszą – w środkowych warstwach (ok.  $126,3 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby), a najmniejszą – w najgłębszych (ponad  $47,8 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby).

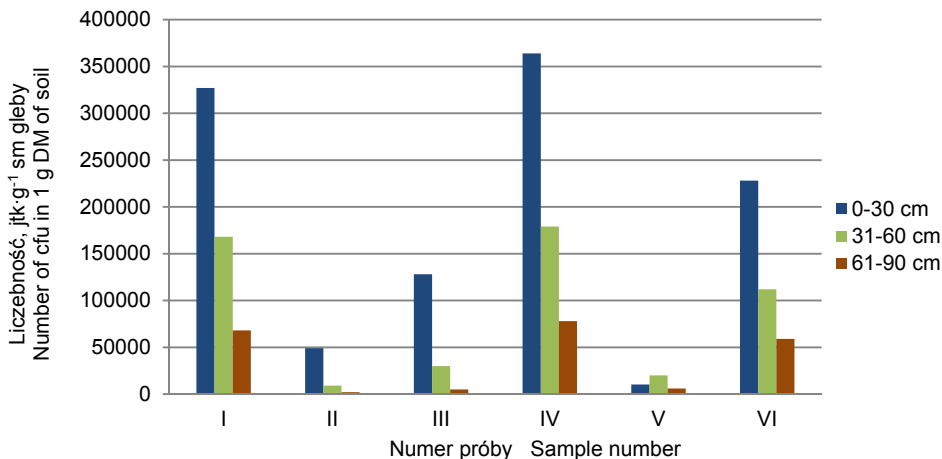


Rys. 1. Ogólna liczebność promieniowców celulołitycznych w badanych glebach łąkowych; I–VI – nr próby wg tabeli 1.; źródło: wyniki własne

Fig. 1. The total number of cellulolytic actinomycetes in meadow soils, I–VI the numbers of samples as in Table 1; source: own study

Stwierdzono, że we wszystkich badanych siedliskach łąkowych największą liczebnością (średnio  $199,8 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby) promieniowców ksyłanolitycznych charakteryzowały się górne warstwy gleby (głębokość do 30 cm) (rys. 2). Mniejszą średnią liczebność mikroorganizmów ksyłanolitycznych odnotowano w środkowej ( $86,3 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby) oraz najgłębszej warstwie ( $3,6 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby). Najmniejsza odnotowana liczebność badanych bakterii wynosiła  $2 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby, największa zaś –  $364 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby.

Z przeprowadzonych badań wynika, że rozmieszczenie promieniowców celulołitycznych i ksyłanolitycznych w zbadanych glebach łąkowych jest nierównomierne. Najmniejszą populację promieniowców celulołitycznych i ksyłanolitycznych odnotowano na terenie Myślenic (punkt poboru nr II), zaś największym bogactwem badanych drobnoustrojów charakteryzowała się gleba łąkowa nr IV, na terenie miejscowości Klonówiec.



Rys. 2. Ogólna liczba promieniowców ksylanolitycznych w badanych glebach łąkowych; I–VI – nr próby wg tabeli 1.; źródło: wyniki własne

Fig. 2. The total number of xylanolytic actinomycetes in meadow soils, I–VI – numbers of samples as in Table 1; source: own study

Z analizy statystycznej wynika, że głębokość poboru prób glebowych miała istotny wpływ na liczbę badanych bakterii. W najwyższej badanej warstwie (0–30 cm) populacja mikroorganizmów była średnio dwukrotnie (31–60 cm) i pięciokrotnie (61–90 cm) większa niż w pozostałych poziomach (tab. 2).

**Tabela 2.** Liczebność badanych mikroorganizmów w zależności od głębokości poboru prób

**Table 2.** The number of analysed microorganisms in relation to the depth of sampling

Głębokość Depth	Liczebność promieniowców celulolitycznych Number of cellulolytic actinomycetes	Liczebność promieniowców ksylanolitycznych Number of xylanolytic actinomycetes
	jtk·10 <sup>3</sup> ·g <sup>-1</sup> s.m. gleby	cfu·10 <sup>3</sup> ·g <sup>-1</sup> DM of soil
0–30 cm	250,83 a	199,83 a
31–60 cm	126,33 b	86,33 b
61–90 cm	47,83 c	36,33 c
NIR $\alpha = 0,05$	0,0000657	0,0000574
LSD $\alpha = 0.05$		

Objaśnienia: a, b, c – grupy jednorodne. Explanations: a, b, c – homogenous groups.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

Zawartość badanych mikroorganizmów w glebach organicznych i mineralnych była istotnie zróżnicowana. Liczebność populacji mikroorganizmów celulolitycznych oraz ksylanolitycznych w glebach organicznych była prawie pięciokrotnie większa niż w glebach mineralnych (tab. 3).

**Tabela 3.** Występowanie badanych grup fizjologicznych drobnoustrojów w typach gleby**Table 3.** The occurrence of physiological groups of analysed microorganisms in the types of soil

Rodzaj gleby Type of the soil	Średnia liczebność promieniowców celulolitycznych Mean number of cellulolytic actinomycetes	Średnia liczebność promie- niowców ksylanolitycznych Mean number of xylanolytic actinomycetes
	jtk·10 <sup>3</sup> ·g <sup>-1</sup> s.m. gleby	cfu·10 <sup>3</sup> ·g <sup>-1</sup> DM of soil
Mineralna Mineral	48,55 a	39,11 a
Organiczna Organic	234,77 b	175,88 b
NIR $\alpha = 0,05$ LSD $\alpha = 0,05$	0,0000337	0,0000386

Objaśnienia: a, b – grupy jednorodne. Explanations: a, b – homogenous groups.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

Na podstawie analizy wykazano istotną statystycznie korelację pomiędzy ogólną liczbą bakterii oraz liczebnością promieniowców celulolitycznych a wartościami pH gleby. Współczynnik korelacji pomiędzy liczebnością promieniowców celulolitycznych i ksylanolitycznych a odczynem gleb oraz zawartością węgla wyniósł 0,98 (na poziomie  $\alpha = 0,05$ ).

## DYSKUSJA

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że gleby łąkowe są dobrym źródłem pozyskiwania promieniowców celulolitycznych i ksylanolitycznych. W obrębie działania wybranych okręgowych stacji chemiczno-rolniczych liczebność drobnoustrojów celulolitycznych oraz ksylanolitycznych była zróżnicowana w poszczególnych poziomach genetycznych profili glebowych.

W glebie drobnoustroje żyją na powierzchni agregatów glebowych oraz kompleksów organiczno-mineralnych, a także na częściowo rozłożonej materii organicznej. Promieniowce i inne bakterie tlenowe rozwijają się na zewnętrznej warstwie agregatów glebowych, natomiast ich wewnętrzną część zajmują bakterie bez-tlenowe [BURGES, RAW (red.) 1971; LIBUDZISZ i in. 2007].

Obecność badanych mikroorganizmów w glebie zależy od jej właściwości fizykochemicznych [SEONG i in. 2001]. Optymalne dla badanych mikroorganizmów środowisko glebowe powinno charakteryzować się zawartością znacznych ilości substancji organicznych oraz wartością pH ok. 7. Większość drobnoustrojów najintensywniej rozwija się w środowisku o odczynie bliskim obojętnemu [STRZELCZYK i in. 1969; WAKSMAN 1950]. GEORGE i in. [2012] odnotowali większą liczebność badanych mikroorganizmów w glebie organicznej niż mineralnej, podobnie jak w niniejszej pracy.

Uzyskane wyniki badań potwierdzają, że rozmieszczenie drobnoustrojów w glebie nie jest równomierne i zwykle pokrywa się z rozmieszczeniem materii

organicznej [KACZMAREK i in. 2008; KILISZCZYK, RUSSEL 2012]. Rozwojowi różnorodnych grup fizjologicznych drobnoustrojów, w tym promieniowców sprzyjają przede wszystkim poziomy próchniczne. Największą liczebność badanych mikroorganizmów w powierzchniowej (0–30 cm) warstwie gleb należy tłumaczyć m.in. jej zasobnością w składniki pokarmowe oraz odpowiednimi stosunkami wodno-powietrznymi. Podobne zależności zaobserwowali inni badacze, zajmujący się mikrobiologią gleb [BURGES, RAW (red.) 1971; DAHM, GOLIŃSKA 2011; JEFFREY 2008; LIBUDZISZ i in. 2007]. Przeprowadzone analizy mikrobiologiczne potwierdzają zmniejszanie się liczebności mikroorganizmów w głębszych poziomach profilu glebowego, odnotowane w literaturze przedmiotu [KILISZCZYK, RUSSEL 2012; STRZELCZYK i in. 1969].

## WNIOSKI

1. Z przeprowadzonych analiz mikrobiologicznych wynika, że liczebność promieniowców celulolitycznych i ksylanolitycznych w glebach organicznych jest kilkakrotnie większa niż w glebach mineralnych.
2. Liczebność badanej grupy mikroorganizmów jest największa w powierzchniowych warstwach gleb łąkowych.
3. Potwierdzono korelację pomiędzy występowaniem badanych mikroorganizmów a zawartością węgla organicznego i odczynem gleb.

## LITERATURA

- BADURA L., SMYLLA A. 1979. Wybrane metody izolowania promieniowców z gleby. Prace Komisji Naukowych. 3/23. Warszawa. PTG. Komisja Biologii Gleby. ISSN 0208-9505 ss. 15.
- BURGES A., RAW F. (red.) 1971. Biologia gleby. Warszawa. PWRiL ss. 513.
- DAHM H., GOLIŃSKA P. 2011. Occurrence of actinomycetes in forest soil. *Dendrobiology*. Vol. 66 s. 3–13.
- GEORGE M., ANJUMOL A., GEORGE G., MOHAMED HATHA A.A. 2012. Distribution and bioactive potential of soil actinomycetes from different ecological habitats. *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 6. No. 10 s. 2265–2271.
- JEFFREY L.S.H. 2008. Isolation, characterization and identification of actinomycetes from agriculture soils at Semongok. *Journal of Bacteriology*. Vol. 7. No. 20 s. 3697–3702.
- KACZMAREK Z., WOLNA-MURAWKA A., JAKUBUS M. 2008. Zmiany liczebności wybranych grup drobnoustrojów glebowych oraz aktywności enzymatycznej w glebie inokulowanej Efektywnymi Mikroorganizmami (EM). *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. Vol. 53 (3) s. 122–127.
- KILISZCZYK A., RUSSEL S. 2012. Liczebność bakterii z rzędu Myxococcales w wybranych glebach łąkowych Polski. W: *Interdyscyplinarne zagadnienia w inżynierii i ochronie środowiska*. T. 2. Pr. zbior. Red. J.M. Traczewska. Wrocław. Oficyna Wydaw. PWroc. s. 273–280.
- LIBUDZISZ Z., KOWAL K., ŻAKOWSKA Z. 2007. *Mikrobiologia techniczna*. T. 1. Warszawa. Wydaw. Nauk. PWN. ISBN-978-83-01-15221-5 ss. 356.

- OSKAY M., TAMER A.U., AZERI C. 2004. Antibacterial activity of some Actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Journal of Biotechnology*. Vol. 3. No. 9 s. 441–446.
- PEĐZIWIŁK Z. 1974. Wytwarzanie substancji mikolitycznych przez promieniowce wyodrębnione z gleby. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu*. Z. 47. Poznań. Wydaw. AR s. 7–15.
- RUSSEL S. 1974. Drobnoustroje a życie gleby. *Biblioteka Problemów*. T. 199. Warszawa. Wydaw. Nauk. PWN. ISSN 0137-5032 ss. 403.
- SEONG C.N., CHOI J.H., BAIK K.S. 2001. An improved selective isolation of rare actinomycetes from forest soil. *The Journal of Microbiology*. Vol. 39. No. 1 s. 17–23.
- SOLECKA J., ZIEMKSA J., RAJNISZ A., LASKOWSKA A., GUŚPIEL A. 2013. Promieniowce – występowanie i wytwarzanie związków biologicznie czynnych. *Postępy Mikrobiologii*. T. 52. Z. 1 s. 83–91.
- STRZELCZYK E., ROUATT J.W., PETERSON E.A. 1969. Studies on Actinomycetes from soil of Baffin Island. *Arctic*. Vol. 22 s. 130–139.
- WAKSMAN S.E. 1950. The Actinomycetes: Their nature, occurrence, activities, and importance. *Walham*. *Chronica Botanica Company* ss. 230.

*Beata ZIELIŃSKA-POLIT, Anna KILISZCZYK, Katarzyna SADOWIEC,  
Beata CHALUPCZYŃSKA, Stefan RUSSEL*

#### THE OCCURRENCE OF CELLULOLYTIC AND XYLANOLYTIC ACTINOMYCETES IN SELECTED POLISH MEADOW SOILS

**Key words:** *cellulolytic actinomycetes, meadow soils, xylanolytic actinomycetes*

#### S u m m a r y

Actinomycetes are, from the environmental point of view, an important group inhabiting natural soil ecosystems. Mineralization and disposal of organic matter by cellulolytic and xylanolytic actinomycetes in nature is generally a beneficial process providing circulation of elements and contributing to environmental protection by purifying it from noxious wastes. The aim of the study was to determine the number of cellulolytic and xylanolytic actinomycetes in selected grassland soils. Soil samples selected for the study were obtained from meadow habitats located near Gdańsk, Gorzów Wielkopolski, Kraków and Poznań. The samples were taken from three depths: 0–30, 31–60 and 61–90 cm. In the material, the contents of C and the pH and the number of actinomycetes were determined by the plate method. It was shown that the grassland habitats with a higher content of organic carbon and higher pH were characterized by more actinomycetes. The study showed that the number of actinomycetes in the tested samples was correlated with the depth of sampling.

**Adres do korespondencji:** mgr inż. B. Zielińska-Polit, Instytut Technologiczno-Przyrodniczy w Falentach, Zakład Jakości Wody i Higienizacji Wsi, al. Hrabka 3, 05-090 Raszyn; tel. +48 22 735-75-31, e-mail: bpolit@itp.edu.pl