

Wpłynęło 03.07.2014 r.
Zrecenzowano 31.07.2014 r.
Zaakceptowano 01.09.2014 r.

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

OCENA LICZEBNOŚCI MYKSOBAKTERII W WYBRANYCH TYPACH GLEB ŁĄKOWYCH GMINY RASZYN

Anna KILISZCZYK^{ABCEF}, **Stefan RUSSEL**^D

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

Streszczenie

Myksobakterie należą do Gram-ujemnych bakterii śluzowych, których naturalnym środowiskiem życia jest gleba. Organizmy te pełnią ważne funkcje środowiskowe, związane z ich zdolnością do rozkładu celulozy, hemicelulozy i ligniny. Celem badań było określenie liczebności myksobakterii w wybranych typach gleb łąkowych. Do badań wybrano następujące typy gleb: torfowo-murszowe, opadowo-glejowe oraz brunatne wylugowane, zlokalizowane na terenach łąkowych Instytutu Technologiczno-Przyrodniczego w Falentach. Próbkę gleby pobierano pięciokrotnie w ciągu okresu wegetacyjnego. W próbkach oznaczono: liczebność myksobakterii metodą płytkową, zawartość węgla i azotu oraz pH. Badania wykazały, że liczebność myksobakterii w sezonie wegetacyjnym jest zmienna i zależy od warunków atmosferycznych, zawartości substancji organicznej oraz pH gleby. Najwięcej myksobakterii występowało w powierzchniowych warstwach gleby. Liczebność badanych organizmów zmniejszała się wraz ze wzrostem głębokości profilu glebowego.

Słowa kluczowe: gleby łąkowe, mikroflora glebowa, myksobakterie

WSTĘP

Myksobakterie (rząd *Myxococcales*) to Gram-ujemne bakterie, stanowiące ważny element mikroflory glebowej. Najbogatszą różnorodność gatunkową tych organizmów obserwuje się w ciepłym, półsuchym klimacie [WHITWORTH 2007].

W różnych typach gleb liczba komórek myksobakterii waha się od kilkuset do kilkudziesięciu tysięcy w 1 g gleby [MCCURDY 1969; MICHAŁOWSKA 2009]. Zróżnicowanie wielkości populacji myksobakterii w glebie związane jest z ich spe-

Do cytowania For citation: Kiliszczyk A., Russel S. 2014. Ocena liczebności myksobakterii w wybranych typach gleb łąkowych gminy Raszyn. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 14. Z. 4(48) s. 45–52.

cyficznymi wymaganiami siedliskowymi. Myksobakterie należą do ściśle tlenowych, mezofilnych organizmów, preferujących umiarkowanie wilgotne gleby o neutralnym odczynie i dużej zawartości materii organicznej. Na ich liczebność wpływa również struktura gleby, obecności mikroflory towarzyszącej oraz działalność człowieka [DAWID 2000; NATYWA, SAWICKA 2010; REICHENBACH 2005].

Myksobakterie różnią się między sobą pod względem zdolności do degradacji cząstek biologicznych. Organizmy celulolityczne czerpią substancje pokarmowe z rozkładu celulozy i wykorzystują nieorganiczne związki azotowe w czasie wzrostu na celulozie i glukozie [ROLBETSKI i in. 2008; SCHNEIKER i in. 2007] Myksobakterie, których odżywianie związane jest z lizą komórek innych mikroorganizmów, wydzielają do środowiska enzymy hydrolityczne: proteazy, nukleazy, lipazy, glukonazy oraz enzymy hydrolizujące skrobię, ksylan i chitynę [GNOSSPELIUS 1978; REICHENBACH, DWORKIN 1991].

Zarówno celulolityczne, jak i drapieżne myksobakterie pełnią ważne funkcje środowiskowe. Organizmy celulolityczne uczestniczą w rozkładzie wielkocząsteczkowych, trudno dostępnych dla innych organizmów resztek roślinnych, przyczyniając się do regulacji stosunku węgla i azotu w glebie [PAUL, CLARK 2000]. Wytwarzane przez nie służy wpływają korzystnie na trwałość struktury gruzełkowej gleby. Natomiast myksobakterie drapieżne regulują liczebność populacji innych mikroorganizmów glebowych [BULL i in. 2002]. Organizmy te wytwarzają różnego rodzaju metabolity wtórne, z których większość wywiera silny wpływ na organizmy żywe [IRSCHIK i in. 2013; SLIUSARENKO i in. 2006].

Ze względu na swoje właściwości fizjologiczne i morfologiczne omawiane mikroorganizmy mogą być wykorzystywane w wielu dziedzinach działalności człowieka. Myksobakterie mogą być użyteczne jako bioindykatory, ponieważ należą do organizmów, których zagęszczenie populacji zmniejsza się wraz ze wzrostem koncentracji czynników zanieczyszczających. W środowisku silnie skażonym zaobserwowano także wzrost intensywności formowania form przetrwalnych [KAISER i in. 2010]. Myksobakterie drapieżne mogą być wykorzystywane do walki z licznymi szkodnikami, m.in. cyjanobakteriami, wywołującymi zakwity wód oraz grzybami atakującymi uprawy [BULL i in. 2002; BURNHAM i in. 1981; RASHIDAN, BIRD 2001]. Myksobakterie mogą też służyć jako producenci różnorodnych enzymów, cennych dla takich dziedzin nauki, jak biochemia czy biotechnologia [JANKIEWICZ i in. 2012]. Duże nadzieje związane z omawianą grupą mikroorganizmów wynikają z odkrycia myksobakterii wytwarzających wtórne metabolity o działaniu przeciwnowotworowym oraz wytwarzających antybiotyki.

W niniejszej pracy podjęto próbę oceny zasiedlenia przez myksobakterie wybranych typów gleb łąkowych Zakładu Doświadczalnego Instytutu Technologiczno-Przyrodniczego w Falentach. Celem pracy było również określenie zmienności sezonowej liczebności myksobakterii w badanych glebach.

METODY BADAŃ

Próbki gleby do badań pobierano na terenie łąk należących do Zakładu Doświadczalnego Instytutu Technologiczno-Przyrodniczego w Falentach. Wyznaczono sześć obiektów badawczych. Pobrana gleba poddana została analizom fizykochemicznym (tab. 1). Materiał do badań pobierano pięciokrotnie w ciągu sezonu wegetacyjnego (w maju, czerwcu, lipcu, wrześniu, październiku). Zbadano wszystkie poziomy profilów glebowych. Liczebność myksobakterii określano metodą

Tabela 1. Charakterystyka profilów badanych gleb łąkowych

Table 1. Characteristics of soil profiles of meadow soils

Profil Profiles	Poziom Horizon	Głębokość Depth cm	pH		Zawartość ogółem, % Total content, %		C : N
			H ₂ O	KCl	C	N	
Gleby torfowo-murszowe			Sapric Histosol				
Puchały I	Mt	0–20	5,56	5,24	21,46	1,27	16,9
	Mt	20–40	5,57	5,38	19,16	1,26	15,2
	Ot	40–50	6,36	5,83	25,97	1,28	20,3
	D	< 50	6,10	5,64	0,19	0,01	19,0
Puchały II	Mt	0–20	6,51	5,99	16,20	n.o.	–
	Mt	20–45	5,01	4,91	37,07	1,73	21,4
	Ot	45–65	2,24	2,12	12,31	0,52	23,7
Falenty I	D	< 65	2,81	2,60	0,20	0,01	20,0
	Mt	0–20	5,84	5,44	23,80	1,39	17,1
	Mt	20–40	5,26	5,15	27,70	1,67	16,6
	MtOt	40–60	5,66	5,26	34,82	1,98	17,6
Falenty II	Ot	< 60	5,15	4,97	35,17	1,74	20,2
	Mt	0–20	6,24	5,67	16,99	1,03	16,5
	Mt	20–40	5,55	5,29	16,92	1,18	14,3
	MtOt	40–60	6,09	5,57	35,27	1,81	19,5
	Ot	60–85	6,29	5,80	20,62	1,04	19,8
D	< 85	6,10	5,68	1,92	0,09	21,3	
Gleba opadowo-glejowa właściwa			Bathycalcic Cutanic Luvisol				
Janki I	A	0–25	5,23	4,42	1,34	0,10	13,4
	Gg	25–50	6,10	5,33	0,20	0,02	10,0
	II Gg	50–80	6,72	5,42	0,16	0,02	8,0
	II Gg	80–150	6,88	5,70	0,00	0,01	–
Gleba brunatna wylugowana			Haplic Cambisol				
Janki II	A	0–20	6,31	5,34	0,80	0,06	13,3
	Bbr	20–55	6,28	5,63	0,50	0,04	12,5
	BbrC	55–75	6,87	5,65	0,94	n.o.	–
	IIC	75–150	6,57	5,70	n.o.	n.o.	–

Objaśnienie: n.o. – nie oznaczono. Explanation: n.o. – undetected.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

plytkową, z wykorzystaniem podłoża mikrobiologicznego CY (zawierającego: agar, ekstrakt drożdżowy, kaziton, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), VY/2 (zawierającego: agar, drożdże piekarskie, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, witaminę B_{12} ,) oraz agaru wodnego z krążkami bibuły. W celu ograniczenia rozwoju grzybów stosowano nystatynę w ilości $100 \text{ ug} \cdot \text{ml}^{-1}$. Podłoża mikrobiologiczne zaszczipiano zawiesiną glebową w rozcieńczeniach 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . Hodowle inkubowano w temperaturze 30°C przez 30 dni. Po okresie inkubacji liczono kolonie oraz strefy tworzenia ciał owocujących myksobakterii.

Wyniki badań poddano ocenie statystycznej, określając istotność różnic między liczebnością myksobakterii w poszczególnych typach gleb za pomocą testu Tukeya na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Oszacowano również współczynniki korelacji (na poziomie istotności $\alpha = 0,05$) między liczebnością myksobakterii a wartością pH, zawartością węgla organicznego oraz azotu.

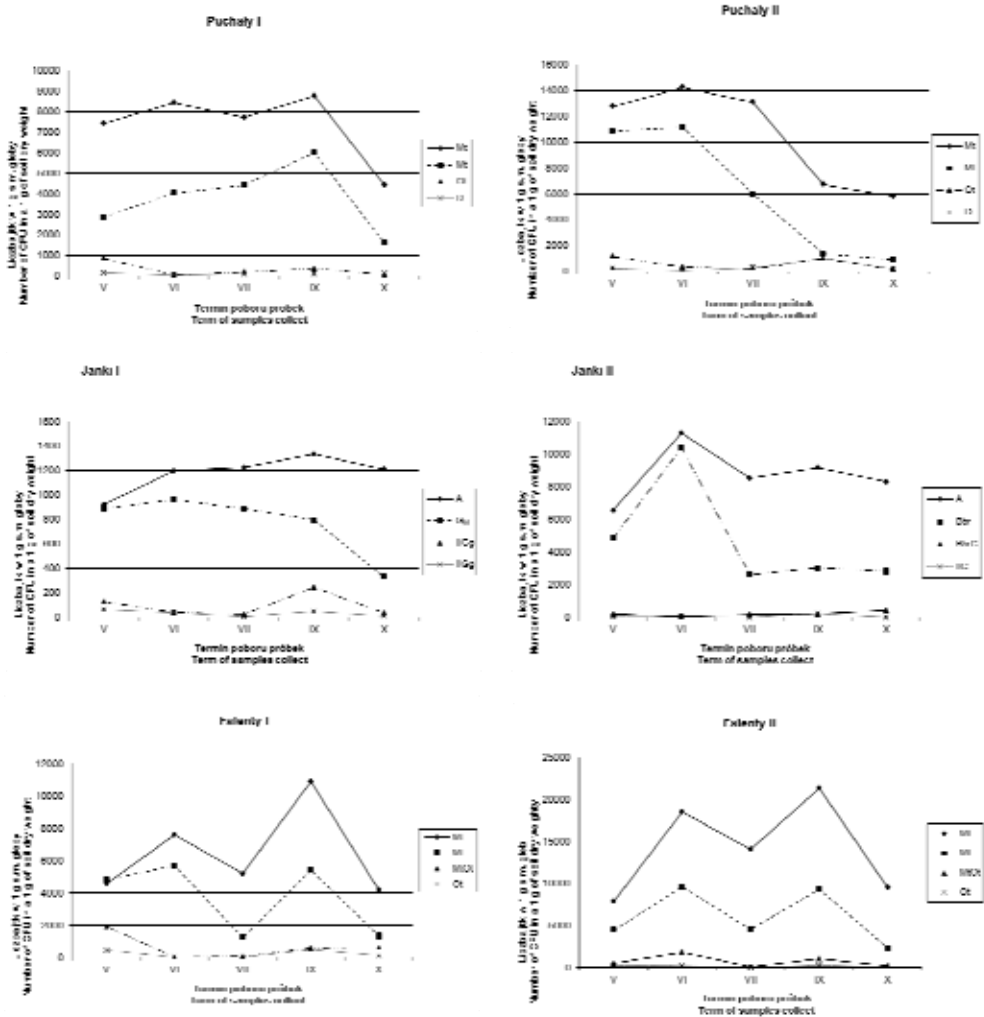
WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Z przeprowadzonych badań wynika, że liczebność myksobakterii w badanych glebach była zróżnicowana i wahała się w granicach od 900 do 21 tys. jtk (rys. 1). Średnio dla wszystkich analizowanych terminów najliczniej zasiedlona przez badane organizmy była powierzchniowa warstwa gleby z łąk Falenty II (14 000 jtk) oraz Puchały II (10 000 jtk).

Kolejne pod względem średniej liczebności myksobakterii były górne warstwy gleby z łąk Janki II, Puchały I i Falenty I (odpowiednio: 8500, 7300 i 6500 jtk), zdecydowanie najmniejszą liczebnością myksobakterii charakteryzowała się gleba łąki Janki I (1200 jtk). Uzyskane wartości są większe od podanych przez MICHAŁOWSKĄ [2009], która oszacowała liczebność myksobakterii w glebach rolniczych Polski na 500 do 1800 jtk, mieszczą się jednak w przedziale wartości podawanych przez innych autorów. Z literatury wynika, że liczebność myksobakterii w różnych glebach wynosi od 300 do kilkuset tysięcy jtk [REICHENBACH 1999].

Z badań wynika, że powierzchniowe poziomy profilów genetycznych gleby, tj. poziom murszowy (Mt) oraz próchniczny (A), były najliczniej zasiedlone przez myksobakterie. Liczebność badanych organizmów malała wraz ze wzrostem głębokości profilów glebowych, osiągając minimum w poziomach: glejowym (IIGg), podłożu mineralnym (D), poziome skały macierzystej (IIC) i poziomie organicznym (Ot). Zmniejszanie liczebności myksobakterii wraz ze wzrostem głębokości profilów glebowych wiąże się ze spadkiem ilości tlenu oraz materii organicznej [BULL i in. 2002; MICHAŁOWSKA 2009; REICHENBACH 1999].

Liczebność myksobakterii w glebie na większości stanowisk badawczych miała podobny przebieg zmian w sezonie wegetacyjnym. Liczba badanych organizmów była stosunkowo mała w maju, po czym zwiększyła się w czerwcu, co prawdopodobnie związane było ze wzrostem temperatury. W glebie pochodzącej z łąk Pu-



Rys. 1. Ogólna liczba bakterii w 1 g s.m. badanych gleb łąkowych; źródło: wyniki własne

Fig. 1. The total number of bacteria per 1 g d.w. of meadow soils; source: own study

chały I, Falenty I i II oraz Janki II stwierdzono spadek liczebności badanych organizmów w lipcu, kiedy to wilgotność gleby, spowodowana silnymi i długotrwałymi opadami deszczu, była bardzo wysoka. W kolejnym miesiącu analiz (wrzesień) ich liczebność wzrosła, wyjątkiem była łąka Puchały II. Średnio najmniejszą liczebność myksobakterii stwierdzono w październiku, kiedy temperatura powietrza była najniższa w porównaniu z innymi terminami poboru gleby. Z przeprowadzonych przez innych badaczy analiz wynika, że populacje myksobakterii wykazują duże wahania sezonowe w strefach klimatycznych o wysokich rocznych amplitudach

temperatur i opadów [DAWID 2000; LAMPKY 1971]. MICHAŁOWSKA i RUSSEL [2007] w badaniach przeprowadzonych na terenie Puszczy Białej wykazali, że myksobakterie najliczniej zasiedlają gleby podczas miesięcy letnich.

Analiza statystyczna średnich liczebności myksobakterii w górnych warstwach gleb wykazała, że liczebność myksobakterii w najwyższych warstwach gleby opadowo-glejowej właściwej była istotnie mniejsza niż w glebach brunatnej wylugowanej oraz torfowo-murszowej (tab. 2). Największą liczebność tych organizmów stwierdzono w glebach torfowo-murszowych. Gleba torfowo-murszowa, typowa dla łąk trwałych, jest bogata w związki organiczne, co, jak dowodzi DAWID [2000], sprzyja rozwojowi myksobakterii.

Myksobakterie należą do organizmów preferujących neutralne pH. Analiza statystyczna wykazała istotnie dodatnią korelację między liczebnością myksobakterii w górnych warstwach gleby a wartościami pH gleby, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych autorów (tab. 3) [DAWID 2000; MICHAŁOWSKA 2009].

Nie stwierdzono występowania istotnej korelacji między liczebnością badanych organizmów, a zasobnością badanych gleb w węgiel organiczny i azot.

Tabela 2. Całkowita liczebność myksobakterii w najwyższych warstwach badanych typów gleby

Table 2. The total number of myxobacteria in the uppermost horizons of tested soils

Typ gleby Soil type	Całkowita liczebność myksobakterii, jtk·(g s.m. gleby) ⁻¹ The total number of myxobacteria, cfu·(g d.w. of soil) ⁻¹
Opadowo-glejowa właściwa Bathycalcic Cutanic Luvisol	1 177,608a
Brunatna wylugowana Haplic Cambisol	8 770,988b
Torfowo-murszowa Sapric Histosol	9 665,903b

Objaśnienie: wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie ($\alpha = 0,05$).

Explanations: values marked with the same letters are not statistically different ($\alpha = 0,05$).

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

Tabela 3. Analiza korelacji dotycząca liczebności myksobakterii w zależności od pH gleby, zawartości azotu i węgla w glebie w górnych poziomach badanych gleb

Table 3. Correlation between the number of myxobacteria, soil pH, soil carbon and nitrogen content in the upper horizons of tested soils

pH	C	N
0,86*	0,37	0,28

Objaśnienie: * – zależność istotna statystycznie, gdy $\alpha = 0,05$.

Explanation: * – statistical significance of correlations at $\alpha = 0,05$.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

Uzyskane wyniki potwierdzają tezę, że na liczebność myksobakterii silny wpływ mają warunki panujące w środowisku ich bytowania. Poziom zasiedlenia gleby przez badane organizmy uwarunkowany jest jej fizykochemicznymi właściwościami oraz uzależniony od panujących warunków atmosferycznych.

WNIOSKI

1. Liczebność myksobakterii w różnych typach gleb łąkowych jest silnie zróżnicowana.
2. Górne poziomy genetyczne gleby są liczniej zasiedlone przez badane mikroorganizmy niż jej niżej położone warstwy.
3. Do czynników silnie warunkujących zasiedlanie gleby przez badane organizmy (myksobakterie) należy odczyn.
4. W warunkach klimatu Polski stwierdzono sezonowe zmiany liczebności myksobakterii, związane z wysokością temperatury oraz sumą opadów atmosferycznych.

LITERATURA

- BULL C.T., SHETTY K.G., SUBBARAO K.V. 2002. Interactions between myxobacteria, plant pathogenic fungi, and biocontrol agents. *Plant Disease Journal*. Vol. 86 s. 889–896.
- BURNHAM J.C., COLLART S.A. HIGHISON B.W. 1981. Entrapment and lysis of the cyanobacterium *Phormidium luridum* by aqueous colonies of *Myxococcus xanthus* PCO₂. *Archives of Microbiology*. Vol. 129 s. 285–294.
- DAWID W. 2000. Biology and global distribution of myxobacteria in soils. *FEMS Microbiological Reviews*. Vol. 24 s. 403–427.
- GNOSPILIUS G. 1978. Myxobacterial slime and proteolytic activity. *Archives of Microbiology*. Vol. 116 s. 51–59.
- IRSHCHIK H., WASHAUSEN P., SASSE F., FOHRER J., HUCH V., MÜLLER R., PRUSOV E.V. 2013. Isolation, structure elucidation, and biological activity of maltepolides: remarkable macrolides from Myxobacteria. *Angewandte Chemie. International Edition*. Vol. 52 s. 5402–5405.
- JANKIEWICZ U., KILISZCZYK A., RUSSEL S. 2012. Charakterystyka właściwości proteolitycznych dwóch wybranych szczepów bakterii z rzędu *Myxococcales*. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*. T. 12. Z. 3 (39) s. 53–62.
- KAISER D., ROBINSON M., KROOR L. 2010. Myxobacteria, polarity, and multicellular morphogenesis. *Cold Spring Harb Perspectives in Biology*. Vol. 2(8):a000380. Epub 2010 Jul 7.
- LAMPKY J.R. 1971. Distribution of *Sorangium cellulosum*. *Applied Microbiology*. Vol. 22 s. 937–938.
- MCCURDY H.D. 1969. Studies on the taxonomy of the *Myxobacteriales*. I. Record of Canadian isolates and survey of methods. *Canadian Journal of Microbiology*. Vol. 5 s. 1453–1461.
- MICHAŁOWSKA M. 2009. Występowanie i charakterystyka bakterii z rzędu *Myxococcales* izolowanych z wybranych typów gleb Polski. Praca doktorska. Warszawa. SGGW. Maszynopis ss. 434.
- MICHAŁOWSKA M., RUSSEL S. 2007. Charakterystyka myksobakterii w wybranych glebach łąkowych. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*. T. 7. Z. 2 (20) s. 245–256.

- NATYWA M., SAWICKA A. 2010. Aktywność mikrobiologiczna i enzymatyczna gleby pod uprawą kukurydzy w zależności od zróżnicowanego nawożenia azotem. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 10. Z. 2 (30) s. 111–120.
- PAUL E.A., CLARK F.E. 2000. Mikrobiologia i biochemia gleby. Lublin. Wydaw. UMCS. ISBN 83-227-1529-3 ss. 400.
- RASHIDAN K.K., BIRD D.F. 2001. Role of predatory bacteria in the termination of a cyanobacterial bloom. *Microbial Ecology*. Vol. 41 s. 97–105.
- REICHENBACH H. 2005. Order *Myxococcales*. W: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Wyd. 2. Pr. zbior. Red. D.J. Brenner, N.R. Krieg, J.T. Staley, G.M. Garrity. Vol. 2. Part C. New York. Springer s. 1059–1144.
- REICHENBACH H. 1999. The ecology of the myxobacteria. *Environmental Microbiology*. Vol. 1 s. 15–21.
- REICHENBACH H., DWORCIN M. 1991. The myxobacteria. W: *The Prokaryotes*. Pr. zbior. Red. K.P. Starr, H. Stolp, H.G. Trür, A. Belows, H.G. Schlegel. Vol. 4 s. 3415–3487.
- ROLBETSKI A., AMMON M., JAKOVLJEVIC V., KONOVALOVA A., SØGAARD-ANDERSEN L. 2008. Regulated secretion of a protease activity activates intercellular signaling during fruiting body formation in *M. xanthus*. *Developmental Cell*. Vol. 15 s. 627–634.
- SLIUSARENKO O., CHEN J., OSTER G. 2006. From biochemistry to morphogenesis in myxobacteria. *Bulletin of Mathematical Biology*. Vol. 68 s. 1039–1051.
- WHITWORTH D.E. 2007. Myxobacteria: multicellularity and differentiation. Coventry. Hardcover Department of Biological Sciences, University of Warwick. ISBN 978-1-55581-420-5 ss. 520.
- SCHNEIKER S., PERLOVA O., ALICI A., ALTMAYER M.O., BARTELS D., BEKEL T., BEYER S., BLÖCKER H., BODE E., BODE H.B. 2007. Complete sequence of the largest known bacterial genome from the myxobacterium *Sorangium cellulosum*. *Nature Biotechnology*. Vol. 25 s. 1281–1289.

Anna KILISZCZYK, Stefan RUSSEL

EVALUATION OF THE NUMBER OF MYXOBACTERIA IN SELECTED TYPES OF SOILS

Key words: meadow soil, myxobacteria, soil microflora

S u m m a r y

Myxobacteria belong to the gram-negative slime bacteria, whose natural habitat is soil. These organisms perform important environmental functions related to their ability to degrade cellulose, hemicellulose and lignin. The aim of this study was to determine the number of myxobacteria in selected types of grassland soils. The study involved the following types of soils: peat-muck, rainfall-glial and brown leached soils in meadow areas of the Institute of Technology and Life Sciences. Soil samples were collected five times during the growing season. The following factors were studied: the amount myxobacteria (plate method), carbon and nitrogen content and pH value. Studies showed that the number of myxobacteria in the vegetative season was variable and depended on weather conditions, organic matter content and soil pH. The highest number of myxobacteria was found in the surface layers of soil. The amount of analyzed organisms decreased with increasing depth of the soil profile.

Adres do korespondencji: mgr A. Kiliszczyk, Instytut Technologiczno-Przyrodniczy w Falentach, Zakład Jakości Wody i Higienizacji Wsi, al. Hrabaska 3, 05-090 Raszyn; tel.: +48 22 735-75-30, e-mail: A.Kiliszczyk@itp.edu.pl