

# SEZONOWE ZMIANY LICZEBNOŚCI BAKTERII MINERALIZUJĄCYCH LECYTYNĘ I ROZPUSZCZAJĄCYCH FOSFORAN TRÓJWAPNIOWY W WODZIE, GLEBIE I NA POWIERZCHNI ROŚLINNOŚCI ŚRÓDLEŚNYCH MOKRADEŁ W OKOLICY OLSZTYNA

**Stanisław NIEWOLAK<sup>1)</sup>, Renata BRZOZOWSKA<sup>2)</sup>,  
Ewa KORZENIEWSKA<sup>1)</sup>, Zofia FILIPKOWSKA<sup>1)</sup>,  
Karolina CZECHOWSKA<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup> Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej

<sup>2)</sup> Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Katedra Inżynierii Ochrony Środowiska

*Słowa kluczowe: bakterie, gleba, mineralizacja lecytyny, mokradło, rośliny, rozpuszczanie fosforanu trójwapniowego, woda*

## Streszczenie

Badano sezonowe zmiany liczebności bakterii mineralizujących lecytynę i rozpuszczających fosforan trójwapniowy w wodzie, glebie ryzosferowej turzycy błotnej (*Carex acutiformis* Ehrh.), na powierzchni zanurzonych w wodzie i wynurzonych częściach tej rośliny oraz jej korzeniach (obumarłych i żywych). Badania przeprowadzono w dwóch kolejnych cyklach rocznych (w latach 1993 i 1994). Stwierdzono małą liczebność badanych grup drobnoustrojów w wodzie, większą na zanurzonych w niej częściach rośliny, największą w glebie ryzosferowej i poza ryzosferą. W cyklu rocznym większa liczba drobnoustrojów występowała w miesiącach letnich, wyjątkowo jesienią. Obie badane grupy drobnoustrojów stanowiły znikomy procent ogólnej liczby bakterii heterotroficznych, oznaczanych na podłożu z tryptonem, glukozą i ekstraktem drożdżowym. Stosunek liczbowy bakterii mineralizujących lecytynę na korzeniach turzycy błotnej i bakterii występujących w glebie ryzosferowej wynosił od 0,05 do 4,5, a bakterii rozpuszczających fosforan trójwapniowy w obu tych ekosystemach od 0,2 do 4,4.

## WSTĘP

Fosfor (obok azotu) jest głównym składnikiem biogennym dla roślin, zwierząt i drobnoustrojów. W warunkach Pojezierza Mazurskiego jest jednym z istotnych czynników regulujących procesy eutrofizacji jezior, skutkując zakwitami glonów, zmniejszeniem przezroczystości wody, penetracji promieni świetlnych, deficytem tlenu i ogólnym pogorszeniem warunków bytowania ryb. Głównym źródłem fosforu na tych obszarach jest nawożenie pól uprawnych, łąk i pastwisk gnojowicą z licznych w tej części kraju ferm bydła i trzody chlewnej [KOCHAŃSKA, 1991]. Niewielkie ilości biogenów, które mogą przedostawać się z opadem atmosferycznym ( $0,5 \text{ g N} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{rok}^{-1}$  i  $0,04 \text{ g P} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{rok}^{-1}$ ), nie stwarzają większego zagrożenia w stosunku do jakości wód [JOHNSTON, 1991].

Zatrzymywanie fosforu i azotu w strefie przejściowej między łądem a wodami otwartymi na tym terenie jest jednym z istotnych czynników ograniczających ich przedostawanie się do jezior. Główną rolę odgrywa w tym zakresie roślinność szuwarowa, która – pobierając azot i fosfor – nie tylko ogranicza przedostawanie się ich do wód otwartych [UUSIKÄMPPI i in., 2000], lecz dostarcza również węgiel i energię innym organizmom zasiedlającym takie obszary [WALBRIDGE, 1993].

Fosfor jest usuwany ze środowiska również w wyniku immobilizacji przez drobnoustroje (bakterie, grzyby) oraz odkładania w formie organicznej i nieorganicznej w związku z sorbowaniem go przez cząstki mineralne gleby. Fosfor odłożony w osadach w warunkach beztlenowych może być uwalniany do wyżej zalegającej wody ubogiej w jego formę rozpuszczalną lub sorbowany z roztworu o większym stężeniu tego składnika. Uwalnianie do wody ilości fosforu rozpuszczonego zależą od zdolności gleby do jego adsorpcji lub desorpcji z roztworu, mineralizacji jego związków organicznych i dyfuzji tego pierwiastka z osadów do wyżej zalegającej wody [REDDY, 1983]. Udział drobnoustrojów w tych procesach jest związany z mineralizacją organicznych związków fosforu (dużą intensywnością mineralizacji fosforu organicznego w glebach kwaśnych) i rozpuszczaniem połączeń fosforu związanego z żelazem i glinem w glebach kwaśnych oraz większą rozpuszczalnością fosforu związanego z wapniem w glebach wapiennych [GALE, REDDY, GRAETZ, 1994]. Mineralizacja organicznych związków fosforu zależy od ilości tego pierwiastka w materii organicznej i aktywności enzymów – fosfataz drobnoustrojowych [GOLTERMAN, 1984]. Do mineralizacji organicznych związków fosforu zdolnych jest wiele różnorodnych bakterii (w tym promieniowców) i grzybów bytujących w wodzie i osadach dennych jezior [NIEWOLAK, 1980] oraz glebach uprawnych [KOBUS, 1961; MAHMOUD i in., 1973; MYŚKÓW, 1960; NIEWOLAK, KOC, 1995].

Wiele drobnoustrojów ma również zdolność do rozpuszczania mineralnych związków fosforu. Drobnoustroje te występują liczniej w powierzchniowej warstwie (0–2 cm) osadów dennych jezior [NIEWOLAK, 1971; NIEWOLAK, KORYCKA, KRAŚNICKI, 1978; 1996], w glebie (m.in. FÖRSTER, FREIER [1988], GÄCHTER, MEYER [1993], ILLMER, BARBATO, SCHINNER [1995], ILLMER, SCHINNER [1995], JONES i in. [1991], RODRIGUEZ, FRAGA [1999]), ryzosferze roślin uprawnych [CHUNG i in., 2005; DOMEY, 1992; MAHMOUD i in., 1973; MYŚKÓW, 1960; ROVIRA, 1965] i ryzosferze innych gatunków roślin [CRAVEN, HAYASAKA, 1982; GOENADI, SUGIARTO, 2000; VAZQUEZ i in., 2000; ROJAS i in., 2001], gdzie korzystają z wydzielin korzeniowych [PARRET i in., 2003].

W literaturze brak danych na temat sezonowych zmian liczebności bakterii mineralizujących organiczne związki fosforu i rozpuszczających jego związki mineralne w śródleśnych mokradłach. W niniejszym opracowaniu przedstawiono wyniki 2-letnich badań zmian liczebności bakterii mineralizujących lecytynę (jednego z głównych źródeł fosforu w organizmach żywych) oraz fosforanu trójwapniowego w wodzie, glebie i na powierzchni turzycy błotnej (*Carex acutiformis* Ehrh.) jednego z większych obszarów podmokłych (śródleśnych) w okolicy Olsztyna.

## MATERIAŁY I METODY BADAŃ

Badania prowadzono w odstępach miesięcznych w 2 kolejnych cyklach rocznych (lata 1993 i 1994) na obszarze pojeziornym o powierzchni ok. 20 ha, w pobliżu leśniczówki Stary Dwór, ok. 2 km na zachód od Olsztyna. Obszar ten jest zasilany wodami powierzchniowymi spływającymi ze stoków porośniętych lasem mieszanym sosnowo-świerkowym oraz brzozą i wierzbą w strefie przybrzeżnej mokradła. Wzdłuż biegnie kanał melioracyjny szerokości ok. 6 m i głębokości 5–6 m. Wiosną cały ten obszar jest zalewany wodami roztopowymi, latem poziom wody poza kanałem obniża się do kilkudziesięciu, jedynie w niektórych miejscach kilkunastu cm. Wśród roślinności bagiennej przeważają turzycy (*Carex* sp.) i sity (*Juncus* sp.), które tworzą ciągłe pokrycie lub izolowane kępy otoczone wodą [NIEWOLAK i in., 2007].

Badania obejmowały wodę oraz zanurzone w niej i wynurzone (napowietrzne) części turzycy błotnej (*Carex acutiformis* Ehrh.), glebę ryzosferową, w której zakorzenione są rośliny, mikroflorę korzeni ubiegłorocznych (martwych) i tegorocznych (żywych). Próbkę wody do badań mikrobiologicznych pobierano na 3 stanowiskach, z głębokości 0,2–0,3 m do jałowych naczyń szklanych. Stanowisko 1. znajdowało się w odległości ok. 30 m od drogi prowadzącej skrajem mokradła od strony wschodniej. Stanowiska 2. i 3. znajdowały się na skraju mokradła od strony północnej, w odległości ok. 80 m w linii prostej od drogi prowadzącej skrajem wzgórza porośniętego sosną, od szosy Olsztyn–Warszawa w kierunku leśniczówki Stary Dwór i dalej do miejscowości Naterki, przy trasie linii kolejowej Olsztyn–Toruń [NIEWOLAK i in., 2007].

Bezpośrednio po pobraniu próbek wody, na stanowiskach 1. i 2. pobierano do badań całe kępy turzycy błotnej wraz z glebą ryzosferową. Wodę i kępy tej rośliny przewożono do laboratorium, gdzie niezwłocznie preparowano zanurzone w wodzie części łodyg, wynurzone (napowietrzne) części tej rośliny, szerniałe korzenie ubiegłoroczne (martwe) i zielone tegoroczne (żywe) oraz glebę, która oblepiała korzenie. Korzenie przepłukiwano delikatnie bieżącą wodą w celu usunięcia resztek ziemi. Zebrane oddzielnie poszczególne części rośliny cięto na odcinki 0,5–1,0 cm z zachowaniem warunków aseptycznych. Sporządzone 10-gramowe naważki gleby oraz odpowiednich części rośliny przenoszono do 90 cm<sup>3</sup> jałowego roztworu soli fizjologicznej (0,85% NaCl) w kolbach Erlenmajera i wytrząsano przez 30 minut na wytrząsarce. Otrzymaną zawiesinę gleby i poszczególnych części rośliny rozcieńczano w odpowiednim roztworze fizjologicznym NaCl w stosunku (1:10)–(1:10 000); również rozcieńczano próbki wody pobierane na wytypowanych stanowiskach w stosunku (1:10)–(1:1 000) i przenoszono po 1 cm<sup>3</sup> do 3 probówek z odpowiednią pożywką. Jednocześnie określano suchą masę poszczególnych części rośliny i gleby (w dwóch powtórzeniach) zgodnie z ogólnie przyjętą metodyką.

Badania mikrobiologiczne w zakresie niniejszej pracy obejmowały oznaczenia liczby bakterii mineralizujących lecytynę i liczby bakterii rozpuszczających fosforan trójwapniowy. Oznaczając liczbę bakterii mineralizujących lecytynę, rozpuszczano 1 g tego związku w 2 cm<sup>3</sup> alkoholu etylowego z dodatkiem 18 cm<sup>3</sup> wody destylowanej, buforowanej roztworem nasyconym kwaśnego węgla sodu w warunkach pH równego 7,0 i wyjąławiano w aparacie Kocha przez 40 minut. Na płytki Petriego wysiewano odpowiednio rozcieńczoną wodę, roztwór glebowy i poszczególne części turzycy błotnej. Na każdą z płytek wnoszono po 0,1 cm<sup>3</sup> odpowiednio spreparowanego roztworu lecytyny, a następnie zalewano rozpuszczoną i ostudzoną (na łaźni wodnej) do 42°C pożywką agarową Mienkinej [MIENKINA, 1950]. Następnie całość mieszano w celu równomiernego rozmieszczenia jej na powierzchni denka płytki Petriego, wstawiano do cieplarki i inkubowano w temperaturze 25°C.

Oznaczając liczbę bakterii rozpuszczających fosforan trójwapniowy, oddzielnie w moździerzu ucierano na proszek 2,5 g tej soli oraz 0,5 g gumy arabskiej. Oba proszki dokładnie mieszano, umieszczano w naczyniu ze 100 cm<sup>3</sup> wody destylowanej i wyjąławiano w autoklawie (121°C; 15 minut). Zawiesinę tę rozlewano po 1 cm<sup>3</sup> do jałowych płytek Petriego w odpowiednim rozcieńczeniu badaną wodą lub zawiesiną badanego materiału roślinnego oraz gleby i zalewano rozpuszczoną i ostudzoną (na łaźni wodnej) do 42°C pożywką agarową Bunta i Roviry [BUNT, ROVIRA, 1955]. Tak przygotowane próbki dokładnie mieszano w celu otrzymania jednolitego zmętnienia, wstawiano do cieplarki i inkubowano w temperaturze 25°C.

Liczbę bakterii mineralizujących lecytynę oznaczano po 3, 5 i 7 dniach inkubacji, a liczbę bakterii rozpuszczających fosforan trójwapniowy po 14 i 21 dniach inkubacji. Obecność ww. bakterii rozpoznawano po przezroczystych strefach wokół kolonii, wyrosłych na odpowiednich podłożach w płytkach Petriego. Wszystkie oznaczenia wykonywano w trzech równoległych powtórzeniach z tej samej próby. Wyniki obliczeń podano w przeliczeniu na 1 cm<sup>3</sup> wody lub 1 g s.m. gleby i poszczególnych części rośliny.

W celu ustalenia, czy liczebność poszczególnych grup drobnoustrojów w wodzie, glebie i na powierzchni roślinności śródleśnych mokradeł różni się między sobą w zależności od czasu pobierania próbek i stanowisk, posłużono się jednoczynnikową analizą wariancji (jednoczynnikowa ANOVA), weryfikując hipotezę o równości średnich ( $H_0 : x_1 = x_2 = \dots = x_5$ ) na poziomie istotności  $p = 0,05$ , przyjmując założenie, że wariancje dla liczebności badanych grup bakterii są jednorodne [STANISZ, 2006].

Równoległe z oznaczaniem liczebności bakterii mineralizujących lecytynę i rozpuszczających fosforan trójwapniowy oznaczano liczbę bakterii heterotroficznych na podłożu z tryptonem, glukozą i ekstraktem drożdżowym opisanym przez SEPPÄNENA [1971], rozcieńczonym w stosunku 1:8 wodą destylowaną według zaleceń tego autora. Wyniki tych ostatnich badań zostały podane w pracy KORZENIEWSKIEJ i in. [2007].

## WYNIKI BADAŃ

Bakterie mineralizujące lecytynę występowały w większości badanych próbek wody, korzeni i gleby ryzosferowej, zanurzonych w wodzie częściach turzycy błotnej (*Carex acutiformis* Ehrh.) oraz w 1/3 badanych próbek wynurzonych z wody (napowietrznych)

części tej rośliny. Ich liczba nie przekraczała kilkuset komórek w 1 cm<sup>3</sup> wody, kilkudziesięciu tysięcy komórek w 1 g s.m. zanurzonych w wodzie części turzycy błotnej, w glebie ryzosferowej oraz na powierzchni ubiegłorocznych (martwych) i tegorocznych (żywych) korzeni oraz kilkunastu tysięcy komórek na powierzchni wynurzonych z wody (napowietrznych) części tej rośliny (tab. 1, 2). Stwierdzenie prawidłowości na podstawie zaobserwowanych różnic w liczebności bakterii mineralizujących lecytynę w badanych próbkach wody, gleby ryzosferowej turzycy błotnej, zanurzonych w wodzie części tej rośliny i jej korzeniach na poszczególnych stanowiskach w różnym okresie badawczym było trudne do uchwycenia. W cyklu rocznym więcej tych bakterii występowało w październiku i/lub w listopadzie (woda, łodyga turzycy błotnej zanurzona w wodzie i jej części wynurzone – napowietrzne, gleba ryzosferowa, korzenie ubiegłoroczne oraz tegoroczne), rzadziej w maju i/lub w lipcu i sierpniu (łodyga zanurzona w wodzie, korzenie ubiegłoroczne i tegoroczne) (rys. 1). Stosunek liczbowy bakterii mineralizujących lecytynę na korzeniach do występujących w glebie ryzosferowej turzycy błotnej (R:G) wynosił od 0,2 do 4,4, w próbkach pobieranych na stanowisku 1. i od 0,05 do 1,7 w próbkach pobieranych na stanowisku 2. Na stanowisku 1. był on największy w maju i sierpniu 1994 r., a na stanowisku 2. – w maju 1994 r.

**Tabela 1.** Liczba bakterii mineralizujących lecytynę i rozpuszczających fosforan trójwapniowy w wodzie i na powierzchni turzycy błotnej (*Carex acutiformis* Ehrh.) na terenie badanego mokradła w okolicy Olsztyna w latach 1993 i 1994

**Table 1.** The number of lecithin-mineralizing and calcium phosphate solubilizing bacteria in water and on the surface of sedge (*Carex acutiformis* Ehrh.) in natural wetland near Olsztyn in the years 1993 and 1994

Drobnoustroje Microorganisms	Woda (w 1 cm <sup>3</sup> ) Water (in 1 cm <sup>3</sup> )			<i>Carex acutiformis</i> Ehrh. (w 1 g s.m.) <i>Carex acutiformis</i> Ehrh. (in 1 g DM)		
				powierzchnie zanurzone w wodzie submersed stem surfaces		części napowietrzne aerial leaves
	stanowisko site					
	1	2	3	1	2	1
Bakterie mineralizujące lecytynę Lecithin-mineralizing bacteria	65 0–850	55 0–600	25 0–250	4,8·10 <sup>3</sup> 0–70·10 <sup>3</sup>	3,4·10 <sup>3</sup> 0–79·10 <sup>3</sup>	1,1·10 <sup>3</sup> 0–12·10 <sup>3</sup>
Bakterie rozpuszczające fosforan trójwapniowy Tribasic calcium phosphate-solubilizing bacteria	3 0–20	30 0–240	10 0–150	2,3·10 <sup>3</sup> 0–16·10 <sup>3</sup>	2,1·10 <sup>3</sup> 0–20·10 <sup>3</sup>	0,6·10 <sup>3</sup> 0–6·10 <sup>3</sup>

Objaśnienia: nad kreską podano wartości średnie, pod – zakres.

Explanations: over line – mean values, under line – range.

**Tabela 2.** Liczba bakterii mineralizujących lecytynę i rozpuszczających fosforan trójwapienny w glebie ryzosferowej i na korzeniach turzycy błotnej (*Carex acutiformis* Ehrh.) na terenie badanego mokradła w okolicy Olsztyna w latach 1993 i 1994

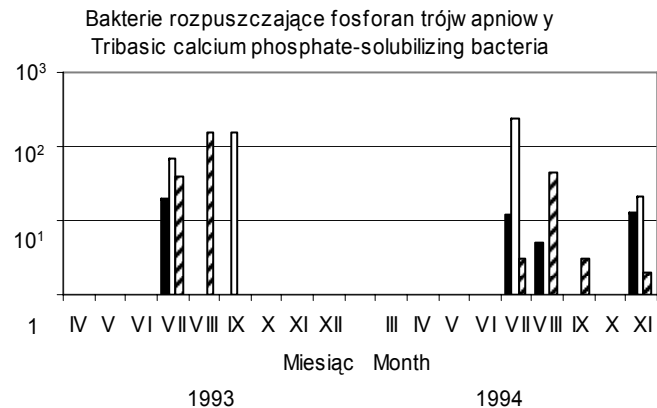
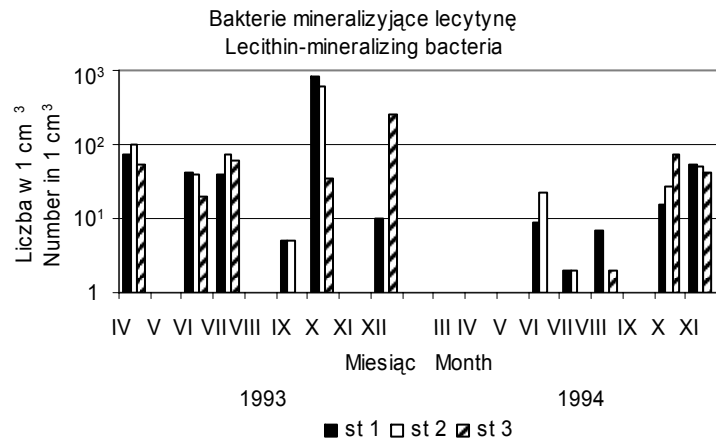
**Table 2.** The number of lecithin-mineralizing and tribasic calcium phosphate-solubilizing bacteria in the rhizosphere soil and on sedge (*Carex acutiformis* Ehrh.) roots in natural wetland near Olsztyn in the years 1993 and 1994

Drobnoustroje Microorganisms	Gleba ryzosferowa (w 1 g s.m.) Rhizosphere soil (in 1 g DM)		<i>Carex acutiformis</i> Ehrh. (w 1 g s.m.) (in 1 g DM)			
			korzenie martwe dead roots		korzenie żywe living roots	
	stanowisko site					
	1	2	1	2	1	2
Bakterie minerali- zujące lecytynę Lecithin-mine- ralizing bacteria	$\frac{11,6 \cdot 10^3}{0-80 \cdot 10^3}$	$\frac{3,72 \cdot 10^3}{0-74 \cdot 10^3}$	$\frac{5,92 \cdot 10^3}{0-75 \cdot 10^3}$	$\frac{10,5 \cdot 10^3}{0-100 \cdot 10^3}$	$\frac{11,7 \cdot 10^3}{0-70 \cdot 10^3}$	$\frac{6,3 \cdot 10^3}{0-27 \cdot 10^3}$
Bakterie rozpusz- czające fosforan trójwapienny Tribasic calcium phosphate-solubi- lizing bacteria	$\frac{7 \cdot 10^3}{0-47 \cdot 10^3}$	$\frac{13,4 \cdot 10^3}{0-70 \cdot 10^3}$	$\frac{2,24 \cdot 10^3}{0-15 \cdot 10^3}$	$\frac{3,34 \cdot 10^3}{0-20 \cdot 10^3}$	$\frac{12,8 \cdot 10^3}{0-97 \cdot 10^3}$	$\frac{9,3 \cdot 10^3}{0-37 \cdot 10^3}$

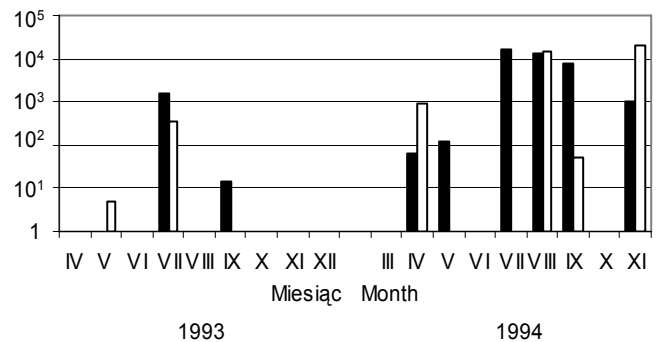
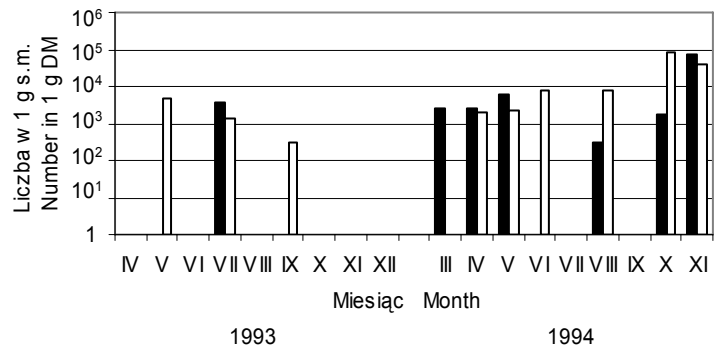
Objaśnienia jak pod tabelą 1. Explanations as in Tab. 1.

Bakterie rozpuszczające fosforan trójwapienny występowały w 23–37% próbek wody, 35–47% próbek łądygi turzycy błotnej zanurzonej w wodzie, w 45% próbek części tej rośliny wynurzonych z wody (napowietrznych), w ok. 50–60% próbek gleby ryzosferowej oraz martwych i żywych korzeni turzycy błotnej. Ich liczba nie przekraczała 240 komórek w 1 cm<sup>3</sup> wody, 20 tys. komórek w 1 g suchej masy zanurzonych w wodzie części turzycy błotnej i na powierzchni korzeni ubiegłorocznych (martwych) (tab. 1), 70 tys. komórek w 1 g suchej masy gleby ryzosferowej i 96 tys. komórek w 1 g suchej masy korzeni tegorocznych (żywych) (tab. 2). Na powierzchni wynurzonych z wody (napowietrznych) częściach turzycy błotnej maksymalna ich liczba osiągała ponad 6 tys. komórek w 1 g suchej masy (tab. 1). W wodzie więcej tych bakterii występowało na stanowiskach 2. i 3 (tab. 1). Różnice ich średniej liczebności w próbkach gleby ryzosferowej i poszczególnych części turzycy błotnej (z wyjątkiem części wynurzonych z wody, czyli napowietrznych) na stanowiskach 1. i 2. mieściły się w zakresie 1–2 rzędów wielkości. W cyklu rocznym więcej tych bakterii występowało w lipcu i/lub w sierpniu (woda, łądyga zanurzona w wodzie, części rośliny wynurzone z wody, gleba ryzosferowa, korzenie ubiegłoroczne i tegoroczne), wyjątkowo również we wrześniu 1993 r. (w wodzie na st. 3. i w glebie) oraz listopadzie 1994 r. (w glebie oraz zanurzonych w wodzie i wynurzonych, czyli napowietrznych częściach turzycy błotnej) (rys. 1). Stosunek liczbowy bakterii rozpuszczających fosforan trójwapienny na korzeniach turzycy błotnej do występujących w glebie ryzosferowej (R:G) wynosił od 0 do 4,5 na stanowisku 1. i od 0 do 2,9 na stanowisku 2. Na stanowisku 1. był największy w maju i we wrześniu, na stanowisku 2. – w marcu 1994 r.

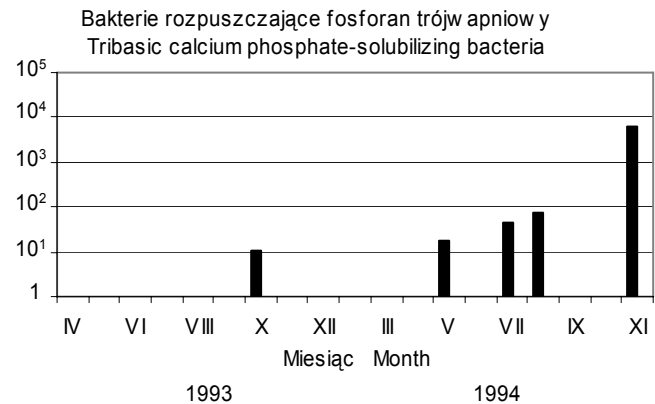
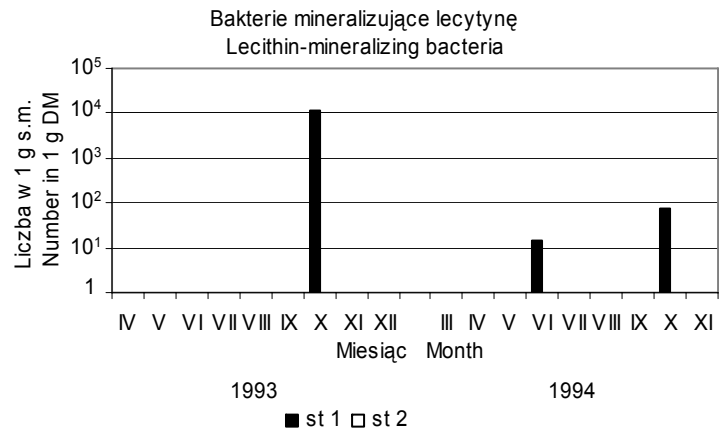
a)



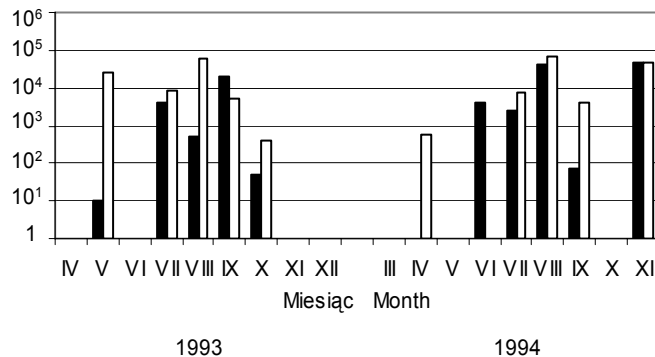
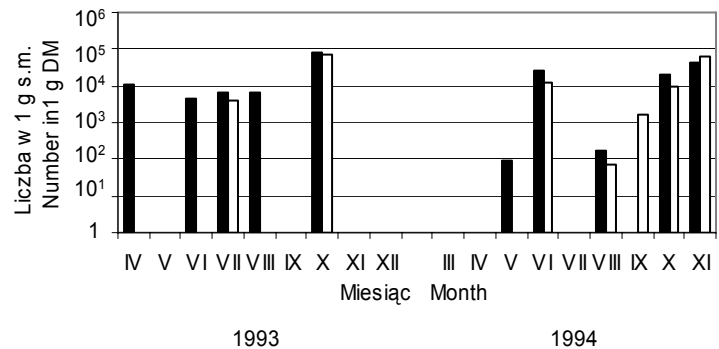
b)



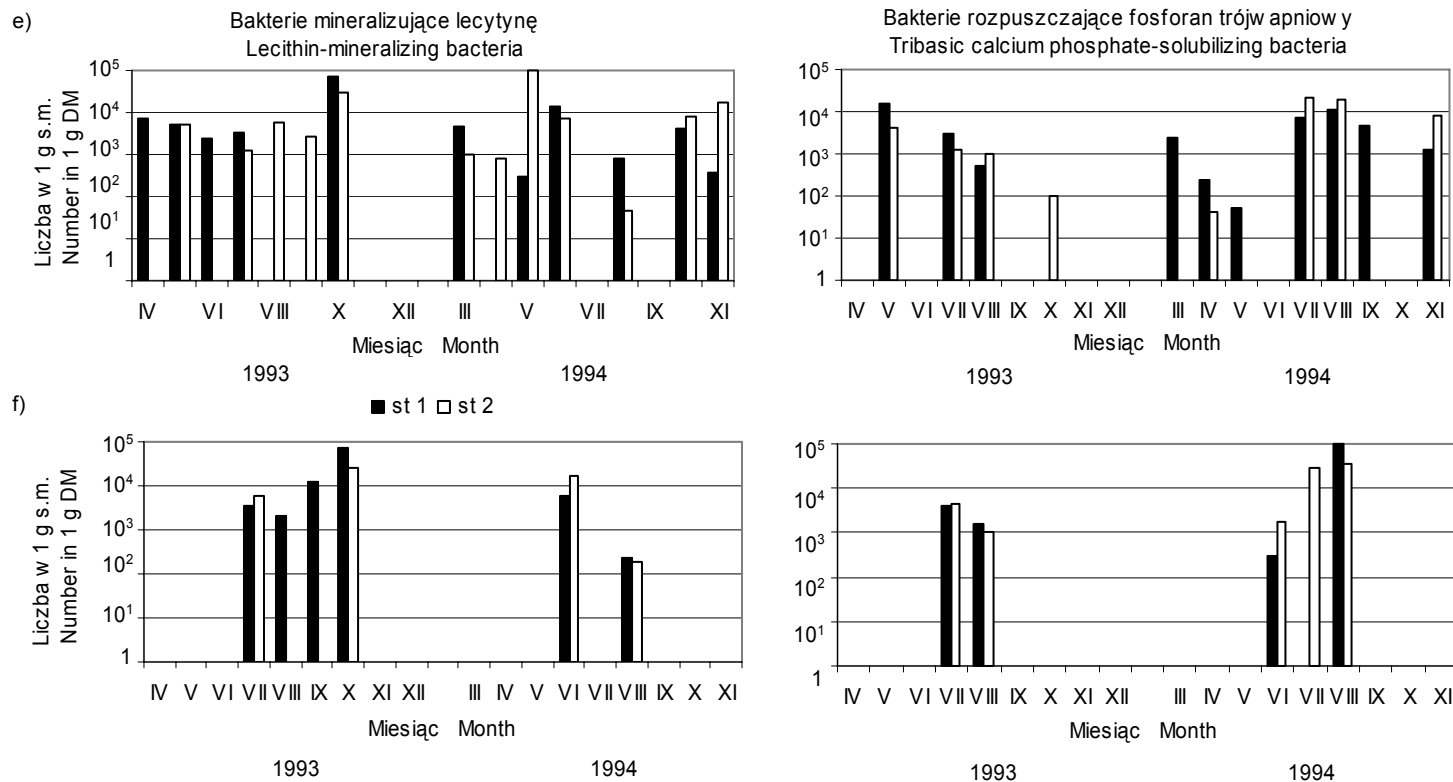
c)



d)







Rys. 1. Sezonowe zmiany liczebności bakterii mineralizujących lecytynę i rozpuszczających fosforan trójwapniowy na terenie badanego mokradła w okolicy Olsztyna: a) w wodzie, b) na zanurzonych w wodzie częściach turzycy błotnej (*Carex acutiformis* Ehrh.), c) na wynurzonych z wody (napowietrznych) częściach turzycy, d) w glebie ryzosferowej, e) na martwych korzeniach turzycy, f) na żywych korzeniach turzycy; st. 1–3 – stanowiska poboru próbek

Fig. 1. Seasonal changes in the numbers of lecithin-mineralizing and tribasic calcium phosphate-solubilizing bacteria in the studied wetland area near Olsztyn: a) in water, b) on submersed sedge stem surfaces, c) on aerial sedge leaf surfaces, d) in the soil rhizosphere, e) on dead root surfaces of sedge, f) on living root surfaces of sedge; st. 1–3 – sampling sites

Na podstawie analizy statystycznej wyników stwierdzono istotne różnice w liczebności bakterii rozpuszczających fosforan trójwapniowy we wszystkich rodzajach badanych próbek z wyjątkiem wynurzonych i zanurzonych w wodzie części roślin pobieranych w różnych miesiącach (tab. 3). W przypadku bakterii mineralizujących lecytynę różnice te były statystycznie istotne tylko w próbkach wody i korzeni starych. Największą średnią liczebność bakterii rozpuszczających fosforan trójwapniowy i mineralizujących lecytynę stwierdzano zazwyczaj w próbkach pobieranych odpowiednio w sierpniu i październiku. Zazwyczaj nie stwierdzano statystycznie istotnych różnic w liczebności obydwu badanych grup drobnoustrojów w zależności od roku i stanowiska poboru próbek.

**Tabela 3.** Różnice statystycznie istotne między liczebnością bakterii mineralizujących lecytynę i rozpuszczających fosforan trójwapniowy w wodzie, glebie i na powierzchni turzycy błotnej (*Carex acutiformis* Ehrh.) na terenie śródleśnego mokradła w całym okresie badawczym w zależności od miesięcy, lat i stanowiska poboru próbek

**Table 3.** Statistically significant differences between the number of lecithin-mineralizing and tribasic calcium phosphate-solubilizing bacteria in water, on the surface of sedge (*Carex acutiformis* Ehrh.), on sedge roots and in the rhizosphere soil of natural wetland collected in different months, years and sites during the whole study period

Rodzaj próbek Kind of samples	Bakterie mineralizujące lecytynę Lecithin-mineralizing bacteria			Bakterie rozpuszczające fosforan trójwapniowy Tribasic calcium phosphate-solubilizing bacteria		
	zmienna różnicująca differentiating variable					
	miesiąc month	rok year	stanowisko site	miesiąc month	rok year	stanowisko site
Woda Water	0,0110*			0,0014*		
Rośliny wynurzone Aerial leaves				0,0179*		
Rośliny zanurzone Submersed stem surfaces	0,0039*			0,0175*		
Korzenie żywe Living roots				0,0018*		
Korzenie martwe Dead roots	0,0866*			0,0291*		
Gleba ryzosferowa Rhizosphere soil				0,0289*		

Objaśnienia: \*  $p < 0,05$ . Explanations: \*  $p < 0,05$ .

## DYSKUSJA WYNIKÓW

Liczba bakterii mineralizujących lecytynę w wodzie badanego mokradła była zbliżona do stwierdzanej w toni wodnej jezior dystroficznych na obszarze Wigierskiego Parku Narodowego [KUCZYŃSKA, NIEWOLAK, 2004] oraz niektórych jezior w Armenii [KUZNECOV, 1970] i 100-krotnie mniejsza od stwierdzanych w wodzie jezior eu- i dystroficznych w rejo-

nie Węgorzewa na Pojezierzu Mazurskim, nawożonych eksperymentalnie solami mineralnymi [NIEWOLAK, 1980]. W glebie ryzosferowej turzycy błotnej (*Carex acutiformis* Ehrh.) liczba bakterii mineralizujących lecytynę była najczęściej 100–1000-krotnie mniejsza od stwierdzanej w glebach uprawnych z poziomu 0–10 cm [GREAVES, WEBLEY, 1965; KOBUS, 1961] i łąk nawadnianych odpływami z oczyszczalni ścieków bytowo-gospodarczych [NIEWOLAK, TUCHOLSKI, 2008].

Na przykładzie bakterii mineralizujących glicerofosforan wykazano [KOBUS, 1961], że na liczebność tych drobnoustrojów istotny wpływ mają: typ gleby, stopień jej mineralizacji i rodzaj upraw. W glebach gliniastych i torfowych liczba tych bakterii jest 10–100-krotnie mniejsza niż w glebach lessowych. Liczba omawianych drobnoustrojów w ryzosferze turzycy błotnej była 10-krotnie mniejsza od stwierdzanej w ryzosferze pszenicy i bobiku [GREAVES, WEBLEY, 1965]. W przeciwieństwie do danych GREAVSA i WEBLEYA [1965], dotyczących procentowego udziału bakterii mineralizujących lecytynę w ogólnej liczbie bakterii heterotroficznych oznaczanych w glebie okalającej system korzeniowy pszenicy i bobiku oraz ryzosferze tych gatunków roślin udział bakterii mineralizujących lecytynę w ogólnej liczbie bakterii heterotroficznych badanych na podłożu z tryptonem, glukozą i ekstraktem drożdżowym w glebie ryzosferowej turzycy błotnej bywał z reguły mniejszy [KORZENIEWSKA i in., 2007]. Natomiast stosunek liczbowy bakterii mineralizujących lecytynę na korzeniach turzycy błotnej do tych samych bakterii w glebie ryzosferowej (R:G) był zbliżony do podawanego w odniesieniu do wymienionych wyżej ekosystemów [GREAVES, WEBLEY, 1965].

Liczba bakterii rozpuszczających fosforan trójwapniowy w wodzie badanego mokradła tylko sporadycznie osiągała ok. 250 komórek w 1 cm<sup>3</sup>, stwierdzaną w wodzie jezior eutroficznych na Pojezierzu Wschodniopomorskim [NIEWOLAK, 1971]; była ona jednak większa od podawanej (90 komórek w 1 cm<sup>3</sup>) dla wody jezior dystroficznych na obszarze Wigierskiego Parku Narodowego [KUCZYŃSKA, NIEWOLAK, 2004]. W glebie ryzosferowej turzycy błotnej liczba bakterii rozpuszczających fosforan trójwapniowy była zbliżona do występującej w gruntach dna kanału odwadniającego obszar mokradła oraz kilku innych zbiorników śródlęśnych w okolicy Olsztyna [NIEWOLAK, CZAJKA, RODZIEWICZ, 2008], gdzie występowały w ilościach rzędu kilkudziesięciu tysięcy komórek w 1 g suchej masy. Większą liczebność (10–1000-krotnie) tych bakterii stwierdzano w glebach uprawnych [DOMEY, 1992; KOBUS, 1961; MYŚKÓW, 1960; NIEWOLAK, KOC, 1995; NIEWOLAK, TUCHOLSKI, 2008]. Różnice w liczebności bakterii rozpuszczających fosforan trójwapniowy w ryzosferze (na korzeniach) turzycy błotnej i w glebie ryzosferowej tej rośliny były najczęściej niewielkie, odmiennie niż podaje się w literaturze w odniesieniu do tych bakterii w glebie i ryzosferze żyta, pszenicy i lucerny [DOMEY, 1992]. Również udział tych drobnoustrojów w ogólnej liczbie bakterii heterotroficznych (oznaczanych na podłożu z tryptonem, glukozą i ekstraktem drożdżowym) w ryzosferze turzycy błotnej był niewielki. Tylko sporadycznie osiągał większe wartości w ryzosferze turzycy błotnej niż w glebie. W literaturze zagadnienia te były opisywane dość szeroko w odniesieniu do gleb i roślin uprawnych, ale uzyskiwane wyniki były zróżnicowane, prawdopodobnie z powodu różnic typów gleby, badanej roślinności, nawożenia, stadium rozwojowego roślin uprawnych, temperatury i uwilgotnienia [DOMEY, 1992].

Sezonowe zmiany liczebności bakterii mineralizujących lecytynę i rozpuszczających fosforan trójwapniowy w wodzie i zanurzonych w niej częściach turzycy błotnej, na korze-

niach i w glebie ryzosferowej tej rośliny mogły być spowodowane wyższą temperaturą w okresie wiosny i lata i niższymi jej wartościami jesienią i zimą oraz fazami rozwojowymi roślin, modyfikowanymi nasłonecznieniem, mającym wpływ na ilość i jakość wydzielin korzeniowych [ROVIRA, 1965]. Większa liczebność bakterii mineralizujących lecytynę, stwierdzana wiosną 1993 r. w wodzie, na zanurzonych w niej częściach turzycy błotnej, na powierzchni korzeni ubiegłorocznych (martwych) i w glebie ryzosferowej turzycy błotnej może być związana z mineralizacją substancji organicznej, zdeponowanej jesienią ubiegłego roku po obumarciu organizmów roślinnych i zwierzęcych, nierozłożonej wskutek niskiej temperatury zimą. Maksymalną liczebność tych drobnoustrojów, stwierdzaną jesienią, tłumaczy się wzbogacaniem środowiska w substancję organiczną obumarłych resztek roślinnych i zwierzęcych.

Większa liczebność bakterii rozpuszczających fosforan trójwapniowy na powierzchni zanurzonych w wodzie części turzycy błotnej, w glebie ryzosferowej tej rośliny oraz na jej korzeniach, stwierdzana latem (w lipcu i sierpniu), mogła być związana z uwalnianiem przez roślinę do środowiska wydzielin pochodzenia węglowodanowego. Obserwacje poczynione na przykładzie *Spartina alterniflora*, zasiedlającej słone bagna południowo-wschodnich obszarów stanu New Hampshire w Stanach Zjednoczonych [HINES, KNOLLMAYER, TUGEL, 1989; ROONEY-VARGA i in., 1997], wskazują na większą liczebność niektórych bakterii heterotroficznych w pierwszych fazach wzrostu rośliny wskutek wzmożonego wydzielania węglowodanów przez korzenie i włośniki w ryzosferze, a mniejszą w końcowych fazach wzrostu wegetatywnego, kiedy ilość wydzielanych węglowodanów w ryzosferze się zmniejsza. Poza wydzielinami korzeniowymi na proliferację bakterii w ryzosferze turzycy błotnej wpływ mogły mieć również inne czynniki, w tym materiał organiczny złuszczonej się komórek tkanki zewnętrznej włośników podczas ich wzrostu. ROVIRA [1965] wymienia jeszcze różnice stężenia  $O_2$  i  $CO_2$ , zmiany pH i zawartości pierwiastków biogennych. Według tego autora kluczowe znaczenie mają jednak wydzieliny korzeniowe selektywnie stymulujące rozwój drobnoustrojów wokół młodych korzeni i włośników, natomiast obumierające komórki tkanki korzeniowej wpływają korzystnie na rozwój drobnoustrojów na starszych korzeniach.

## WNIOSKI

1. Bakterie mineralizujące lecytynę i bakterie rozpuszczające fosforan trójwapniowy w badanych ekosystemach mokradła stanowią nieliczną grupę drobnoustrojów w porównaniu z ogólną liczbą bakterii heterotroficznych.

2. Różnice w liczebności bakterii mineralizujących lecytynę i bakterii rozpuszczających fosforan trójwapniowy na poszczególnych stanowiskach badawczych były najczęściej niewielkie (w zakresie 1–2 rzędów wielkości). W wodzie ze wszystkich 3 stanowisk badawczych często nie wykrywano ich w próbkach objętości 1 cm<sup>3</sup>.

3. Z reguły liczniejsze występowanie badanych grup fizjologicznych bakterii czynnych w obiegu fosforu w lipcu i sierpniu mogły być związane ze wzrostem temperatury i natężenia promieni świetlnych, stadium rozwojowym turzycy błotnej (*Carex acutiformis* Ehrh.) i uwalnianiem do gleby produktów fotosyntezy, będących źródłem węgla i energii dla tych drobnoustrojów.

4. Duża liczebność bakterii mineralizujących lecytynę na powierzchni zanurzonych w wodzie części turzycy błotnej i w glebie okalającej system korzeniowy tej rośliny w listopadzie 1994 r. mogła być spowodowana zahamowaniem rozwoju i aktywności organizmów antagonistycznych (fitoplankton, zooplankton, zoobentos) w związku z niską temperaturą i zwiększeniem zawartości substancji organicznej obumarłych resztek roślinnych i zwierzęcych.

5. Przewaga liczbowa bakterii mineralizujących lecytynę i rozpuszczających fosforan trójwapniowy na korzeniach turzycy błotnej nad ich liczebnością w glebie ryzosferowej rośliny mogła być związana ze zwiększonym wydzielaniem produktów asymilacji w obrębie korzeni w pierwszych fazach wzrostu wegetacyjnego.

Praca wykonana w ramach tematu badawczego Projekt KBN 03 030 207

## LITERATURA

- BUNT J.S., ROVIRA A.D., 1955. Microbiological studies of some subantarctic soils. *J. Soil. Sci.* 6 s. 119–125.
- CHUNG H., PARK M., MADHAIYAN M., SESHADRI S., SONG J., CHO H., SA T., 2005. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from rhizosphere of crop plants in Korea. *Soil Biol. Biochem.* 37 s. 1970–1974.
- CRAVEN P.A., HAYASAKA S.S., 1982. Inorganic phosphate solubilization by rhizosphere bacteria in a *Zostera marina* community. *Can. J. Microbiol.* 28 s. 605–610.
- DOMEY S., 1992. Vorkommen Phosphatmobilisierender Bakterien in der Rhizosphäre landwirtschaftlicher Kulturpflanzen bei mittleren bis hoher Phosphor-Versorgung des Bodens. *Zentralbl. Mikrobiol.* 147 s. 270–276.
- FÖRSTER L., FREIER K., 1988. Beiträge zur Phosphormobilisierung durch Boden-Mikroorganismen in verschiedenen Böden der DDR. *Wiss. Zeitschr. Univ. Halle* 37 s. 56–63.
- GALE P.M., REDDY K.R., GRAETZ A., 1994. Phosphorus retention by wetland soils used for treated wastewater disposal. *J. Env. Qual.* 23 s. 370–377.
- GÄCHTER R., MEYER J.S., 1993. The role of microorganisms in mobilization and fixation of phosphorus in sediments. *Hydrobiol.* 253 s. 101–121.
- GOENADI D.H., SUGIARTO Y., 2000. Bioactivation of poorly soluble phosphate rocks with a phosphorus-solubilizing fungus. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 64 s. 927–932.
- GOLTERMAN H.L., 1984. Sediments, modifying and equilibrating factors in the chemistry of freshwater. *Verh. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.* 22 s. 23–59.
- GREAVES M.P., WEBLEY D.M., 1965. A study of the breakdown of organic phosphates by microorganisms from the root region of certain pasture grasses. *J. Appl. Bacteriol.* 28 s. 454–465.
- HINES M.E., KNOLLMEYER S.L., TUGEL J.B., 1989. Sulfate reduction and other sedimentary biogeochemistry in a northern New England salt marsh. *Limnol. Oceanogr.* 34 s. 578–590.
- ILLMER P., BARBATO A., SHINNER F., 1995. Solubilization of hardly soluble  $AlPO_4$  with P-solubilizing microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* 27 s. 265–270.
- ILLMER P., SCHINNER P., 1995. Solubilization of inorganic calcium phosphates-solubilization mechanisms. *Soil Biol. Biochem.* 27 s. 257–263.
- JOHNSTON C.A., 1991. Sediment and nutrient retention by freshwater wetlands: effect of surface water quality. *Critical Rev. Env. Contr.* 21 s. 491–565.
- JONES D., SMITH B.F.J., WILSON M.J., GOODMAN B.A., 1991. Phosphate solubilizing fungi in a Scottish upland soil. *Mycol. Res.* 95 s. 1090–1093.

- KOBUS J., 1961. Udział drobnoustrojów w przemianach związków fosforowych w glebie. *Rocz. Nauk Rol. Ser. D* t. 91 ss. 101.
- KOCHAŃSKA E., 1991. Wpływ gospodarki rolniczej na jakość wód Zbiornika Omulewskiego. Olsztyn: UWM rozpr. dokt. ss. 96.
- KORZENIEWSKA E., BRZOZOWSKA R., CZECHOWSKA K., FILIPKOWSKA Z., NIEWOLAK S., 2007. Seasonal changes in the numbers of some physiological groups of heterotrophic bacteria in the water, soil and plants of the wetlands near Olsztyn. *Arch. Env. Protect.* 33 s. 29–36.
- KUCZYŃSKA A., NIEWOLAK S., 2004. Bakterie celulolityczne, mineralizujące lecytynę, rozpuszczające fosforan trójwapniowy i redukujące siarczany w wodzie jezior dystroficznych na obszarze Wigerskiego Parku Narodowego. *Rocz. Augustowsko-Suwalski* 4 s. 175–185.
- KUZNECOV S.I., 1970. Mikroflora ozer i jeje geochimičeskaja dejatel'nost'. Leningrad: Izd. Nauka ss. 440.
- MAHMOUD S.A.Z., ABDEL-HAFEZ A.M., EL-SHAWY M., HANAFY E.A., 1973. Ribonucleic acid and lecithin-dissolving bacteria in soil and rhizosphere of wheat and bread bean, cultivated in Egypt. *Zbl. Bakt. Parasitk. Infektionskrh. Hyg. Abt. 2* 128 s. 196–202.
- MIENKINA R.A., 1950. Bakterii mineralizujuščie organičeskie sojedenenija fosfora. *Mikrobiol.* 19 s. 308–316.
- MYŚKÓW W., 1960. Badania nad drobnoustrojami rozkładającymi fosforany wapnia. *Rocz. Nauk Rol. Ser. D* t. 88 ss. 156.
- NIEWOLAK S., 1971. The microbiological decomposition of tribasic calcium phosphate in Iława Lakes. *Acta Hydrobiol.* 13 s. 131–145.
- NIEWOLAK S., 1980. The occurrence of microorganisms in fertilized lakes. 2. Lecithin-mineralizing microorganisms. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 27 s. 53–71.
- NIEWOLAK S., BRZOZOWSKA R., CZECHOWSKA K., FILIPKOWSKA Z., KORZENIEWSKA E., 2007. Sezonowe zmiany liczebności promieniowców i grzybów (nitkowatych i drożdżoidalnych) w wodzie, glebie i roślinności śródleśnych mokradeł w okolicy Olsztyna. *Woda Środ. Obsz. Wiej. t. 7 z. 2a* (20) s. 271–291.
- NIEWOLAK S., CZAJKA R., RODZIEWICZ W., 2008. Badania mikrobiologiczne drobnych zbiorników śródleśnych w okolicy Olsztyna (w przygotowaniu).
- NIEWOLAK S., KOC J., 1995. Microbiological studies on soils fertilized with pig slurry. *Pol. J. Env. St.* 4 s. 41–47.
- NIEWOLAK S., KORYCKA A., KRAŚNICKI K., 1978. Rozpuszczanie niektórych związków mineralnych fosforu w osadach dennych jezior nawożonych. *Rocz. Nauk Rol. Ser. H* t. 99 z. 1 s. 141–174.
- NIEWOLAK S., KORYCKA A., KRAŚNICKI K., 1996. The influence of some factors on phosphate solubilization by microorganisms in bottom sediments of different type. *Pol. J. Env. St.* 5 s. 51–57.
- NIEWOLAK S., TUCHOLSKI S., 2008. Cellulolytic, lecithin-mineralizing, phosphate solubilizing and sulfate-reducing bacteria in soil fertilized with biologically treated sewage. *Pol. J. Nat. Sci.* w druku.
- PARRET A.H., SCHOofs G., PROOST P., DE MOT R., 2003. Plant lecthin-like bacteriocin from a rhizosphere-colonising *Pseudomonas* isolate. *J. Bact.* 185 s. 897–908.
- REDDY K.R., 1983. Soluble phosphorus release from organic soils. *Agric. Ecosystems Env.* 9 s. 373–382.
- REDDY K.R., D'ANGELO E.M., 1997. Biochemical indicators of evaluate pollutant removal efficiency in constructed wetlands. *Water Sci. Tech.* 35 s. 1–10.
- RODRIGUEZ H., FRAGA R., 1999. Phosphate-solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol. Adv.* 17 s. 319–339.
- ROJAS A., HOLGUIN G., GLICK B.R., BASHAN Y., 2001. Synergism between *Phyllobacterium* sp. (N<sub>2</sub>-fixer) and *Bacillus licheniformis* (P-solubilizer), both from semiarid mangrove rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.* 35 s. 181–187.

- ROONEY-VARGA J.N., DEVEREUX R., EVANS R.S., HINES M.E., 1997. Seasonal changes in the relative abundance of uncultivated sulfate-reducing bacteria in a salt, marsh sediment and in the rhizosphere of *Spartina alterniflora*. *Appl. Env. Microbiol.* 63 s. 3895–3901.
- ROVIRA A.D., 1965. Interaction between plant roots and soil microorganisms. *Ann. Rev. Microbiol.* 19 s. 241–266.
- SEPPÄNEN H., 1971. Bacteriological studies on waters with a low electrolyte concentration. Helsinki University of Technology Research Papers. Otaniemi, Finland 34 ss. 87.
- STANISZ A., 2006. Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem STATISTICA PL na przykładach z medycyny. T. 1. Statystyki podstawowe. Kraków: StatSoft Polska ss. 532.
- UUSI-KÄMPPÄ J., BRASKERUD B., JANSSON H., SYVERSEN N., UUSITALO R., 2000. Buffer zones and constructed wetlands as filter for agricultural phosphorus. *J. Env. Qual.* 29 s. 151–158.
- VAZQUEZ P., HOLGUIN G., PUENTE M.E., LOPEZ-CORTEZ A., BASHAN Y., 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves growing in a semiarid coastal lagoon. *Biol. Fertil. Soils* 30 s. 460–468.
- WALBRIDGE M.R., 1993. Functions and values of forested wetlands in the Southern United States. *J. Forestry* 91 s. 15–19.

*Stanisław NIEWOLAK, Renata BRZOZOWSKA, Ewa KORZENIEWSKA,  
Zofia FILIPKOWSKA, Karolina CZECHOWSKA*

**SEASONAL CHANGES IN THE NUMBER OF LECITHIN-MINERALIZING  
AND TRIBASIC CALCIUM PHOSPHATE-SOLUBILIZING BACTERIA  
IN WATER, SOIL AND ON PLANT SURFACE  
OF MID-FOREST WETLANDS NEAR OLSZTYN**

*Keywords: bacteria, lecithin-mineralization, plants, soil, tribasic calcium phosphate-solubilization, water, wetland*

**S u m m a r y**

Seasonal changes in the numbers of lecithin-mineralizing and tricalcium phosphate-dissolving bacteria in water, soil, on the sedge (*Carex acutiformis* Ehrh.) surfaces immersed in water, on its leaves and roots (dead and alive) were studied. The study was carried out in two annual cycles (in 1993 and 1994). Low numbers of studied groups of microorganisms were found in water, higher on the surface of submerged parts of plants and the highest in the soil in and outside the rhizosphere. In the annual cycle, bacteria were most numerous in summer and present only exceptionally in the autumn months. Both studied groups of bacteria constituted negligible part of the total number of heterotrophic bacteria. The ratio of lecithin-mineralizing bacteria in the rhizosphere to those outside the plant rhizosphere ranged from 0.05 to 4.5. Respective proportion of tribasic calcium phosphate-solubilizing bacteria in both sites ranged from 0.2 to 4.4.

---

**Recenzenci:**

*prof. dr hab. Maria Król*

*prof. dr hab. Stefan Russel*

Praca wpłynęła do Redakcji 10.03.2008 r.