

Występowanie wybranych mikroorganizmów w glebie na obszarze Puszczy Niepołomickiej ze szczególnym uwzględnieniem grzybów pleśniowych

Agnieszka Galus-Barchan, Iwona Paśmionka

Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, Polska

Abstrakt. Celem pracy było ustalenie składu ilościowego podstawowych grup drobnoustrojów oraz określenie składu jakościowego grzybów mikroskopowych w glebach Puszczy Niepołomickiej. Średnia liczebność grzybów wyniosła 23,1 tys. jtk·g⁻¹ s.m. gleby. W analizowanych próbkach gleby stwierdzono występowanie 32 gatunków grzybów mikroskopowych, z których największy udział przypadł *Trichoderma viride* i *Aspergillus fumigatus*. Największą liczebność mikroorganizmów odnotowano w listopadzie i maju, wtedy również temperatury powietrza były najwyższe, natomiast w grudniu i styczniu stwierdzono zdecydowany spadek liczebności drobnoustrojów. Wartość współczynnika korelacji dla temperatury i liczebności grzybów wskazuje na silną zależność.

słowa kluczowe: grzyby pleśniowe, mikroorganizmy, gleba leśna

o ich zróżnicowaniu decyduje różnorodność genetyczna, gatunkowa oraz funkcjonalna (Kozdrój, 2004). Większe zróżnicowanie mikroorganizmów ma miejsce wtedy, gdy ich środowisko jest zasobniejsze i bogatsze pod względem chemicznym, a takim środowiskiem jest bez wątpienia gleba leśna.

Celem pracy było ustalenie składu ilościowego mikroorganizmów bytujących w glebach Puszczy Niepołomickiej, a zatem określenie liczebności podstawowych grup drobnoustrojów: bakterii (formy wegetatywne i przetrwalne), promieniowców i grzybów oraz określenie składu jakościowego grzybów mikroskopowych, z uwagi na bardzo istotne funkcje pełnione w ekosystemach glebowych właśnie przez tę grupę mikroorganizmów.

WSTĘP

W ekosystemach lądowych większość organizmów znajduje dogodne warunki do życia, w nich także ma miejsce najintensywniejsze gromadzenie się substancji organicznej (Barabasz, Voříšek, 2002). Uważa się, iż ponad 65% zasobów biologicznych naszego kraju jest skoncentrowanych właśnie w ekosystemach leśnych. Ich składowymi są zarówno zwierzęta, rośliny, jak i gleba. Jedną z charakterystycznych cech gleby jest jej aktywność biologiczna, a jednym z czynników glebotwórczych biorących udział w procesie kształtowania żyzności gleb i udostępnianiu roślinom składników pokarmowych oraz detoksykacji szkodliwych związków chemicznych są mikroorganizmy, a wśród nich grzyby mikroskopowe. Drobnoustroje posiadają rozmaite cechy pozwalające im na opanowywanie wszystkich nadających się do życia siedlisk. W glebie

MATERIAŁY I METODY

W celu ustalenia liczebności mikroorganizmów w glebach Puszczy Niepołomickiej oraz identyfikacji bytujących tam grzybów mikroskopowych zostały wyznaczone 3 punkty badawcze, z których punktowo pobierano próbki gleby do analizy mikrobiologicznej:

obiekt nr 1 – Szarów, nr obszaru 140;

obiekt nr 2 – Stanisławice, nr obszaru 288;

obiekt nr 3 – Kłaj, nr obszaru 291.

Analizowane gleby z Puszczy Niepołomickiej charakteryzują się odczynem pH z przedziału 3,8–5,4, są to więc gleby bardzo kwaśne i kwaśne, zaliczane do gleb brunatnych kwaśnych i bielcowych.

Próbki były pobierane do sterylnych szklanych kolbek z wierzchniej warstwy gleby (z głębokości 10–20 cm) za pomocą jałowego noża mikrobiologicznego. Pobierano je w następujących terminach: 11.10.2009 r., 07.11.2009 r., 29.11.2009 r., 12.12.2009 r., 06.01.2010 r., 24.01.2010 r., 21.02.2010 r., 15.03.2010 r., 07.04.2010 r., 02.05.2010 r. W dniach pobierania próbek notowano również temperaturę powietrza atmosferycznego. Jednorazowo pobierano próbkę gleby w ilości około 1 kg, a następnie w laboratorium wykonywano naważki po 10 g.

Autor do kontaktu:

Agnieszka Galus-Barchan
e-mail: agalus-barchan@ar.krakow.pl
tel. +48 12 662 40 96

Praca wpłynęła do redakcji 17 lipca 2013 r.

Przed wykonaniem analiz mikrobiologicznych próbek glebowych oznaczano ich odczyn (pH w H₂O) metodą potencjometryczną oraz wilgotność metodą wagową. Analizy mikrobiologiczne zostały wykonane metodą płytkową kolejnych rozcieńczeń. Metoda ta obejmowała określenie ogólnej liczebności bakterii (formy wegetatywne i przetrwalne) oraz promieniowców i grzybów. Odczyt analizy ilościowej był wykonywany po okresie inkubacji właściwym dla poszczególnych grup drobnoustrojów: bakterie – 24 h w temperaturze 37°C na podłożu MPA, promieniowce – 3 dni i 28°C na podłożu Gausa, grzyby – 3–5 dni w 28°C na agarze brzezkowym. Oznaczono liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk), które wyrosły na określonych podłożach mikrobiologicznych w płytkach Petriego. Po wykonaniu analizy ilościowej, w celu przyporządkowania grzybów do konkretnych gatunków, przeprowadzono izolację na agar brzezkowy i agar Czapeka. Po okresie inkubacji trwającym 3–5 dni w temp. 28°C, z uzyskanych hodowli grzybów sporządzano przyżyciowe preparaty mikroskopowe i dokonywano obserwacji pod mikroskopem świetlnym. Grzyby identyfikowano w oparciu o klucze do oznaczania przynależności systematycznej: „A manual of soil fungi” J.C. Gilman (1957), „The Genus *Aspergillus*” B. Raper (1965), „Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej” O. Fassatiowa (1983). Badania statystyczne wykonano za pomocą programu Statistica 10 wykorzystując współczynnik korelacji *r* Pearsona.

WYNIKI

W wybranych obiektach pomiarowych odczyn gleby wahał się w przedziałach 4,2–4,7 obiekt nr 1, 3,8–4,5 obiekt nr 2 oraz 4,4–5,4 obiekt nr 3. Zmiany pH gleby w kolejnych miesiącach nie dają możliwości określenia jednoznacznego wpływu na liczebność mikroorganizmów, gdyż przy takich samych wartościach pH liczebności drobnoustrojów bardzo się różnią. Czynnikiem mającym wpływ na występowanie drobnoustrojów była zapewne temperatura powietrza, ponieważ w styczniu przy panujących mrozach stwierdzono zdecydowany spadek ich liczebności, a w miesiącach ciepłych jej wzrost.

W obiekcie nr 1 (tab. 1) największą liczebność bakterii zanotowano 11.10.2009 r. i wynosiła ona 486 tys. jtk·g⁻¹ gleby (formy wegetatywne) i 221 tys. jtk·g⁻¹ gleby (formy przetrwalne). Najmniej licznie bakterie wystąpiły w punkcie nr 1 w miesiącach zimowych, a ich liczebność kształtowała się na poziomie 91,9 tys. jtk·g⁻¹ gleby w lutym (formy wegetatywne) i 37,7 tys. jtk·g⁻¹ gleby na początku stycznia (formy przetrwalne). Liczebność promieniowców i grzybów w tym punkcie była znacznie niższa od ilości bakterii. Najwyższą liczebność promieniowców oznaczono w glebie w październiku (7,4 tys. jtk·g⁻¹ gleby), a najniższą 12.12.2009 r. (2,9 tys. jtk·g⁻¹ gleby). Największą ilość grzybów stwierdzono również 11.10.2009 r. (53,7 tys. jtk·g⁻¹ gleby), natomiast najmniejszą liczebność w lutym

(1,2 tys. jtk·g⁻¹ gleby). Wartość ta była najniższa w ciągu całego okresu badań.

W punkcie nr 2 (tab. 2) najczęściej form wegetatywnych bakterii stwierdzono w październiku (625 tys. jtk·g⁻¹ gleby), natomiast najczęściej form przetrwalnych na początku listopada (301,9 tys. jtk·g⁻¹ gleby). Z kolei najmniejszą liczbę form wegetatywnych bakterii zanotowano pod koniec stycznia (77 tys. jtk·g⁻¹ gleby), a form przetrwalnych w marcu (36,4 tys. jtk·g⁻¹ gleby). Najmniej promieniowców w punkcie nr 2 odnotowano w glebie w grudniu (3,3 tys. jtk·g⁻¹ gleby). W przypadku grzybów najniższą ich liczebność, na poziomie 2,3 tys. jtk·g⁻¹ gleby, odnotowano również w grudniu. Największe ilości promieniowców 9,4 tys. jtk·g⁻¹ stwierdzono 29.11.2009 r., a grzybów 56,5 tys. jtk·g⁻¹ gleby 11.10.2009 r.

W punkcie nr 3 (tab. 3) najczęściej form wegetatywnych bakterii w glebie odnotowano 11.10.2009 r. (394 tys. jtk·g⁻¹ gleby), a form przetrwalnych 7.11.2009 r. (246,3 tys. jtk·g⁻¹ gleby). Najmniejsze liczebności bakterii, zarówno form wegetatywnych, jak i przetrwalnych, stwierdzono w drugiej połowie stycznia. Wynosiły one odpowiednio 14,1 tys. jtk·g⁻¹ gleby i 9,6 tys. jtk·g⁻¹ gleby. Były to najmniejsze ilości bakterii, jakie zanotowano w ciągu całego okresu przeprowadzanych analiz mikrobiologicznych gleby. W punkcie nr 3 także liczebność promieniowców była najmniejsza spośród wszystkich trzech punktów (1 tys. jtk·g⁻¹ gleby 24.01.2010 r.). Najwięcej promieniowców w tym punkcie zanotowano w maju (7,1 tys. jtk·g⁻¹ gleby). Najwięcej grzybów stwierdzono pod koniec listopada (84 tys. jtk·g⁻¹ gleby), najmniej zaś 6.01.2010 r. (9 tys. jtk·g⁻¹ gleby).

Z analizowanych gleb Puszczy Niepołomickiej wyizolowano 32 gatunki grzybów mikroskopowych należących do 15 rodzajów. Spośród wszystkich gatunków 10 było przedstawicielami rodzaju *Penicillium*. W ciągu całego okresu badawczego najczęściej gatunków grzybów (14) wyizolowano 21.02.2010 r., natomiast najmniej (6) w październiku 2009 r.

Gatunkiem najczęściej występującym w badanych glebach był *Trichoderma viride*, który stanowił 17,8% wszystkich wyizolowanych grzybów. Dużym udziałem charakteryzowały się również: *Aspergillus fumigatus* (15,5%), *Aspergillus niger* (9,3%), *Mucor hiemalis* (9,3%) oraz *Verticillium lactarii* (7,8%). Często pojawiały się gatunki: *Gliocladium roseum* (4,7%), *Penicillium chermesinum* (3,1%), *Penicillium spinulosum* (3,1%), *Mortierella ramanniana* (3,1%), *Penicillium thomii* (3,1%), na poziomie 2,3% występowały gatunki: *Penicillium janthinellum* i *Penicillium waksmanii* oraz *Beauveria bassiana*, *Humicola fuscoatra*, *Torula herbarum* i *Trichoderma koningi* stanowiące po 1,6%. Gatunkami sporadycznie pojawiającymi się, których udział kształtował się na poziomie 0,8%, były: *Acremonium strictum*, *Aspergillus parasiticus*, *Mucor fragilis*, *Mucor piniformis*, *Myrothecium verrucaria*, *Paecilomyces fulvus*, *Paecilomyces niveus*, *Penicillium*

Tabela 1. Kształtowanie się liczebności mikroorganizmów w glebie w obiekcie nr 1 z uwzględnieniem parametrów środowiska w okresie 11.10.2009–2.05.2010 r.

Table 1. Forming oneself numbers of microorganisms in the soil in the object No. 1 including environmental characteristics in the 11.10.2009–2.05.2010 period.

| Wyszczególnienie Specification | Data poboru próbek gleby Date of the drawing of soil samples | | | | | | | | | |
|---|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 2009 | | | | | 2010 | | | | |
| | 11.10 | 07.11 | 29.11 | 12.12 | 06.01 | 24.01 | 21.02 | 15.03 | 07.04 | 02.05 |
| Liczebność [tys. jtk·g ⁻¹ gleby] Amount [thous. cfu g ⁻¹ soil] | | | | | | | | | | |
| bakterie formy wegetatywne bacteria of the form vegetative | 486 | 350 | 400 | 127,7 | 235,3 | 235,3 | 91,9 | 126,6 | 197,2 | 278,3 |
| bakterie formy spoczynkowe bacteria of the form endospores | 221 | 190,2 | 212 | 96,3 | 37,7 | 97,1 | 44,7 | 46 | 120,4 | 195 |
| promieniowce <i>Actinomycetales</i> | 7,4 | 3,8 | 7,2 | 2,9 | 6,1 | 3,3 | 4,2 | 3,1 | 5 | 5,7 |
| grzyby fungi | 53,7 | 20,4 | 27,9 | 4,6 | 3,9 | 2,9 | 1,2 | 25,5 | 33,5 | 24 |
| Temperatura powietrza [°C] Air temperature [°C] | 12 | 8 | 10 | -5 | -3 | -15 | 3 | 4 | 11 | 17 |
| pH gleby pH of the soil | 4,5 | 4,2 | 4,4 | 4,4 | 4,2 | 4,7 | 4,3 | 4,5 | 4,6 | 4,2 |
| Wilgotność gleby [%] Humidity of soil [%] | 15,3 | 18,8 | 24,9 | 15,8 | 25,2 | 14,6 | 36,2 | 34,2 | 27,4 | 21,5 |

Tabela 2. Kształtowanie się liczebności mikroorganizmów w glebie w obiekcie nr 2 z uwzględnieniem parametrów środowiska w okresie 11.10.2009–2.05.2010 r.

Table 2. Forming oneself numbers of microorganisms in the soil in the object No. 2 including environmental characteristics in the 11.10.2009–2.05.2010 period.

| Wyszczególnienie Specification | Data poboru próbek gleby Date of the drawing of soil samples | | | | | | | | | |
|---|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 2009 | | | | | 2010 | | | | |
| | 11.10 | 07.11 | 29.11 | 12.12 | 06.01 | 24.01 | 21.02 | 15.03 | 07.04 | 02.05 |
| Liczebność [tys. jtk·g ⁻¹ gleby] Amount [thous. cfu g ⁻¹ soil] | | | | | | | | | | |
| bakterie formy wegetatywne bacteria of the form vegetative | 625 | 546,5 | 262 | 185 | 130,1 | 77 | 237,2 | 168 | 109,5 | 252,6 |
| bakterie formy spoczynkowe bacteria of the form endospores | 270,4 | 301,9 | 93,5 | 120 | 40,2 | 50,1 | 78 | 36,4 | 54,3 | 154,1 |
| promieniowce <i>Actinomycetales</i> | 4,7 | 6,6 | 9,4 | 3,3 | 4,1 | 3,9 | 9 | 5,8 | 6 | 6,3 |
| grzyby fungi | 56,5 | 27,1 | 11,2 | 2,3 | 8,2 | 3 | 6,7 | 5,7 | 25,2 | 49,1 |
| Temperatura powietrza [°C] Air temperature [°C] | 12 | 8 | 10 | -5 | -3 | -15 | 3 | 4 | 11 | 17 |
| pH gleby pH of the soil | 4 | 3,8 | 4 | 4 | 3,9 | 4,5 | 4,2 | 4,1 | 4,3 | 4,1 |
| Wilgotność gleby [%] Humidity of soil [%] | 12,5 | 22,5 | 14,4 | 12,3 | 19,6 | 17,5 | 32,5 | 27,0 | 22,6 | 19,3 |

citrinum, *Penicillium frequentans*, *Penicillium notatum*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium terrestre*, *Humicola brevis*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Trichothecium roseum* i *Verticillium tenerum*.

Z gleby pobranej z obiektu nr 1 wyizolowano 17 gatunków grzybów mikroskopowych przynależnych do 10

rodzajów. Najliczniej występowały gatunki *Trichoderma viride* (21,6%), *Aspergillus fumigatus* (13,5%) oraz *Mucor hiemalis* (13,5%) (tab. 4). W punkcie tym, jak również w punkcie nr 2, pojawiło się aż 6 gatunków z rodzaju *Penicillium*. Gatunkami najrzadziej pojawiającymi się tutaj były: *Humicola brevis*, *Mortierella ramanniana*, *Peni-*

Tabela 3. Kształtowanie się liczebności mikroorganizmów w glebie w obiekcie nr 3 z uwzględnieniem parametrów środowiska w okresie 11.10.2009–2.05.2010 r.

Table 3. Forming oneself numbers of micro-organisms in the soil in the object No. 3 including environmental characteristics in the 11.10.2009–2.05.2010 period.

| Wyszczególnienie Specification | Data poboru próbek gleby; Date of the drawing of soil samples | | | | | | | | | |
|---|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 2009 | | | | | 2010 | | | | |
| | 11.10 | 07.11 | 29.11 | 12.12 | 06.01 | 24.01 | 21.02 | 15.03 | 07.04 | 02.05 |
| Liczebność [tys. jtk·g ⁻¹ gleby] Amount [thous. cfu g ⁻¹ soil] | | | | | | | | | | |
| bakterie formy wegetatywne bacteria of the form vegetative | 394 | 379,5 | 143,3 | 84 | 142,5 | 14,1 | 60,8 | 59 | 125 | 347,7 |
| bakterie formy spoczynkowe bacteria of the form endospores | 210,1 | 246,3 | 46,9 | 50,7 | 13,1 | 9,6 | 19,4 | 14,8 | 49,5 | 136,5 |
| promieniowce <i>Actinomycetales</i> | 4,6 | 4,4 | 4,5 | 3,4 | 3,5 | 1 | 1,8 | 4,1 | 6,9 | 7,1 |
| grzyby fungi | 47,4 | 19,4 | 84 | 13,3 | 9 | 14,8 | 37,7 | 16,1 | 14 | 43,9 |
| Temperatura powietrza [°C] Air temperature [°C] | 12 | 8 | 10 | -5 | -3 | -15 | 3 | 4 | 11 | 17 |
| pH gleby pH of the soil | 5,4 | 5,2 | 4,9 | 4,9 | 5,1 | 5 | 4,7 | 4,4 | 4,9 | 5,1 |
| Wilgotność gleby [%] Humidity of soil [%] | 21,6 | 19,8 | 27,2 | 16,2 | 16,7 | 21,9 | 34,4 | 29,7 | 22,3 | 24,3 |

Tabela 4. Procentowy udział gatunków grzybów w glebie w obiekcie nr 1

Tabela 4. Percentage share of species of fungi in the soil in the object No. 1.

| Lp. No. | Gatunki grzybów Species | Udział Range [%] |
|------------|---|------------------------|
| 1 | <i>Trichoderma viride</i> Persoon | 21,6 |
| 2 | <i>Mucor hiemalis</i> Wehmer | 13,5 |
| 3 | <i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius | 13,5 |
| 4 | <i>Penicillium spinulosum</i> Thom | 8,1 |
| 5 | <i>Aspergillus niger</i> van Tieghem | 5,4 |
| 6 | <i>Torula herbarum</i> Link | 5,4 |
| 7 | <i>Gliocladium roseum</i> Link | 5,4 |
| 8 | <i>Mortierella ramanniana</i> Möller | 2,7 |
| 9 | <i>Penicillium chermesinum</i> Biourge | 2,7 |
| 10 | <i>Penicillium citrinum</i> Thom | 2,7 |
| 11 | <i>Penicillium janthinellum</i> Biourge | 2,7 |
| 12 | <i>Penicillium thomii</i> Maire | 2,7 |
| 13 | <i>Penicillium waksmanii</i> Zaleski | 2,7 |
| 14 | <i>Humicola brevis</i> Mason | 2,7 |
| 15 | <i>Verticillium lactarii</i> Viegas | 2,7 |
| 16 | <i>Verticillium tenerum</i> Ness | 2,7 |
| 17 | <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> Bainier | 2,7 |

cillium citrinum, *Penicillium janthinellum*, *Penicillium chermesinum*, *Penicillium thomii*, *Penicillium waksmanii*, *Scopulariopsis brevicaulis* czy *Verticillium tenerum* i *Verticillium lactarii*. Podobnie jak w punkcie nr 3, największy udział procentowy przypadł tu rodzajom: *Penicil-*

ium (21,6%), *Trichoderma* (21,6%), *Aspergillus* (18,9%) i *Mucor* (13,5%). Gatunkami wspólnymi dla wszystkich punktów były: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Gliocladium roseum*, *Mucor hiemalis*, *Trichoderma viride*, *Verticillium lactarii* i *Penicillium chermesinum*.

W obiekcie nr 2 stwierdzono występowanie 16 gatunków grzybów reprezentujących 9 rodzajów, spośród których największy udział przypadł *Aspergillus fumigatus* (17,4%), *Trichoderma viride* (17,4%), *Verticillium lactarii* (13%) i *Aspergillus niger* (10,9%), zaś sporadycznie bytowały tam m.in.: *Paecilomyces fulvus*, *Penicillium frequentans* czy *Penicillium waksmanii* (tab. 5). Najczęściej pojawiającymi się rodzajami były: *Aspergillus* (28,3%), *Trichoderma* (21,7%), *Penicillium* (15,3%) i *Verticillium* (13%).

Największą różnorodność gatunkową grzybów stwierdzono w obiekcie nr 3, z którego wyizolowano 21 gatunków grzybów pleśniowych należących do 13 rodzajów. Najczęściej występowały tu: *Aspergillus fumigatus* (15,2%), *Trichoderma viride* (15,2%) i *Aspergillus niger* (10,9%), natomiast rzadko pojawiały się: *Beauveria bassiana*, *Gliocladium roseum*, *Humicola fuscoatra*, *Acremonium strictum*, *Aspergillus parasiticus*, *Mucor fragilis*, *Mucor piniformis*, *Myrothecium verrucaria*, *Paecilomyces niveus*, *Penicillium notatum*, *Penicillium spinulosum*, *Penicillium waksmanii* czy *Trichothecium roseum* (tab. 6). Dominującymi rodzajami były: *Aspergillus* (28,3%), *Penicillium* (17,4%), *Trichoderma* (15,2%) oraz *Mucor* (10,9%).

Na podstawie uzyskanych danych obliczono współczynnik korelacji pomiędzy temperaturą powietrza i li-

Tabela 5. Procentowy udział gatunków grzybów w glebie w obiekcie nr 2

Table 5. Percentage share of species of fungi in the soil in the object No. 2.

| Lp. No. | Gatunki grzybów Species | Udział Range [%] |
|---------|---|------------------------|
| 1 | <i>Trichoderma viride</i> Persoon | 17,4 |
| 2 | <i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius | 17,4 |
| 3 | <i>Verticillium lactarii</i> Viegas | 13,0 |
| 4 | <i>Aspergillus niger</i> van Tieghem | 10,9 |
| 5 | <i>Mucor hiemalis</i> Wehmer | 8,7 |
| 6 | <i>Gliocladium roseum</i> Link | 6,5 |
| 7 | <i>Penicillium janthinellum</i> Biourge | 4,3 |
| 8 | <i>Trichoderma koningii</i> Oudemans | 4,3 |
| 9 | <i>Beauveria bassiana</i> Vuillemin | 2,2 |
| 10 | <i>Humicola fuscoatra</i> Traaen | 2,2 |
| 11 | <i>Paecilomyces fulvus</i> Samson | 2,2 |
| 12 | <i>Penicillium chermesinum</i> Biourge | 2,2 |
| 13 | <i>Penicillium cyclopium</i> Westling | 2,2 |
| 14 | <i>Penicillium frequentans</i> Westling | 2,2 |
| 15 | <i>Penicillium terrestre</i> Jensen | 2,2 |
| 16 | <i>Penicillium waksmanii</i> Zaleski | 2,2 |

Tabela 6. Procentowy udział gatunków grzybów w glebie w obiekcie nr 3

Table 6. Percentage share of species of fungi in the soil in the object No. 3.

| Lp. No. | Gatunki grzybów Species | Udział Range [%] |
|---------|--|------------------------|
| 1 | <i>Trichoderma viride</i> Persoon | 15,2 |
| 2 | <i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius | 15,2 |
| 3 | <i>Aspergillus niger</i> van Tieghem | 10,9 |
| 4 | <i>Mortierella ramanniana</i> Möller | 6,5 |
| 5 | <i>Mucor hiemalis</i> Wehmer | 6,5 |
| 6 | <i>Penicillium thomii</i> Maire | 6,5 |
| 7 | <i>Verticillium lactarii</i> Viegas | 6,5 |
| 8 | <i>Penicillium chermesinum</i> Biourge | 4,3 |
| 9 | <i>Beauveria bassiana</i> Vuillemin | 2,2 |
| 10 | <i>Gliocladium roseum</i> Link | 2,2 |
| 11 | <i>Humicola fuscoatra</i> Traaen | 2,2 |
| 12 | <i>Mucor fragilis</i> Bainier | 2,2 |
| 13 | <i>Mucor piniformis</i> Fischer | 2,2 |
| 14 | <i>Myrothecium verrucaria</i> Fries | 2,2 |
| 15 | <i>Paecilomyces niveus</i> Samson | 2,2 |
| 16 | <i>Penicillium notatum</i> Westling | 2,2 |
| 17 | <i>Penicillium spinulosum</i> Thom | 2,2 |
| 18 | <i>Penicillium waksmani</i> Zaleski | 2,2 |
| 19 | <i>Aspergillus parasiticus</i> Speare | 2,2 |
| 20 | <i>Trichothecium roseum</i> Link | 2,2 |
| 21 | <i>Acremonium strictum</i> Gams | 2,2 |

Tabela 7. Współczynniki korelacji między temperaturą powietrza i liczebnością grzybów

Table 7. Correlation coefficient between air temperature and number of fungi.

| Obiekt Object | Liczebność grzybów Number of fungi | | Współczynnik korelacji Correlation coefficient |
|------------------|---------------------------------------|---|---|
| | średnia mean | odchylenie standardowe standard deviation | |
| 1 | 20,16000 | 17,80862 | 0,711211 [#] |
| 2 | 19,50000 | 19,59127 | 0,746997 [#] |
| 3 | 29,96000 | 23,53188 | 0,526502 [#] |

Średnia temperatura = 4,2°C z odchyleniem standardowym = 9,58; mean temperature = 4,2°C, SD = 9,58

[#] istotne z $p < 0,5$; significant at $p < 0,5$

czebnością grzybów glebowych. Wartość tego współczynnika wyniosła (tab. 7):

0,71 dla wartości $p < 0,5$ w punkcie nr 1;

0,75 dla wartości $p < 0,5$ w punkcie nr 2;

0,53 dla wartości $p < 0,5$ w punkcie nr 3.

Wynika więc z tego, że wraz ze wzrostem temperatury powietrza wzrasta ilość grzybów w glebie, a w punkcie nr 2 zależność ta jest największa.

DYSKUSJA

Rozwój mikroorganizmów w glebie uwarunkowany jest przez wiele czynników, z których najważniejsze to: wilgotność gleby i dostęp powietrza, obecność składników pokarmowych, temperatura, odczyn oraz struktura gleby. Na skład ilościowo-jakościowy mikroorganizmów glebowych może pośrednio wpływać wiele czynników naturalnych, jak i antropogenicznych (Zwoliński, 2005). Badura (2004) podaje, że liczebność bakterii w 1 g gleby może wynosić nawet 5×10^7 . W przypadku badań prowadzonych w wyznaczonych punktach Puszczy Niepołomickiej wartość taka nie została osiągnięta, a najwyższa liczebność wyniosła w przypadku form wegetatywnych 625 tys. jtk·g⁻¹ gleby, natomiast w przypadku form przetrwalnych bakterii 301,9 tys. jtk·g⁻¹ gleby. Wyczółkowski i in. (2002) prowadząc badania mikrobiologiczne gleby torfowo-murszowej o różnym stopniu zmurszenia stwierdzili, że liczebności badanych grup fizjologicznych drobnoustrojów (w tym bakterii) w glebie słabo zmurszałej były wyższe niż w glebie średnio zmurszałej. Liczebność bakterii w glebach słabo zmurszałych wyniosła 7360 tys. jtk·g⁻¹ gleby, natomiast w glebach średnio zmurszałych 4140 tys. jtk·g⁻¹ gleby. Uważa się, że podstawowym procesem realizowanym przez mikroorganizmy glebowe w czasie murszenia jest wykorzystanie do rozkładu materii organicznej tlenu oraz azotanów jako utleniaczy (Wyczółkowski i in., 2002).

Dąbek-Szreniawska i in. (2004), prowadząc badania mikrobiologiczne gleby torfowej i murszowej z terenu Polesia Lubelskiego, uzyskały średnią liczebność bakterii w tych glebach wynoszącą aż $675,995 \times 10^5$ jtk·g⁻¹ s.m. gleby. Stwierdziły, że gleby o średnim stopniu zmurszenia charakteryzują się kilkukrotnie większą ilością bakterii niż gleby słabo i silnie zmurszałe. Pastucha i Kołodziej (2005) analizując glebę leśną, oznaczyły liczebność bakterii tam występujących na 1,7 mln jtk·g⁻¹ gleby, co jest już bliższe wynikom otrzymanym z analizy gleb pochodzących z Puszczy Niepołomickiej.

Ważnym regulatorem rozwoju mikroorganizmów jest m.in. odczyn gleby, ponieważ ma wpływ na rozpuszczalność rozmaitych substancji mineralnych, a tym samym na ich przyswajalność (Górska, Russel, 2004). Określone rodzaje czy gatunki drobnoustrojów, głównie bakterii, bytują w środowisku o pewnych zakresach wartości stężenia jonów hydroniowych. Bakterie najlepiej znoszą pH od 6,5 do 7,5, dlatego warunki panujące w badanych glebach nie są dla nich zbyt korzystne, o czym świadczy ich niewielka liczebność.

Ważnym czynnikiem określającym kierunki rozwoju mikroorganizmów jest baza pokarmowa. Do gleby leśnej trafia znaczna część biomasy drzew i roślin runa (liście, korzenie) bezpośrednio lub po częściowym przetworzeniu przez konsumentów. Jest ona rozkładana przez drobnoustroje z uwolnieniem składników biogenych (Badura, 2002). W glebie powstają mikronisze ekologiczne, które tworzą resztki roślin, żywa oraz martwa mikroflora i mikrofauna czy też ciała obumarłych zwierząt.

Martyn i Skwaryło-Bednarz (2005) analizowali pod względem mikrobiologicznym glebę z rejonu Roztoczańskiego Parku Narodowego. Próbkę pobierali w maju i wrześniu z terenów wykorzystywanych w produkcji polowej w Roztoczańskim Parku Narodowym, w jego otulinie oraz na terenie umiejscowionym poza obrębem parku. Największą liczebność grzybów otrzymali w glebach leśnych RPN (255 tys. jtk·g⁻¹ gleby), najmniejszą zaś w glebach terenów produkcyjnych (185 tys. jtk·g⁻¹ gleby). Doszli do wniosku, że wzrost intensywności gospodarki rolnej przyczynia się do spadku liczebności grzybów glebowych, co ma związek z dostarczaniem substancji organicznej do gleby i zwiększeniem jej odczynu. W glebach z Puszczy Niepołomickiej liczebność grzybów jest wyraźnie mniejsza, bo wynosi 23,1 tys. jtk·g⁻¹ gleby, jednak jest to średnia z okresu od października do maja, więc wpływ na uzyskane wyniki miały również niskie temperatury panujące w miesiącach zimowych. Liczebność grzybów zbliżoną, ale nieco niższą od tej zanotowanej dla gleb z Puszczy Niepołomickiej, otrzymali Niewolak i in. (2007) analizując ryzosferę gleb z terenów śródleśnych mokradeł. Powodem niedużej ilości grzybów mogła być zbyt wysoka wilgotność środowiska. Jak wiadomo, zbyt duża ilość wody w glebie wpływa ujemnie na rozwój mikroorganizmów glebowych, gdyż powoduje zmniejszenie dostępu powietrza (Martyn, Skwaryło-Bednarz, 2005).

Zbiorowiskami grzybów glebowych zajmowała się również Tyszkiewicz (2005). Analizowała ona skład gatunkowy grzybów bytujących w glebach Narwiańskiego Parku Narodowego. W badanych próbkach z 3 punktów otrzymała 17 gatunków grzybów, z każdego po 7, jednak podobieństwo pomiędzy strukturami jakościowymi tych zbiorowisk było niskie lub nie było cech wspólnych. Najczęściej pojawiającymi się gatunkami były: *Penicillium simplicissimum*, *Trichoderma koningi*, *Mucor racemosus*. Porównując te zbiorowiska ze zbiorowiskami grzybów z gleb Puszczy Niepołomickiej, można zauważyć, że występuje tu bardzo małe podobieństwo, gdyż wspólnym gatunkiem jest jedynie *Trichoderma koningi*. Przyczyną tego może być fakt, że badane gleby z Narwiańskiego Parku Narodowego należą do gleb torfowo-murszowych, natomiast poddane analizie gleby z Puszczy Niepołomickiej są glebami bielicowymi. Wynika stąd, że na kształtowanie się zbiorowisk grzybów glebowych w dużym stopniu wpływa proces glebotwórczy.

Badania mikologiczne poddanych antropopresji gleb z okolic Krakowa prowadziła Bis (2006). Stwierdziła zróżnicowanie liczebności grzybów w poszczególnych punktach. Najliczniej wystąpiły one w glebie z rejonu ronda A. Matecznego (234 tys jtk·g⁻¹gleby), natomiast najmniejszą ich liczebność zanotowano w będącym punktem kontrolnym Tynieckim Parku Krajobrazowym (60,5 tys. jtk·g⁻¹ gleby). Porównując te wyniki, można stwierdzić, że liczebność grzybów w poszczególnych punktach zlokalizowanych na terenie Puszczy Niepołomickiej była dosyć zbliżona, co może wynikać z faktu, że mikroorganizmy są poddawane wpływowi czynników o podobnych wartościach, np. odczynowi podłoża, który jest czynnikiem ważnym dla wzrostu grzybów. Można wyróżnić gatunki wspólne dla gleb z Krakowa oraz gleb z terenu Puszczy Niepołomickiej, takie jak: *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Mucor hiemalis*, *Penicillium chermesinum* i *P. notatum*.

Grzyby, które najczęściej występowały w próbkach gleb pobieranych z terenu Puszczy Niepołomickiej, czyli: *Trichoderma viride*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* i *Mucor hiemalis* są wg Barabasza i Voříška (2002) gatunkami bardzo licznie występującymi w ekosystemach leśnych. Na podstawie wyników analiz mikrobiologicznych próbek gleb z terenu Puszczy Niepołomickiej można stwierdzić średnie zróżnicowanie grzybów, zarówno pod względem ilościowym, jak i jakościowym pomiędzy wybranymi obiektami terenu Puszczy Niepołomickiej.

WNIOSKI

1. W badanych glebach Puszczy Niepołomickiej stwierdzono ilościowe zróżnicowanie poszczególnych grup drobnoustrojów. Najliczniejszą grupę stanowiły bakterie, dziesięciokrotnie mniej liczną grzyby, a w sześćdziesięciokrotnie mniejszych ilościach występowały promieniowce.

2. Z analizowanych próbek gleby z terenu Puszczy Niepołomickiej wyizolowano 15 rodzajów grzybów reprezentowanych przez 32 gatunki.

3. Skład jakościowy grzybów w poszczególnych punktach badawczych był podobny, a najczęściej występującymi gatunkami były *Trichoderma viride* i *Aspergillus fumigatus*.

4. Na kształtowanie się liczebności mikroorganizmów glebowych istotny wpływ miała temperatura powietrza.

PIŚMIENNICTWO

- Badura L., 2002.** Mikroorganizmy w ekosystemach lądowych. Aktywność drobnoustrojów w różnych środowiskach. Katedra Mikrobiologii AR Kraków, ss. 11-22.
- Badura L., 2004.** Mikroorganizmy w glebach – ich rola i znaczenie. Inż. Środ. Północnik AGH Kraków, 9(2): 147-158.
- Barabasz W., Voříšek K., 2002.** Bioróżnorodność mikroorganizmów w środowiskach glebowych. Aktywność drobnoustrojów w różnych środowiskach. Katedra Mikrobiologii AR Kraków, ss. 23-34.
- Bis H., 2006.** Uzdolnienia do produkcji mikotoksyn grzybów wyizolowanych z gleb Krakowa i jego okolic. Zesz. Nauk. UP Wrocław, Rolnictwo, LXXXIX, 546: 43-50.
- Dąbek-Szreniawska M., Kozak M., Pudło A., 2004.** Liczebność bakterii i aktywność biochemiczna gleby torfowej i murszowej. Ann. UMCS, Sec. E, 59(4): 2023-2032.
- Fassatiowa O., 1983.** Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej. Wyd. Nauk.-Tech., Warszawa.
- Gilman J.C., 1957.** A Manual of Soil Fungi. Iowa USA.
- Górska E., Russel S., 2004.** Występowanie tlenowych, przetrwalnikujących bakterii celulolitycznych w glebach leśnych. Acta Agr. Silv., ser. Agraria, 42: 177-186.
- Kozdrój J., 2004.** Współczesna ocena różnorodności mikroorganizmów w glebie. Acta Agr. Silv., ser. Agraria, 42: 5-28.
- Martyn W., Skwaryło-Bednarz B., 2005.** Właściwości biologiczne gleb lekkich występujących w rejonie Roztoczańskiego Parku Narodowego. Acta Agrophys., 5(3): 695-704.
- 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 mokradel w okolicy Olsztyna. Woda-Środ.-Obsz. Wiejs., t. 7, 2a(20): 271-291.

Pastucha A., Kołodziej B., 2005. Zbiorowiska mikroorganizmów w glebie spod leśnej uprawy żeń-szenia amerykańskiego. Acta Agrobot., 58(2): 179-188.

Raper K.B., 1965. The Genus *Aspergillus*. Baltimore.

Tyszkiewicz Z., 2003. Zbiorowiska grzybów trzech gleb torfowo-murszowych słabo zmurszałych. Acta Agrophys., 1(3): 595-600.

Tyszkiewicz Z., 2005. Grzyby wybranych gleb torfowych Narwiańskiego Parku Narodowego. Acta Agrobot., 58(2): 475-484.

Wyczółkowski A., Bieganowski A., Malicki J., 2002. Określenie liczebności mikroorganizmów w glebie torfowo-murszowej o różnym stopniu zmurszenia. Ann. UMCS, Sec. E, 57: 93-98.

Zwoliński J., 2005. Oznaczanie udziału grzybów i bakterii w biomasie drobnoustrojów gleb leśnych. Leśne Prace Bad., 4: 7-18.

A. Galus-Barchan, I. Paśmionka

THE OCCURRENCE OF SELECTED MICROORGANISMS IN THE SOIL UNDER FOREST WITH PARTICULAR REFERENCE TO MOULD FUNGI

Summary

The objective of the study was to assess the number of basic groups of microorganisms and determine the composition of fungi microflora. In the soil of the Niepołomice Forest the average number of fungi amounted to 23.1 thousand cfu g⁻¹ soil DM. The study revealed the existence of 32 species of *Micromycetes* fungi in the soils under Niepołomice Forest. The most frequent species were *Trichoderma viride* and *Aspergillus fumigatus*. The largest numbers of microorganisms were recorded in the months of November and May, when air temperatures were also the highest, however in December and January a unequivocal fall in the number of microorganisms was found. The value of the coefficient of correlation between the temperature and the number of mould fungi is indicative of a close relationship.

key words: molds fungi, microorganisms, forest soils