

## ANALIZA PORÓWNAWCZA MIKROBIOTA RYZOSFERY *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. UPRAWIANEJ AMATORSKO I KOMERCYJNIE NA TERENIE MAŁOPOLSKI

Maria J. Chmiel<sup>✉</sup>, Magdalena Korta-Peplowska, Karol Bulski,  
Rafał Szyrszeń

Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

**Streszczenie.** Borówka wysoka (*Vaccinium corymbosum* L.), znana jako borówka amerykańska, obecnie jest głównym gatunkiem borówki uprawianym w Europie i na świecie. Badania miały na celu analizę liczebności i składu gatunkowego mikroorganizmów zasiedlających strefę ryzosferową borówki uprawianej w różnych warunkach. Analizy ilościowe wykonano metodą seryjnych rozcieńczeń, a przynależność systematyczną drobnoustrojów oznaczono metodą Maldi Tof. Gleby, na których uprawiana była borówka, istotnie różniły się odczynem. Liczebność bakterii kształtowała się na poziomie  $1 \cdot 10^3$  do  $5,7 \cdot 10^6$ , promieniowców od  $1 \cdot 10^3$  do  $2,9 \cdot 10^6$ , grzybów  $7 \cdot 10^4$  do  $7,2 \cdot 10^5$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby. Najlepszy wzrost wszystkich grup drobnoustrojów był obserwowany na podłożach o pH 6,5. Obecność *Azotobacter* sp. stwierdzono tylko w glebie o najwyższym pH (6.46). Zastosowane podłoża nie pozwoliły na wyizolowanie gatunków grzybów mykoryzowych typowych dla wrzosowatych. Wśród oznaczonych bakterii dominowały gatunki z rodzaju *Bacillus*, izolowano także przedstawicieli *Pseudomonas*, *Pantonea*, *Lysinibacillus*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Solibacillus*, *Burkholderia* i *Azotobacter*, a wśród promieniowców – *Streptomyces*. Grzyby reprezentowane były najliczniej przez rodzaje *Trichoderma* i *Penicillium*, stwierdzono również występowanie *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Microsporium*, *Phialophora* i *Rhodotorula*.

**Słowa kluczowe:** *Vaccinium corymbosum*, mikroorganizmy, ryzosfera

---

<sup>✉</sup>m.chmiel@ur.krakow.pl

## WSTĘP

Borówka wysoka (*Vaccinium corymbosum* L.) jest w Polsce częściej znana jako borówka amerykańska, ponieważ wywodzi się ze Stanów Zjednoczonych – to wieloletnia roślina z rodziny wrzosowatych (*Ericaceae*). Jest obecnie głównym gatunkiem borówki uprawianym w Europie i na świecie. Roślina ta ma wysokie wymagania glebowe i wodne, dlatego w okresach letnich wymaga intensywnego nawadniania, a pod uprawę należy zastosować kwaśne podłoże (pH 3,5–4,5), którego odczyn musi być stale monitorowany, gdyż na liściach mogą wystąpić chlorozy i zahamowanie wzrostu, co stanowi częsty problem w uprawach amatorskich [Lindsay 1984, Egilla 1994]. Z danych literaturowych wynika, że potwierdzono związki mykoryzowe u 92% rodzin botanicznych i u 80% poznanych gatunków roślin, co potwierdza ogromną rolę grzybów w wspomaganiu wzrostu roślin [Thangadurai i in. 2010]. W korzystnych warunkach glebowych korzenie borówki zasiedlane są głównie przez grzyby z gromady *Ascomycota*, z którymi nawiązują wysoce wyspecjalizowaną mykoryzę ericoidalną (ERM). Wśród grzybów mykoryzowych roślin wrzosowatych najczęściej wymieniane są rodzaje *Hymenoscyphus*, *Oidiiodendron*, *Scytalidium*, *Myxotrichum*, *Clavaria*, ale zawiązywana jest również mykoryza z grzybami endomykoryzowymi, chociażby z rodzajów *Gigaspora* i *Glomus* [Scagel i in. 2005, Eccher et al. 2006, Smith i Read 2008, Arriagada i in. 2012]. Ze względu na specyficzną budowę korzeni roślin z rodziny wrzosowatych związki te są nadzwyczaj pożądane. Najwięcej drobnoustrojów znajduje się w wierzchniej warstwie gleby, do głębokości 30 cm, zwłaszcza w strefie przykorzeniowej roślin. Masa drobnoustrojów w 15-centymetrowej warstwie żyznych gleb może osiągać od kilku do kilkunastu megagramów (Mg) [Araújo i in. 2008, Braun i in. 2010, Marinari i in. 2010].

Aby przyspieszyć rozwój i wzmocnić rośliny warto zastosować szczepionki zawierające wyselekcjonowane szczepy grzybów wchodzących w mykoryzę, bowiem ich rolą jest enzymatyczny rozkład materii organicznej, dzięki czemu roślina otrzymuje łatwo przyswajalne mineralne formy składników pokarmowych. Należy jednak mieć na uwadze fakt, że istotny wpływ na wzrost i plonowanie roślin mają wszystkie mikroorganizmy zasiedlające środowisko glebowe, a szczególnie te bytujące w ryzosferze, i to właśnie populacja drobnoustrojów saprofitycznych może decydować o sukcesie uprawy oraz wielkości i jakości plonów.

Mając na uwadze brak dostępnych informacji dotyczących liczebności i składu gatunkowego populacji drobnoustrojów saprofitycznych zasiedlających ryzosferę *Vaccinium corymbosum* L., autor artykułu miał na celu dokonanie analizy porównawczej mikrobiota strefy przykorzeniowej borówki amerykańskiej uprawianej komercyjnie i amatorsko na terenie południowej Polski.

## MATERIAŁY I METODY

Próbki gleby pobrano ze strefy ryzosferowej z głębokości 5–20 cm [PN-ISO 10381-2:2007, PN-ISO 10381-4:2007] po zakończeniu okresu wegetacyjnego (listopad 2015 r.), jednak przed wystąpieniem przymrozków. Materiał badawczy pochodził z siedmiu stanowisk na terenie województwa małopolskiego:

- stanowiska 1 i 2 – Mateczniki Szkółki Roślin Użytkowych,
- stanowisko 3 – Stacja doświadczalna,
- stanowiska 4, 5, 6 i 7 – Działki prywatne.

Próbki poddano mikrobiologicznej analizie ilościowej metodą seryjnych rozcieńczeń [Pepper i Gerba 2005]. W ramach badań oznaczano liczebność drobnoustrojów saprofitycznych (bakterie, grzyby, promieniowce) i wskaźnikowych diazotrofów z rodzaju *Azotobacter*, stosując podłoża ogólne i selektywne [dla bakterii TSA (Biocorp), dla grzybów MEA (BTL), dla promieniowców podłoże wg PN-89/Z-04111/02, dla *Azotobacter* sp. podłoże wg Ashby za Kizilkaya 2009]. Analizy wykonano w trzech powtórzeniach przy zastosowaniu podłoży hodowlanych o zróżnicowanym odczynie (pH 4,5; 5,5; 6,5). Wyniki przeliczono i wyrażono jako liczbę jtk na 1 gram suchej masy gleby [PN-ISO 11465:1999]. Odczyn gleby oznaczono metodą potencjometryczną w KCl i wodzie [PN-ISO 10390:1997].

W ramach mikrobiologicznej analizie jakościowej oznaczono przynależność systematyczną dominujących szczepów drobnoustrojów wybranych i wyizolowanych w czystych kulturach na podstawie cech makroskopowych. Oznaczenia wykonano metodą spektrometrii masowej Maldi Tof [Wieser i in. 2012, Dingle i Butler-Wu 2013].

Wykonana analiza statystyczna polegała na obliczeniu wartości średnich, odchylenia standardowego oraz korelacji wg rang Spearmana. Do analizy danych wykorzystano program Statistica 12 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

## WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Dokonując oceny gleby, należy brać pod uwagę bardzo wiele czynników fizycznych, chemicznych, biologicznych i ekologicznych, a i tak ze względu na złożoność tego środowiska analiza może nie być kompletna [Chmiel 2013]. Zdrową, urodzajną i o wysokiej jakości kulturę glebę charakteryzuje duża aktywność biologiczna i enzymatyczna, toteż w badaniach środowiskowych są to parametry najczęściej sprawdzane w pierwszej kolejności. Badając populacje drobnoustrojów glebowych, należy zwracać uwagę nie tylko na ich liczebność i skład gatunkowy, ale przede wszystkim na funkcje, jakie pełnią w środowisku, ich rolę w ekosystemie i wpływ na inne współwystępujące organizmy [Badura 2006, Błaszczuk 2010]. Zawartość składników pokarmowych, odczyn oraz wilgotność gleby są czynnikami istotnie wpływającymi nie tylko na plonowanie roślin, ale przede wszystkim na aktywność biologiczną gleby i funkcjonowanie populacji mikroorganizmów glebowych [Borowik i in. 2011].

Przebadane próbki glebowe znacznie różniły się wilgotnością i odczynem (tab. 1). Badana gleba nie zawsze spełniała wymagania, jakie stawia uprawa borówki wysokiej – pH na trzech stanowiskach było za wysokie i znacząco odbiegało od zalecanego w uprawie *Vaccinium corymbosum* L., które powinno mieścić się w zakresie 3,5–4,5. Chociaż rośliny na żadnym z badanych stanowisk nie wykazywały objawów chorobowych i ich plonowanie nie wzbudzało zastrzeżeń, to z całą pewnością należy zadbać o właściwy odczyn gleby w kolejnych latach. Chociaż wilgotność i odczyn badanych gleb były zróżnicowane, to nie potwierdzono statystycznie istotnego (analiza korelacji wg rang Spearmana) wpływu tych czynników na liczebność drobnoustrojów saprofitycznych w analizowanych próbkach.

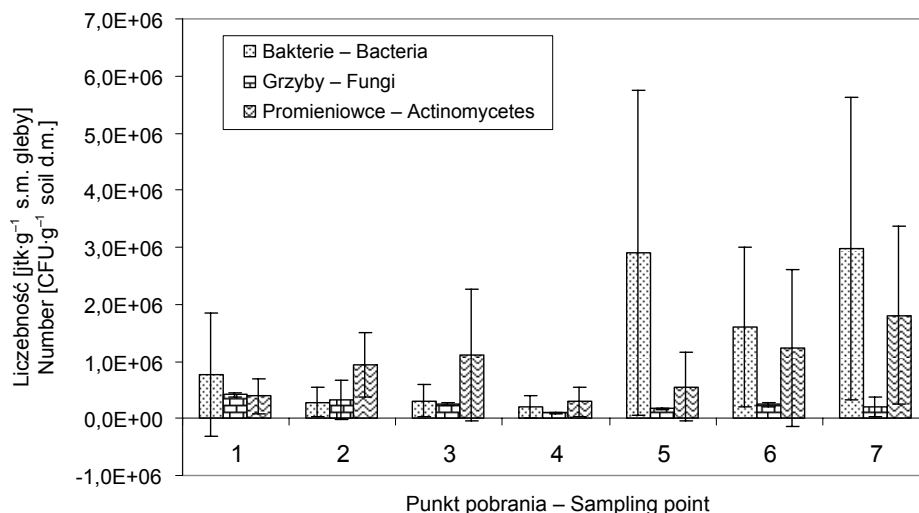
Tabela 1. Odczyn i sucha masa badanych próbek gleby

Table 1. The pH and dry mass of the tested soil samples

Punkt pobrania Sampling point	Sucha masa (SD) [%] Dry mass (SD) [%]	pH w H <sub>2</sub> O pH in H <sub>2</sub> O	pH w KCl pH in KCl
1 – Matecznik Szkółki 1	78,83 (0,20)	4,10	3,55
2 – Matecznik Szkółki 2	95,41 (0,11)	4,19	3,70
3 – Stacja doświadczalna	46,62 (0,08)	6,40	5,80
4 – Działka prywatna 1	68,91 (0,06)	5,76	5,13
5 – Działka prywatna 2	62,44 (0,51)	4,63	3,90
6 – Działka prywatna 3	51,05 (0,18)	4,73	4,16
7 – Działka prywatna 4	55,79 (0,19)	6,46	5,89

SD – odchylenie standardowe – standard deviation.

W zależności od sposobu użytkowania, typu gleby, a nawet pory roku w jednym gramie gleby można znaleźć od  $10^6$  do  $10^{10}$  jtk hodowalnych bakterii,  $10^5$  do  $10^7$  jtk promieniowców,  $10^4$  do  $10^7$  jtk grzybów [Uhlířová i Šantrůčková 2003, Gajda i in. 2004, Barabaszy i in. 2005, Chmiel 2013]. Mając na uwadze powyższe informacje, należy stwierdzić, że oznaczone liczebności drobnoustrojów w badanych próbkach (rys.) można zaliczyć do średnich, jednak najliczniejszy wzrost wszystkich grup mikroorganizmów odnotowano na podłożach o odczynie najbardziej zbliżonych do obojętnego nawet w przypadkach, gdy izolowano je ze środowisk kwaśnych, jak gleba na stanowiskach 1, 2 czy 5 (tab. 2).



Rys. Porównanie średniej liczebności drobnoustrojów występujących w ryzosferze *Vaccinium corymbosum* L. w zależności od miejsca pobrania próbek

Fig. The comparison of the mean number of microorganisms in the rhizosphere of *Vaccinium corymbosum* L. depending on sampling point location

Tabela 2. Oznaczona liczebność badanych grup drobnoustrojów w glebie w zależności od pochodzenia próbki i odczynu zastosowanego podłoża hodowlanego

Table 2. The determined number of studied groups of microorganisms in the soil, depending on the samples origin and pH of culture media

Punkt pobrania Sampling point	Ogólna liczba bakterii (SD) [jtk·g <sup>-1</sup> s.m. gleby] The total number of bacteria (SD) [cfu·g <sup>-1</sup> d.m. of soil]		
	Podłoże o pH 4,5 Media pH 4.5	Podłoże o pH 5,5 Media pH 5.5	Podłoże o pH 6,5 Media pH 6.5
1 – Matecznik Szkółki 1	7,0·10 <sup>3</sup> (3,6·10 <sup>2</sup> )	2,8·10 <sup>5</sup> (1,2·10 <sup>3</sup> )	2,0·10 <sup>6</sup> (2,5·10 <sup>4</sup> )
2 – Matecznik Szkółki 2	1,0·10 <sup>3</sup> (2,0·10 <sup>2</sup> )	3,3·10 <sup>5</sup> (8,4·10 <sup>3</sup> )	5,3·10 <sup>5</sup> (2,2·10 <sup>3</sup> )
3 – Stacja doświadczalna	1,1·10 <sup>4</sup> (1,7·10 <sup>2</sup> )	3,3·10 <sup>5</sup> (6,2·10 <sup>3</sup> )	5,9·10 <sup>5</sup> (3,1·10 <sup>3</sup> )
4 – Działka prywatna 1	1,3·10 <sup>3</sup> (3,0·10 <sup>2</sup> )	2,0·10 <sup>5</sup> (4,5·10 <sup>3</sup> )	4,0·10 <sup>5</sup> (1,1·10 <sup>4</sup> )
5 – Działka prywatna 2	1,1·10 <sup>4</sup> (4,1·10 <sup>2</sup> )	3,0·10 <sup>6</sup> (1,3·10 <sup>5</sup> )	5,7·10 <sup>6</sup> (4,7·10 <sup>4</sup> )
6 – Działka prywatna 3	1,2·10 <sup>6</sup> (3,6·10 <sup>3</sup> )	1,8·10 <sup>6</sup> (2,7·10 <sup>4</sup> )	2,9·10 <sup>6</sup> (3,2·10 <sup>5</sup> )
7 – Działka prywatna 4	1,2·10 <sup>3</sup> (1,1·10 <sup>2</sup> )	3,8·10 <sup>6</sup> (1,0·10 <sup>5</sup> )	5,1·10 <sup>6</sup> (4,2·10 <sup>4</sup> )
	Ogólna liczba grzybów (SD) [jtk·g <sup>-1</sup> s.m. gleby] The total number of fungi (SD) [cfu·g <sup>-1</sup> d.m. of soil]		
1 – Matecznik Szkółki 1	4,5·10 <sup>5</sup> (1,2·10 <sup>5</sup> )	3,7·10 <sup>5</sup> (1,0·10 <sup>5</sup> )	4,2·10 <sup>5</sup> (1,2·10 <sup>5</sup> )
2 – Matecznik Szkółki 2	7,0·10 <sup>4</sup> (5,1·10 <sup>3</sup> )	1,8·10 <sup>5</sup> (4,3·10 <sup>4</sup> )	7,2·10 <sup>5</sup> (2,3·10 <sup>5</sup> )
3 – Stacja doświadczalna	2,6·10 <sup>5</sup> (8,5·10 <sup>4</sup> )	2,5·10 <sup>5</sup> (7,6·10 <sup>4</sup> )	2,2·10 <sup>5</sup> (4,5·10 <sup>4</sup> )
4 – Działka prywatna 1	8,0·10 <sup>4</sup> (1,5·10 <sup>4</sup> )	1,1·10 <sup>5</sup> (5,0·10 <sup>4</sup> )	9,0·10 <sup>4</sup> (3,3·10 <sup>4</sup> )
5 – Działka prywatna 2	1,6·10 <sup>5</sup> (7,1·10 <sup>4</sup> )	1,6·10 <sup>5</sup> (9,8·10 <sup>4</sup> )	1,8·10 <sup>5</sup> (6,5·10 <sup>3</sup> )
6 – Działka prywatna 3	2,4·10 <sup>5</sup> (5,4·10 <sup>4</sup> )	2,7·10 <sup>5</sup> (2,2·10 <sup>4</sup> )	2,1·10 <sup>5</sup> (5,8·10 <sup>3</sup> )
7 – Działka prywatna 4	1,3·10 <sup>5</sup> (4,4·10 <sup>4</sup> )	8,0·10 <sup>4</sup> (2,8·10 <sup>4</sup> )	4,0·10 <sup>5</sup> (7,1·10 <sup>4</sup> )
	Ogólna liczba promieniowców [jtk·g <sup>-1</sup> s.m. gleby] The total number of actinomycetes (SD) [cfu·g <sup>-1</sup> d.m. of soil]		
1 – Matecznik Szkółki 1	4,8·10 <sup>4</sup> (1,4·10 <sup>4</sup> )	5,2·10 <sup>5</sup> (1,3·10 <sup>5</sup> )	6,0·10 <sup>5</sup> (1,3·10 <sup>5</sup> )
2 – Matecznik Szkółki 2	3,2·10 <sup>5</sup> (4,5·10 <sup>4</sup> )	1,1·10 <sup>6</sup> (6,9·10 <sup>5</sup> )	1,4·10 <sup>6</sup> (5,0·10 <sup>5</sup> )
3 – Stacja doświadczalna	4,0·10 <sup>3</sup> (1,0·10 <sup>3</sup> )	1,0·10 <sup>6</sup> (2,2·10 <sup>5</sup> )	2,3·10 <sup>6</sup> (5,5·10 <sup>5</sup> )
4 – Działka prywatna 1	1,0·10 <sup>3</sup> (5,2·10 <sup>2</sup> )	3,9·10 <sup>5</sup> (2,5·10 <sup>4</sup> )	4,8·10 <sup>5</sup> (7,6·10 <sup>4</sup> )
5 – Działka prywatna 2	2,0·10 <sup>3</sup> (7,0·10 <sup>2</sup> )	4,7·10 <sup>5</sup> (1,0·10 <sup>5</sup> )	1,2·10 <sup>6</sup> (2,6·10 <sup>5</sup> )
6 – Działka prywatna 3	1,0·10 <sup>3</sup> (4,6·10 <sup>2</sup> )	1,0·10 <sup>6</sup> (4,3·10 <sup>5</sup> )	2,7·10 <sup>6</sup> (5,8·10 <sup>5</sup> )
7 – Działka prywatna 4	2,4·10 <sup>4</sup> (5,8·10 <sup>3</sup> )	2,5·10 <sup>6</sup> (5,7·10 <sup>5</sup> )	2,9·10 <sup>6</sup> (2,5·10 <sup>5</sup> )

SD – odchylenie standardowe – standard deviation.

Obecność bakterii z rodzaju *Azotobacter* stwierdzono jedynie w glebie stanowiska 7 (działka prywatna), wyizolowano je na podłożach o odczynie 5,5 oraz 6,5 w ilości odpowiednio 20 i 40 jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby.

Zrozumienie podstaw funkcjonowania ekosystemów glebowych wymaga znajomości różnorodności, dystrybucji, wzajemnych relacji, dynamiki zmian i funkcji drobnoustrojów glebowych więc ocena zmian bioróżnorodności przy użyciu prostych i łatwych dostępnych metod praktycznie nie jest możliwa [Pankhurst 1997, Torsvik i in. 1997, Filip 2002]. Ekologiczna metoda oceny jakości gleby może więc obejmować, oprócz analiz liczebności całych populacji drobnoustrojów, badanie poszczególnych grup organizmów

uznanych za istotny element bioróżnorodności ekosystemu glebowego lub ważny czynnik w przebiegu procesów w glebie [Filip 2002]. Dobrym wskaźnikiem do oceny żyzności gleby jest zdolny do wiązania azotu atmosferycznego rodzaj *Azotobacter*, którego obecność może oznaczać glebę o dobrej kulturze i wysokiej aktywności biologicznej [Moreno i in. 1986, Kizilkaya 2009]. W Europie *Azotobacter* jest izolowany z około 50–60% gleb uprawnych, a najczęściej izolowanym gatunkiem jest *Azotobacter chroococcum* [Martyniuk i Martyniuk 2003, Aquilanti i in. 2004, Lenart 2012]. Liczebność tych bakterii w glebach Polski waha się w szerokim zakresie od kilku do kilkuset, sporadycznie do kilku tysięcy komórek w jednym gramie gleby [Martyniuk i Martyniuk 2003, Lenart 2012]. Niniejsze badania wykazały obecność *Azotobacter* jedynie w glebie pochodzącej ze stanowiska 7 – o najwyższym pH (6,46), co potwierdza informacje, że bakterie te najlepiej rozwijają się w środowisku o odczynie zbliżonym do obojętnego.

Oznaczone drobnoustroje (tab. 3) zaliczono do kilkunastu rodzajów, których przedstawiciele zwykle typowo i powszechnie występują w środowisku glebowym, jednak zastosowana metoda badawcza nie umożliwiła wyizolowania gatunków grzybów

Tabela 3. Dominujące gatunki/rodzaje drobnoustrojów

Table 3. Predominant species/genera of microorganisms

Punkt pobrania Sampling point	Bakterie i promieniowce Bacteria and actinomycetes	Grzyby Fungi
1 Matecznik Szkółki 1	<i>Bacillus cereus</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Streptomyces phaeochromogenes</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Penicillium daleae</i>
2 Matecznik Szkółki 2	<i>Bacillus cereus</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. mycooides</i> , <i>Lysinibacillus fusiformis</i> , <i>Serratia</i> <i>proteamaculans</i> , <i>Streptomyces chartreusis</i> , <i>S. violaceoruber</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Microsporium equinum</i> , <i>Penicillium glabrum</i>
3 Stacja doświadczalna	<i>Bacillus cereus</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>Citrobacter</i> <i>braakii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Streptomyces phaeochromogenes</i> , <i>S. violaceorube</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Fusarium</i> <i>sporotrichioides</i> , <i>Penicillium daleae</i> , <i>P. funiculosum</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i>
4 Działka prywatna 1	<i>Bacillus cereus</i> , <i>B. pseudomycooides</i> , <i>B. thuringiensis</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Phialophora bubakii</i> , <i>Penicillium</i> <i>funiculosum</i> , <i>Trichoderma koningii</i>
5 Działka prywatna 2	<i>Bacillus cereus</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. pseudomycooides</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. thuringiensis</i> , <i>Lysinibacillus fusiformis</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Solibacillus silvestris</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Microsporium equinum</i> , <i>Penicillium funiculosum</i>
6 Działka prywatna 3	<i>Bacillus licheniformis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. thuringiensis</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Burkholderia fungorum</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Trichoderma koningii</i> , <i>T. longibrachiatum</i>
7 Działka prywatna 4	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Bacillus</i> <i>megaterium</i> , <i>B. pseudomycooides</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. thuringiensis</i> , <i>Pantonea agglomerans</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Solibacillus silvestris</i> , <i>Streptomyces lavendulae</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Penicillium</i> <i>daleae</i> , <i>P. glabrum</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Rhodotorula mucilaginoso</i> , <i>Trichoderma</i> <i>longibrachiatum</i>

mykoryzowych wymienianych wśród najczęściej zasiedlających korzenie *Vaccinium corymbosum* L., takich jak: *Hymenoscyphus ericae*, *Scytalidium vaccinii*, *Oidiodendron griseum*, *Myxotrichum setosum*, *Clavaria* sp. czy też *Gigaspora rosea*, *Glomus claroideum*, *G. deserticola*, *G. viscosum*, *G. intraradices* i *G. constrictum* [Scagel i in. 2005, Eccher i in. 2006, Smith i Read 2008, Arriagada i in. 2012].

## WNIOSKI

1. Gleby, na których uprawiana była borówka, różniły się odczynem i wilgotnością, jednak nie potwierdzono istotnego statystycznie wpływu tych czynników na liczebność drobnoustrojów glebowych.

2. Podłoża laboratoryjne o odczynie zbliżonym do obojętnego pozwoliły na wyizolowanie największej liczby mikroorganizmów.

3. Ogólna liczebność drobnoustrojów w badanych glebach kształtowała się na średnim poziomie liczebności mikroorganizmów oznaczanych w glebach uprawnych.

4. Wśród oznaczonych mikroorganizmów dominowały gatunki typowe dla środowiska glebowego. Najczęściej izolowano bakterie z rodzaju *Bacillus*, a także przedstawicieli *Pseudomonas*, *Pantonea*, *Lysinibacillus*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Solibacillus*, *Burkholderia* i *Azotobacter* i promieniowce z rodzaju *Streptomyces*. Grzyby najliczniej były reprezentowane przez rodzaje *Trichoderma* i *Penicillium*, stwierdzono również występowanie *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Microsporium*, *Phialophora* i *Rhodotorula*.

## LITERATURA

- Aquilanti L., Favilli F., Clementi F., 2004. Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples. *Soil. Biol. Biochem.* 36, 1475–1483.
- Araújo A.S.F., Santos V.B., Monteiro R.T.R., 2008. Responses of soil microbial biomass and activity for practices of organic and conventional farming systems in Piauí state, Brazil. *Eur. J. Soil. Biol.* 44, 225–230.
- Arriagada C., Manquel D., Cornejo P., Soto J., Sampedro I., Ocampo J., 2012. Effects of the co-inoculation with saprobe and mycorrhizal fungi on *Vaccinium corymbosum* growth and some soil enzymatic activities. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 12 (2), 283–294.
- Badura L., 2006. Rozważania nad rolą mikroorganizmów w glebach. *Zesz. Nauk. UP we Wrocławiu, Rolnictwo* 89, 456, 13–24.
- Barabasz W., Chmiel M., Dzieńiewicz M., Sechman H., 2005. Microbiological characteristic and gaseous hydrocarbons, carbon dioxide and hydrogen distribution in the near-surface zone of Starunia area, fore-Carpathian region, Ukraine. Polish and Ukrainian geological studies (2004–2005). Starunia – the area of discoveries of Woolly Rhinoceroses. Red. M.J. Kotarba. Państwowy Instytut Geologiczny. Warszawa – Kraków, 175–185.
- Błaszczyk M.K., 2010. *Mikrobiologia środowisk*. PWN, Warszawa.
- Borowik A., Wyszowska J., Kucharski M., 2011. Różnorodność drobnoustrojów funkcją uwilgotnienia gleb. *Zesz. Probl. Postępów Nauk Roln.* 567, 39–53.

- Braun B., Bockelmann U., Grohman E., Szewzyk U., 2010. Bacterial soil communities affected by water-repellency. *Geoderma* 158, 3–4, 343–351.
- Chmiel M., 2013. Charakterystyka mikrobiologiczna i ocena sanitarna środowiska naturalnego Ojcowskiego Parku Narodowego ze szczególnym uwzględnieniem antropopresji. *Zesz. Nauk. UR w Krakowie* 505, 382, 200.
- Dingle T.C., Butler-Wu S.M., 2013. Maldi-tof mass spectrometry for microorganism identification. *Clin. Lab. Med.* 33 (3): 589–609. doi: 10.1016/j.cll.2013.03.001
- Eccher T., Noé N. and Bacchetta M., 2006. The influence of ericoid endomycorrhizae and mineral nutrition on the growth of micropropagated plants of *Vaccinium corymbosum* L. *Acta Hort.* 715, 411–416. doi: 10.17660/ActaHortic.2006.715.61
- Egilla J.N., Byrne D.H., and Reed D.W., 1994. Iron stress response of three peach rootstock cultivars: Ferric-iron reduction capacity. *J. Plant Nutr.* 17, 2079–2103.
- Filip Z., 2002. International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters. *Agr. Ecosyst. Environ.* 88, 2, 169–174.
- Gajda A., Stachyra A., Martyniuk S., 2004 Aktywność mikrobiologiczna i biochemiczna różnych gleb w doświadczeniu mikropoletkowym. *Acta Agr. et Silv., Ser. Agraria* 42, 127–134.
- Kizilkaya R., 2009. Nitrogen fixation capacity of *Azotobacter* spp. strains isolated from soils in different ecosystems and relationship between them and the microbiological properties of soils. *J. Environ. Biol.* 30, 1, 73–82.
- Lenart A., 2012. Occurrence, characteristics, and genetic diversity of *Azotobacter chroococcum* in various soils of southern Poland. *Pol. J. Environ. Stud.* 21, 2, 415–424.
- Lindsay W.L., 1984. Soil and plant relationships associated with iron deficiency with emphasis on nutrient interactions. *J. Plant Nutr.* 7, 489–500.
- Marinari S., Liburdi K., Corradini D., Grego S., 2010. Reversed-phase high performance liquid chromatographic profile of organic fractions extracted by solvents with different polarity as a tool to evaluate the hydrophobic character of soil under different management. *Soil Tillage Res.*, 109, 36–40.
- Martyniuk S., Martyniuk M., 2003. Occurrence of *Azotobacter* spp. in some Polish soils. *Pol. J. Environ. Stud.* 12, 371–374.
- Moreno J., Gonzalez-Lopez J., Vela G.R., 1986. Survival of *Azotobacter* spp. in Dry Soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 1, 123–125.
- Pankhurst C.E., 1997. Biodiversity of soil organisms as an indicator of soil health. *Biological Indicators of Soil Health*. Red. C. Pankhurst. CAB International, Wallingford, 297–324.
- Pepper I.L., Gerba C.G., 2005. *Environmental Microbiology. A laboratory manual*. 2nd edition. Elsevier AP, Amsterdam.
- PN-ISO 10390:1997. Jakość gleby – Oznaczenie pH.
- PN-ISO 11465:1999. Jakość gleby – Oznaczenie zawartości suchej masy gleby i wody w glebie w przeliczeniu na suchą masę gleby. Metoda wagowa.
- PN-89/Z-04111/02. Ochrona czystości powietrza – Badania mikrobiologiczne. Oznaczenie liczby bakterii w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną.
- PN-ISO 10381-2:2007. Jakość gleby – Pobieranie próbek. Część 2: Zasady dotyczące technik pobierania.
- PN-ISO 10381-4:2007. Jakość gleby – Pobieranie próbek. Część 4: Zasady dotyczące postępowania podczas badań terenów naturalnych, zbliżonych do naturalnych oraz uprawnych.
- Scagel C.F., Wagner A., Winiarski P., 2005. Inoculation with Ericoid Mycorrhizal Fungi Alters Root Colonization and Growth in Nursery Production of Blueberry Plants from Tissue Culture and Cuttings. *Small Fruits Review* 4, 113–135.
- Smith S.E., Read D.J., 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. Third Edition. Academic Press.



- Thangadurai D., Busso C.A., Hijri M., 2010. Mycorrhizal Biotechnology. CRC Press, Enfield, New Hampshire..
- Torsvik V.L., Daae F.L., Goksoyr J., Sorheim R., Overas L., 1997. Diversity of bacteria in soil and marine environments. W: Progress in microbial ecology. Red. M.T. Martins. SBM – Brazil. Soc. Microbiol./ICOME, Sao Paulo, 115–120.
- Uhlířová E., Šantrůčková H., 2003. Growth rate of bacteria is affected by soil texture and extraction procedure. Soil Biol. Biochem. 35, 2, 217–224.
- Wieser A., Schneider L., Jung J., Schubert S., 2012. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—identification of microorganisms and beyond (mini review). Appl. Microbiol. Biot. 93, 3, 965–974., doi: 10.1007/s00253-011-3783-4

## COMPERATIVE ANALYSIS OF THE RHIZOSPHERE MICROBIOTA OF VACCINIUM CORYMBOSUM L. GROWN AMATEUR AND COMMERCIALY IN LESSER POLAND REGION

**Summary.** Highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.), known as the American blueberry, is now the main species of blueberries grown in Europe and the world. This plant has high requirements of soil and water, so during the summer months requires intensive irrigation and use of acidic substrate to the cultivation, because the normal development of plants can be carried out only in the presence of mycorrhizal fungi like *Hymenoscyphus*, *Oidiodendron*, *Scytalidium*, *Myxotrichum*, *Clavaria* and *Gigaspora* or *Glomus*. To accelerate the development and enhance of the plants is also worth to applied the vaccine containing selected strains of fungi forming mycorrhiza with plants, because their role is an enzymatic decomposition of organic matter, so that the plant receives easily digestible form of mineral nutrients. But very important is also the fact that a significant impact on the growth and yield of crops have all the microorganisms inhabiting the soil environment, especially those that live in the rhizosphere, and the population of saprophytic microbes may determine the success of the harvest and the size and quality of crops. The study aimed to analyze the abundance and species composition of microorganisms inhabiting the rhizosphere of blueberries grown in different conditions. Quantitative analysis was performed by serial dilution method on substrates of different pH value (4.5; 5.5 and 6.5), was determined the total count of bacteria, fungi, actinomycetes and indicator microorganisms of the genus *Azotobacter*. Taxonomy of microorganisms was determined by mass spectrometry method – Maldi Tof. Soils on which was cultivated blueberry differed significantly in site reaction. The number of bacteria was at a level of  $1 \cdot 10^3$  to  $5.7 \cdot 10^6$ , actinomycetes from  $1 \cdot 10^3$  to  $2.9 \cdot 10^6$ , fungi  $7 \cdot 10^4$  to  $7.2 \cdot 10^5$  cfu·g<sup>-1</sup> soil dry mass. The best growth of all microbial groups was observed in microbiological media having a pH of 6.5. The presence of *Azotobacter* sp. was found only in soil with a high pH (6.46). Among the identified bacteria dominated species of the genus *Bacillus*, also isolated were representatives of *Pseudomonas*, *Pantonea*, *Lysinibacillus*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Solibacillus*, *Burkholderia* and *Azotobacter* and among the actinomycetes *Streptomyces*. Fungi most frequently were represented by genus *Trichoderma* and *Penicillium*, the presence of *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Microsporium*, *Phialophora* and *Rhodotorula* genus was also indicated. The species of mycorrhizal fungi, typical for ericaceous, were not isolated from tested soil samples.

**Key words:** *Vaccinium corymbosum*, microorganisms, rhizosphere