

Monika Kozieł

OCENA WYSTĘPOWANIA I MOLEKULARNEGO ZRÓŻNICOWANIA BAKTERII Z RODZAJU *AZOTOBACTER* W GLEBACH POLSKI

STRESZCZENIE

Słowa kluczowe: *Azotobacter* spp., gleba, pH, skład granulometryczny gleb, identyfikacja molekularna, zróżnicowanie genetyczne

Badania przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej dotyczyły glebowych bakterii należących do rodzaju *Azotobacter*, charakteryzujących się m.in. zdolnościami do asymilacji azotu atmosferycznego. Badania te miały na celu poznanie: - występowania i liczebności *Azotobacter* spp. w glebach Polski (1140 próbek), - zależności pomiędzy właściwościami gleb a ich zasiedleniem przez te bakterie oraz – zróżnicowania i przynależności systematycznej wyodrębnionych izolatów *Azotobacter* spp.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że bakterie należące do rodzaju *Azotobacter* zasiedlają około 43% gleb w Polsce. Bakterie te występują we wszystkich badanych grupach gleb (rodzaje, gatunki), ale w obrębie tych grup procent gleb zasiedlonych przez azotobactera jest bardzo zróżnicowany i waha się od 8% i 19% w przypadku piasków luźnych i piasków słabogliniastych do około 80% i 90% w przypadku glin ciężkich i rędzin. Stwierdzono również ścisłą zależność ($r = 0,944$) pomiędzy zawartością części spławialnych ($< 0,02\text{mm}$) w różnych gatunkach gleb a procentem ich zasiedlenia przez *Azotobacter* spp., co świadczy, że frakcja pyłowo-ilasta gleb sprzyja ich zasiedleniu przez omawiane bakterie.

Liczebność *Azotobacter* spp. w glebach zasiedlonych przez te bakterie jest bardzo zróżnicowana w obrębie każdej analizowanej grupy gleb i waha się od kilku komórek (jtk) do kilkuset tysięcy jtk w 1 gramie gleby. Największą liczebność stwierdzono w niektórych glebach lessowych, pyłach zwykłych i piaskach gliniastych lekkich, odpowiednio 297 750, 45 800 i 40 000 jtk/g. Największą średnią liczebnością *Azotobacter* spp. charakteryzują się lessy, ily, rędziny i pyły ilaste, odpowiednio 13 676, 2213, 2035 i 1950 jtk/g, a najmniejszą żwir, piaski słabogliniaste i piaski luźne, odpowiednio 44, 158 i 204 jtk/g.

Zgodnie z wynikami wcześniejszych badań, obecne badania wykazały również, że odczyn gleb jest bardzo ważnym czynnikiem wpływającym na występowanie azotobactera

w środowisku glebowym. Bakterie te występują tylko w około 4% gleb o odczynie bardzo kwaśnym ($\text{pH} \leq 4,5$) i w 27% gleb kwaśnych ($\text{pH} 4,6-5,5$), natomiast zasiedlenie przez azotobactera gleb o odczynie obojętnym ($\text{pH} 6,6-7,2$) i zasadowym ($\text{pH} > 7,2$) wynosiło odpowiednio 74% i 84%. Odczyn gleb wpływa także istotnie na liczebność populacji bakterii *Azotobacter* w środowisku glebowym. Największą średnią liczebnością tych bakterii charakteryzują się gleby o odczynie obojętnym.

W obrębie niektórych grup gleb takich jak lessy, mady, mursze, rędziny i piaski gliniaste, gleby które zasiedlone były przez omawiane bakterie zawierały znacznie większe ilości przyswajalnych form P i Mg oraz całkowitych form Ca, Fe i Mo, niż gleby o podobnym odczynie i strukturze, ale bez azotobactera. Wydaje się więc, że oprócz odczynu, C_{org} i $\text{N}_{\text{ogól}}$, także inne chemiczne właściwości środowiska glebowego mają istotny wpływ na zasiedlanie gleb przez bakterie *Azotobacter* spp.

Badane izolaty *Azotobacter* spp. charakteryzowały się dużym zróżnicowaniem pod względem efektywności wiązania azotu atmosferycznego w warunkach laboratoryjnych. Nie stwierdzono jednak znaczącego wpływu właściwości gleb na kształtowanie zdolności zasiedlających je bakterii *Azotobacter* do wiązania N_2 , bowiem zarówno z gleb żyznych o odczynie obojętnym jak i z gleb kwaśnych wyodrębniono izolaty intensywnie wiążące N_2 , jak i szczepy mało aktywne pod tym względem.

Polimorfizm genomowy badanych szczepów określono stosując technikę ITS-PCR/RFLP (HaeIII, MspI). Przeprowadzone analizy pozwoliły na wyróżnienie w obrębie badanych izolatów *Azotobacter* spp. czterech profili genetycznych, a na podstawie wyników sekwencjonowania genu 16S rRNA 30 izolatów reprezentujących ww. profile stwierdzono, że wszystkie one należą do gatunku *Azotobacter chroococcum*, co wskazuje, że gatunek ten dominuje w glebach Polski.

Przeprowadzone badania wskazują ponadto, że stosunkowo proste laboratoryjne oznaczenie występowania *Azotobacter* spp. w glebach może być dobrym, biologicznym wskaźnikiem oceny jakości gleb, m.in. na potrzeby monitoringu zmian zachodzących w ich żyzności i odczynie.

