

## **Metataksonomia - w poszukiwaniu mikrobiologicznej "ciemnej materii"**

Jarosław Grządziel<sup>1</sup>, Anna Gałązka<sup>1</sup>

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy,  
Zakład Mikrobiologii Rolniczej, 24-100 Puławy, ul. Czarторыskich 8

Rozwój oraz niesłabnące zainteresowanie metodami takimi jak metagenomika czy metataksonomia, umożliwiły niespotykane do tej pory poszerzenie znajomości świata mikroorganizmów. Szacuje się jednak, że nadal 60-99% mikroorganizmów, nazywanych mikrobiologiczną „ciemną materią” pozostaje poza zasięgiem obecnych metod poznawczych. Nowoczesne metody wysokoprzepustowego sekwencjonowania wykorzystywane w metataksonomicie umożliwiają poznanie różnorodności mikrobiologicznej, bez konieczności wcześniejszego wyhodowania poszczególnych gatunków. Rozwój narzędzi bioinformatycznych umożliwia coraz bardziej precyzyjne wyselekcjonowanie odczytów dobrej jakości oraz identyfikację taksonomiczną. Przypisanie prawidłowej taksonomii okazuje się najważniejszym ale i najtrudniejszym etapem, w którym popełnienie błędu będzie skutkowało nieprawidłową interpretacją wyników badań. W niniejszej prezentacji omówione zostaną dostępne mechanizmy klasyfikujące wykorzystywane w analizach metataksonomicznych oraz ich możliwości i ograniczenia dotyczące klasyfikacji zarówno znanych gatunków jak i tych należących do mikrobiologicznej „ciemnej materii”.

### **Metataxonomics – in the search of microbial „dark matter”**

The development and ongoing interest in methods such as metagenomics and metataxonomics enabled to broaden the knowledge of microorganisms diversity. It is estimated, however, that still 60-99% of microorganisms, called microbiological "dark matter", remain beyond the reach of current research methods. Modern high-throughput sequencing methods used in metataxonomics make it possible to learn about microbiological diversity without the need for prior cultivation of individual species. The development of bioinformatics tools enables more precise selection of high quality reads and taxonomic identification. Assigning the correct taxonomy is the most important but also the most difficult stage in which making a mistake will result in incorrect interpretation of research results. This presentation will discuss the available classification mechanisms used in metataxonomic analyses and their possibilities and limitations concerning the classification of both known species and those belonging to the microbiological "dark matter".

*Praca realizowana w ramach zadania 1.4 Programu Wieloletniego IUNG-PIB 2016-2020: „Ocena i kształtowanie bioróżnorodności środowiska glebowego oraz aktywności mikrobiologicznej gleb z uwzględnieniem warunków siedliskowych i systemów gospodarowania”*

## **Zróźnicowanie fenotypowe i genetyczne mikroorganizmów wyizolowanych z brodawek korzeniowych *Trifolium rubens***

Anna Marzec-Grządziel<sup>1</sup>, Anna Gałązka<sup>1</sup>, Monika Marek – Kozaczuk<sup>2</sup>,  
Anna Skorupska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy  
Zakład Mikrobiologii Rolniczej

<sup>2</sup> Uniwersytet Marii Curie – Skłodowskiej w Lublinie, Zakład Genetyki i Mikrobiologii

Azot jako pierwiastek wchodzący w skład aminokwasów, zasad azotowych oraz cząsteczek pełniących funkcję w transporcie energii w komórce jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania organizmów. Większość azotu na Ziemi występuje w postaci niedostępnej dla organizmów żywych. Symbioza pomiędzy roślinami a mikroorganizmami w znaczący sposób zwiększa pulę azotu dostępnego dla tych organizmów.

Celem pracy było zbadanie zróźnicowania genetycznego i fenotypowego bakterii wyizolowanych z brodawek korzeniowych koniczyny *Trifolium rubens*. Analiza genetyczna przeprowadzona została z zastosowaniem testu ERIC – PCR. Na podstawie analizy genetycznej wybrano izolaty, które następnie poddano analizie fenotypowej wykorzystując szereg testów metabolicznych oraz wykonując analizę BIOLOG na płytkach GenIII. Dodatkowym aspektem badań był biotest przeprowadzony z zastosowaniem wybranych szczepów na dwóch modelach roślinnych – koniczynie łąkowej (*Trifolium pratense* L.) oraz grochu (*Pisum* L., odmiana Hubal).

### **Genetic and phenotypic diversity of microorganisms isolated from roots nodules from *Trifolium rubens***

Nitrogen as an element of amino acids, nitrogen bases and molecules used in the transport of energy in a cell is essential for the proper functioning of organisms. Most of the nitrogen on Earth occurs in a form inaccessible to living organisms. The symbiosis between plants and microorganisms significantly increases the pool of nitrogen available to these organisms.

The aim of the study was to investigate the genetic and phenotypic diversity of bacteria isolated from the roots of *Trifolium rubens*. The genetic analysis was carried out with the use of the ERIC - PCR test. Isolates, which were selected on the basis of genetic analysis, were then subjected to phenotypic analysis using a number of metabolic tests and BIOLOG analysis on GenIII plates. An additional aspect of the study was a biotest carried out with the use of selected strains on two plant models - red clover (*Trifolium pratense* L.) and pea (*Pisum* L., Hubal variety).

## Ocena wpływu wieloletniego stosowania bezorkowego systemu uprawy roli na zmiany wybranych parametrów jakości gleby

Anna M. Gajda<sup>1</sup>, Ewa A. Czyż<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy; ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; e-mail: ag@iung.pulawy.pl

<sup>2</sup>Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Zelwerowicza 8b, 35-601 Rzeszów; e-mail: ewac@ur.edu.pl

Celem badań było określenie zmian w środowisku glebowym związanych z oddziaływaniem bezorkowego systemu uprawy roli na zmiany w różnorodności drobnoustrojów i aktywności enzymatycznej w glebie pod pszenicą ozimą w stosunku do systemu opartego na orce pługiem. Badania (2015-2018) przeprowadzono w oparciu o wieloletnie pola doświadczalne zlokalizowane w RZD IUNG-PIB w Grabowie (woj. mazowieckie). Glebę analizowano, stosując metody standardowe oraz dostępne techniki molekularne. Analizy statystyczne (ANOVA i Statistica ver. oprogramowanie 10.0, Stat. Soft Inc., Tulsa, OK, USA) wykazały istotność różnic na poziomie  $P \leq 0,05$ . Wykazano, że w glebie poddanej wieloletniej uprawie bezorkowej zachodzą korzystne zmiany w jakości środowiska glebowego w oparciu o większą pulę biomasy drobnoustrojów i aktywność enzymatyczną oraz wyższą aktywność metaboliczną drobnoustrojów (BIOLOG® Ecoplates<sup>TM</sup>), a także bardziej zróżnicowane ilości wyizolowanego z gleby DNA, w porównaniu do systemu płughowego.

*Badania sfinansowano częściowo z Programu Badawczego Wieloletniego IUNG-PIB Zadanie 1.3 i 1.4 oraz Statutowego Programu Badawczego IUNG 2.26 i 2.38 oraz WBR/KGCHŚiH/DS.5/2013-2019*

### Assessment of the effects of long-term no-tillage system use on changes of some parameters of soil quality

The aim of the research was to assess changes in diversity and activity of soil microbial communities related to the effects of no-tillage system in comparison to the tillage system with ploughing. Research (2015-2018) was conducted on the long-term experimental fields at the ES of IUNG-PIB in Grabów (Mazovian voivodeship). Soil analysis were made using both standard and molecular-based methods. Statistical analysis (ANOVA and Statistica ver. 10.0 software, Stat. Soft Inc., Tulsa, OK, USA) showed significant differences at  $P \leq 0.05$ . The results showed that no-tillage system contributed beneficial changes in soil environment which was reflected in the bigger size of soil microbial biomass pool, higher enzymatic activity, and metabolic diversity (BIOLOG® Ecoplates<sup>TM</sup>), and more diverse quantities of soil DNA than under the tillage system with mouldboard plough.

*The research was supported partly by Multiannual IUNG-PIB Research Programmes 1.3 and 1.4 and Statute Research Programmes IUNG 2.26 and 2.38 and WBR/KGCHŚiH/DS.5/2013-2019*

## **Selekcja szczepów bakterii endofitycznych roślin uprawnych i chwastów w kierunku produkcji deaminazy ACC z wykorzystaniem metody molekularnej i klasycznej techniki płytek agarowych**

Małgorzata Woźniak<sup>1</sup>, Anna Gałązka<sup>1</sup>, Anna Marzec-Grządziel<sup>1</sup>, Renata Tyśkiewicz<sup>2</sup>, Jolanta Jaroszuk-Ścisiel<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, e-mail: m.wozniak@iung.pulawy.pl;

<sup>2</sup>Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Wnętrze tkanek roślin (endosfera) jest dynamicznym środowiskiem w którym zachodzą złożone interakcje pomiędzy mikroorganizmami i roślinami. Niektóre bakterie endofityczne promujące wzrost roślin (PGPE - *Plant Growth Promoting Endophytes*) produkują ważny enzym, deaminazę kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboxylowego (ACC), który reguluje syntezę etylenu przez metabolizowanie ACC (cząsteczka prekursorowa etylenu w roślinach wyższych) z wytworzeniem  $\alpha$ -ketomaślanu i amoniaku. Celem niniejszego badania była wstępna selekcja szczepów bakterii produkujących enzym deaminazę ACC z użyciem klasycznej metody płytek agarowych na podłożu zawierającym jako jedyne źródło azotu ACC oraz z użyciem metody molekularnej – amplifikacja genu *acdS* techniką real-time PCR. Materiał badawczy stanowiły 23 szczepy bakterii wyizolowane z endosfery kukurydzy, bobiku, pszenicy, żyta, skrzypu i łopianu (korzeń i łodyga). Na podstawie otrzymanych wyników analizy real-time PCR stwierdzono obecność genu *acdS* u wszystkich badanych szczepów, natomiast na podłożu agarowym z ACC, 5 izolatów nie wykazywało cech wzrostu.

*Badania sfinansowano z tematu badawczego 1.21 realizowanego w ramach działalności Statutowej IUNG-PIB oraz tematu UMCS BS-P-11-010-18-2-06*

## **Selection of strains of endophytic bacteria of crop and wild plants towards the production of ACC deaminase using molecular method and classical plate techniques**

The plant interior (endosphere) is a dynamic environment of complicated microbe-plant interactions. Certain plant growth promoting endophytes (PGPE) produce enzyme, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase, which regulates ethylene production by metabolizing ACC (a precursor molecule of ethylene in higher plants) into  $\alpha$ -ketobutyrate and ammonia. The aim of this study was to pre-select the strains of bacteria that produce the ACC deaminase enzyme using the classic agar plate method on the substrate containing ACC as only the source of nitrogen and using the molecular method - amplification of the *acdS* gene with real-time PCR. The research material consisted of 23 strains of bacteria isolated from the endosphere of maize, horse bean, wheat, rye, horsetail and burdock (root and stem). Based on the obtained results of real-time PCR analysis, the presence of the *acdS* gene was found in all tested strains, while on the agar medium from ACC, 5 isolates did not show any growth characteristics.

*This research was supported by the project nr 1.21 (2017 – 2019) the statutory activity of IUNG-PIB in Pulawy and partly by UMCS BS-P-11-010-18-2-06*

## **Charakterystyka mykobioty ryzosfery i endosfery szybko rosnących drzew *Paulownia elongata* x *Paulownia fortunei***

Małgorzata Woźniak<sup>1</sup>, Anna Gałązka<sup>1</sup>, Jarosław Grządziel<sup>1</sup>, Magdalena Frąć<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, e-mail: m.wozniak@iung.pulawy.pl;

<sup>2</sup>Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

*Paulownia* spp. to szybko rosnące drzewo liściaste należące do rodziny Paulowniaceae, które charakteryzuje się wysoką produkcją biomasy i szybkim tempem wzrostu. Niewiele wiadomo na temat oddziaływań drzew *Paulownia* z grzybami w naturalnych ekosystemach. Głównym celem badania było porównanie mykobioty ryzosfery i endosfery gatunku *Paulownia elongata* x *Paulownia fortunei*. Mykobiotę rośliny i gleby ryzosferowej został scharakteryzowany za pomocą sekwencjonowania metagenomowego fragmentu ITS1 na platformie Illumina MiSeq. Większość grzybowych endofitów korzeniowych sklasyfikowano do Olpidiomycota, podczas gdy większość endofitów liści należała do typu Ascomycota i Basidiomycota. Natomiast w ryzosferze dominowały grzyby zaliczone do Ascomycota, Basidiomycota oraz *Mortierellomycota*.

*Badania finansowano ze środków projektu NCN-Preludium, nr projektu UMO-2016/23/N/NZ9/02157*

## **Characteristics of the rhizospheric and endophytic mycobiome of fast growing trees *Paulownia elongata* x *Paulownia fortunei***

*Paulownia* spp. are fast-growing deciduous trees that belong to the Paulowniaceae family, which is characterized by high biomass production and a fast growth rate. Very little is known about *Paulownia* interactions with the fungal communities in natural ecosystems. The main goal of this study was to compare the rhizospheric and endophytic mycobiome of *Paulownia elongata* and *Paulownia fortunei*. The mycobiome of the plant and rhizosphere soil were characterized by metagenomic sequencing of the ITS1 fragment on the Illumina MiSeq platform. Most fungal root endophytes were classified to Olpidiomycota, while the majority endophytes of leaves were Ascomycota and Basidiomycota. Moreover, in the rhizosphere, fungi classified as Ascomycota, Basidiomycota and *Mortierellomycota* dominated.

*This research funded by the NCN-Preludium project no 2016/23/N/NZ9/02157*

## Struktura społeczności bakterii w wodach Wisły

Karolina Furtak<sup>1</sup>, Jarosław Grządziel<sup>1</sup>, Anna Gałązka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy; ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

Wisła jest najdłuższą rzeką Polski, a jej wody, co jakiś czas zalewają sąsiadujące z nią tereny. Wśród badań dotyczących mikrobiomu wód rzecznych dominują analizy sanitarne mające na celu kontrolę wód pitnych. Najczęściej oznaczanymi bakteriami są *E. coli* oraz bakterie z rodzajów *Enterobacter*, *Citrobacter* i *Klebsiella*. W niniejszym badaniu postanowiliśmy określić skład społeczności bakterii w wodzie z Wisły.

Woda została pobrana z Wisły w miejscowości Janowiec w woj. Lubelskim, z nurtu rzeki w odległości ok. 27 metrów od brzegu do sterylnej pojemnika o pojemności 50 L. W celu analizy społeczności bakterii zastosowano sekwencjonowanie następczej generacji regionu V3/V4 16S rDNA z wykorzystaniem aparatu Miseq (Illumina).

Uzyskano łącznie 88 operacyjnych jednostek taksonomicznych (OTU). Zidentyfikowano 53 rodziny, a w nich 62 różne rodzaje bakterii, z czego 26 nie sklasyfikowano. Dominującymi rodzinami okazały się *Planctomycetaceae* oraz *Xanthomonadaceae*. Poszukując bakterii patogennych zidentyfikowano nielicznych przedstawicieli *Legionella* sp. oraz *Rickettsia* sp. Uzyskane wyniki są zaskakujące, ponieważ powszechnie uważa się, że wody rzeczne są zanieczyszczone mikroorganizmami patogenicznymi.

*Badania wykonano w ramach zadania 1.4 Programu Wieloletniego IUNG-PIB 2016-2020: Ocena i kształtowanie bioróżnorodności środowiska glebowego oraz aktywności mikrobiologicznej gleb z uwzględnieniem warunków siedliskowych i systemów gospodarowania. oraz w ramach realizacji dotacji dla młodych naukowców w roku 2018: Wpływ letnich powodzi na zmiany bioróżnorodności strukturalnej i funkcjonalnej mikrobiomu wybranych mad rzecznych. finansowanej z MNiSW.*

### Structure of bacterial community in the water of the Vistula River

The Vistula is the longest river in Poland, and its waters flood neighbouring areas from time to time. Sanitary analyses aimed at the control of drinking water dominate among the studies on river water microbiomes. The most frequently determined bacteria are *E. coli* and bacteria of the genera *Enterobacter*, *Citrobacter* and *Klebsiella*. In this study we decided to determine the composition of the bacterial community in water from the Vistula River.

The next generation sequencing of the V3/V4 16S rDNA region with the use of the Miseq instrument (Illumina) was used to analyse the bacterial community.

A total of 88 operational taxonomic units (OTU) were obtained. 53 families were identified with 62 different types of bacteria, 26 of which were not classified. *Planctomycetaceae* and *Xanthomonadaceae* were the dominant families. When searching for bacteria pathogenic to humans, few representatives of *Legionella* sp. and *Rickettsia* sp. were identified in the water. The results are surprising because river waters are commonly considered to be contaminated with pathogenic microorganisms.

## Zmiany w społeczności mikroorganizmów glebowych wywołane zastojem wody

Karolina Furtak<sup>1</sup>, Jarosław Grządziel<sup>1</sup>, Anna Gałązka<sup>1</sup>, Jacek Niedźwiecki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Rolniczej, <sup>2</sup>Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

W strukturze mikrobiomu glebowego oraz jego aktywności dochodzi do zmian wywołanych zalewaniem wodą i ubytkiem tlenu. Celem niniejszej pracy była ocena zmian w strukturze mikrobiomu glebowego zachodzących w wyniku letniej powodzi.

Do badań wybrano trzy różne mady rzeczne zlokalizowane w miejscowościach Wojszyn oraz Janowiec w woj. lubelskim. Mady zostały pobrane jako bloki glebowe, umieszczone w pojemnikach, a następnie zalane wodą pobraną z Wisły. Przez 2 tygodnie utrzymywano wodę na poziomie 5 cm nad poziomem gleby. Próbkę pobrano dwukrotnie: po 7 i 14 dniach zastoju wody. Analizy struktury mikrobiomu glebowego dokonano z zastosowaniem sekwencjonowania następnej generacji (Miseq, Illumina).

W świeżych madach rzecznych zidentyfikowano 162 różne rodzaje bakterii, podczas gdy po symulowanej powodzi odnotowano 236 rodzajów. W przypadku społeczności grzybów w świeżych glebach zidentyfikowano 247 rodzajów, zaś po zastoju wody ilość ta zmniejszyła się do 181. Uzyskane wyniki wskazują, że nadmierna wilgotność gleby wywołana symulowaną powodzią wpływa na strukturę mikrobiomu glebowego.

*Badania wykonano w ramach zadania 1.4 Programu Wieloletniego IUNG-PIB 2016-2020: Ocena i kształtowanie bioróżnorodności środowiska glebowego oraz aktywności mikrobiologicznej gleb z uwzględnieniem warunków siedliskowych i systemów gospodarowania. oraz w ramach realizacji dotacji dla młodych naukowców w roku 2018: Wpływ letnich powodzi na zmiany bioróżnorodności strukturalnej i funkcjonalnej mikrobiomu wybranych mad rzecznych. finansowanej z MNiSW.*

## Changes in the soil microorganism community as a result of water stagnation

In the structure of the soil microbiome and its activity there are changes caused by flooding with water and oxygen deficiency. The aim of this research was to evaluate changes in the structure of soil microbiome as a result of summer floods.

Three different river muds located in Wojszyn and Janowiec in Lubelskie Voivodeship were selected for the study. The muds were collected as soil blocks, placed in containers and then flooded with water taken from the Vistula River. For 2 weeks water was maintained at the level of 5 cm above the soil level. Samples were taken twice: after 7 and 14 days of water stagnation. The analysis of soil microbiome structure was performed with the use of next generation sequencing (Miseq, Illumina).

In fresh river muds 162 different types of bacteria were identified, while after simulated floods 236 types were recorded. In the case of fungi community, 247 types were identified in fresh soils, and after water stagnation this amount decreased to 181. The obtained results indicate that excessive soil moisture caused by the simulated floods affects the structure of the soil microbiome.

## Zmiany aktywności i różnorodności drobnoustrojów w glebie oraz stabilności gleby w różnych systemach produkcji roślinnej

Anna M. Gajda<sup>1</sup>, Ewa A. Czyż<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy (IUNG-PIB), ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; e-mail ag@iung.pulawy.pl

<sup>2</sup> Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowisk i Hydrologii, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, ul. A. Zelwerowicza 8B, 35-601 Rzeszów; e-mail ewac@ur.edu.pl

Określono zmiany jakości gleby pod wpływem oddziaływania systemów produkcji roślinnej na podstawie zmian aktywności i różnorodności drobnoustrojów, zawartości materii organicznej (MO) oraz zawartości łatwo-dyspergującego ilu (RDC) w glebie pod pszenicą ozimą. Badania (2016–2017) przeprowadzono w oparciu o wieloletnie doświadczenie polowe RZD IUNG-PIB w Osinach (woj. lubelskie) z różnymi systemami produkcji roślinnej. Oznaczono aktywność dehydrogenaz oraz zawartość MO i RDC, a także aktywność metaboliczną (BIOLOG® Ecoplates™) w glebie. Analizy statystyczne (ANOVA oraz Statistica ver. 10.0, Stat. Soft Inc., Tulsa, OK, USA) wykazały istotność różnic na poziomie  $P \leq 0,05$ . Wyniki wykazały korzystny wpływ systemu ekologicznego na glebę, na podstawie wyższej aktywności i różnorodności metabolicznej drobnoustrojów oraz wyższej zawartości MO i niższej zawartości RDC, w porównaniu do systemu konwencjonalnego.

*Badania sfinansowano częściowo ze Statutowego Programu Badawczego IUNG-PIB 2.26 i 2.38 oraz Programu Badawczego Wieloletniego - Zadanie 1.3 i 1.4 oraz częściowo z WBR/KGCHŚiH/DS.5/2013-2019*

### Changes in the activity and diversity of soil microorganisms and soil stability in various crop production systems

The research was focused on changes in soil quality in relation to crop production systems applied on changes the activity and diversity of soil microorganisms, organic matter (OM) and readily-dispersible clay (RDC) contents in soil under winter wheat. The research (2016-2017) was carried out at the long-term experimental fields located at the IUNG-PIB ES in Osiny (Lublin Voivieship) with different crop production systems. The dehydrogenases activity and OM and RDC contents, and metabolic activity and diversity (Biolog® Ecoplates™) were analyzed. Statistical analysis (ANOVA and Statistica ver. 10 software, Stat. Soft Inc., Tulsa, OK, USA) showed significant differences at  $P \leq 0.05$ . The results indicated on beneficial effects of the ecological system on the soil, which was reflected in higher enzymatic activity and greater microbial metabolic diversity, and higher MO and lower RDC contents, compared to the conventional system.

*The research was financed partly from IUNG-PIB Statute Programs 2.26 and 2.38 and Multiannual Programmes 1.3 and 1.4 and WBR/KGCHŚiH/DS.5/2013-2019*



## **Wpływ biowęgla na zmianę bioróżnorodności strukturalnej i funkcjonalnej mikroorganizmów glebowych w uprawie zbóż**

Anna Gałązka<sup>1</sup>, Jarosław Grządziel<sup>1</sup>, Karolina Gawryjołek<sup>1</sup>, Jarosław Ciepiał<sup>1</sup>, Krzysztof Jończyk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl;

<sup>2</sup>Zakład Systemów i Ekonomiki Produkcji Roślinnej

Celem badania była ocena wpływu dodatku biowęgla na jakość gleby i różnorodność strukturalną i funkcjonalną drobnoustrojów. Dawki biowęgla określono na podstawie początkowej zawartości węgla w glebie i zwiększono je do 2,5%, 5%, 10%, 20%, 50% i 100% w obiektach doświadczalnych. Projekt eksperymentu obejmował również obiekt kontrolny, który nie był traktowany biowęgłem. Określono podstawowe aktywności biologiczne w glebie, tj. aktywność enzymatyczną i zawartość węgla i azotu w biomacie mikrobiologicznej. Dodatkowo oceniono strukturalną i funkcjonalną bioróżnorodność mikroorganizmów glebowych. Wykazano, że biowęgiel dodany do gleby w dawce 10-20% znacznie zwiększył aktywność biologiczną gleby i różnorodność funkcjonalną. 20% dawka biowęgla okazała się optymalną dawką dla zwiększenia aktywności biologicznej i bioróżnorodności gleby. Dawka 20% biowęgla spowodowała znaczny wzrost całkowitej zawartości węgla w biomacie drobnoustrojowej, aktywności enzymatycznej i ogólnej zawartości całkowitych i łatwo ekstrahowanych glomalin. Najwyższe wartości wskaźników Shannona i AWCD określono w glebie uzupełnionej 5-20% biowęgla.

*Badania sfinansowano z tematu badawczego 3.13 Ocena oddziaływania biowęgla na produktywność roślin oraz właściwości fizyko-chemiczne i mikrobiologiczne”, realizowanego w ramach działalności statutowej IUNG-PIB (2016-2019).*

### **The effect of biochar on the change of structural and functional biodiversity of soil microorganisms in cereal cultivation**

The aim of the study was to evaluate the effect of biochar addition on soil quality and structural and functional diversity of microorganisms. Biochar doses were determined based on the initial carbon content in the soil and increased to 2.5%, 5%, 10%, 20%, 50% and 100% in experimental facilities. The design of the experiment also included a control object that was not treated with biochar. The basic biological activities in the soil were determined, i.e. the enzymatic activity and the carbon and nitrogen content in the microbiological biomass. In addition, it assessed the structural and functional biodiversity of soil microorganisms. It was shown that biochar added to soil at a dose of 10-20% significantly increased soil biological activity and functional diversity. A 20% dose of biochar turned out to be the optimal dose for increasing the biological activity and soil biodiversity. The 20% biocarbon dose resulted in a significant increase in the total carbon content in the microbial biomass, enzymatic activity and the total content of total and easily extracted glomalines. The highest values of Shannon and AWCD indicators were determined in soil supplemented with 5-20% biochar.

*The research was financed from the research task 3.13. Assessment of biochar impact on plant productivity as well as physico-chemical and microbiological properties', carried out as part of IUNG-PIB statutory activity (2016-2019)*

### **Bioróżnorodność strukturalna i funkcjonalna gleb w zależności od systemu uprawy pszenicy ozimej**

Anna Gałązka<sup>1</sup>, Jarosław Grządziel<sup>1</sup>, Karolina Gawryjolek<sup>1</sup>, Krzysztof Jończyk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl;

<sup>2</sup>Zakład Systemów i Ekonomiki Produkcji Roślinnej

Celem badań była ocena bioróżnorodności strukturalnej i funkcjonalnej gleb spod uprawy pszenicy ozimej w zależności od systemu uprawy roli. Próbkę glebową pobrano w kwietniu i sierpniu 2018 roku spod uprawy pszenicy ozimej uprawianej z zastosowaniem różnych systemów produkcji roślinnej (monokultura, konwencjonalny, ekologiczny, integrowany) w Osinach z modelowego doświadczenia polowego założonego w 1994 roku. Próbkę glebową przeanalizowano w aspekcie bioróżnorodności i aktywności mikrobiologicznej gleb. Stwierdzono, iż uprawa pszenicy jarej w monokulturze i systemie konwencjonalnym istotnie wpływa na spadek w glebie aktywności mikrobiologicznej i bioróżnorodności. Z kolei uprawa roślin w systemie ekologicznym i integrowanym powoduje zachowanie bioróżnorodności mikrobiologicznej gleb.

*Badania sfinansowano z tematu badawczego 1.20, realizowanego w ramach działalności statutowej IUNG-PIB (2016-2019).*

### **Structural and functional biodiversity of soils depending on the winter wheat cultivation system**

The aim of the study was to assess the structural and functional biodiversity of soil from the cultivation of winter wheat depending on the cultivation system. Soil samples were collected in April and August 2018 from the cultivation of winter wheat cultivated using various plant production systems (monoculture, conventional, ecological, integrated) in Osiny from the model field experiment established in 1994. Soil samples were analyzed in the aspect of structural and functional biodiversity and microbial activity. It was found that the cultivation of spring wheat in monoculture and the conventional system significantly influences the decrease in microbial activity and biodiversity in the soil. In turn, cultivation of plants in an ecological and integrated system results in the preservation of microbial biodiversity of soils.

*The research was financed from the research task 1.20, carried out as part of IUNG-PIB statutory activity (2016-2019).*

## **Ocena aktywności enzymatycznej i metabolicznej gleb spod roślin spontanicznie zasiedlających składowiska odpadów poflotacyjnych i żużlowych**

Sylwia Siebielec<sup>1</sup>, Emilia Grzęda<sup>1</sup>, Monika Pecio<sup>2</sup>, Anna Gałązka<sup>1</sup>,  
Grzegorz Siebielec<sup>2</sup>

<sup>(1)</sup> Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

<sup>(2)</sup> Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

Składowiska odpadów poflotacyjnych o ekstremalnych zawartościach cynku, ołowiu, kadmu i arsenu stanowią poważny problem na obszarze Górnego Śląska. Zanieczyszczenie gleb metalami może powodować toksyczność dla roślin i mikroorganizmów glebowych ograniczając tym samym zdolność gleby do pełnienia podstawowych funkcji. Celem pracy była ocena aktywności enzymatycznej i metabolicznej gleb spod roślin spontanicznie zasiedlających składowisko poflotacyjnych odpadów poflotacyjnych. Z ryzosfery pobrano próbki z 8 roślin w celu zmierzenia parametrów chemicznych i biochemicznych, które charakteryzują biodostępność metali, a także aktywność mikroorganizmów. Profile biochemiczne na poziomie społeczności mikroorganizmów oceniono za pomocą metody Biolog EcoPlate™. Różnice aktywności enzymatycznej i metabolicznej pomiędzy ryzosferą poszczególnych roślin wskazują na specyfikę składu populacji mikroorganizmów.

*Praca finansowana w ramach projektu pt. „Rola mikroorganizmów w zasiedlaniu składowisk odpadów poflotacyjnych przez rośliny oraz ich wpływ na biodostępność pierwiastków śladowych. Preludium 9, UMO-2015/17/N/ST10/03182.*

## **Enzyme and metabolic activity of soils collected from rhizosphere of spontaneous vegetation covering smelter wastelands**

Smelter wastelands with extreme contents of zinc, lead, cadmium and arsenic constitute a serious problem in the area of Upper Silesia. Soil contamination with metals can cause toxicity to plants and soil microorganisms, limiting the soil ability to perform basic functions. The aim of the study was to evaluate the enzymatic and metabolic activity of soils from plants spontaneously inhabiting the wasteland in Piekary Śląskie. Rhizosphere soils representing 8 plants were sampled for measuring chemical and biochemical parameters which are indicative for metals bioavailability as well as for microorganism activity. The community-level biochemical profiles of microorganisms were evaluated by using the Biolog EcoPlate™ method. Differences in enzymatic and metabolic activity between plants indicate the specificity of the composition of the microorganism populations.

*Research within the project "Role of microorganisms in colonization of smelter wastelands by plants and their impact on bioavailability of trace elements" Preludium 9, UMO-2015/17/N/ST10/03182*

## **Wpływ suszy i intensywnych zmian wilgotności gleb na aktywność metaboliczną oraz skład populacji bakterii**

Sylwia Siebielec<sup>1</sup>, Emilia Grzęda<sup>1</sup>, Jarosław Grzędziel<sup>1</sup>, Anna Gałązka<sup>1</sup>, Grzegorz Siebielec<sup>2</sup>

<sup>(1)</sup> Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

<sup>(2)</sup> Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu ekstremalnych zjawisk pogodowych, tj. długotrwałej suszy i intensywnych zmian wilgotności gleby na wybrane właściwości chemiczne i mikrobiologiczne gleby.

Badania przeprowadzono latem 2016 r. Ustalając różną częstotliwość i poziom nawadniania gleby, stworzono różne poziomy warunków stresowych. Wilgotność gleby rejestrowano w całym okresie trwania doświadczenia wazonowego, a próbki gleby pobierano kilka razy, aby reprezentowały okresy zarówno długotrwałej suszy, jak i nadmiernej wilgoci. Próbki gleby poddano oznaczeniu aktywności dehydrogenaz, fosfatazy kwaśnej i fosfatazy alkalicznej. Profile biochemiczne na poziomie społeczności drobnoustrojów oceniono za pomocą metody Biolog EcoPlate™.

*Praca finansowana ze środków przyznanych przez IUNG-PIB na prowadzenie badań naukowych służących rozwojowi młodych naukowców – temat "Zmiany różnorodności i funkcjonalności drobnoustrojów w warunkach suszy i intensywnych zmian wilgotności gleby oraz ich konsekwencje dla emisji gazów cieplarnianych" oraz ze środków pochodzących z tematu statutowego 2.41. „Ocena skutków środowiskowych wykorzystania egzogennych źródeł materii organicznej w rolnictwie” IUNG-PIB.*

### **Effect of drought and intense changes of soil moisture on metabolic activity and the composition of bacterial populations**

The aim of the research was to assess the impact of extreme weather phenomena, i.e. long-term drought and intense changes of soil moisture on selected chemical and microbiological properties of the soil.

The research was carried out in summer 2016. Setting a various frequency and level of soil irrigation, various levels of stress conditions were created. Soil moisture was recorded throughout the entire pot experiment and soil samples were collected several times to represent periods of both long-term drought as well as excessive moisture. Soil samples were subjected to the determination of dehydrogenases activity, acid phosphatase and alkaline phosphatase. Biochemical profiles at the microbial community level were assessed using the Biolog EcoPlate™ method.

*The research was performed within the young scientists project "Changes of diversity and functionality of microorganisms in drought conditions and intensive changes of soil moisture and their consequences for greenhouse gas emissions", granted by Institute of Soil Science and Plant Cultivation - State Research Institute and within statutory task 2.41 "Assessment of environmental effects of the use of exogenous organic matter sources in agriculture"*