



Wpływ systemów zarządzania glebą na zbiorowiska drobnoustrojów ryzosfery w intensywnym sadzie jabłoniowym (*Malus × domestica* Borkh.)

Kamila Łucja Bokszczanin*, Sebastian Przybyłko, Karolina Molska-Kawulok, Dariusz Wrona

kamila_bokszczanin@sggw.edu.pl, Katedra Sadownictwa i Ekonomiki Ogrodnictwa, Instytut Nauk Ogrodniczych SGGW, ul. Nowoursynowska 159 Str., 02-787 Warsaw, Poland

Rolnictwo regeneracyjne traktuje zdrowie gleby priorytetowo za względu na gromadzenie organicznych zasobów węgla i azotu oraz wspieranie aktywności i zróżnicowania fauny i flory w glebie, warunków wstępnych utrzymania produktywności i jakości upraw w zrównoważonej produkcji żywności. Celem tego badania było poznanie wpływu organicznych i nieorganicznych systemów utrzymania gleby w sadzie jabłoniowym odmiany 'Red Jonaprince' (*Malus × domestica* Borkh.) na różnorodność biologiczną mikroflory glebowej oraz właściwości fizykochemiczne gleby, ze szczególnym uwzględnieniem składu genetycznego mikrobiomu ryzosfery.

Materiały i metody

Stanowisko doświadczalne znajdowało się w sadzie na terenie Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Wilanowie. Materiał roślinny stanowiła odmiana jabłoni *Malus × domestica* Borkh. odmiana Red Jonaprince, zaszczerpiona na podkładce M.9. Drzewa posadzone w rozstawie 3,5 × 1 m, w głębokiej, gliniastej glebie aluwialnej, zawierającej 2,5% próchnicy. Eksperyment założono w 2017 roku w układzie bloków losowych. Porównano następujące sposoby gospodarowania glebą w rzędach drzew o szerokości 1 m: (1) pas herbicydowy; (2) uprawa mechaniczna; (3) ściółka syntetyczna; (4) 'ściółka z miskanta' – glebę o szerokości 1 m ściółkowano w rzędach drzew 10 cm warstwą rozdrobnionej słomy z *Miscanthus × giganteus* (75 dm³ na drzewo); (5) 'ściółka z miskanta 2' – glebę o szerokości 1 m i głębokości 10 cm przed sadzeniem drzew zmieszano w rzędach drzew z 75 dm³ rozdrobnionej słomy *M. × giganteus*, a bezpośrednio po posadzeniu glebę ściółkowano w rzędach drzew 10 cm warstwą skompostowanego podłoża popieczarkowego; oraz (7) 'Podłoże popieczarkowe 2'.



Owoce i drzewa odmiany 'Red Jonaprince'

Nieorganiczne i organiczne sposoby utrzymania gleby w sadzie.



Pas herbicydowy Uprawa mechaniczna Ściółka syntetyczna Podłoże popieczarkowe Ściółka z miskanta

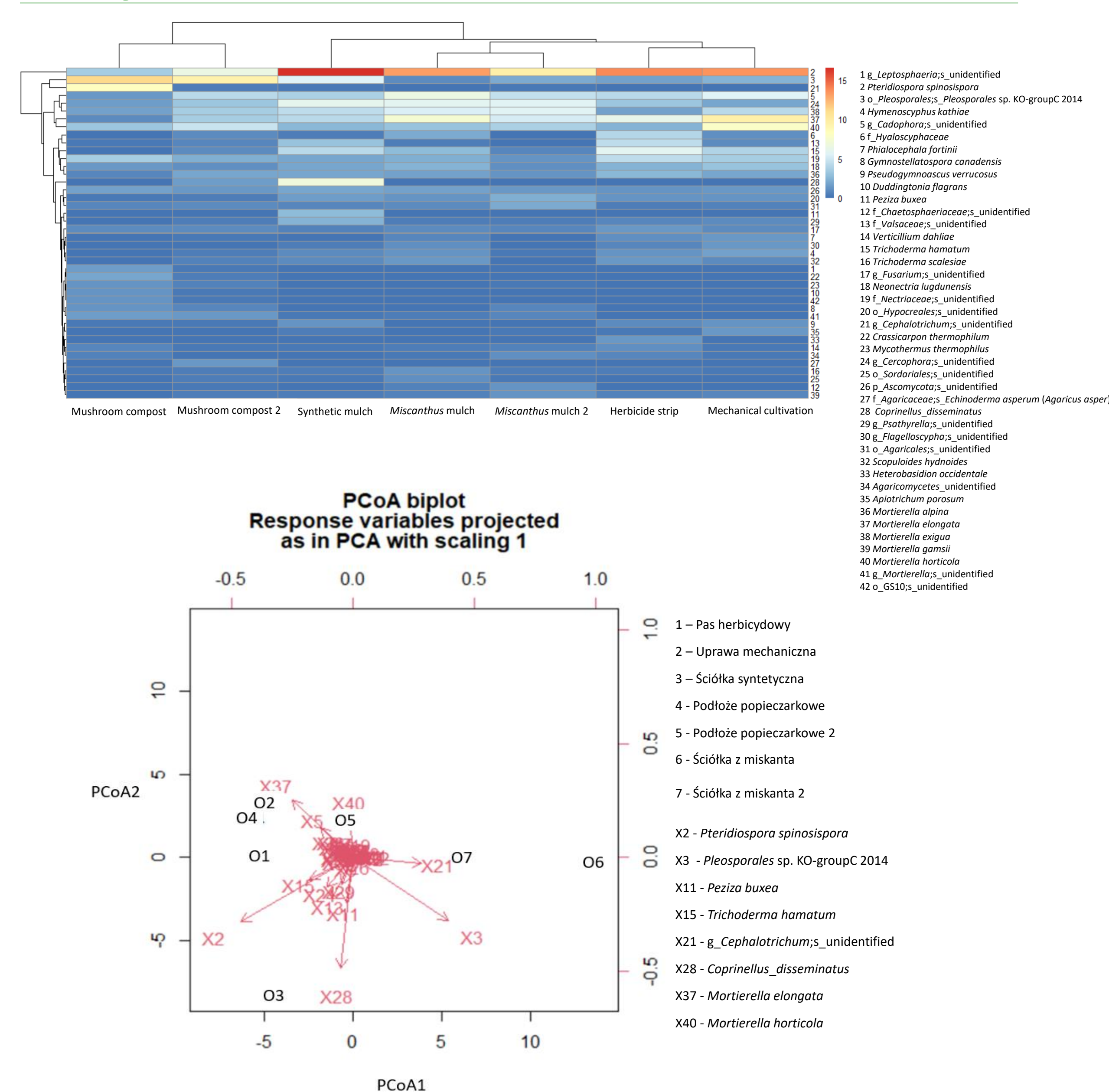
Izolacja DNA i sekwencjonowanie nowej generacji

DNA ryzosfery ekstrahowano z 0,5 g próbki gleby każdej kombinacji powtórzonej trzykrotnie przy użyciu zestawu DNeasy PowerSoil Kit (Qiagen). Analizę metagenomiczną populacji bakterii przeprowadzono w oparciu o region hiperzmienny V3-V4 genu 16S rRNA. Wszystkie etapy, w tym amplifikację, indeksowanie i kwantyfikację biblioteki, przeprowadzono zgodnie z protokołem przygotowania biblioteki 16S Metagenomic Sequencing Library (Illumina, San Diego, Kalifornia, USA). Analizę metagenomiczną populacji grzybów przeprowadzono w oparciu o region hiperzmienny ITS1 ze specyficznymi starterami.

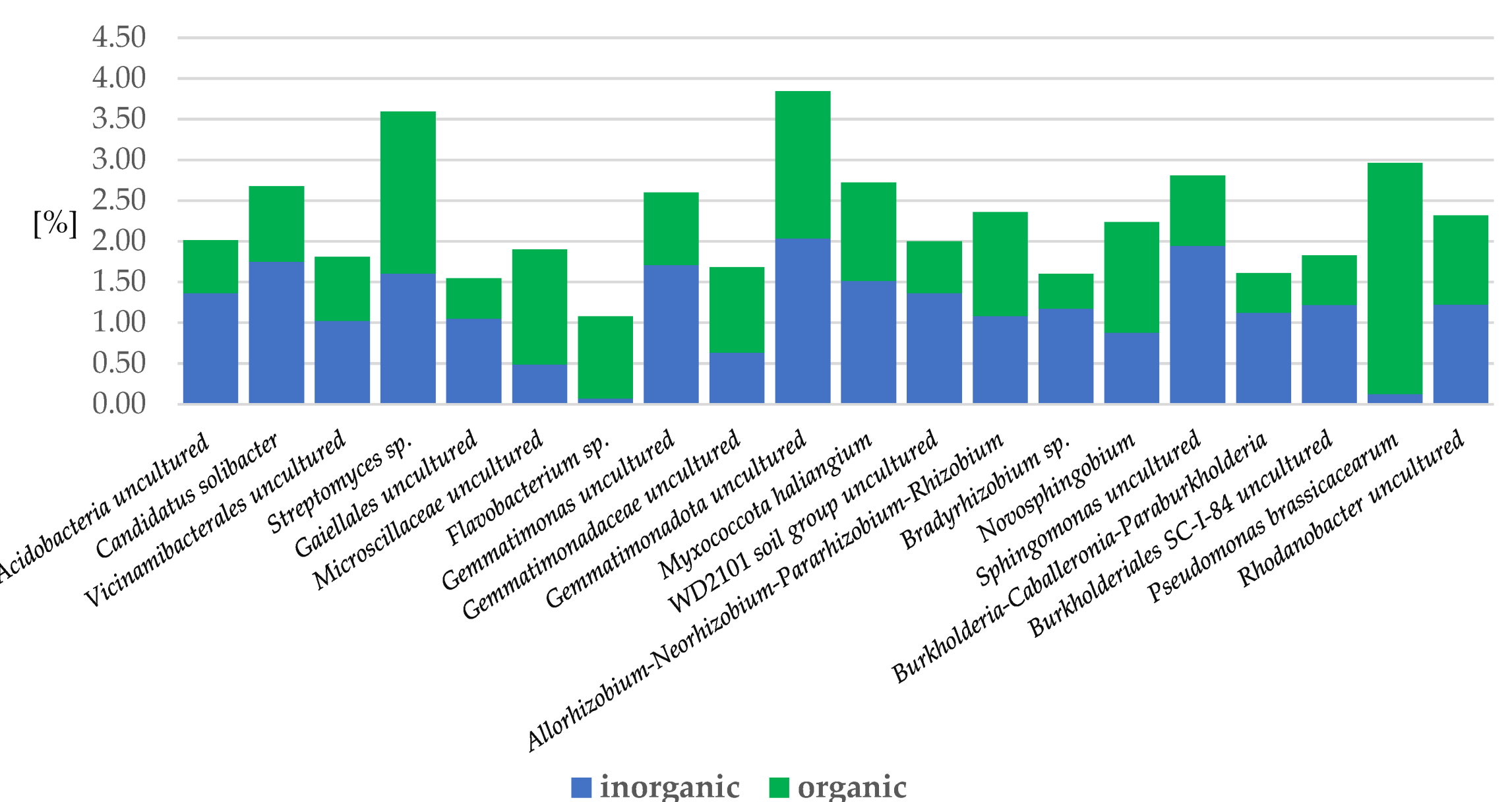
Analiza bioinformatyczna

Automatyczną wstępną analizę danych przeprowadzono na aparacie MiSeq przy użyciu oprogramowania MiSeq Reporter (MSR) v2.6. Analiza składała się z dwóch etapów: automatycznego demultipleksowania próbek oraz generowania plików fastq zawierających surowe odczyty. Bioinformatyczną klasyfikację odczytów do poziomu gatunku przeprowadzono za pomocą pakietu oprogramowania QIIME w oparciu o sekwencje referencyjne SILVA_v_138 (bakterie) i UNITE v8.2 (grzyby). Dalszą analizę bioinformatyczną przeprowadzono przy użyciu programu R oraz pakietów phyloseq, vegan i factoextra, natomiast wykresy wygenerowano przy użyciu pakietów ggplot2 i ggbplot.

Wyniki



Gatunki bakterii w ryzosferze jabłoni, których liczebność przekracza 1%, w zależności od nieorganicznego lub organicznego systemu gospodarowania glebą. (nieorganiczne: pas herbicydowy, uprawa mechaniczna, ściółka syntetyczna; organiczne: ściółka z miskanta, ściółka z miskanta 2, podłoże popieczarkowe i podłoże popieczarkowe 2).



Wnioski

Spółeczności grzybów i bakterii na wszystkich poziomach taksonomicznych różniły się znacznie między organicznymi i nieorganicznymi sposobami zarządzania glebą w sadzie.

Dominującą gromadą grzybów we wszystkich systemach zarządzania glebą była *Ascomycota*. Większość operacyjnych jednostek taksonomicznych (ang. OTU) należących do *Ascomycota* przyporządkowano w kolejności do klasy *Sordariomycetes* i *Agaricomycetes*, przy czym obie klasy liczniej występowały w systemach organicznych w porównaniu z systemami nieorganicznymi.

Najliczniejszą gromadą bakterii była *Proteobacteria* reprezentująca 43% wszystkich zidentyfikowanych OTU.

W próbkach organicznych dominowały bakterie należące do klasy *Gammaproteobacteria*, *Bacteroidia* i *Alphaproteobacteria*.

W ściółkach nieorganicznych w porównaniu do organicznych stwierdzono wyższą liczebność bakterii należących do rodziny *Acidobacteriaceae*, *Verrucomicrobiae* i *Gemmatimonadetes*.