

Anna Pikulicka, Wiesław Barabasz

Państwowa Wyższa Szkoła Wschodnioeuropejska w Przemyśle

Instytut Nauk Technicznych

37–700 Przemyśl, ul. Żołnierzy I Armii Wojska Polskiego 1E

apikul@interia.pl; rrbaraba@cyf-kr.edu.pl

Received: 4.02.2020

Reviewed: 2.04.2020

CHARAKTERYSTYKA PROMIENIOWCÓW (*ACTINOMYCETALES*) WYIZOLOWANYCH Z GLEB WYBRANYCH EKOSYSTEMÓW TRAWIASTYCH BIESZCZADZKIEGO PARKU NARODOWEGO

Characteristic of actinomycetes isolated from the selected soils of
grassland ecosystems in the Bieszczady National Park

Abstract: The paper concerns biodiversity of actinomycetes occurring in the Bieszczady Mountains and learning their biochemical and physiological properties. The main purpose of the work was to study in detail the microbiocenotic composition of actinomycetes occurring in soil environments of mountain grass ecosystems in the Bieszczady National Park and to assess their species diversity. Physiological and biochemical abilities were also examined. The special purpose was to learn about the conditions of occurrence of actinomycetes in various grass ecosystems and their antibiotic abilities in relation to various bacteria and fungi, which could be of great economic importance (new antibiotics for humans, animals and plants) due to the isolation of actinomycetes strains from non-degraded soils of the Bieszczady National Park. In addition, the resistance of isolated actinomycetes to various environmental factors was assessed in physiological and biochemical studies, including the possibility of growth in the presence of many ecologically important chemical compounds.

Key words: actinomycetes in soils, properties of actinomycetes, BdNP grassy ecosystems.

Wstęp

Gleba to jedno z najbardziej złożonych naturalnych środowisk, w którym żyje wiele różnorodnych grup systematycznych organizmów wyższych i niższych. Ich zróżnicowanie gatunkowe w środowiskach glebowych jest bardzo duże, a do najważniejszych organizmów należą drobnoustroje, które wraz z szatą roślinną określają zarówno jej charakter jak i kierunek rozwoju (Kozdrój 2013; Sinewa, Terekhova 2015; Stephen 2014). Mikroorganizmy glebowe odznaczają się dużą aktywnością biochemiczną i biogeochemiczną, a dzięki swym różnorodnym właściwościom i uzdolnieniom fizjologicznym mogą wywierać decydujący wpływ na kształtowanie się różnorodnych procesów w środowisku glebowym, co ma decydujące znaczenie w kształtowaniu żyzności i produktywności biologicznej gleb.

Drobnoustroje glebowe, biorąc udział w różnych procesach biochemicznych, związanych z rozkładem i mineralizacją związków organicznych w glebie, uruchamianiem mineralnych składników pokarmowych i z krążeniem pierwiastków (węgla, azotu, fosforu, siarki i wielu innych) oraz syntezą substancji biologicznie czynnych, odgrywają podstawową rolę w funkcjonowaniu ekosystemów polowych, leśnych i trawiastych (Alexander 1977; Hayakawa 2005; Smyk 1984a).

Organizmy zasiedlające glebę tworzą złożony zespół o bardzo dużej liczebności, zwany edafonem. W skład edafonu oprócz mikroorganizmów wchodzi jednokomórkowce roślinne i zwierzęce, rośliny naczyniowe oraz bezkręgowce bytujące w przypowierzchniowej warstwie gleby. Edafon może stanowić od 1 do 10% suchej masy substancji organicznej gleby. Wśród mikroorganizmów glebowych można wyróżnić wirusy (reprodukujące się w komórkach roślin, zwierząt i człowieka oraz bakteriofagi), grzyby i bakterie (w tym promieniowce), które stanowią podstawową masę mikroorganizmów glebowych. W jednym gramie gleby uprawnej występuje około 10^6 – 10^8 komórek bakterii, 10^4 – 10^6 konidiów promieniowców, 10^2 – 10^4 zarodników grzybów (Dobrzański, Zawadzki 1995; Frąc, Jezierska-Tys 2010; Gajda i in. 2010; Kirk i in. 2004; Klimek i in. 2010; Lynch 1990a; Schlegel 2003). Mikroorganizmy glebowe, dzięki swym różnorodnym właściwościom biochemicznym, są niezbędnym gwarantem ciągłości przemiany materii w przyrodzie (Barea i in. 2005; Liu, Zheng 2007; Nannipieri i in. 2003; Singleton 2000).

Występujące w glebie bakterie właściwe, promieniowce oraz grzyby zdolne są do biosyntezy antybiotyków, witamin, kwasów organicznych, przeprowadzania reakcji rozkładu ksenobiotyków, białek, wielocukrów, lipidów czy biotransformacji związków steroidowych lub antybiotyków (Bobek i in. 2009; Crawford 1988; Fijałkowski i in. 2008; Higashide 1995; Jayabarath i in. 2010; Jayalakshmi i in. 2010; Mukesh i in. 2014; Pasti i in. 1990; Przybulewska 2006; Rodziewicz, Łapa 2006). Występujące w tym samym środowisku, jakim jest gleba, drobnoustroje oddziałują wzajemnie na siebie. Możliwych jest kilka form współżycia drobnoustrojów glebowych: symbioza (bakterie wiążące N_2), pasożytnictwo (fagi baktericyjne), drapieżnictwo, komensalizm oraz antagonizm ze szczególnym uwzględnieniem dwóch jego odmian, jak mykolizy i antybiozy (Alexander 1975; Anderson, Cairney 2004; Antoun i in. 2005; Kaszubiak 1998; Sen 2003).

Jednymi z najważniejszych drobnoustrojów glebowych są promieniowce. Promieniowce to Gram-dodatnie bakterie, występujące głównie w środowiskach glebowych, które wzrostem i złożonym cyklem życiowym przypominają grzyby nitkowate. Z licznej grupy promieniowców glebowych aż 70% to gatunki należące do rodzaju *Streptomyces*, a pozostałe gatunki należą do rodzajów *Nocardia*, *Micromonospora* oraz *Actinomycetes*, *Actinoplanes*, i *Streptosporangium* (Abbas 2006; Golińska, Dahm 2011; Goodfellow, Williams 1983; Hodgson 2000; Katsifas i in.

1999; Li-Hua i in. 1996; Miyashi, Tsuru 1982; Osada 1998; Smyk 1984b; Zenova i in. 2008).

Dzięki zróżnicowanej aktywności biologicznej wytwarzanych przez promieniowce wtórnych metabolitów, bakterie te są szeroko wykorzystywane w przemyśle. Oprócz enzymów o zastosowaniu przemysłowym, takich jak chitynazy, ksyłanazy, proteazy, czy lipazy, około 60% stosowanych antybiotyków pochodzenia naturalnego jest produkowanych przez promieniowce, głównie z rodzaju *Streptomyces*, w tym streptomycyna (drugi odkryty antybiotyk i pierwszy o działaniu przeciwcukrzycowym), neomycyna, chloramfenikol i tetracyklina, a także substancje o charakterze cytostatyków i immunosupresantów (np. rapamycyna) (Alanis 2005; Arifuzzaman i in. 2010; Barabasz, Voříšek 2002; Bérdy 2012; El-Naggar i in. 2001; Gurung i in. 2009; Ilic i in. 2007; Katsifas i in. 2000; Nanjwade i in. 2010; Oskay i in. 2004; Ozgur i in. 2008; Salim i in. 2017; Smyk 1999; Wadetwar, Patil 2013; Watve i in. 2001). Bogactwo szlaków metabolicznych promieniowce zawdzięczają wyjątkowo dużemu genomowi (8–10 Mbp), a modelowym gatunkiem w badaniach nad promieniowcami jest gatunek *Streptomyces coelicolor*.

Wysoki udział promieniowców w stosunku do ogólnej liczby bakterii w glebach uprawnych i ogrodowych wynika z faktu, że są to mikroorganizmy preferujące podłoża po nawożeniu i wapnowaniu. Większość promieniowców to tlenowe bakterie odporne na silne zakwaszenie środowiska. Mają one jednak nieodporne (za wyjątkiem gatunku *Thermoactinomyces vulgaris*) na wysoką temperaturę sporu, wytrzymujące bardzo dobrze wysychanie. Promieniowce biorą udział w rozkładzie resztek roślinnych i zwierzęcych, jak również trudno rozkładalnych polisacharydów, np. celulozy i chityny, wyższych kwasów tłuszczowych oraz trudno degradowalnych związków aromatycznych.

Promieniowce są mikroorganizmami, które bardzo licznie zasiedlają warstwę próchniczną gleby. Ich obecność w środowisku glebowym jest ściśle uzależniona m.in. od właściwości chemicznych, biologicznych, fizycznych oraz fizykochemicznych gleby (Khan 2000). Właściwości te mogą ulec znacznym zmianom przez zanieczyszczenie i skażenie środowiska, które niejednokrotnie, działając selekcyjnie na mikrobiom glebowy, powoduje zmniejszenie bioróżnorodności mikrobiologicznej gleby oraz zmniejsza jej aktywność biologiczną. Promieniowce, ze względu na duże zdolności do rozkładu różnych związków chemicznych naturalnego pochodzenia, w tym polisacharydów oraz związków aromatycznych, a także związków pochodzenia antropogennego, odgrywają kluczową rolę w obiegu wielu pierwiastków w przyrodzie (Anitha, Rabeeth 2010; Dobrzański, Zawadzki 1995; Frąc, Jezierska-Tys 2010; Hodgson 2000; Jayabarath i in. 2010; Kumar i in. 2005; Marschner, Baumann 2003; Nagaya i in. 2005; Poomthongdee i in. 2015; Rampazzo i in. 1994).

Promieniowce znane są z tego, że posiadają bardzo duże możliwości syntezy wielu ważnych enzymów i to ich aktywność enzymatyczna decyduje o przemianach materii organicznej w środowisku glebowym. Aktywność enzymatyczna promieniowców ma wpływ na funkcjonowanie całego zespołu mikrobiologicznego gleby, bo niejednokrotnie to enzymy promieniowców są jedynymi, które potrafią rozkładać trudno rozkładalną frakcję humusu. Dla typowych mikroorganizmów autochtonicznych ma to olbrzymie znaczenie, bo dostarcza im niezbędnego do życia węgla i energii. Enzymy promieniowców, a w szczególności dehydrogenazy (DHA), fosfatazy kwaśna (PHOS-H) i zasadowa (PHOS-OH), czy też ureazy (URE), są bardzo dobrymi parametrami oceny aktywności mikrobiologicznej gleb oraz odgrywają ważną rolę w utlenianiu materii organicznej gleby, poprzez transfer elektronów z substratu na akceptor (Bolton i in. 1992). Ze względu na fakt, że aktywność enzymatyczna w glebie jest silnie skorelowana z fizjologiczną aktywnością mikroorganizmów, użycie ich jako wskaźnika do oceny aktywności mikrobiologicznej gleby jest jak najbardziej uzasadnione (Nannipieri i in. 2003; Tabatabai 1994). Enzymy promieniowców szybko reagują na niekorzystne zmiany środowiskowe spowodowane czynnikami naturalnymi i antropogenicznymi, dlatego też mogą pełnić rolę indykatorów jakości gleby. Ze względu na swoje właściwości, tj. wrażliwość na obecność szerokiej gamy zanieczyszczeń i zdolność odzwierciedlania poziomu tych zanieczyszczeń, znalazły szerokie zastosowanie w badaniach ekotoksykologicznych ekosystemu glebowego (Ghazanfar i in. 2010; Nannipieri i in. 1990).

Promieniowce, dzięki swojej wielokierunkowej działalności, utrzymują swoją równowagę biologiczną (homeostaza) i przeciwdziałają zmianom, powodującym naruszenie tej równowagi w środowisku glebowym. Odgrywają bardzo ważną rolę w wielu biologicznych procesach zachodzących w glebie, warunkują obieg pierwiastków i rozkład materii organicznej. Ponadto biorą udział w tworzeniu związków humusowych, a dzięki wydzielaniu polimerów sacharydowych, stabilizują strukturę gleby (Barabasz, Voříšek 2002). Odgrywają nieocenioną rolę w rozwoju roślin, dostarczając im wielu metabolitów, w tym substancji biologicznie czynnych (witaminy, antybiotyki, aminokwasy, garbniki, barwniki), wiązaniu azotu atmosferycznego (Torrey 1978) oraz chronią je przed patogenami (Amit i in. 2011; Antoun, Prévost 2005; Chaudhary i in. 2013).

Celem pracy było szczegółowe poznanie składu mikrobiocenotycznego populacji promieniowców, występujących w środowiskach glebowych górskich ekosystemów trawiastych na terenie Bieszczadzkiego Parku Narodowego (BdPN) oraz ocena ich bioróżnorodności. Zbadano także właściwości fizjologiczne oraz uzdolnienia biochemiczne dominujących szczepów promieniowców. Ponadto w bada-

niach fizjologiczno-biochemicznych oceniono zdolność do produkcji enzymów i odporność wyizolowanych promieniowców na różne czynniki środowiskowe, w tym możliwość wzrostu w obecności wielu ważnych, z ekologicznego punktu widzenia, związków chemicznych, jak: metale ciężkie, mykotoksyny, pestycydy czy antybiotyki.

Metodyka badań i materiały

1. Próbkę gleb do badań, w ilości około 1 kg, pobierano z głębokości około 5-15-20 cm, z gleb użytków zielonych po usunięciu powierzchniowej warstwy darni (poziom A_0 i A_1). Próbkę pobierano do jałowych plastikowych pojemników, z zachowaniem zasad czystości biologicznej. Przy poborze próbek gleby kierowano się ich reprezentatywnością dla całego terenu BdPN oraz ich zróżnicowaniem, a także pokryciem tj. szatą roślinną (Skiba 1994, 2002; Skiba i in. 1998; Skiba i in. 2006; Winnicki 1999; Winnicki, Zemanek 2003). Pobrano 50 próbek gleby z terenu Bieszczadzkiego Parku Narodowego, z różnych miejsc ekosystemów trawiastych, i wykonano ich szczegółową podstawową analizę mikrobiologiczną i chemiczną.

2. Liczebność drobnoustrojów określono metodą płytkową rozcieńczeń Kocha, stosując pożywki wybiórcze dla wybranych grup fizjologicznych drobnoustrojów, jak; agar TSA – bakterie, agar MEA – grzyby, podłoże wg Pikowskiej – bakterie fosforowe, podłoże Winogradskiego dla nitryfikatorów i denitryfikatorów oraz podłoże z żelatyną dla bakterii proteolitycznych. Wyniki podano w postaci jednostek tworzących kolonie (jtk). Wyniki przeliczono na 1 g suchej masy gleby. Wszystkie analizy wykonywano w trzech równoległych powtórzeniach. Liczebność promieniowców oznaczano na standardowych podłożach wybiórczych dla promieniowców, tj. podłoże Gauze'a (Řeháček 1959), podłoże Pochona (Marcinowska, Bis 1998) i podłoże Eatona (Eaton i in. 2005). Identyfikację wyizolowanych szczepów promieniowców przeprowadzono w oparciu o morfologię makroskopową i mikroskopową, próby hodowlane oraz badania fizjologiczne, biochemiczne i auksenograficzne, stosując do tego celu powszechnie używany klucz diagnostyczny (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 2012), zgodnie z zasadami diagnostyki mikrobiologicznej.

3. Właściwości wybranych gatunków promieniowców

3.1. Właściwości antagonistyczne (antybiotyczne) wyizolowanych promieniowców przebadano w oparciu o powszechnie stosowane analizy fizjologiczne, stosując do tego celu zestawy bakterii i grzybów, głównie pleśniowych. W szczegółowych badaniach nad właściwościami antagonistycznymi (antybiotyczne) wykorzystano następujące gatunki bakterii i grzybów:

Bakterie	Grzyby
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Alternaria alternata</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>
<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Cladosporium herbarum</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Fusarium nivale</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Fusarium sporotrichioides</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Penicillium notatum</i>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Penicillium rubrum</i>
<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Trichoderma viride</i>

Badania prowadzono na płytkach Petriego, do których dodawano 15 cm³ pożywki i szczepiono 0,1 cm³ zawiesiną określonego gatunku bakterii lub wybranego grzyba pleśniowego, i hodowano w warunkach pokojowych przez okres 12 godz. Po tym okresie zawiesinę testowanego gatunku promieniowca наносono za pomocą ezy w postaci jednej podłużnej rysy na środku płytki. Po kolejnych 48–72 godz. oceniano makroskopowo, czy zaszczipiony gatunek promieniowca hamował wzrost i rozwój określonych gatunków bakterii i grzybów. Do badań wybrano następujące gatunki promieniowców:

<i>Arthrobacter globiformis</i>	<i>Streptomyces longisporus</i>
<i>Micromonospora nigra</i>	<i>Streptomyces nigrescens</i>
<i>Streptomyces albus</i>	<i>Streptomyces odorifer</i>
<i>Streptomyces cellulosae</i>	<i>Streptomyces violaceus-niger</i>
<i>Streptomyces griseus</i>	<i>Streptosporangium roseum</i>

3.2. Oporność na wybrane pestycydy (fungicyd, herbicyd i insektycyd) przebadano metodą dyfuzyjną stosując sprawdzone podłoże Gauze'a, które okazało się bardzo przydatne do tego rodzaju badań. Po przygotowaniu płytek z zawiesiną promieniowca i dodatku określonych dawek pestycydów umieszczano je w cieplarni o temp. 28°C i hodowano przez okres 3–4 dni, po czym mierzono strefy zahamowania wzrostu. Wszystkie analizy – kombinacje powtarzano w trzech równoległych powtórzeniach. Oceniono następujące pestycydy: miedzian, topsin, fastac i roundup, w następujących stężeniach, które uznano jako dawkę zalecaną i oznaczono jako 1 (Tabela 6):

Miedzian	= 0,15 g/50 cm ³ wody
Topsin	= 1 cm ³ /50 cm ³ wody
Fastac	= 0,0025 cm ³ /50 cm ³ wody
Roundup	= 4 cm ³ /50 cm ³ wody

3.3. Oporność promieniowców na wybrane metale ciężkie przebadano na podłożu płynnym z dodatkiem wybranego metalu i oznaczając zmętnienie pożywki w spektrofotometrze (tzw. O.D. przy długości fali $\lambda=480$ nm). Do badań zastosowano cztery związki: $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ i $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ w stężeniach od 1 do $1000 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ pożywki, tak aby oczekiwany efekt zahamowania wzrostu danego szczepu promieniowca pod ich wpływem był możliwy do zaobserwowania w podłożu płynnym. Hodowlę na podłożach płynnych prowadzono przez okres 3–4 dni, w temp. 28°C . Jako kontrolę użyto pożywki bez dodatku metali, a wszystkie doświadczenia wykonywano w trzech równoległych powtórzeniach.

3.4. Oceny wpływu wybranych olejków eterycznych i mykotoksyn na wzrost promieniowców przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych, wykorzystując do tego celu sprawdzone podłoża hodowlane (agar wg Gauze'a) oraz zmieniając warunki hodowli. Hodowlę prowadzono na podłożach stałych i płynnych przy stałym wytrząsaniu, a wzrost promieniowców oceniano makroskopowo, porównując zmętnienie pożywki spowodowane wzrostem biomasy promieniowców lub strefą zahamowania wzrostu na pożywce stałej.

3.5. Test fitotoksyczności przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych, używając do tego celu szalek Petriego o średnicy 25 cm, w których, na bibule filtracyjnej, układano po 50 nasion pszenicy, grochu, rzeżuchy i fasoli o sprawdzonej sile kiełkowania, moczonych przez 24 godz. w płynach pohodowlanych z wybranych gatunków promieniowców. W czasie hodowli rośliny podlewano tym samym płynem pohodowlanym. Jako kontrolę użyto wody destylowanej. Hodowlę prowadzono w warunkach laboratoryjnych przy świetle dziennym i temperaturze pokojowej. Po skiełkowaniu nasion i wykształceniu łodyżek oraz wypuszczeniu kilku liści i korzonek dokonano obserwacji makroskopowych wyglądu roślin i mierzono długość łodyg oraz najdłuższy wytworzony korzonek. Zwrócono szczególną uwagę na efekt stymulacji wzrostu roślin przez promieniowce.

Wyniki i ich omówienie

Przeprowadzone badania, nad występowaniem promieniowców w glebach ekosystemów trawiastych Bieszczadzkiego Parku Narodowego, uzupełniają i poszerzają naszą wiedzę w tym zakresie.

Oceniając skład chemiczny badanych próbek glebowych, w stosunku do gleb pochodzących z innych miejsc województwa podkarpackiego (Dąbek-Szreniawska 1977; Dobrzański, Zawadzki 1995; Frąc, Jezierska-Tys 2010; Gajda i in. 2010; Smyk 1984b; Trąba, Wolański 2011), można stwierdzić, że zawartości podstawowych pierwiastków w glebach BdPN nie różnią się od nich znacząco. Jedynie w wyższych partiach gór, powyżej 850 m n.p.m., w glebach inicjalnych i słabo wykształconych, obserwowano mniejszą zawartość węgla organicznego i azotu.

Tabela 1. Średnia liczebność wybranych grup drobnoustrojów w glebach Bieszczadzkiego Parku Narodowego (dane w tys. jtk/g gleby).
Table 1. Average number of selected groups of microorganisms in the soils of the Bieszczady National Park (data in thousand cfu/g soil).

Nr próbki Sample number	Liczba mikroorganizmów Number of microorganisms				Clostridium Bakterie beztlenowe Anaerobic bacteria	Bakterie czynne w przemianach azotu Active bacteria in nitrogen transformations			
	Bakterie Bacteria	Bakterie fosforowe Phosphorous bacteria	Grzyby Fungi			Nitryfikatory Nitrifying bacteria	Denitryfikatory Denitrifying bacteria	Amonifikatory Ammonification bacteria	Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria
1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1	536,7	276,8	24,8	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	2336,3	217,4	
2	1256,4	373,2	28,6	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	3322,1	343,8	
3	1153,8	324,7	29,2	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	3147,8	310,6	
4	1374,4	389,2	32,2	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	3775,3	347,5	
5	422,7	253,4	32,7	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	1996,4	195,3	
6	1476,4	415,3	37,4	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	3943,8	367,6	
7	478,4	193,3	36,3	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	1775,3	167,2	
8	864,3	235,1	33,2	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	2236,1	264,3	
9	1653,3	478,4	42,4	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4121,5	415,3	
10	342,7	155,3	24,5	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1553,2	145,7	
11	385,3	174,3	27,8	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1549,4	138,4	
12	1755,3	466,4	33,5	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4185,4	464,3	
13	411,4	147,3	25,7	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1615,5	122,6	
14	367,4	163,7	28,4	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1628,3	128,4	
15	637,4	188,4	27,5	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	2743,9	184,3	
16	713,9	174,5	29,4	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻³	2663,8	188,7	
17	1825,3	217,4	32,6	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	3753,4	352,7	
18	1933,6	367,5	33,7	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4226,8	472,3	
19	437,2	151,3	27,7	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1633,4	128,3	
20	1938,5	387,5	33,8	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4133,5	453,6	
21	1733,4	397,5	37,4	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4037,5	422,9	

1	2	3	4	5	6	7	8	9
22	423,9	142,7	29,4	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1583,2	119,3
23	1633,8	348,2	33,2	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4218,4	463,4
24	1899,3	358,2	37,2	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4229,4	416,3
25	523,6	137,4	27,4	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1422,4	123,7
26	1944,3	433,8	32,8	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4229,4	473,6
27	388,5	104,3	30,5	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1332,7	79,5
28	1977,4	445,3	37,1	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4337,5	437,1
29	1867,6	402,7	33,7	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4172,7	428,4
30	375,3	99,3	35,4	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1143,6	93,31
31	365,2	91,4	30,3	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1221,5	88,5
32	1966,3	433,8	37,1	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4337,3	473,7
33	1885,4	427,9	37,5	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4655,3	453,2
34	1903,7	413,2	30,2	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4233,7	422,9
35	1884,4	407,3	33,6	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4122,8	406,8
36	365,4	132,2	31,8	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1225,3	116,4
37	1832,7	407,3	38,5	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4227,1	463,8
38	1932,7	412,9	37,2	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4523,1	423,9
39	1789,3	437,3	27,9	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4027,7	422,8
40	1563,7	378,4	36,3	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	3894,1	400,5
41	1836,3	395,4	31,4	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4003,2	397,4
42	375,4	122,5	38,5	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1167,3	97,4
43	416,3	147,4	34,3	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1324,8	112,7
44	1844,3	473,8	40,3	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4223,5	473,2
45	354,3	143,4	29,4	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1002,4	86,4
46	644,5	231,3	35,4	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	1426,3	121,5
47	422,3	116,4	24,6	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	907,3	83,2
48	1743,8	462,5	39,5	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4337,4	475,3
49	1863,3	483,2	36,2	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4284,5	493,3
50	1967,6	466,1	37,4	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	4126,5	412,7

Tabela 2. Średnia liczebność promieniowców w wybranych środowiskach glebowych ekosystemów trawiastych Bieszczadzkiego Parku Narodowego (dane w tys. jtk/g gleby).

Table 2. The average number of actinomycetes in selected soil environments of the grassland ecosystems of the Bieszczady National Park (data in thousand cfu/g soil).

Nr punktu Sampling point	Ilości jtk na podłożach Number cfu on medium			Średnia Average	Gleba Soil	Ekosystem trawiasty Grassy ecosystem
	Gauze'a	Pochona	Eaton'a			
1	2	3	4	5	6	7
1	48,7	45,8	43,3	45,94	Brunatna kwaśna	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
2	57,3	58,7	60,2	58,74	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
3	52,4	51,7	48,6	50,90	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
4	76,8	64,7	70,3	70,60	Gruntowo-glejowe	<i>Lolium-Cynosuretum</i>
5	42,6	39,7	45,2	42,50	Brunatna kwaśna	<i>Lolium-Cynosuretum</i>
6	85,3	79,4	81,7	82,14	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
7	27,3	22,5	24,3	24,70	Brunatna kwaśna	<i>Lolium-Cynosuretum</i>
8	31,2	32,6	29,5	31,10	Brunatna kwaśna	<i>Lolium-Cynosuretum</i>
9	85,4	88,6	90,4	88,14	Mady górskie właściwe	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
10	26,4	21,5	23,6	27,17	Gleby inicjalne - słabo wyształcone	<i>Tanacetum-Calamagrostetum arundinaceae</i>
11	27,1	24,3	30,4	27,27	Gleby inicjalne - słabo wyształcone	<i>Tanacetum-Calamagrostetum arundinaceae</i>
12	92,5	94,7	85,2	90,80	Mady górskie właściwe	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
13	31,6	33,5	29,3	31,47	Gleby słabo wyształcone	<i>Nardetum stricte</i>
14	24,5	22,8	27,3	24,87	Gleby słabo wyształcone	<i>Nardetum stricte</i>
15	32,1	28,6	30,4	30,37	Brunatna kwaśna	<i>Lolium-Cynosuretum</i>
16	33,6	27,4	29,4	30,14	Brunatna kwaśna	<i>Lolium-Cynosuretum</i>
17	95,3	91,2	87,4	91,30	Mady górskie właściwe	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
18	116,4	105,3	98,5	106,74	Mady górskie właściwe	<i>Lolium-Cynosuretum</i>
19	29,4	28,8	25,3	27,84	Gleby inicjalne - słabo wyształcone	<i>Tanacetum-Calamagrostetum arundinaceae</i>
20	132,5	122,8	133,7	129,67	Mady górskie właściwe	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
21	112,4	109,4	135,3	119,04	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
22	26,4	27,1	22,4	25,30	Gleby inicjalne - słabo wyształcone	<i>Potentilla aurea-Festuetum airoides</i>

1	2	3	4	5	6	7
23	64,3	88,4	70,3	74,3	Gruntowo-glejowe	<i>Lolio-Cynosuretum</i>
24	129,4	124,2	132,3	128,64	Mady górskie właściwe	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
25	21,3	17,4	15,3	18,00	Gleby inicjalne - słabo wykształcone	<i>Tanacetum-Calamagrostietum arundinaceae</i>
26	126,3	118,4	126,3	123,67	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
27	18,5	16,4	13,2	16,04	Gleby inicjalne - słabo wykształcone	<i>Potentilla aureae-Festucetum airoides</i>
28	129,4	110,4	134,2	124,67	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
29	115,3	107,3	122,8	115,14	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
30	20,1	19,3	14,2	17,87	Gleby inicjalne - słabo wykształcone	<i>Tanacetum-Calamagrostietum arundinaceae</i>
31	21,6	22,8	17,8	20,74	Gleby inicjalne - słabo wykształcone	<i>Potentilla aureae-Festucetum airoides</i>
32	116,4	109,4	122,3	116,04	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
33	122,5	109,4	132,7	121,54	Mady górskie właściwe	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
34	119,5	117,5	127,4	121,47	Mady górskie właściwe	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
35	85,4	80,4	91,4	85,74	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
36	19,4	18,8	16,7	18,30	Gleby inicjalne - słabo wykształcone	<i>Tanacetum-Calamagrostietum arundinaceae</i>
37	132,7	128,4	138,5	133,20	Mady górskie właściwe	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
38	128,3	123,7	135,9	129,30	Mady górskie właściwe	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
39	135,3	129,4	142,7	135,80	Mady górskie właściwe	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
40	94,2	93,6	99,5	95,77	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
41	103,2	95,4	113,8	104,14	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
42	18,6	15,5	12,6	15,57	Gleby inicjalne - słabo wykształcone	<i>Potentilla aureae-Festucetum airoides</i>
43	20,6	18,5	15,7	18,27	Gleby inicjalne - słabo wykształcone	<i>Tanacetum-Calamagrostietum arundinaceae</i>
44	89,4	83,7	94,8	92,30	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
45	18,7	19,6	14,7	17,67	Gleby inicjalne - słabo wykształcone	<i>Potentilla aureae-Festucetum airoides</i>
46	24,2	26,4	22,4	24,34	Gleby słabo wykształcone	<i>Nardetum stricte</i>
47	19,4	20,1	17,2	18,90	Gleby inicjalne - słabo wykształcone	<i>Potentilla aureae-Festucetum airoides</i>
48	87,4	82,3	92,8	87,50	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
49	92,2	91,7	97,8	93,90	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>
50	96,8	102,8	107,7	102,44	Brunatna właściwa	<i>Arrhenatherum elatioris</i>

Odczyn badanych próbek glebowych wahał się od pH 4,52 do 6,88 w H₂O oraz od 4,18 do 6,24 w KCl. Z kolei zawartość pierwiastków śladowych (Cu, Cd, Ni, Pb i Zn) kształtowała się na poziomie średniej zawartości tych pierwiastków w glebach gór polskich, a także Karpat Wschodnich (Kabata-Pendias, Pendias 1979; Maryskevych, Kozlovski 1998).

Przeprowadzone mikrobiologiczne badania ilościowe próbek glebowych, pobranych z 50 miejsc z reprezentacyjnych ekosystemów trawiastych BdPN, wyraźnie wskazują, że liczebności wybranych grup drobnoustrojów kształtowały się różnie, w zależności od miejsca poboru próbek. Z danych przedstawionych w tabeli 1 wynika, że badane gleby ekosystemów trawiastych są zasiedlane przez wszystkie badane grupy drobnoustrojów glebowych. Aktywność nityfikacji i denityfikacji, oznaczana jako miano, jest stosunkowo niższa, w porównaniu do gleb na nizinach. Liczebności pozostałych grup drobnoustrojów kształtują się na poziomie oznaczanym w innych rejonach w glebach górskich (Marcinowska, Bis 1997).

Przedmiotem badań były promieniowce i na tą grupę bakterii zwrócono specjalną uwagę. Szczegółowe dane dotyczące liczebności promieniowców przedstawiono w tabeli 2. Z powyższych danych wynika, że liczebność promieniowców w badanych glebach ekosystemów trawiastych BdPN kształtowała się w zakresie od 15,57 tys. jtk/g s.m. w glebach inicjalnych słabo wykształconych w zbiorowisku roślinnym *Potentillo aureae-Fustucetum airoides*, do 135,80 tys. jtk/g s.m. w madach górskich właściwych w zbiorowisku roślinnym *Arrhenatheretum elatioris*. Z przeprowadzonych analiz wyraźnie wynika zależność pomiędzy typem gleby i wysokością n.p.m., a liczebnością promieniowców w badanych glebach. Stwierdzono również, że w glebach ekosystemów trawiastych *Arrhenatheretum elatioris* i *Lilio-Cynosuretum* liczebność promieniowców była zdecydowanie najwyższa.

Z kolei skład gatunkowy wyizolowanych promieniowców był bardzo zróżnicowany, zarówno co do składu mikrobiocenotycznego jak i do miejsc ich występowania. Stwierdzono, że największe zróżnicowanie gatunkowe występowało w tych glebach, gdzie ich liczebności były największe. Wykazano, że w glebach gdzie liczebność promieniowców przekraczała 80 tys./g s.m. gleby, izolowano co najmniej 20 i więcej gatunków promieniowców. Wśród wyizolowanych gatunków promieniowców dominowały: *Arthrobacter globiformis*, *Micromonospora nigra*, *Streptomyces albus*, *Streptomyces cellulosae*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces longisporus*, *Streptomyces nigrescens*, *Streptomyces odorifer*, *Streptomyces violaceus-niger* i *Streptosporangium roseum*, które zostały użyte do dalszych badań. Należy zaznaczyć, że w/w gatunki promieniowców występowały w 30 z 50 analizowanych gleb. Wskazuje to na fakt, że w badanych glebach panowały odpowiednie warunki dla wzrostu i rozwoju promieniowców.

Wyzolowano 730 szczepów promieniowców, które zostały poddane szczegółowym badaniom diagnostyczno-taksonomicznym. W wyniku przeprowadzo-

nych analiz przypisano je do 36 gatunków (Tab. 3). Oznaczone gatunki należały do rzędu *Actinomycetales* i 5 rodzajów: *Actinoplanes*, *Arthrobacter*, *Micromonospora*, *Streptomyces* i *Streptosporangium*. Ta bioróżnorodność gatunkowa może okazać się bardzo korzystna dla przeżywalności i aktywności promieniowców w tak zróżnicowanym środowisku, jakim są gleby BdPN (Sitnicka i in. 2009; Sołlecka i in. 2013; Torsvik i in. 1990).

Duża różnorodność miejsc występowania promieniowców świadczy o zdolnościach adaptacyjnych tych mikroorganizmów do panujących warunków środowiskowych. Promieniowce, które izolowano z gleb umiarkowanie urodzajnych i wilgotnych, były najbardziej zróżnicowane. W glebach suchych i ubogich w roślinność, a także w bardziej ostrych warunkach klimatycznych izolowano mniej szczepów i należały one głównie do rodzaju *Streptomyces*. Z próbek gleby, pozyskiwanych ze wszystkich miejsc, także izolowano najczęściej szczepy należące do rodzaju *Streptomyces*. Podobne zależności zaobserwowała Marcinowska i Bis (1997, 1998) zarówno w terenach górskich, w ekosystemach trawiastych *Arrhenatheretum elatioris* i *Gladiolo-Agrostietum* w Pieninach, jak i w glebach uprawnych w okolicach Sędziszowa Małopolskiego.

W przeprowadzonych badaniach nad właściwościami promieniowców, wyizolowanych z różnych ekosystemów trawiastych BdPN wykazano, że charakteryzują się one wieloma cechami, które umożliwiają im zasiedlanie tak skomplikowanego środowiska, jakim jest gleba. Wyizolowane i oznaczone do gatunku promieniowce poddano wielokierunkowej ocenie, oznaczając ich właściwości fizjologiczne i biochemiczne, używając do tego celu wielu nowoczesnych testów i typowych standardowych badań analitycznych wg Alef i Nannipieri (1995). Do wszystkich badań testowych wykorzystano 10 gatunków promieniowców, które dominowały w badanych glebach: *Arthrobacter globiformis*, *Micromonospora nigra*, *Streptomyces albus*, *Streptomyces cellulosa*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces longisporus*, *Streptomyces nigrescens*, *Streptomyces odorifer*, *Streptomyces violaceus-niger* i *Streptosporangium roseum*.

Badania właściwości antagonistycznych i zdolności do produkcji substancji antybiotycznych przez 10 wybranych gatunków promieniowców wykazały, że niektóre z nich posiadają takie właściwości i oddziałują w różny sposób na testowane bakterie i grzyby (Tab. 4 i 5). Silnymi właściwościami antagonistycznymi, w stosunku do testowanych 10 gatunków bakterii, odznaczały się: *Streptomyces griseus* i *Streptomyces longisporus* oraz mniejszymi *Streptomyces violaceus-niger* i *Streptomyces nigrescens*. Z przeprowadzonych analiz wynika, że *Arthrobacter globiformis*, *Micromonospora nigra* oraz *Streptomyces odorifer* nie mają żadnego negatywnego wpływu na testowane gatunki bakterii. Przeprowadzone testy oceny właściwości antagonistycznych w stosunku do 10 gatunków grzybów pleśniowych wykazały, że grzyby są zdecydowanie bardziej odporne na działanie antagonistyczne promieniowców. Na testowane grzyby największy antagonistyczny wpływ wywierały:

Tabela 3. Wykaz szczepów promieniowców wyizolowanych z gleb Bieszczadzkiego Parku Narodowego i ich wstępna przynależność systematyczna.

Table 3. List of strains of actinomycetes isolated from the soils of the Bieszczady National Park and their initial systematic affiliation.

L.p. <i>Item</i>	Nr szczepu <i>Strain No.</i>	Gatunek promieniowców <i>Species of actinomycetes</i>	Autor <i>Author</i>
1	BP 1	<i>Actinoplanes humidus</i>	Goodfellow, 1990
2	BP 2	<i>Arthrobacter aurescens</i>	Phillips, 1953
3	BP 3	<i>Arthrobacter citreus</i>	Sacks, 1954
4	BP 4	<i>Arthrobacter globiformis</i>	Conn & Dimmick, 1947
5	BP 5	<i>Micromonospora aurantiaca</i>	Sveshnikova, 1969
6	BP 6	<i>Micromonospora nigra</i>	(Weinstein et al.) Kasai et al., 2000
7	BP 7	<i>Micromonospora viridifaciens</i>	Kroppenstedt et al. 2005
8	BP 8	<i>Streptomyces alboflavus</i>	Waksman & Henrici, 1948
9	BP 9	<i>Streptomyces albus</i>	Waksman & Henrici, 1943
10	BP 10	<i>Streptomyces anulatus</i>	Waksman, 1953
11	BP 11	<i>Streptomyces boboli</i>	Waksman & Henrici, 1948
12	BP 12	<i>Streptomyces celluloflavus</i>	Niishimura, Kiura & Kuroya, 1953
13	BP 13	<i>Streptomyces cellulosae</i>	Waksman & Henrici, 1948
14	BP 14	<i>Streptomyces coelicolor</i>	Waksman & Henrici, 1948
15	BP 15	<i>Streptomyces flaveolus</i>	Waksman & Henrici, 1948
16	BP 16	<i>Streptomyces flavogriseus</i>	Waksman & Lechevalier 1953
17	BP 17	<i>Streptomyces fradie</i>	Waksman & Henrici, 1948
18	BP 18	<i>Streptomyces globisporus</i>	Krasilnikov, 1941; Waksman, 1953
19	BP 19	<i>Streptomyces globosus</i>	Waksman, 1953
20	BP 20	<i>Streptomyces griseochromogenes</i>	Fukunaga, 1955
21	BP 21	<i>Streptomyces griseolus</i>	Waksman & Henrici, 1948
22	BP 22	<i>Streptomyces griseoluteus</i>	Umezawa & Hayano, 1950
23	BP 23	<i>Streptomyces griseus</i>	Waksman & Henrici, 1948
24	BP 24	<i>Streptomyces lavendulae</i>	Waksman & Henrici, 1951
25	BP 25	<i>Streptomyces longisporus</i>	Waksman, 1953
26	BP 26	<i>Streptomyces mirabilis</i>	Ruschmann, 1952
27	BP 27	<i>Streptomyces nigrescens</i>	Pridham & Hasseltine, 1958
28	BP 28	<i>Streptomyces odorifer</i>	Waksman & Henrici, 1948
29	BP 29	<i>Streptomyces rochei</i>	Berger & Jampolsky, 1953
30	BP 30	<i>Streptomyces roseolus</i>	Pridham, Hasseltine & Benedict, 1958
31	BP 31	<i>Streptomyces violaceus-niger</i>	Pridham, Hasseltine & Benedict, 1958
32	BP 32	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	Waksman & Henrici, 1948
33	BP 33	<i>Streptomyces viridosporus</i>	Pridham, Hasseltine & Benedict, 1958
34	BP 34	<i>Streptosporangium longisporus</i>	Schäfer, 1969
35	BP 35	<i>Streptosporangium roseum</i>	Couch, 1955
36	BP 36	<i>Streptosporangium vulgare</i>	Nonomura & Ohara, 1960

Tabela 4. Ocena właściwości antagonistycznych promieniowców w stosunku do wybranych gatunków bakterii.
Table 4. Assessment of antagonistic properties of actinomycetes against selected bacterial species.

Gatunek bakterii Bacterial species	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>
<i>Arthrobacter globiformis</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Micromonospora nigra</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Streptomyces albus</i>	–	–	+	+	–	+	–	+	+	+
<i>Streptomyces cellulosae</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Streptomyces griseus</i>	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++
<i>Streptomyces longisporus</i>	–	–	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Streptomyces nigrescens</i>	–	–	+	++	–	–	+	+	+	–
<i>Streptomyces odorifer</i>	–	–	+	–	–	–	–	–	–	+
<i>Streptomyces violaceus-niger</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Streptosporangium roseum</i>	–	–	+	+	–	–	–	–	–	+

Objaśnienia / Explanations:

– = brak wpływu na wzrost / no impact on growth,

++ = słabe zahamowanie wzrostu / weak stunting

+++ = widoczne zahamowanie wzrostu / visible growth retardation

+++ = silne zahamowanie wzrostu / strong stunting

Tabela 5. Ocena właściwości antagonistycznych (antybiotycznych) promieniowców w stosunku do wybranych gatunków grzybów.
Table 5. Assessment of antagonist (antibiotic) properties of actinomycetes in relation to selected species of fungi.

Gatunek grzyba Species of fungus	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Fusarium nivale</i>	<i>Fusarium sporotrichioides</i>	<i>Penicillium notatum</i>	<i>Penicillium rubrum</i>	<i>Trichoderma viride</i>
<i>Arthrobacter globiformis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micromonospora nigra</i>	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-
<i>Streptomyces albus</i>	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-
<i>Streptomyces cellulosae</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Streptomyces griseus</i>	-	-	-	-	+	++	++	-	-	+
<i>Streptomyces longisporus</i>	+	-	-	-	+	++	++	+	+	-
<i>Streptomyces nigrescens</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>Streptomyces odorifer</i>	-	+	+	+	-	++	++	-	-	++
<i>Streptomyces violaceus-niger</i>	+	++	++	++	-	+	+	-	-	+
<i>Streptosporangium roseum</i>	-	-	-	-	+	+	++	+	+	+

Objaśnienia / Explanations:

- = brak wpływu na wzrost / no impact on growth,
 + = słabe zahamowanie wzrostu / weak stunting
 ++ = widoczne zahamowanie wzrostu / visible growth retardation
 +++ = silne zahamowanie wzrostu / strong stunting

Streptomyces violaceus-niger, *Streptomyces longisporus*, *Streptosporangium roseum*, *Streptomyces odorifer* i *Micromonospora nigra*. Natomiast *Arthrobacter globiformis*, *Streptomyces nigrescens* i *Streptomyces cellulosae* praktycznie nie miały żadnego negatywnego wpływu na wzrost badanych gatunków grzybów.

Wielu autorów, jak: Bérdy 2012, Crawford i in. 1993, El-Naggar i in. 2001, Gurung i in. 2009, Higashide 1995, Ilic i in. 2007, Marcinowska, Bis 1997, Marcinowska, Bis 1998, Mellouli i in. 2003, Nanjwade i in. 2010, Oskay i in. 2004, Ozgur i in. 2008, Watve i in. 2001, wskazują na wytwarzanie przez promieniowce pozyskane ze środowiska glebowego wielu antybiotyków, jak: streptomycyna, wankomycyna, aktynomycyna, neomycyna, daptomycyna, i wiele innych. Szacuje się, że streptomycynę wytwarza około 1% promieniowców bytujących w glebie. Autorzy prac wyjaśniają, że produkcja antybiotyków jest swoistym rodzajem odpowiedzi na wpływ i równoczesną egzystencję w glebie z innymi mikroorganizmami.

Pośród czynników środowiskowych zbadano wpływ ważnych dla rozwoju i wzrostu promieniowców czynników chemicznych. W szczegółowych badaniach oceniono wpływ: pestycydów – Tabela 6, metali ciężkich – Tabela 7, antybiotyków – Tabela 8, mykotoksyn – Tabela 9 i różnych olei – Tabela 10, na wybranych do badań 10 gatunków promieniowców.

Środowisko Bieszczadzkiego Parku Narodowego uważane jest za nieskażone i czyste. Długoletnie zaniechania w eksploatacji tych terenów i pozostawienie ich naturalnym procesom sukcesji zaowocowało zachowaniem się wielu unikatowych szczepów promieniowców, które być może, posiadają jakieś cenne właściwości, o których jeszcze nie wiadomo. Przeprowadzone badania to pierwsze tego typu w Polsce na terenie BdPN, które dają ogólne pojęcie o bogactwie gatunkowym i bioróżnorodności tej ważnej grupy mikroorganizmów glebowych. Ocena uzdolnień fizjologicznych i biochemicznych wykazała, że wyizolowane gatunki promieniowców charakteryzują się wieloma cennymi właściwościami, które po dalszych badaniach mogą być wykorzystane do różnych celów. Na uwagę zasługują ich zdolności do produkcji substancji antybiotycznych i możliwości wytwarzania licznych enzymów, a także uzdolnienia do degradacji pestycydów i życia w środowisku, zawierającym duże stężenia metali ciężkich, soli, mykotoksyn, antybiotyków i olei. Te wszechstronne uzdolnienia wskazują, że wykorzystanie ich do utylizacji wielu skażeń gleby i wody jest jak najbardziej możliwe. Ponadto promieniowce stwarzają możliwość wykorzystania ich w procesach bioremediacji i augmentacji środowiska glebowego zanieczyszczonego związkami organicznymi o znacznej toksyczności (pestycydy, związki fenolowe, metale ciężkie). Różnorodne właściwości fizjologiczne i biochemiczne oraz produkcja substancji biologicznie czynnych stwarza możliwość ich wykorzystania w lecznictwie, rolnictwie, przemyśle farmaceutycznym, spożywczym i biotechnologii (Chavan i in. 2013; Chmiel 1998).

Tabela 6. Wpływ pestycydów na wzrost wybranych szczepów promieniowców na podłożu stałym (Gauze'a) (metoda dyfuzyjna – cylinderkowa).

Table 6. The effect of pesticides on the growth of selected strains of actinomycetes on a solid medium (Gauze) (diffusion – cylinder method).

Gatunek promieniowca <i>Species of actinomycetes</i>	Dawka pestycydu <i>Dose of pesticide</i>												
	Kontrola <i>Control</i>	Miedzian 50 WP			Topsin 500 SC			Fastac 100 EC			Roundup Ultra 170 LS		
		1/2 x	1 x	2 x	1/2 x	1 x	2 x	1/2 x	1 x	2 x	1/2 x	1 x	2 x
		Strefa zahamowania wzrostu / <i>Growth inhibition zone</i>											
		+	+	++	+	++	++	–	+	++	–	–	+
<i>Arthrobacter globiformis</i>	–	+	++	+	++	++	–	+	++	–	++	++	
<i>Micromonospora nigra</i>	–	++	+++	+	++	+++	+	+	++	–	++	++	
<i>Streptomyces albus</i>	–	+	++	+	++	+++	–	+	++	–	–	+	
<i>Streptomyces cellulosae</i>	–	++	+++	–	+	++	+	++	+++	+	++	++	
<i>Streptomyces griseus</i>	–	+	++	–	+	++	+	++	+	–	–	++	
<i>Streptomyces longisporus</i>	–	+	++	+	+	+++	–	+	++	–	+	++	
<i>Streptomyces nigrescens</i>	–	+	++	–	+	++	–	+	+	–	–	+	
<i>Streptomyces odorifer</i>	–	+	+++	–	–	++	–	+	+	–	–	+	
<i>Streptomyces violaceus-niger</i>	–	++	+++	–	+	++	–	+	++	–	–	+	
<i>Streptosporangium roseum</i>	–	++	++	+	++	+++	+	++	++	+	++	+++	

Objaśnienia / *Explanations*:

K = Kontrola, brak wpływu / *control, no impact*

+ = strefa zahamowania wzrostu / *growth inhibition zone: 1–5 mm*

++ = strefa zahamowania wzrostu / *growth inhibition zone: 6–10 mm*

+++ = strefa zahamowania wzrostu / *growth inhibition zone: > 10 mm*

1/2 x = dawka o 50% mniejsza od zalecanej / *50% less than the recommended dose*

1 x = dawka zalecana / *recommended dose*

2 x = dawka o 100% większa / *100% higher dose*

Tabela 7. Wpływ metali ciężkich na wzrost wybranych szczepów promieniowców na podłożu płynnym (Gauze'a).
Table 7. The effect of heavy metals on the growth of selected strains of actinomycetes on a liquid medium (Gauze).

Gatunek promieniowca <i>Species of actinomycetes</i>	Stężenie metalu <i>Metal concentration</i>																			
	Cd(NO ₃) ₂ x 4H ₂ O					Cu(NO ₃) ₂					Pb(NO ₃) ₂					Zn(NO ₃) ₂				
	K	1	2	3	4	K	1	2	3	4	K	1	2	3	4	K	1	2	3	4
	O.D. 480 nm																			
<i>Arthrobacter globiformis</i>	0,85	0,51	0,45	0,29	0,11	0,86	0,84	0,74	0,57	0,33	0,85	0,77	0,68	0,52	0,39	0,85	0,74	0,51	0,31	0,22
<i>Micromonospora nigra</i>	0,87	0,47	0,31	0,21	0,12	0,87	0,79	0,65	0,52	0,29	0,86	0,73	0,66	0,47	0,41	0,87	0,79	0,48	0,39	0,25
<i>Streptomyces albus</i>	0,86	0,54	0,48	0,31	0,08	0,86	0,85	0,78	0,55	0,33	0,83	0,75	0,68	0,46	0,39	0,85	0,73	0,49	0,35	0,23
<i>Streptomyces cellulosae</i>	0,85	0,83	0,49	0,37	0,09	0,88	0,86	0,78	0,59	0,28	0,86	0,73	0,69	0,44	0,39	0,86	0,79	0,51	0,37	0,21
<i>Streptomyces griseus</i>	0,85	0,51	0,47	0,36	0,14	0,84	0,81	0,66	0,41	0,17	0,85	0,72	0,61	0,48	0,43	0,87	0,78	0,68	0,39	0,28
<i>Streptomyces longisporus</i>	0,88	0,54	0,33	0,21	0,12	0,85	0,73	0,63	0,48	0,34	0,87	0,76	0,49	0,47	0,39	0,84	0,53	0,50	0,38	0,29
<i>Streptomyces nigrescens</i>	0,87	0,56	0,48	0,38	0,10	0,86	0,78	0,45	0,44	0,19	0,84	0,79	0,71	0,44	0,36	0,85	0,55	0,54	0,21	0,11
<i>Streptomyces odorifer</i>	0,85	0,81	0,49	0,44	0,12	0,85	0,84	0,63	0,57	0,34	0,85	0,75	0,53	0,50	0,39	0,84	0,78	0,52	0,32	0,13
<i>Streptomyces violaceus-niger</i>	0,86	0,83	0,48	0,24	0,13	0,87	0,71	0,59	0,43	0,18	0,87	0,71	0,58	0,31	0,37	0,85	0,52	0,51	0,38	0,16
<i>Streptosporangium roseum</i>	0,87	0,55	0,48	0,22	0,11	0,86	0,76	0,56	0,45	0,15	0,85	0,68	0,51	0,44	0,34	0,88	0,54	0,48	0,26	0,18
NIR _{0,05}	0,03	0,04	0,03	0,02	0,01	0,03	0,03	0,04	0,03	0,02	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02

Objaśnienia / Explanations:

K = Kontrola / Control

Dawka / Dose: 1 = 1 µg/cm³ ; 2 = 10 µg/cm³ ; 3 = 100 µg/cm³ ; 4 = 1000 µg/cm³

NIR_{0,05} - test tzw. najmniejszych istotnych różnic / so-called the smallest significant differences test

Tabela 8. Wpływ antybiotyków na wzrost wybranych szczepów promieniowców na podłożu stałym – wg BioMerieux.

Table 8. The effect of antibiotics on the growth of selected strains of actinomycetes on a solid medium – according to BioMerieux.

Gatunek promieniowca <i>Species of actinomycetes</i>	Antybiotyk / <i>Antibiotic</i>							
	Penicylina		Streptomycyna		Flukonazol		Kapsofungin	
	K	E	K	E	K	E	K	E
<i>Arthrobacter globiformis</i>	–	+++	–	+	–	+++	–	+++
<i>Micromonospora nigra</i>	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Streptomyces albus</i>	–	–	–	–	–	++	–	++
<i>Streptomyces cellulosae</i>	–	+	–	+	–	+++	–	+++
<i>Streptomyces griseus</i>	–	–	–	–	–	+	–	++
<i>Streptomyces longisporus</i>	–	+	–	–	–	–	–	–
<i>Streptomyces nigrescens</i>	–	+	–	++	–	+++	–	+++
<i>Streptomyces odorifer</i>	–	–	–	–	–	++	–	+++
<i>Streptomyces violaceus-niger</i>	–	+	–	+	–	++	–	+
<i>Streptosporangium roseum</i>	–	–	–	–	–	–	–	–

Objaśnienia / *Explanations:*

K = Kontrola / *Control*

E = E–testy z gradientem antybiotyku wg BioMerieux / *BioMerieux gradient tests with antibiotic*

– = brak zahamowania wzrostu / *no growth retardation*

+ = słabe zahamowanie wzrostu / *weak stunting*

++ = średnie zahamowanie wzrostu / *moderate stunting*

+++ = silne zahamowanie wzrostu / *strong stunting*

Płyny pochodzące z hodowli badanych gatunków promieniowców stymulowały wzrost roślin testowych, w tym: pszenicy ozimej, grochu, rzeżuchy i fasoli. Nie stwierdzono negatywnego oddziaływania płynów uzyskanych z hodowli wybranych promieniowców na wzrost i rozwój badanych roślin testowych. Wykazano nawet pewnego rodzaju stymulację roślin, objawiającą się silniejszym ukorzeniem i większym przyrostem elongacyjnym.

Metabolity promieniowców były, są i będą obiektem zainteresowań badaczy ze względu na oryginalność ich struktur chemicznych, a także ze względu na zróżnicowanie ich właściwości biologicznych i mechanizmów działania. Tak dużą różnorodność strukturalną związków chemicznych trudno uzyskać w wyniku syntezy chemicznej w laboratorium. Metabolity wtórne promieniowców mogą być nie tylko potencjalnymi lekami, ale także posłużyć, jako struktury modelowe do dalszych modyfikacji chemicznych, mających na celu poprawę ich właściwości biologicznych.

Tabela 9. Wpływ mykotoksyn na wzrost wybranych szczepów promieniowców na podłożu stałym (Gauze'a).

Table 9. The effect of mycotoxins on the growth of selected strains of actinomycetes on solid medium (Gauze).

Gatunek promieniowca <i>Species of actinomycetes</i>	Dawka mykotoksyny / <i>Mycotoxin dose</i>																			
	Aflatoksyna B ₁					Aflatoksyna G ₁					Ochratoksyna A					Nivalenol				
	K	1	2	3	4	K	1	2	3	4	K	1	2	3	4	K	1	2	3	4
	Strefa zahamowania wzrostu w mm <i>Growth inhibition zone in mm</i>																			
<i>Arthrobacter globiformis</i>	0	2	5	11	25	0	1	3	8	16	0	1	2	5	9	0	2	7	12	19
<i>Micromonospora nigra</i>	0	1	4	11	27	0	1	2	6	13	0	1	4	8	12	0	1	3	9	16
<i>Streptomyces albus</i>	0	2	6	23	28	0	2	6	11	21	0	2	8	12	23	0	2	6	13	20
<i>Streptomyces cellulosae</i>	0	1	3	8	18	0	1	7	9	15	0	3	7	12	19	0	1	9	14	27
<i>Streptomyces griseus</i>	0	2	5	9	19	0	1	5	7	17	0	2	6	9	17	0	1	8	12	18
<i>Streptomyces longisporus</i>	0	1	4	7	19	0	2	5	11	21	0	2	6	10	21	0	2	9	15	24
<i>Streptomyces nigrescens</i>	0	2	7	13	29	0	1	8	13	26	0	1	9	14	24	0	1	7	10	28
<i>Streptomyces odorifer</i>	0	3	7	15	32	0	2	6	9	14	0	2	4	8	16	0	3	10	18	29
<i>Streptomyces violaceus-niger</i>	0	2	6	8	19	0	2	6	12	27	0	1	5	9	19	0	2	8	13	31
<i>Streptosporangium roseum</i>	0	3	11	17	34	0	2	7	14	25	0	1	8	13	27	0	2	7	14	26

Objaśnienia / *Explanations*

K = Kontrola / *Control*

Dawka / *Dose*: 1 = 1 µg/krażek / 1 µg /disk; 2 = 10 µg/krażek; 3 = 100 µg/krażek; 4 = 1000 µg/krażek

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych trzyletnich badań nad promieniowcami, występującymi w glebach ekosystemów trawiastych Bieszczadzkiego Parku Narodowego, i ich właściwościami, można sformułować następujące ogólne wnioski:

1. W środowiskach glebowych górskich ekosystemów trawiastych BdPN stwierdzono występowanie licznych gatunków promieniowców, których liczebność i bioróżnorodność zależała od wielu czynników środowiskowych.

Tabela 10. Wpływ olejków eterycznych i olei na wzrost wybranych szczepów promieniowców na podłożu płynnym wg Gauze'a.
Table 10. The effect of essential oils and oils on the growth of selected strains of actinomycetes on a liquid medium according to Gauze.

Gatunek promieniowca <i>Species of actinomycetes</i>	Olejki eteryczne i oleje <i>Essential oils and oils</i>								
	K	Tymol <i>Thymol</i>	Mentol <i>Menthol</i>	Olejek cedrowy <i>Cedar oil</i>	Olejek goździkowy <i>Clove oil</i>	Olejek geraniowy <i>Geranium oil</i>	Olejek napędowy <i>Gas oil</i>	Olejek z oliwek <i>Olive oil</i>	Olejek rzepakowy <i>Colza oil</i>
	Ocena wzrostu – makroskopowo, zmętnienie pożywki <i>Growth assessment – macroscopically, medium turbidity</i>								
<i>Arthrobacter globiformis</i>	N	--	--	--	--	--	--	+	N
<i>Micromonospora nigra</i>	N	-	-	--	-	--	--	N	N
<i>Streptomyces albus</i>	N	--	--	--	--	--	--	N	+
<i>Streptomyces cellulosae</i>	N	--	--	--	--	--	--	+	+
<i>Streptomyces griseus</i>	N	-	--	--	-	--	--	+	++
<i>Streptomyces longisporus</i>	N	--	-	--	--	--	--	+	+
<i>Streptomyces nigrescens</i>	N		--	--	-	-	--	+	N
<i>Streptomyces odorifer</i>	N	-	-	--	--	--	--	N	N
<i>Streptomyces violaceus-niger</i>	N	-	--	-	--	--	--	N	+
<i>Streptosporangium roseum</i>	N	--	-	--	-	--	--	++	+

Objaśnienia / Explanations

K = Kontrola / Control

N = wzrost normalny / normal growth

-- = słabe zahamowanie wzrostu / weak stunting

- - - = silne zahamowanie wzrostu / strong stunting

+ = słaba stymulacja wzrostu / poor growth stimulation

++ = bardzo silna stymulacja wzrostu / very strong growth stimulation

2. Typ gleby był ważnym czynnikiem, który warunkował liczebność promieniowców. Najwięcej promieniowców występowało w glebach zasobnych w składniki pokarmowe i urodzajnych jak mady górskie właściwe i gleby brunatne właściwe wylugowane. Najmniej promieniowców występowało w glebach inicjalnych i słabo wykształconych.

3. W ekosystemach trawiastych *Arrhenatheretum elatioris* i *Lilio-Cynosuretum* promieniowce występowały w największych ilościach. Natomiast w ekosystemach *Potentillo aureae-Festucetum airoides*, *Nardetum stricte* oraz *Tanaceto-Calamagrostietum arundinaceae* ich liczebności były zdecydowanie mniejsze.

4. Czynniki chemiczne wpływały w różny sposób na badane gatunki promieniowców. Reakcja promieniowców na pestycydy, metale ciężkie, mykotoksyny, antybiotyki i substancje oleiste była różna, zależnie od gatunku.

5. Płyny pochodzące z badanych gatunków promieniowców stymulowały wzrost roślin testowych. Nie stwierdzono negatywnego oddziaływania płynów, uzyskanych z hodowli wybranych promieniowców, na wzrost i rozwój badanych roślin testowych.

Literatura

- Abbas I.H. 2006. Abiological and biochemical studies of actinomycetes isolated from Kuwait saline Soil-Kuwait. *Journal of Applied Science Research* 2 (10): 809–815.
- Alanis A.J. 2005. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? *Archives of Medical Research* 36: 697–705.
- Alef K., Nannipieri P. 1995. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Acad. Press. London.
- Alexander M. 1975. *Ekologia mikroorganizmów*. Państwowe Wydawnictwa Naukowe. Warszawa
- Alexander M. 1977. *Introduction to soil microbiology*. John Wiley & Sons. New York.
- Amit P., Imran A., Kailash S.B., Tanushri C., Vidyottma S. 2011. Isolation and characterization of actinomycetes from soil and evaluation of antibacterial activities of actinomycetes against pathogens. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 2 (4): 384–392.
- Anderson I.C., Cairney J.W.G. 2004. Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. *Environmental Microbiology* 6(8): 769–779.
- Anitha A., Rabeeth M. 2010. Degradation of fungal cell walls of phytopathogenic fungi by lytic enzyme of *Streptomyces griseus*. *African Journal of Plant Science* 4 (3): 61–66.
- Antoun H., Prévost D. 2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Siddiqui Z.A. (ed.), Springer, p.: 1–38.
- Arifuzzaman M., Khatun M.R., Rahman H. 2010. Isolation and screening of actinomycetes from Sundarbans soil for antibacterial activity. *African Journal of Biotechnology* 9 (29): 4615–4619.
- Barabasz W., Voříšek K. 2002. Bioróżnorodność mikroorganizmów w środowiskach glebowych. *Akademia Rolnicza, Kraków*, s.: 23–34.

- Barea J.-M., Pozo M.J., Azcon R.M., Azcon-Aguilar C. 2005. Microbial cooperation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 5 (417): 1761–1778.
- Bérdy J. 2012. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are reading. *J. Antibiot.* 65: 385–395.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 2012.
- Bobek B., Smyła A., Rychte P., Biczak R., Kowalczyk M. 2009. Degradacja wybranych poliestrów w glebie z udziałem mikroorganizmów. *Proceedings of ECOpole 3* (1): 51–57.
- Bolton H., Fredrickson J.K., Elliott L.F. 1992. Microbial ecology of the rhizosphere. In: *Soil Microbial Ecology*. Marcel Dekker Inc. New York, N.Y., 27–63.
- Chaudhary H.S., Yadav J., Shrivastava A.R., Smriti Singh S., Singh A.K., Gopalan N. 2013. Antibacterial activity of actinomycetes isolated from different soil samples of Sheopur (A city of central India). *J Adv. Pharm Technol. Res.* 4(2): 118–123.
- Chavan D.V., Mulaje S.S., Mohalkar R.Y. 2013. A review of actinomycetes and their biotechnological application. *Int. J. of Pharmac. Sci. and Research* 4(5): 1730–1742.
- Chmiel A. 1998. *Biotechnologia. Podstawy mikrobiologiczne i biochemiczne*. Wydawnictwo PWN, Warszawa.
- Crawford D.L. 1988. Biodegradation of agricultural and urban wastes. In: Goodfellow M., Williams S.T., Mordarski M. (ed.). *Actinomycetes in biotechnology*. San Diego: Wiley Interscience, p.: 433–459.
- Crawford D.L., Lynch J.M., Whipps J.M., Ousley M.A. 1993. Isolation and characterization of actinomycete antagonist of fungal root pathogen. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 3899–3905.
- Dąbek-Szreniawska M. 1977. The influence of *Arthrobacter* sp. on soil aggregation. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 197: 320–327.
- Dobrzański B., Zawadzki S. 1995. *Gleboznawstwo*. PWRiL, Warszawa.
- Eaton A.D., Clesceri L.S., Greenberg A.W. 2005. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21 Ed. APHA. Washington D.C.
- El-Naggar M.Y., Hassan M.A., Said W.Y. 2001. Isolation and characterisation of an antimicrobial substance produced by *Streptomyces violaceus*. *Egyptian Journal of Biology* 3: 11–21.
- Fijałkowski K., Kacprzak M., Bien J., Janecka B. 2008. The enhanced bioremediation of soils contaminated with high concentration of diesel oil. *Environmental Engineering*, p.: 126–133.
- Frąc M., Jezierska-Tys S. 2010. Różnorodność mikroorganizmów środowiska glebowego. *Post. Mikrobiol.* 40(1): 47–58.
- Gajda A.M., Przewłoka B., Gawryjolek K. 2010. Ocena oddziaływania systemu uprawy roli na środowisko glebowe na podstawie zmian parametrów mikrobiologicznej aktywności gleby. *Nauka, Przyroda, Technologie* 4(6): 1–11.
- Ghazanfar Sh., Azim A., Ghazanfar A.A., Anjum M.I., Begum I. 2010. Metagenomics and its application in soil microbial community studies. *Biotechnological Prospects* 6(2): 611–622.
- Golińska P., Dahm H. 2011. Occurrence of actinomycetes in forest soil. *Dendrobiology* 66: 3–13.
- Goodfellow M., Williams S.T. 1983. Ecology of Actinomycetes. *Annual Review of Microbiology* 37: 189–216.
- Gurung T.D., Sherpa Ch., Agrawal V.P., Lekhak B. 2009. Isolation and characterization of antibacterial actinomycetes from soil samples of Kalapatthar, Mount Everest Region.

- Nepal Journal of Science and Technology 10: 173–182.
- Hayakawa M. 2008. Studies on the Isolation and distribution of rare Actinomycetes in soil. *Actinomycetologica* 22: 12–19.
- Higashide E. 1995. Screening of new antibiotics produced by actinomycetes and their production. *Actinomycetologica* 9: 75–82.
- Hodgson D. A. 2000. Primary metabolism and its control in *Streptomyces*: a most unusual group of bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* 42: 47–238.
- Ilic S.B., Konstantinovic S.S., Todorovic Z.B., Lazic M.L., Veljkovic V.B., Jokovic N., Radovanovic B.C. 2007. Characterization and antimicrobial activity of the bioactive metabolites in streptomyces isolates. *Microbiology* 76: 421–428.
- Jayabarath J., Musfira S.A., Giridhar R., Shyam S., Arulmurugan R. 2010. Biodegradation of carbofuran pesticide by saline soil actinomycetes. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry* 6(2): 187–192.
- Jayalakshmi T., Krishnamoorthy P., Kumar G.R., Sivamani P. 2010. Isolation and screening of a feather-degrading keratinolytic actinomycetes from *Actinomyces* sp. *Journal of American Science* 6(12): 45–48.
- Kabata-Pendias A., Pendias H. 1979. *Pierwiastki śladowe w środowisku biologicznym*. Wydawnictwo Geologiczne, Warszawa.
- Kaszubiak H. 1998. Mutual antagonism between fluorescent pseudomonads and soil actinomycetes. *Polish Journal of Environmental Studies* 7(4): 207–211.
- Katsifas E.A., Koraki T.G., Karagouni A.D. 2000. Determination of metabolic activity of streptomycetes in soil microcosms. *Journal of Applied Microbiology* 89: 178–184.
- Katsifas E.A., Giannoutsou E.P., Karagouni A.D. 1999. Diversity of *Streptomyces* among specific Greek terrestrial Ecosystems. *Let. Appl. Microbiol.* 29: 48–51.
- Khan M. 2000. Effect of metals contamination on soil microbial diversity, enzymatic activity, organic matter decomposition and nitrogen mineralization. *Pakistan Journal of Biological Science* 3(11): 1950–1956.
- Kirk J.L., Beaudette L.A., Hart M., Moutoglou P., Klironomos J.N., Lee H., Trevors J.T. 2004. Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods* 58: 169–188.
- Klimek B., Stefanowicz A.M., Woch M.W. 2010. Czy istnieje związek między bioróżnorodnością roślin i mikroorganizmów glebowych. *Kosmos (Problemy Nauk Biologicznych)* 59(4): 288–289.
- Kozdrój J. 2013. Metagenom – źródło nowej informacji o mikroorganizmach glebowych. *Post. Mikrobiol.* 52(2): 185–200.
- Kumar K., Gupta S.C., Baidoo S.K., Chander Y., Rosen C.J. 2005. Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. *J. Environ. Qual.* 34: 2082–2085.
- Li-Hua Xu, Qi-Ren Li, Cheng-Lin Jiang 1996. Diversity of soil actinomycetes in Yunnan, China. *Applied and Environmental Microbiology* 62(1): 244–248.
- Liu G., Fu B., Zheng X. 2007. Relationship between plant species diversity and soil microbial functional diversity along a longitudinal gradient in temperate grasslands of Hulunbeir. Inner Mongolia, China. *Ecological Research* 10: 112–119.
- Lynch J. M. 1990. *Rhizosphere*. John Wiley & Sons. Chichester, pp. 458.
- Marcinowska K., Bis H. 1997. Występowanie promieniowców antybiotycznych w środowiskach glebowych intensywnych zmianowań specjalistycznych. W: Barabasz (red). *Drobnoustroje w środowisku, występowanie, znaczenie*. AR Kraków, s.: 417–425.

- Marcinowska K., Bis H. 1998. Występowanie promieniowców antagonistycznych w glebach górskich ekosystemów trawiastych. Zesz. Nauk. AR Wrocław, 332: 45–54.
- Marschner P., Baumann K. 2003. Changes in bacterial community structure induced by mycorrhizal colonisation in split-root maize. *Plant and Soil* 251: 279–289.
- Maryshevych O., Kozlovski W. 1998. Zawartość metali ciężkich i siarki w ekosystemach Karpat Wschodnich. *Roczniki Bieszczadzkie* 6: 227–232.
- Mellouli L., Ameer-Mehdi R.B., Sioud S., Salem M., Bejar S. 2003. Isolation, purification and partial characterization of antibacterial activities produced by a newly isolated *Streptomyces* sp. US24 strain. *Res Microbiol.* 154: 345–352.
- Miyashi K., Kato T., Tsuru S. 1982. Actinomycetes occurring in soil applied with compost. *Soil Sci. Olanut. Nutr.* 28(3): 303–313.
- Nagaya A., Takeyama S., Tamegai H. 2005. Identification of aminotransferase genes for biosynthesis of aminoglycoside antibiotics from soil DNA. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69(7): 1389–1393.
- Nanjwade B.K., Chandrashekhara S., Goudanavar P.S., Shamarez A.M., Manvi F.V. 2010. Production of antibiotics from soil-isolated actinomycetes and evaluation of their antimicrobial activities. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 9(4): 373–377.
- Nannipieri P., Grego S., Ceccanti B. 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. *Soil Biochemistry* 6: 293–355.
- Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G., Renella G. 2003. Microbial diversity and soil function. *European Journal of Soil Science* 54: 655–670.
- Osada H. 1998. Actinomycetes: how fascinating microorganisms. *Actinomycetologica* 12: 85–88.
- Oskay M., Same Tamer A., Azeri C. 2004. Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Afr. J. Biotechnol.* 3: 441–446.
- Ozgur C., Gulden O., Aysel U. 2008. Isolation of soil *Streptomyces* as source antibiotics active against antibiotic-resistant bacteria. *EurAsia J BioSci.* 2: 73–82.
- Pastri M.B., Pometto A.L., Nuti M.P., Crawford D.L. 1990. Lignin-solubilizing ability of actinomycetes isolated from termite (*Termitidae*) gut. *Appl. Environ. Microbiol.* 56(7): 2213–2218.
- Poomthongdee N., Duangmal K., Pathomaree W. 2015. Acidophilic actinomycetes from rhizosphere soil: diversity and properties beneficial to plants. *J. Antibiot.* 68: 106–114.
- Przybulewska K. 2006. Wpływ benzyny beżołowiowej w warunkach wzrastającego zasolenia NaCl na liczebność podstawowych grup mikroorganizmów glebowych. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Rolnictwo* 89(546): 287–294.
- Rampazzo N., Montler A., Tschierko D., Pfeffer M., Blum W.E.H. 1994. Influence of the microbiological activity on soil aggregate stability. *Int. Agrophysics* 9: 125–129.
- Řehaček Z. 1959. Isolation of actinomycetes and determination of the number of their species in soil. *Microbiology USSR* 28: 220–225.
- Rodziewicz A., Łaba W. 2006. Keratyny i ich biodegradacja. *Biotechnologia* 2(37): 130–147.
- Salim F.M., Sharmili S.A., Anbumalaramathi J., Umamaheswari K. 2017. Isolation, molecular characterization and identification of antibiotic producing actinomycetes from soil Samale. *J App Pharm Sci.* 09: 069–075.
- Schlegel H.G. 2003. *Mikrobiologia ogólna*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Sen R. 2003. The root-microbe-soil interface: new tool for sustainable plant production. *New Phytologist* 157: 391–398.

- Sineva O.N., Terekhova L.P. 2015. Isolation of rare actinomycetes from soil. *Antibiotics and Chemoterapy* 60(7–8): 27–33.
- Singleton P. 2000. Bakterie w biologii, biotechnologii i medycynie. PWN, Warszawa.
- Sitnicka D., Figurska K., Orzechowski S. 2009. Analiza funkcjonalna genów. *Postępy biologii komórki* 39(4): 503–516.
- Skiba S. 1994. Pokrywa glebowa Bieszczadzkiego Parku Narodowego i jej rola w funkcjonowaniu ekosystemu. *Roczniki Bieszczadzkie* 2: 33–40.
- Skiba S. 2002. Gleba w środowisku przyrodniczym. W: *Aktywność drobnoustrojów w różnych środowiskach*. Akademia Rolnicza w Krakowie, s.: 157–167.
- Skiba S., Drewnik M., Prędkie R., Szmuc R. 1998. Gleby Bieszczadzkiego Parku Narodowego. *Monografie Bieszczadzkie* 2: 88 ss + mapa.
- Skiba S., Żyła M., Klimek M., Prędkie R. 2006. Gleby doliny górnego Sanu w Bieszczadzkim Parku Narodowym. *Roczniki Bieszczadzkie* 14: 215–220.
- Smyk B. 1984a. Mikroorganizmy a produktywność biologiczna gleb. *Studia Ośr. Dokum. Fizjograf. PAN* 12: 49–96.
- Smyk B. 1984b. Mikroorganizmy glebowe górskich ekosystemów leśnych. *Studia Ośr. Dokum. Fizjograf. PAN* 12: 97–131.
- Smyk B. 1999. Organizmy glebowe i przemiany przez nie wywoływane. W: S. Zawadzki (red.) *Gleboznawstwo*. PWRiL Warszawa, s.: 264–294.
- Solecka J., Ziemska J., Rajnisz A., Laskowska A., Guśpiel A. 2013. Promieniowce – występowanie i wytwarzanie związków biologicznie czynnych. *Post. Mikrobiol.* 52(3): 83–91.
- Stephen K. A. 2014. Isolation of actinomycetes from soil. *J Microbiol Res.* 4(3): 136–140.
- Tabatabai M.A. 1994. Soil enzymem. In: *Methods of soil analysis, Part 2. Microbiological and biochemical properties*. SSSA Book Series. Nr 5. Soil Sci. Soc. Am. Madison, Wi., p.: 775–833.
- Torsvik V., Goksoyr J., Daae F.L. 1990. High diversity in DNA of soil bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 782–787.
- Torrey R G. 1978. Nitrogen fixation by actinomycete-nodulated Angiosperms. *BioScience* 28(9): 589–596.
- Trąba Cz., Wolański P. 2011. Zróżnicowanie florystyczne łąk związków *Calthion* i *Alopecurion* w Polsce – zagrożenia i ochrona. *Woda–Środowisko–Obszary Wiejskie* 11.1.(33): 299–313.
- Wadetwar R.N., Patil A.T. 2013. Isolation and characterization of bioactive actinomycetes from soil in and around Nagpur. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 4(4): 1428–1433.
- Watve M.G., Tickoo R., Maithili M., Jog B., Bhole D. 2001. How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*? *Arch. Microbiol.* 176: 386–390.
- Winnicki T. 1999. Zbiorowiska roślinne połonin Bieszczadzkiego Parku Narodowego. Wyd. BdPN. *Monografie Bieszczadzkie* 4.
- Winnicki T., Zemanek B. 2003. *Przyroda Bieszczadzkiego Parku Narodowego*. BdPN, Ustrzyki Dolne.
- Zenova G.M., Gryadunova A.A., Pozdnyakov A.I., Zvyagintsev D.G. 2008. Aerobic and microaerophilic actinomycetes of typical agropeat and peat Soils. *Eurasian Soil Sci.* 41: 210–214.

Summary

The paper concerns research on actinomycetes, an important group of microorganisms found in soil environments of mountain grass ecosystems in the Bieszczady National Park (BdNP). The research was the first of its kind in the Bieszczady National Park.

The aim of the study was to learn in detail the microbiocenotic composition of actinomycetes occurring in soil environments of mountain grass ecosystems in the Bieszczady National Park and to assess their species diversity. Physiological and biochemical abilities were also examined. The special purpose was to learn about the conditions of occurrence of actinomycetes in various grass ecosystems and their antagonistic activity against various bacteria and fungi, which could be of great economic importance (new antibiotics for humans, animals and plants) due to the isolation of strains of actinomycetes coming from soils of non-degraded areas of the Bieszczady National Park. In addition, the resistance of isolated actinomycetes to various environmental factors was assessed in physiological and biochemical studies, including the possibility of growth in the presence of many ecologically important chemical compounds.

Fifty soil samples were taken from various places in BdNP grass ecosystems and their detailed basic chemical and microbiological analysis was performed to isolate actinomycetes strains. Typical standard microbiological analysis methods were used in the study to learn about their properties and taxonomic-systematic affiliation.

As a result of the research many interesting data were obtained, based on which the following conclusions were made:

1. Numerous species of actinomycetes were found in soil environments of BdNP mountain grasslands, their abundance and biodiversity depended on many environmental factors.
2. Soil type was an important factor that determined the number of actinomycetes. The greatest number of actinomycetes occurred in nutrient rich and fertile soils, such as alluvial soils and leached proper brown soil. The lowest number of actinomycetes was found in initial and poorly developed soils.
3. In meadow ecosystems, such as *Arrhenatheretum elatioris* and *Lolio-Cynosuretum* actinomycetes were present in the largest amounts. However, in the *Potentillo aureae-Festucetum airoides*, *Nardetum stricte* and *Tanaceto-Calamagrostietum arundinaceae* associations their numbers were definitely smaller.
4. Chemical factors influenced the studied species of actinomycetes in various ways. The response of actinomycetes to pesticides, heavy metals, mycotoxins, antibiotics and oily substances varied depending on the species.
5. Post-culture liquids of the tested species of actinomycetes stimulated the growth of test plants. There was no negative impact on the growth and development of tested plants.