

Ilona WRÓŃSKA¹, Mirosław ONYSZKO², Krystyna CYBULSKA¹
Arkadiusz TELESIŃSKI² i Sanaa MAHDI-ORAIBI¹

ZAWARTOŚĆ BIOMASY ŻYWYCH MIKROORGANIZMÓW ORAZ ICH LICZEBNOŚĆ W GLEBIE OGRODNICZEJ WZBOGACONEJ BIOPREPARATEM

THE CONTENT OF LIVE MICROBIAL BIOMASS AND ITS NUMBER IN HORTICULTURAL SOIL ENRICHED IN BIOLOGICAL PREPARATION

Abstrakt: W badaniu określono liczebność podstawowych - taksonomicznych i fizjologicznych grup drobnoustrojów oraz zawartości biomasy żywych mikroorganizmów w wybranych podłożach ogrodniczych. Próba badaną było podłoże warzywno-kwiatowe wzbogacone w mikroorganizmy, którego producentem jest Evolution Group. Próbę kontrolną stanowił substrat do produkcji roślin ogrodniczych marki Hollas. Analiza liczebności drobnoustrojów została wykonana metodą płytkową posiewu rozcieńczeń glebowych, wykorzystując selektywne podłoża mikrobiologiczne. Określono liczebność bakterii, grzybów i promieniowców zasiedlających analizowane podłoża oraz liczebność mikroorganizmów zdolnych do rozkładu skrobi, białek i tłuszczów. Oznaczono biomasę żywych drobnoustrojów według metodyki opracowanej przez Andersona i Domscha z wykorzystaniem analizatora Ultragas U4S. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że podłoże ogrodnicze wzbogacone biopreparatem jest zasiedlane zarówno przez mikroorganizmy podstawowe, jak i drobnoustroje fizjologiczne. Wprowadzenie do podłoża preparatu biologicznego przyczyniło się do zwiększenia liczebności analizowanych grup drobnoustrojów z wyjątkiem grzybów. Podłoże wzbogacone biopreparatem cechowało się dużą liczebnością bakterii i drobnoustrojów lipolitycznych oraz znacznie mniejszą liczebnością promieniowców i drobnoustrojów proteolitycznych. Zawartość biomasy żywych mikroorganizmów w glebie wzbogaconej wyniosła $1647,5 \text{ mg C} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$, natomiast w glebie kontrolnej była ponad 2-krotnie mniejsza.

Słowa kluczowe: podłoże ogrodnicze, preparat mikrobiologiczny, liczebność i biomasa drobnoustrojów

Wstęp

Gleba jest naturalnym siedliskiem licznych mikroorganizmów. O ich dużej roli w funkcjonowaniu tego ekosystemu świadczy fakt, że biomasa drobnoustrojów w glebach stanowi około 85% biomasy wszystkich organizmów zamieszkujących to środowisko i aż 90% CO₂ powstającego w glebach ma pochodzenie drobnoustrojowe [1]. Odpowiednia ich różnorodność oraz aktywność metaboliczna sprzyja nie tylko dobrej jakości środowiska glebowego, ale pozwala również zachować wysoki potencjał plonotwórczy [2]. Jednak stosowanie środków ochrony roślin oraz intensywne uprawy prowadzą do niszczenia życia biologicznego. Przejawia się to zmianą ich liczebności, czego efektem jest zaburzona równowaga biologiczna [3]. Właściwie dobrane biopreparaty, zawierające aktywne szczepy mikroorganizmów mogłyby rozwiązać ten problem. Na rynku dostępny jest szeroki wachlarz preparatów zawierających w swoim składzie mieszaniny naturalnie występujących drobnoustrojów, tj. bakterie, grzyby oraz promieniowce [4]. Wprowadzenie

¹ Zakład Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiska, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. J. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin, email: ilona.wronska@zut.edu.pl

² Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. J. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin, tel. 91 449 64 24

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'15, Jarnołtówek, 14-16.10.2015

ich do gleby może w znacznym stopniu zwiększyć liczebność mikroorganizmów, doprowadzając do przyspieszenia procesu rozkładu materii organicznej oraz zwiększenia przyswajalności składników pokarmowych dla roślin [5-7]. W rezultacie przyczynia się do polepszenia żyzności i zdrowotności gleby [8]. Traktowanie gleby takimi preparatami sprzyja większej odporności roślin na choroby, a także na ataki patogenów i szkodników [9].

Celem podjętych badań było określenie liczebności podstawowych i fizjologicznych grup drobnoustrojów oraz zawartości biomasy żywych mikroorganizmów w wybranych podłożach ogrodniczych.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiły 2 podłoża ogrodnicze, których bazą był słabo i silnie rozłożony torf wysoki. Próbą badaną było podłoże warzywno-kwiatowe wzbogacone w mikroorganizmy, którego producentem jest Evolution Group (Evolution Trade sp. z o.o. z Łodzi). Producent nie podaje informacji nt. składu jakościowego i ilościowego zastosowanych mikroorganizmów. Próbę kontrolną stanowił substrat do produkcji roślin ogrodniczych marki Hollas (Pasłęk). W przeciwieństwie do próby badanej podłoże to nie zawierało dodatku preparatu mikrobiologicznego. Zawartość materii organicznej rozumianej jako straty na wyżarzaniu w temperaturze 550°C dla podłoża wzbogaconego wynosiła 79,29%, a dla podłoża kontrolnego 77,59%. Z kolei odczyn (w 1 M KCl) wyniósł odpowiednio 7,13 i 5. Analiza liczebności drobnoustrojów została wykonana metodą płytkową posiewu rozcieńczeń glebowych, wykorzystując selektywne podłoża mikrobiologiczne. Zakres przeprowadzonych badań obejmował określenie liczebności: bakterii na podłożu MPA (firmy BLT), grzybów według Martina [10], promieniowców zgodnie z recepturą Cyganowa i Zukov [11] oraz drobnoustrojów zdolnych do hydrolizy białka (proteolityczne) [12], tłuszczów (lipolityczne) [13] i skrobi (amylolityczne) [14]. Hodowle inkubowano w temperaturze pokojowej przez okres od 3 do 7 dni. Liczebność mikroorganizmów podano w jednostkach tworzących kolonie (jtk) w przeliczeniu na 1 gram s.m. podłoża.

W analizowanych próbkach oznaczono także zawartość biomasy żywych mikroorganizmów według fizjologicznej metody opracowanej przez Andersona i Domscha [15]. W celu przeprowadzenia tego badania analizowane podłoża ogrodnicze o masie 10 g zostały wzbogacone w dodatkowe źródło węgla w postaci mieszaniny glukozy i talku (w stosunku wagowym 1 : 5). Ilość glukozy określono w oparciu o ustalone uprzednio odchylenie początkowe dla użytego podłoża. Tak przygotowane próbki przenoszono następnie do kolumn pomiarowych analizatora Ultragas U4S i mierzono ilość wydzielonego CO₂ po upływie trzech godzin. Otrzymane wyniki przeliczono według równania podanego przez autorów metody:

$$x = 40,4 y + 0,37$$

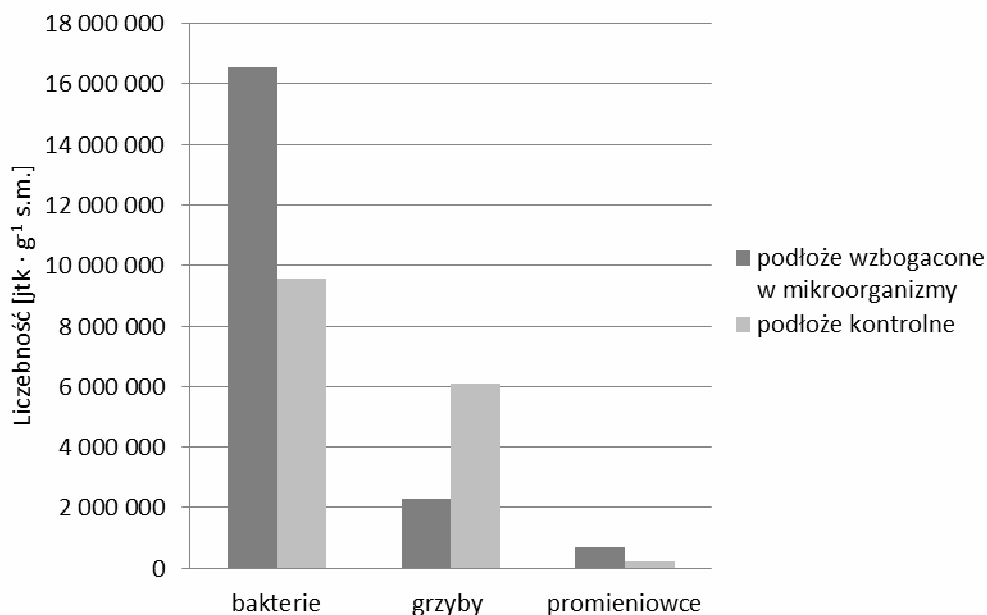
gdzie: x - ilość mg C zawartego w biomacie żywych mikroorganizmów w przeliczeniu na 100 g s.m. gleby, y - maksymalna początkowa produkcja CO₂, wyrażona w [cm³] na 100 g gleby · h⁻¹.

Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej z zastosowaniem programu Statistica 10. W celu porównania liczebności poszczególnych grup mikroorganizmów

między dwoma analizowanymi podłożami wykonano test t-Studenta. Przeprowadzono także jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Wykorzystując test Duncana, wyliczono grupy jednorodne.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że najliczniejszą grupą drobnoustrojów zasiedlającą podłoże wzbogacone preparatem biologicznym były bakterie. Ich liczebność wyniosła $1,65 \cdot 10^7$ jtk \cdot g⁻¹s.m. i było ich prawie 2-krotnie więcej niż w podłożu kontrolnym (rys. 1).

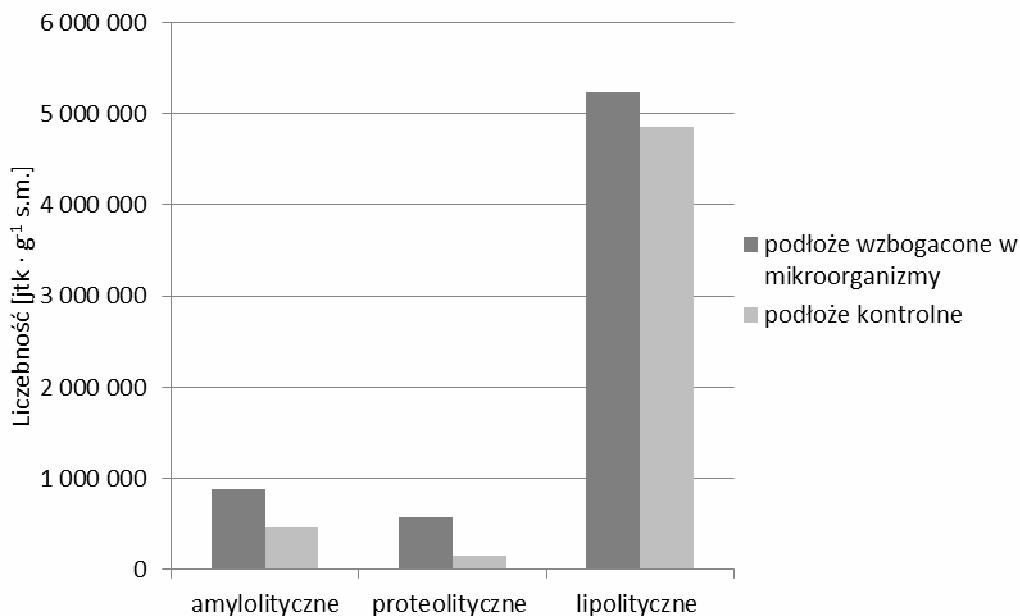


Rys. 1. Liczebność podstawowych grup taksonomicznych drobnoustrojów w badanych podłożach ogrodniczych
Fig. 1. The number of basic taxonomic groups of microorganisms in the analyzed horticultural growing media

Kaczmarek i in. [16] również w swoich badaniach wykazali zbliżony wzrost ww. grupy mikroorganizmów po wprowadzeniu do gleby szczepionki w postaci efektywnych mikroorganizmów. Analizując liczbę grzybów, zaobserwowano natomiast odwrotną tendencję. W podłożu kontrolnym stwierdzono wyraźną przewagę ich liczebności w porównaniu do podłoża wzbogaconego i różnica była statystycznie istotna. Otrzymane wyniki potwierdzają rezultaty badań Kucharskiego i Jastrzębskiej [17], którzy stwierdzili hamujący wpływ wprowadzonej do gleby szczepionki EM na namnażanie grzybów. Do podobnych wniosków doszli Okorski i Majchrzak [18]. Ponadto, z badań Pięty [19] wynika, że w glebie ryzosferowej roślin po zastosowaniu biopreparatu zmniejszyła się liczebność grzybów, a zwiększyła ilość bakterii. Kolejną grupą mikroorganizmów

podstawowych, których liczebność określono w doświadczeniu, były promieniowce. W obu podłożach ogrodniczych okazały się najmniej liczną grupą w porównaniu do bakterii i grzybów. Różnice liczebności promieniowców pomiędzy badanymi podłożami nie były istotne. W podłożu wzbogaconym stwierdzono istotnie większą liczebność bakterii niż grzybów i promieniowców. Można przypuszczać, że dominacja tej grupy drobnoustrojów związana była najprawdopodobniej ze składem biopreparatu, który zawierał duże ich ilości.

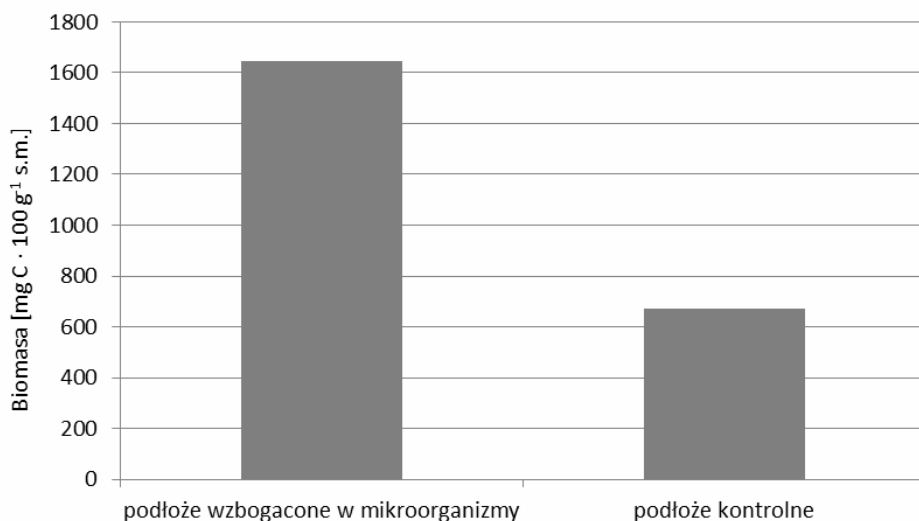
Wyniki badań wykazały, że liczebność mikroorganizmów ocenianych trzech grup fizjologicznych w analizowanych podłożach była różnicowana. W podłożu wzbogaconym biopreparatem najliczniej wystąpiły drobnoustroje lipolityczne i było ich $5,24 \cdot 10^6$ (rys. 2). Zbliżoną liczebność uzyskano w podłożu kontrolnym. Wśród mikroorganizmów badanych grup fizjologicznych drobnoustroje proteolityczne najmniej licznie zasiedlały podłoże wzbogacone preparatem biologicznym. Czterokrotnie mniejszą ich liczebność stwierdzono w podłożu kontrolnym, w którym wyniosła $1,57 \cdot 10^5$. W podłożu wzbogaconym liczebność drobnoustrojów amyloolitycznych była 2-krotnie większa w porównaniu do podłoża kontrolnego. Różnice pomiędzy podłożami w liczebności drobnoustrojów rozkładających białko i skrobię były istotne. Gleba wzbogacona biopreparatem cechowała się istotnie większą liczebnością mikroorganizmów lipolitycznych niż proteo- i amyloolitycznych.



Rys. 2. Liczebność fizjologicznych grup taksonomicznych mikroorganizmów w badanych podłożach ogrodniczych

Fig. 2. The number of physiological taxonomic groups of microorganisms in the analyzed horticultural growing media

Zawartość biomasy żywych mikroorganizmów w glebie wzbogaconej preparatem biologicznym wyniosła $1647,5 \text{ mg C} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$, natomiast w glebie kontrolnej była ponad 2-krotnie mniejsza (rys. 3). Analiza statystyczna wykazała istotne różnice uzyskanych wyników. Wyniki te świadczą to o tym, że wprowadzony biopreparat znacząco wpływał na liczebność i aktywność metaboliczną drobnoustrojów, a co za tym idzie, na zawartość biomasy żywych drobnoustrojów w glebie. Do odmiennych wniosków doszli Schweinsberg-Mickan i Müller [20], którzy nie zaobserwowali zwiększenia wartości tego parametru po zastosowaniu biostymulatora.



Rys. 3. Zawartość biomasy żywych mikroorganizmów w badanych podłożach ogrodniczych

Fig. 3. The content of live microbial biomass in the analyzed horticultural growing media

Wnioski

1. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że podłoże ogrodnicze wzbogacone biopreparatem jest zasiedlane zarówno przez mikroorganizmy podstawowe - taksonomiczne, jak i fizjologiczne drobnoustroje glebowe.
2. Stwierdzono, że wprowadzenie do podłoża preparatu biologicznego przyczyniło się do zwiększenia liczebności analizowanych grup drobnoustrojów z wyjątkiem grzybów.
3. Podłoże wzbogacone charakteryzowało się ponad 2-krotnie większą zawartością biomasy żywych mikroorganizmów w porównaniu do badanego obiektu kontrolnego.

Literatura

- [1] Sosnowski J, Jankowski K. Ocena liczebności mikroorganizmów glebowych spod uprawy mieszanek *Festulolium Braunii* z roślinami motylkowatymi nawożonych zróżnicowanymi dawkami azotu. *Fragm Agron.* 2013;30(4):129-137. <http://www.up.poznan.pl/pta/pdf/2013/FA%2030%284%29%202013%20Sosnowski.pdf>.

- [2] Ji B, Hu H, Zhao Y, Mu X, Liu K, Li C. effects of deep tillage and straw returning on soil microorganism and enzyme activities. *Sci World J.* 2014;1-12. DOI: 10.1155/2014/451493.
- [3] Masto RE, Chhonkar PK, Singh D, Patra AK. Changes in soil biological and biochemical characteristics in long-term field trial on a sub-tropical inceptisol. *Soil Biol Bioch.* 2006;38:1577-1584. DOI: 10.1016/j.soilbio.2005.11.012.
- [4] Javaid A, Bajwa R. Field evaluation of effective microorganisms (EM) application for growth, nodulation, and nutrition of mung bean. *Turk J Agric For.* 2011;35:443-452. DOI: 10.3906/tar-1001-599.
- [5] Mbouobda HD, Fotso, Djeuani CA, Fai K, Omokolo ND. Impact of effective and indigenous microorganisms manures on *Colocassia esculenta* and enzymes activities. *Afr J Agric.* 2013;8(12):1086-1092. DOI: 10.5897/AJAR12.1867.
- [6] Ndona RK, Friedel JK, Spornberger A, Rinnofer T, Jezik K. 'Effective Micro-organisms' (EM): An effective plant strengthening agent for tomatoes in protected cultivation. *Biol Agric Hortic.* 2011;27:189-204. DOI: 10.1080/01448765.2011.9756647.
- [7] Stewart DPC, Dally MJ. Influence of "Effective Microorganisms" (EM) on vegetable production and carbon mineralization - A preliminary investigation. *J Sustain Agric.* 1999;14(2-3):15-25. DOI: 10.1300/J064v14n02_04.
- [8] Mayer J, Scheid S, Widmer F, Fließbach A, Oberholzer HR. How effective are "Effective microorganisms@ (EM)"? Results from a field study in temperate climate. *Appl Soil Ecol.* 2010;46:230-239. DOI: 10.1016/j.apsoil.2010.08.007.
- [9] Janas R. Możliwości wykorzystania efektywnych mikroorganizmów w ekologicznych systemach produkcji roślin uprawnych. *Probl Inż Roln.* 2009;3(65):111-119. <http://yadda.icm.edu.pl/baztech/element/bwmeta1.element.baztech-article-BAR0-0046-0051>.
- [10] Martin JP. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.* 1950;69(3):215-232. DOI: 10.1097/00010694-195003000-00006.
- [11] Cyganow WA, Żukov RA. Morfologobiochimičiskije osobienosti novovoviale actionomicita. *Mikrobiologija.* 1964;33(5):863-869.
- [12] Kędzia W, Koniar H. Diagnostyka mikrobiologiczna. Warszawa: PZWL;1980.
- [13] Kosewska L. Analiza mikrobiologiczna w przemyśle spożywczym. Warszawa: WSiP;1991.
- [14] Cooney DG, Emerson R. Thermophilic Fungi. An Account of Their Biology, Activities and Classification. San Francisco, London: WH. Freeman and Company; 1964: 188.
- [15] Anderson JPE, Domsch KH. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol Biochem.* 1978;10(3):215-221. DOI: 10.1016/0038-0717(78)90099-8.
- [16] Kaczmarek Z, Wolna-Maruwka A, Jakubas M. Zmiany liczebności wybranych grup drobnoustrojów glebowych oraz aktywności enzymatycznej w glebie inokulowanej efektywnymi mikroorganizmami. *J Res Appl Agric Eng.* 2008;53(3):122-127. <http://yadda.icm.edu.pl/baztech/element/bwmeta1.element.baztech-article-BAR9-0004-0047>.
- [17] Kucharski J, Jastrzębska E. Rola mikroorganizmów efektywnych w kształtowaniu właściwości mikrobiologicznych gleby. *Inż Ekol.* 2005;12:295-296. <http://www.archive.ineko.net.pl/pdf/IE-12.pdf>.
- [18] Okorski A, Majchrzak B. Fungi isolated from soil before the seeding and after harvest of pea (*Pisum sativum* L.) after application of bio-control product EM 1. *Acta Agrobot.* 2007;60:113-121. DOI: 10.5586/aa.2007.014.
- [19] Pięta D. Wpływ wybranych biopreparatów na zbiorowiska mikroorganizmów w glebie ryzosferowej grochu, fasoli zwykłej i wielokwiatowej. *ANNALES.* 2006;XVI:73-84. http://wydawnictwo.up.lublin.pl/annales/Horticultura/2006/annales_2006_hort_art_09.PDF.
- [20] Schweinsberg-Mickan M, Müller T. Impact of effective microorganisms and other biofertilizers on soil microbial characteristics, organic-matter decomposition, and plant growth. *J Plant Nutr Soil Sci.* 2009;172:704-712. DOI: 10.1002/jpln.200800021.

THE CONTENT OF LIVE MICROBIAL BIOMASS AND ITS NUMBER IN HORTICULTURAL SOIL ENRICHED IN BIOLOGICAL PREPARATION

¹ Department of Microbiology and Biotechnology of Environment, Faculty of Environmental Management and Agriculture, West Pomeranian University of Technology in Szczecin, Poland

² Department of Plant Physiology and Biochemistry, Faculty of Environmental Management and Agriculture West Pomeranian University of Technology in Szczecin, Poland

Abstract: In the study, the number of basic-taxonomic and physiological microbe groups and the content of live microorganism biomass in selected gardening substrates were determined. The tested sample was the substrate for vegetables and flowers enriched with microorganisms, the product of Evolution Group. The control sample was the substrate for garden plants from Hollas. The determination of the microorganism number was conducted through the soil dilution plate method, using selective microbiological media. The numbers of bacteria, fungi and actinomycetes were determined for the tested substrates, and the number of microorganisms that are able to decompose the starch, proteins and fats. The biomass of live microorganisms was determined according to the methodology developed by Anderson and Domsch, using the Ultragas U4S analyser. From the made tests it was found that the gardening substrate enriched with biopreparation was inhabited by both basic microorganisms and physiological microbes. Introduction of the biological preparation to the substrate contributed to increased numbers for the analyzed groups of microorganisms, except of fungi. The substrate enriched with biopreparation was characterised by high number of lipolytic microbes, and significantly lower number of actinomycetes and proteolytic microorganisms. The content of live microbe biomass in the enriched soil was $1647.5 \text{ mg C} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$, while in the control soil it was 2 times lesser.

Keywords: horticultural growing media, microbiological preparation, number and microbial biomass