

Wpłynęło 22.03.2019 r.  
Zrecenzowano 23.04.2019 r.  
Zaakceptowano 21.05.2019 r.

A – koncepcja  
B – zestawienie danych  
C – analizy statystyczne  
D – interpretacja wyników  
E – przygotowanie maszynopisu  
F – przegląd literatury

# WPŁYW NAWOŻENIA NAWOZAMI NATURALNYMI I MINERALNYMI W RÓŻNYCH DAWKACH NA LICZEBNOŚĆ WYBRANYCH GRUP MIKROORGANIZMÓW EPIFITYCZNYCH RUNI ŁĄKOWEJ

**Anna KILISZCZYK**<sup>ADEF</sup>, **Katarzyna KIERASIŃSKA**<sup>DEF</sup>,  
**Barbara WRÓBEL**<sup>ABC</sup>

Instytut Technologiczno-Przyrodniczy w Falentach

## Streszczenie

Celem badań przeprowadzonych w latach 2009–2011 była ocena wpływu nawożenia łąki trwałej nawozami naturalnymi (obornikiem i gnojówką) i nawozami mineralnymi (wprowadzonymi w trzech różnych dawkach) na liczebność wybranych mikroorganizmów epifitycznych bytujących na runi łąkowej. Próbkę roślin do badań pobierano trzykrotnie w trakcie sezonu wegetacyjnego. W ramach badań eksperymentalnych oceniano: ogólną liczebność bakterii tlenowych, bakterii z rodzaju *Enterobacteriaceae* oraz drożdży i grzybów pleśniowych. W wyniku przeprowadzonych badań nie wykazano różnic w liczebności badanych grup drobnoustrojów bytujących na roślinności łąkowej nawożonej różnymi nawozami i w różnych dawkach. Stwierdzono jednak, że liczebność poszczególnych grup mikroorganizmów zależała przede wszystkim od terminu pobierania próbek. Największe liczebności wszystkich badanych mikroorganizmów stwierdzono w drugim roku badań (2010 r.). Liczba bakterii tlenowych rosła statystycznie istotnie wraz z okresem wzrostu roślin (kolejnym pokosem) i była największa w trzecim terminie zbioru. W próbkach świeżej masy roślin z trzeciego pokosu w drugim roku badań stwierdzano największą liczbę bakterii z rodzaju *Enterobacteriaceae* ( $6,61 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ) oraz bakterii tlenowych ( $8,65 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ). W próbkach z tego samego roku badań, ale z drugiego pokosu, odnotowano największą liczebność grzybów pleśniowych ( $5,88 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ) i drożdży ( $3,44 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

**Słowa kluczowe:** bakterie tlenowe, drożdże, *Enterobacteriaceae*, gnojówka, grzyby pleśniowe, obornik

**Do cytowania For citation:** Kiliszczyk A., Kierasińska K., Wróbel B. 2019. Wpływ nawożenia nawozami naturalnymi i mineralnymi w różnych dawkach na liczebność wybranych grup mikroorganizmów epifitycznych runi łąkowej. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 19. Z. 2 (66) s. 53–67.

## WSTĘP

Fyllosfera to nadziemne części roślin wraz z obecnym na nich mikrobiomem. Drobnoustroje, które znajdują się na jej powierzchni, to epifity [MUKHTAR i in. 2010]. Wśród mikrobiomu epifitycznego dominują bakterie, chociaż drożdże, grzyby nitkowate i archeony również mają znaczący udział. Bakterie obecne w fyllosferze sprzyjają wzrostowi gospodarzy, jak również mogą tłumić lub stymulować kolonizację powierzchni roślin przez patogeny [LINDOW, BRANDL 2003; RASCHE i in. 2006]. Grzyby obecne na liściach mogą z kolei zniechęcać roślinożerców, zwiększać tolerancję na suszę i chronić przed patogenami [ARNOLD i in. 2003; SCHWEIZER i in. 2006]. Obecność mikroorganizmów przekłada się na kondycję roślin, ilość i jakość plonu [MUCK 2010; NONGKHLAW, JOSHI 2014]. Epifity trafiają na rośliny z bioaerozolu obecnego w powietrzu wraz z opadami oraz są przenoszone z wiatrem lub na owadach [CHMIEL 2010; NONGKHLAW, JOSHI 2014; PURWIN i in. 2006]. Rozwój dużej populacji współdziałających ze sobą mikroorganizmów epifitycznych umożliwia złożony system, którym jest powierzchnia roślin. Mikrobiom epifityczny zajmuje małą niszę ekologiczną, dlatego wpływ na jego funkcjonowanie mają zarówno właściwości rośliny, jak i warunki środowiskowe, takie jak temperatura, wilgotność, promieniowanie słoneczne, prędkość wiatru oraz czynniki antropogeniczne [PAHLOW i in. 2003; WOLINSKA i in. 2017]. Przeznaczoną na paszę ruń łąkową często konserwuje się poprzez zakiszenie. Na jakość higieniczną i stabilność uzyskanej kiszonki oraz na przebieg procesów fermentacyjnych wpływa skład mikrobiomu epifitycznej użytych roślin [NONGKHLAW, JOSHI 2014; PURWIN i in. 2006]. Obecne tam bakterie kwasu mlekowego, które stanowią około 1% populacji epifitów roślinności łąk, korzystnie wpływają na proces zakiszania. Natomiast pałeczki z rodzajów *Bacillus*, *Enterobacteriaceae* i *Clostridium* oraz pleśnie i drożdże mogą być przyczyną skażenia kiszonek, dlatego są niepożądane z punktu widzenia producentów [WRÓBEL 2012].

Coraz częstsze stosowanie nawozów naturalnych, wynikające z rosnącego zainteresowania rolnictwem ekologicznym, niesie ze sobą ryzyko modyfikacji składu jakościowego i ilościowego mikrofauny fyllosfery [XU 2014]. W dalszym ciągu nie wiadomo, jak rolnictwo ekologiczne wpływa na różnorodność mikroorganizmów naturalnie bytujących na roślinności w dużych uprawach [KARLSSON i in. 2017]. W nawozach naturalnych często obecne są różne patogeny chorobotwórcze i pasożyty [FAISSAL i in. 2017; MILLER 2011; SCHIVERA 2001]. Ich obecność wpływa negatywnie na proces fermentacji kiszonkowej. Mogą mieć one (np. bakterie z rodzajów *Clostridium* i *Bacillus*) również niekorzystny wpływ na jakość mleka i jego przydatność do przerobu [WRÓBEL 2012]. Mikroorganizmy patogenne mogą się przedostać z zanieczyszczonych nimi pasz na zwierzęta i dalej na produkty oraz surowce odzwierzęce, powodując tym samym zagrożenie dla zdrowia ludzi [NIEWIADOMSKA i in 2017; ZIELIŃSKA i in. 2013].

Celem badań była ocena wpływu nawożenia łąki trwałej nawozami naturalnymi (obornikiem i gnojówką) i nawozami mineralnymi na liczebność wybranych grup epifitycznych oraz bakterii z rodzaju *Enterobacteriaceae* bytujących na runi łąkowej.

## MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania przeprowadzono w latach 2009–2011 w Instytucie Technologiczno-Przyrodniczym w Falentach. Materiał badawczy stanowiły próbki runi łąkowej pochodzące z doświadczenia łąkowego założonego na łące trwałej należącej do ZD ITP w Falentach.

Doświadczenie łąkowe założono na obiekcie łąkowym położonym w miejscowości Laszczki na glebie mineralnej, czarnej ziemi zdegradowanej, o składzie granulometrycznym odpowiadającym glinie lekkiej pylastej. W ramach badań na łące wydzielono 9 łąków (obiekty doświadczalne), każdy o powierzchni ok. 0,3 ha, na których stosowano nawożenie gnojówką bydlęcą (G), obornikiem (O) oraz nawozami mineralnymi. Nawozy stosowano w trzech różnych dawkach, odpowiadających trzem poziomom nawożenia azotem. Pierwszy poziom nawożenia (N-60) oznaczał coroczne wnoszenie w nawozach 60 kg N, 30 kg P i 60 kg K na ha, drugi (N-90): 90 kg N, 45 kg P i 90 kg K na ha, trzeci poziom (N-120): 120 kg N, 60 kg P i 120 kg K na ha. Ilość stosowanych corocznie nawozów naturalnych była zmienna i zależała od zawartości azotu w nawozie. W przypadku pierwszego poziomu nawożenia (N-60) w kolejnych latach stosowano od 24,0 do 30,0 t ha<sup>-1</sup> obornika i od 24,0 do 28,0 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> gnojówki. Na wyższych poziomach nawożenia (N-90 i N-120) dawki nawozów zwiększono odpowiednio o 50% i 100%. Obornik, po uprzednim przefermentowaniu (20% s.m.), stosowano jednorazowo jesienią lub wiosną za pomocą rozrzutnika obornika. Gnojówkę stosowano dogłębowo za pomocą specjalnych redlic, w dwóch równych dawkach – wiosną oraz po I pokosie. Niedobory fosforu w gnojówce uzupełniano mączką fosforytową. Nawozy mineralne stosowano w formie saletry amonowej, mączki fosforytowej oraz siarczanu potasu. Stosowano je wiosną (1/3 rocznej dawki N i K oraz cała dawka P) oraz po I i II pokosie (pozostałe dwie części rocznej dawki N i K).

Skład botaniczny runi łąkowej na poszczególnych obiektach doświadczalnych oceniano corocznie przed zbiorem I pokosu metodą szacunkową.

Próbki runi łąkowej do analiz mikrobiologicznych pobierano trzykrotnie w ciągu sezonu wegetacyjnego – podczas I, II i III pokosu. Z każdego łąku, w trzech powtórzeniach, pobierano po trzy 100-gramowe próbki zielonki, które w laboratorium wymieszano. W świeżych próbkach zielonki oceniano ogólną liczbę bakterii tlenowych, bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz liczebność drożdży i grzybów pleśniowych, stosując metodę posiewów na płytkach Petrifilm™ 3M. Wszystkie próbki wytrząsano w kolbach przez 25 min (120 rpm) w temperaturze

pokojoyej w 90 ml buforu peptonowego. Następnie wykonano serię rozcieńczeń i pobierano po 1 ml kolejnych rozcieńczeń, a następnie wysiewano na płytki Petrifilm™ 3M. Płytki inkubowano w następujących warunkach: 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plates w temperaturze 28°C przez 72 h, 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plate w temperaturze 35°C przez 24 h oraz 3M™ Petrifilm™ Rapid Yeast and Mold Count Plate w temperaturze 25°C przez 48 h.

Przebieg warunków meteorologicznych panujących w okresie badań przedstawiono w tabeli 1. Zarówno średnie dobowe temperatury powietrza, jak i sumy opadów w kolejnych miesiącach okresu wegetacji w latach badań znacznie się różniły. Rok 2010 wyróżniał się pod względem ilości opadów, były one znacznie większe niż w latach 2009 i 2011. Pod względem warunków termicznych najwyższą średnią temperaturą charakteryzował się rok 2011 (15,9°C), natomiast najniższą – rok 2009 (15,5°C).

**Tabela 1.** Warunki atmosferyczne w okresie wegetacji w Falentach w latach 2009–2011

**Table 1.** Weather conditions during the vegetation period in Falenty in the years 2009–2011

Miesiąc Month	Suma opadów (mm) Total rainfall (mm)			Średnia temperatura (°C) Average air temperature (°C)		
	2009	2010	2011	2009	2010	2011
IV	6,9	47,0	43,6	10,7	9,3	10,7
V	83,3	161,9	48,4	13,4	13,6	14,2
VI	177,7	111,3	44,9	16,2	18,0	18,7
VII	75,8	146,6	310,5	20,0	21,9	18,3
VIII	54,9	145,8	78,3	18,3	19,7	18,9
IX	27,7	103,6	7,9	14,7	12,1	14,8
Średnia Mean	71,0	119,4	88,9	15,5	15,7	15,9

Źródło: opracowanie własne na podstawie danych ze stacji meteorologicznej w Falentach.

Source: own elaboration based on data from the meteorological station in Falenty.

Uzyskane dane dotyczące liczebności wybranych grup epifitycznych mikroorganizmów poddano ocenie statystycznej, wykorzystując dwuczynnikową analizę wariancji, przyjmując za czynnik rodzaj nawozu i jego dawkę. Analizowano również wpływ roku badań i termin pobierania próbek (pokos). Istotność różnic między średnimi weryfikowano testem T-Tukeya (HSD) na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ . Obliczono również korelacje między liczebnością badanych grup mikroorganizmów. Obliczenia wykonano za pomocą programu Statistica wersja 6 (Statsoft, Polska), modułu Anova dla układów czynnikowych.

## WYNIKI

## SKŁAD BOTANICZNY RUNI ŁĄKOWEJ

Dominującą grupą roślin na wszystkich obiektach doświadczalnych były trawy. Udział tej grupy roślin wahał się średnio od 77,5 do 84%. Wśród traw dominowały: *Alopecurus pratensis* L., *Poa pratensis* L. i *Lolium multiflorum* L. Drugą co do liczebności grupą roślin były rośliny dwuliścienne – zioła i chwasty. Ich udział wynosił od 6,0 do 13,3%. Udział roślin bobowatych był niewielki, rzędu kilku procent (tab. 2).

**Tabela 2.** Skład botaniczny runi łąkowej (średnia z lat badań)

**Table 2.** Botanical composition of meadow sward (%) (mean from years of study)

Gatunek Plant species	Udział (%) w warunkach nawożenia Percentage share at fertilization								
	mineralnego mineral			obornikiem of solid manure			gnojówką of liquid manure		
	N-60	N-90	N-120	N-60	N-90	N-120	N-60	N-90	N-120
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Alopecurus pratensis</i> L.	30,7	23,0	41,0	30,3	32,0	49,0	33,3	28,1	33,5
<i>Poa pratensis</i> L.	18,7	17,5	16,0	26,0	27,5	17,5	16,3	19,1	11,0
<i>Lolium multiflorum</i> L.	24,3	12,7	18,5	5,7	10,0	9,5	21,7	17,6	17,5
<i>Dactylis glomerata</i> L.	3,0	9,0	3,5	3,0	5,5	3,5	3,3	2,1	2,0
<i>Poa trivialis</i> L.	1,3	9,0	0,0	0,0	3,0	0,0	1,3	6,4	9,0
<i>Lolium perenne</i> L.	0,7	3,0	1,0	1,7	5,0	1,0	0,3	2,8	1,5
<i>Bromus inermis</i> Leyss.	2,0	1,5	0,5	4,3	4,0	2,0	0,3	0,7	0,0
<i>Festuca pratensis</i> Huds	0,0	4,0	0,0	2,3	0,0	0,0	1,3	1,8	0,0
<i>Phalaris arundinacea</i> L.	0,3	1,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,7	2,8	3,0
<i>Festuca arundinacea</i> Schreb.	0,0	0,5	0,5	1,7	0,0	0,0	0,3	0,6	0,0
<i>Elymus repens</i> (L.) Gould	1,3	0,0	0,0	0,0	0,5	1,5	0,0	0,0	0,0
<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) P. Beauv. ex J. & C. Presl	0,3	0,0	0,0	2,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Holcus lanatus</i> L.	0,3	0,5	0,0	0,0	0,5	0,0	0,3	0,9	0,0
<i>Festuca rubra</i> L.	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0
<i>Bromus hordeaceus</i> L.	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>Trawy Grasses</b>	<b>83,0</b>	<b>81,5</b>	<b>81,0</b>	<b>78,0</b>	<b>84,0</b>	<b>84,0</b>	<b>79,3</b>	<b>83,1</b>	<b>77,5</b>
<i>Trifolium pratense</i> L.	2,0	3,5	1,0	3,3	3,0	1,5	3,0	2,7	0,5
<i>Trifolium repens</i> L.	2,0	7,0	2,0	1,7	1,0	1,0	3,0	4,0	5,5
<b>Bobowate Legumes</b>	<b>4,0</b>	<b>7,0</b>	<b>3,0</b>	<b>5,0</b>	<b>3,5</b>	<b>1,7</b>	<b>6,0</b>	<b>5,3</b>	<b>6,0</b>
<i>Taraxacum officinale</i> F.H. Wigg.	5,0	7,5	5,0	5,3	4,5	2,5	6,0	6,0	6,0
<i>Rumex acetosa</i> L.	2,3	0,0	2,0	3,7	2,5	2,0	1,0	0,5	1,0
<i>Anthriscus sylvestris</i> L.	1,3	0,9	2,5	1,3	1,0	1,5	3,0	1,5	0,5
<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	0,3	1,0	0,5	0,7	1,0	0,5	0,7	0,9	0,0

cd. tab. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Cerastium holosteoides</i> Fr. em. Hyl	0,3	0,0	1,0	0,7	0,5	0,5	0,7	0,3	0,5
<i>Achillea millefolium</i> L.	0,3	0,0	0,0	1,3	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Stellaria graminea</i> L.	0,0	0,1	0,0	0,3	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0
<i>Ranunculus repens</i> L.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0
<b>Ziola i chwasty</b> <b>Weeds and herbs</b>	<b>9,7</b>	<b>9,0</b>	<b>11,0</b>	<b>13,3</b>	<b>10,0</b>	<b>6,0</b>	<b>11,3</b>	<b>8,8</b>	<b>9,0</b>
<b>Powierzchnia niezadarniona</b> <b>Uncovered surface</b>	<b>3,3</b>	<b>5,0</b>	<b>5,0</b>	<b>3,7</b>	<b>5,0</b>	<b>5,0</b>	<b>3,3</b>	<b>4,2</b>	<b>7,5</b>
<b>Suma Sum</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

### LICZEBNOŚĆ BAKTERII TLENOWYCH

W rezultacie przeprowadzonych badań stwierdzono, że liczebność bakterii tlenowych w zależności od rodzaju i dawki nawożenia wynosiła od  $7,27 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  świeżej masy łądyg i liści roślin (ś.m. łądygi liści) w warunkach nawożenia obornikiem w dawce azotu  $60 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  do  $8,05 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  na obiektach nawożonych nawozami mineralnymi w dawce azotu  $120 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  (tab. 3). Największą liczbę badanych mikroorganizmów stwierdzono średnio w próbkach roślin z obiektów nawożonych azotem w dawkach  $120 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ , a najmniejszą w warunkach nawożenia azotem w dawce  $60 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ . Pod względem rodzaju nawożenia istotnie najwięcej bakterii

**Tabela 3.** Ogólna liczba bakterii tlenowych ( $\log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ) w zależności od rodzaju i dawki nawożenia (średnie z pokosów i lat badań)

**Table 3.** The total aerobic bacteria count ( $\log \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ ) depending on the type and dose of fertilization (means from three years of study)

Dawka nawożenia Dose of fertilisation	Liczba w zależności od rodzaju nawozu Type of fertiliser			
	nawożenie mineralne mineral fertilisation	obornik solid manure	gnojówka liquid manure	średnio mean
N-60	7,75	7,27	7,44	7,43
N-90	7,77	7,60	7,29	7,55
N-120	8,05	7,60	7,39	7,63
Średnio Mean	7,87b	7,46ab	7,38a	

Objaśnienia: średnie w kolumnach oznaczone tą samą dużą literą nie różnią się istotnie; średnie w wierszach oznaczone tą samą małą literą nie różnią się istotnie. Oznaczenia literowe istotności zastosowano w przypadku danych, które różnią się istotnie statystycznie.

Explanations: means in the columns followed by the same capital letter are not significantly different. Means in the rows followed by the same lowercase letter are not significantly different. Significant letters were used in the case of data that differ significantly statistically.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

tlenowych występowało na obiektach nawożonych nawozami mineralnymi – 7,87 jtk·g<sup>-1</sup>, podczas gdy najmniejszą uzyskaną liczebnością było 7,38 jtk·g<sup>-1</sup> na próbkach pochodzących z obiektów nawożonych gnojówką.

W wyniku przeprowadzonej analizy stwierdzono, że liczebność bakterii tlenowych, w zależności od roku i pokosu, mieściła się w granicach od 5,56 jtk·g<sup>-1</sup> w próbkach roślin z pierwszego pokosu pierwszego roku badań do 8,65 jtk·g<sup>-1</sup> w próbkach roślin z trzeciego pokosu drugiego roku badań (tab. 4). Istotnie najwięcej bakterii tlenowych było w drugim roku badań, czyli 2010 – 8,10 jtk·g<sup>-1</sup>. W pierwszym roku badań (2009) odnotowano istotnie najmniejszą średnią liczebność tych mikroorganizmów i wynosiła ona 6,88 jtk·g<sup>-1</sup>. Istotny wpływ na liczebność ogólnej liczby bakterii tlenowych miał również pokos. Największą liczebność tej grupy mikroorganizmów odnotowano w trzecim pokosie i wynosiła ona 8,14 jtk·g<sup>-1</sup>, a najmniejszą w pokosie pierwszym – 6,67 jtk·g<sup>-1</sup>.

**Tabela 4.** Ogólna liczba bakterii tlenowych (log jtk·g<sup>-1</sup>) w zależności od roku i pokosu

**Table 4.** The count of aerobic bacteria (log cfu·g<sup>-1</sup>) depending on the year and term of sampling

Pokos Cut	Liczba w roku badań    Count in the year of study			Średnio z lat badań Mean from years of study
	2009	2010	2011	
I	5,56Aa	7,59Ab	7,12Ab	6,76A
II	7,47Ba	8,05Bb	7,47Aa	7,70B
III	7,61bBa	8,65Ca	8,10Bb	8,14C
Średnio    Mean	6,88a	8,10c	7,56b	

Objaśnienia jak pod tabelą 3.    Explanations as in Tab. 3.

Źródło: wyniki własne.    Source: own study.

### LICZEBNOŚĆ BAKTERII Z RODZAJU *ENTEROBACTERIACEAE*

Liczebność bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* nie była silnie zróżnicowana. Najliczniej badana grupa występowała w próbkach pobranych z poletek nawożonych obornikiem w dawce azotu 90 kg·ha<sup>-1</sup> (6,31 jtk·g<sup>-1</sup>), najmniejszą ich liczebność stwierdzono natomiast na roślinach nawożonych gnojówką w dawce azotu 60 i 90 kg·ha<sup>-1</sup> (tab. 5). Najwięcej *Enterobacteriaceae* występowało w runi łąkowej nawożonej nawozami w dawce azotu 90 kg·ha<sup>-1</sup> – 5,84 jtk·g<sup>-1</sup>, natomiast najmniej tych mikroorganizmów stwierdzono w próbkach z poletek nawożonych nawozami w dawce azotu 60 kg·ha<sup>-1</sup> – 5,55 jtk·g<sup>-1</sup>. Ze względu na rodzaj nawożenia średnia liczebność bakterii należących do *Enterobacteriaceae* na roślinach wahała się od 5,42 jtk·g<sup>-1</sup> na obiektach nawożonych gnojówką do 5,86 jtk·g<sup>-1</sup> w warunkach stosowania nawozów mineralnych.

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że liczebność bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, w zależności od roku i pokosu, zmieniała się od 4 jtk·g<sup>-1</sup> w próbkach roślin z pierwszego pokosu trzeciego roku badań do 6,61 jtk·g<sup>-1</sup> w prób-

**Tabela 5.** Liczebność bakterii ( $\log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ) z rodzaju *Enterobacteriaceae* w zależności od rodzaju i dawki nawożenia (średnie z pokosów i lat badań)

**Table 5.** *Enterobacteriaceae* count ( $\log \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ ) depending on the type and dose of fertilization (means from three years of study)

Dawka nawożenia Dose of fertilisation	Liczebność w zależności od rodzaju nawozu Count depending on the type of fertiliser			
	nawożenie mineralne mineral fertilisation	obornik solid manure	gnojówka liquide manure	średnio mean
N-60	5,76	5,58	5,38	5,55
N-90	5,86	6,31	5,38	5,84
N-120	5,98	5,66	5,50	5,68
Średnio Mean	5,86	5,77	5,42	

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

kach roślin z trzeciego pokosu drugiego roku badań (tab. 6). Istotnie największą w roku średnią liczbę bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* stwierdzono w próbkach roślin w 2010 r. (2. rok badań) badań i wynosiła ona  $6,41 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ . Między średnimi wartościami liczby tych bakterii z pierwszego i trzeciego roku nie zaobserwowano istotnych różnic. Najmniejszą istotną średnią liczebność enterobakterii stwierdzono w próbkach roślin z pierwszego pokosu i wynosiła ona  $4,88 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ . W przypadku dwóch pozostałych pokosów nie stwierdzono istotnych różnic.

**Tabela 6.** Liczebność bakterii z rodzaju *Enterobacteriaceae* ( $\log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ) w zależności od roku i pokosu

**Table 6.** The count of *Enterobacteriaceae* ( $\log \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ ) depending on the year and term of sampling

Pokos Cut	Liczebność w roku badań Count in the year of study			Średnio z lat badań Mean from years of study
	2009	2010	2011	
I	4,19Aa	6,08Ab	4,00Aa	4,88A
II	5,40Ba	6,54Bb	5,69Ba	5,92B
III	5,84Ba	6,61Bb	6,16Bab	6,22B
Średnio Mean	5,14a	6,41b	5,29a	

Objaśnienia jak pod tabelą 3. Explanations as in Tab. 3.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

## LICZEBNOŚĆ DROŻDŻY

Liczebność drożdży w badanych próbkach runi łąkowej była bardzo zróżnicowana i wynosiła od  $0,88 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  w przypadku roślin pochodzących z obiektu nawożonego nawozem mineralnym w dawce  $90 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$  do  $1,52 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  w próbkach roślin z poletek, na których zastosowano ten sam rodzaj nawożenia w dawce  $60 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$  (tab. 7). W zależności od poziomu nawożenia średnia liczebność drożdży wynosiła od  $1,05 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  w zielonce pobranej z poletek nawożonych nawo-



**Tabela 7.** Liczebność drożdży ( $\log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ) w zależności od rodzaju i dawki nawożenia (średnie z pokosów i lat badań)**Table 7.** Yeasts count ( $\log \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ ) depending on the type and dose of fertilization (means from three years of study)

Dawka nawożenia Dose of fertilisation	Liczebność w zależności od rodzaj nawozu Count depending on the type of fertiliser			
	nawożenie mineralne mineral fertilisation	obornik solid manure	gnojówka liquid manure	średnio mean
N-60	1,52	1,25	0,89	1,19
N-90	0,88	1,48	0,79	1,05
N-120	1,33	1,19	1,24	1,25
Średnio Mean	1,24	1,28	1,00	

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

zami zawierającym azot w dawce  $90 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  do  $1,25 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  na roślinach pochodzących z poletek nawożonych azotem na poziomie  $120 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ . Najmniejszą średnią liczebność badanych mikroorganizmów stwierdzono w warunkach stosowania gnojówki ( $1,00 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ), natomiast największą na roślinach nawożonych obornikiem ( $1,28 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

W rezultacie przeprowadzonych badań stwierdzono, że liczebność drożdży, w zależności od roku i pokosu, mieściła się w granicach od  $0,33 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  w próbkach roślin z trzeciego pokosu w pierwszym roku badań do  $3,44 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  w próbkach roślin z drugiego pokosu w drugim roku badań (tab. 8). Stwierdzono istotne różnice pod względem liczebności drożdży między próbkami pochodzącymi z różnych lat. Istotnie największą średnią liczebność drożdży ( $1,98 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ) stwierdzono w próbkach pochodzących z drugiego roku badań, czyli z roku 2010, a istotnie najmniejszą ( $0,41 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ) w próbkach z roku 2009, czyli pierwszego roku badań. Najmniejszą średnią liczebność drożdży stwierdzono w próbkach roślin z pokosu pierwszego ( $0,42 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ), natomiast w przypadku próbek z dwóch pozostałych pokosów nie stwierdzono istotnych różnic.

**Tabela 8.** Liczebność drożdży ( $\log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ) w zależności od roku i pokosu**Table 8.** Yeasts count ( $\log \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ ) depending on the year and term of sampling

Pokos Cut	Liczebność w roku badań Count in the year of study			Średnio z lat badań Mean from years of study
	2009	2010	2011	
I	0,04Aa	0,80Ab	0,36Aab	0,42A
II	0,87Ba	3,44Bb	0,21Aa	1,70B
III	0,33Aa	1,71Ab	2,33Bc	1,39B
Średnio Mean	0,41a	1,98c	0,97b	

Objaśnienia jak pod tabelą 3. Explanations as in Tab. 3.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

### LICZEBNOŚĆ GRZYBÓW STRZĘPKOWYCH

Przeprowadzone badania wykazały, że liczebność grzybów strzępkowych wynosiła od 4,81 jtk·g<sup>-1</sup> w próbkach pochodzących poletek nawożonych obornikiem i gnojówką w dawce 90 kg N·ha<sup>-1</sup> do 5,48 jtk·g<sup>-1</sup> w zielonce z poletek nawożonych nawozem mineralnym w dawce 120 kg N·ha<sup>-1</sup> (tab. 9). Wykazano różnice statystycznie istotne w odniesieniu do średnich liczebności badanych mikroorganizmów pod względem poziomu nawożenia. Najmniej grzybów pleśniowych stwierdzono w runi łąkowej nawożonej w dawce 90 kg N·ha<sup>-1</sup>. Rodzaj nawożenia nie miał istotnego wpływu na liczebność grzybów pleśniowych. Ich liczebność na roślinach wynosiła od 5,08 jtk·g<sup>-1</sup> w przypadku obiektów nawożonych obornikiem do 5,26 jtk·g<sup>-1</sup> w warunkach nawożenia mineralnego.

**Tabela 9.** Liczebność grzybów pleśniowych (log jtk·g<sup>-1</sup>) w zależności od rodzaju i dawki nawożenia (średnie z pokosów i lat badań)

**Table 9.** Molds count (log cfu·g<sup>-1</sup>) depending on the type and dose of fertilization (means from three years of study)

Dawka nawożenia Dose of fertilisation	Liczebność w zależności od rodzaju nawozu Count depending on the type of fertiliser			
	nawożenie mineralne mineral fertilisation	obornik solid manure	gnojówka liquid manure	średnio mean
N-60	5,41	5,11	5,47	5,30b
N-90	4,90	4,81	4,84	4,85a
N-120	5,48	5,24	5,00	5,21b
Średnio Mean	5,26	5,08	5,14	

Objaśnienia jak pod tabelą 3. Explanations as in Tab. 3.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

W przeprowadzonych badaniach liczebność grzybów pleśniowych w zależności od roku i pokosu mieściła się w granicach od 3,97 jtk·g<sup>-1</sup> w próbkach roślin pochodzących z pierwszego pokosu w pierwszym roku badań do 5,88 jtk·g<sup>-1</sup> w próbkach pochodzących z drugiego pokosu w drugim roku badań (tab. 10). Istotnie najmniejszą średnią liczebność grzybów pleśniowych (4,69 jtk·g<sup>-1</sup>) stwierdzono w pierwszym roku badań, natomiast w próbkach pochodzących z dwóch pozostałych lat nie stwierdzono istotnych różnic. Liczebność grzybów pleśniowych była istotnie mniejsza (4,53 jtk·g<sup>-1</sup>) w próbkach roślin pochodzących z pierwszego pokosu, a w próbkach z pozostałych dwóch pokosów nie stwierdzono istotnych różnic.

Stwierdzono istotną statystycznie dodatnią korelację między liczebnością poszczególnych grup mikroorganizmów (tab. 11). Najsilniejsza zależność występowała między liczebnością bakterii tlenowych i *Enterobacteriaceae* ( $r = 0,71$ ) oraz między liczebnością bakterii tlenowych i pleśni ( $r = 0,54$ ).

**Tabela 10.** Liczebność grzybów pleśniowych ( $\log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ ) w zależności od roku i pokosu**Table 10.** Molds count ( $\log \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ ) depending on the year and term of sampling

Pokos Cut	Liczebność w roku badań Count in the year of study			Średnio z lat badań Mean from years of study
	2009	2010	2011	
I	3,97Aa	4,32Aa	5,59b	4,53A
II	5,05Ba	5,88Bb	5,63b	5,53B
III	5,04Ba	5,78Bb	5,29a	5,40B
Średnio Mean	4,69a	5,32b	5,51b	

Objaśnienia jak pod tabelą 3. Explanations as in Tab. 3.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

**Tabela 11.** Korelacje porządku rang Spearmana**Table 11.** Spearman's rank correlation coefficients

Grupa mikroorganizmów Microorganisms' group	Bakterie tlenowe Aerobic bacteria	Enterobakterie <i>Enterobacteriaceae</i>	Drożdże Yeasts	Grzyby pleśniowe Moulds
Bakterie tlenowe Aerobic bacteria	1,00			
<i>Enterobacteriaceae</i>	0,71**	1,00		
Drożdże Yeasts	0,43**	0,47**	1,00	
Grzyby pleśniowe Moulds	0,54**	0,35**	0,30**	1,00

Objaśnienia: \*\* korelacje istotne z  $p < 0,01$ . Explanations: \*\* significant correlations at  $p < 0,01$ .

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

## DYSKUSJA

Powierzchnie prawie wszystkich roślin wyższych tworzą siedliska o ograniczonej dostępności wody i składników odżywczych oraz dużej zmienności promieniowania i temperatury, które mimo to skolonizowane są przez wiele różnych bakterii i grzybów [KUCHARSKA, WACHOWSKA 2014]. Na liczebność tych organizmów, poza czynnikami naturalnymi, istotny wpływ mają działania człowieka, w tym aktywność rolnicza [PURWIN i in. 2006].

Mikroorganizmy zasiedlające powierzchnię i tkanki liści mogą negatywnie wpływać na rozwój roślin uprawnych. Jako oddziaływania negatywne rozumie się na ogół patogeniczność mikroorganizmów dla roślin, co prowadzi do zniszczenia tkanki liści, ograniczenia plonu i pogorszenia jego jakości [WACHOWSKA 2008].

Powszechnie wiadomo, że uprawa roślin powoduje zmianę składu oraz zmniejszenie różnorodności epifitycznych mikroorganizmów. Ma to istotne znaczenie, gdyż drobnoustroje epifityczne zasiedlające powierzchnię roślin mogą działać na roślinę zarówno korzystnie, jak i szkodliwie [PERSSON 2015; WOLINSKA i in. 2017]. Zaobserwowano na przykład, że duża liczebność bakterii na pszenicy ozi-

mej zwiększa jej plonowanie oraz ogranicza nasilenie objawów septorioz [PERSON 2015]. W przypadku trwałych użytków zielonych, jak wskazują niektóre źródła, stopień skażenia gleby bakteriami fekalnymi, wnoszonymi wraz z nawozami naturalnymi przekłada się na stopień skażenia runi łąkowej, co z kolei ma negatywny wpływ na jakość kiszonki [KUKIER i in. 2014].

*Enterobacteriaceae* należą do mikroorganizmów wpływających niekorzystnie na jakość pasz i proces produkcji kiszonek. Bakterie te są głównym źródłem gazu silosowego. Konkurują również z bakteriami kwasu mlekowego o cukry. Ponadto niektóre enterobakterie mogą wytwarzać w kiszonkach endotoksyny oraz powodować liczne choroby zwierząt i człowieka [NONGKHLAW, JOSHI 2014]. Dane literaturowe wskazują, że mikroorganizmy z rodziny *Enterobacteriaceae* wprowadzone do gleby z nawozami naturalnymi rozwijały się w zielonkach i w sporządzonych z nich kiszonkach [MCDONALD i in. 1991; PURWIN i in. 2012].

Oddziaływanie epifitycznych drożdży na roślinę jest zróżnicowane. Niektóre gatunki, np. z rodzaju *Septoria*, wywołują choroby roślin [SREENATH, JEFFRIES 2000]. Inne mogą hamować rozwój patogenów na drodze konkurencji o siedlisko (np. grzyby z rodzaju *Sporobolomyces*) lub poprzez indukowanie w tkankach roślin mechanizmów obronnych (np. *Cryptococcus* i *Rhodotorula*) [PERSSON 2015]. W kontekście produkcji kiszonek drożdże są prawdopodobnie najważniejszymi drobnoustrojami tlenowymi wyznaczającymi ich jakość. Wzrost drożdży nie jest hamowany przez kwaśny odczyn, gdyż są one zdolne do wzrostu i namnażania w zakresie pH od 3 do 8 [SREENATH, JEFFRIES 2000]. Niektóre gatunki mogą rozwijać się w warunkach beztlenowych, fermentując cukry do etanolu. Kiszonka z dużą zawartością etanolu może być bardzo zmienna pod względem stabilności tlenowej [KUKIER i in. 2012].

Grzyby strzępkowe powszechnie występują na roślinach. Choć mogą rosnąć w różnych warunkach, to populacja grzybów rzadko jest na tyle liczna, aby mogła wpłynąć na ogólne parametry kiszonki prawidłowo wytwarzanej i przechowywanej [PURWIN 2006]. Rozwój pleśni następuje, gdy kiszonka ulegnie znacznemu pogorszeniu w wyniku działalności drożdży i różnych bakterii tlenowych. Grzyby pleśniowe mogą rozwijać się wyłącznie w warunkach tlenowych, dlatego pleśń widoczna w kiszonce wskazuje na nadmierne stężenie tlenu w silosie i jest oznaką obniżonej jakości kiszonki [KUKIER 2012]. Grzyby te produkują mykotoksyny, które są niebezpieczne dla zdrowia zwierząt i ludzi. Mykotoksyny na ogół są wytwarzane w warunkach stresowych dla pleśni, a stresory środowiskowe, które inicjują produkcję mykotoksyn, różnią się znacznie w zależności od gatunku. W warunkach prawidłowego zakiszania stężenie mykotoksyn w kiszonce jest podobne do istniejącego w plonie roślin, z których powstają kiszonki [PURWIN i in. 2006].

Według wielu badaczy forma oraz ilość wnoszonych nawozów wpływa na zróżnicowanie gatunkowe drobnoustrojów [BENDING i in. 2008; GE i in. 2008]. Badania przeprowadzone przez autorów niniejszej pracy nie wykazały istotnego

wpływu poziomu oraz rodzaju zastosowanego nawożenia na ogólną liczebność mikroorganizmów, liczebność *Enterobacteriaceae*, drożdży i pleśni.

Większe zróżnicowanie liczebności badanych grup mikroorganizmów stwierdzono w próbkach roślin, gdy jako czynniki różnicujące brano pod uwagę rok i pokos. Liczebność wszystkich mikroorganizmów jest uzależniona od warunków pogodowych. Do głównych czynników wpływających na bytowanie mikroflory należą temperatura i wilgotność [KUCHARSKI, WYSZKOWSKA 2010], co potwierdzają niniejsze badania. Wysoka temperatura w miesiącach letnich spowodowała zwiększenie liczby badanych mikroorganizmów w próbkach roślin z II i III pokosu. Testowane grupy mikroorganizmów najliczniej występowały na roślinach w 2010 roku, w którym w czasie trwania sezonu wegetacyjnego odnotowano najwyższe średnie opady oraz wysoką temperaturę.

## WNIOSKI

1. Zastosowane w badaniach nawożenie naturalne nie wpłynęło na zwiększenie liczebności bakterii tlenowych, *Enterobacteriaceae*, drożdży i grzybów pleśniowych na roślinności łąkowej w porównaniu z liczebnością tych organizmów na roślinach nawożonych nawozami mineralnymi.

2. Również zastosowane w nawozach różne dawki azotu (60, 90 i 120 kg·ha<sup>-1</sup>) nie wpłynęły różnicująco na liczebność bakterii tlenowych, *Enterobacteriaceae* oraz drożdży.

3. Najsilniejszy wpływ na liczebność badanych grup mikroorganizmów miał termin, w którym pobierano próbki runi łąkowej do badań.

## BIBLIOGRAFIA

- ARNOLD E.A., MEJIA L.C., KYLLO D., ROJAS E., MAYNARD Z., ROBBINS N., HERRE E.A. 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. No. 100 s. 15649–15654.
- BENDING G.D., HAND P., PINK D., WHIPPS J.M. 2008. Phyllosphere microbiology with species reference to diversity and plant genotype. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 105 s. 1744–1755.
- CHMIEL M. 2010. Mikroflora epifityczna *Triticum aestivum* L. wokół składowiska odpadów komunalnych w Tarnowie-Krzyżu [Epiphytic microflora of *Triticum aestivum* L. around the municipal waste dumping site in Tarnów-Krzyż]. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*. T. 10. Z. 2 (30) s. 29–38.
- FAISSAL A., OUAZZANI N., PARRADO J.R., DARY M., MANYANI H., MORGADO B.R., BARRAGÁN M.D., MANDIB L. 2017. Impact of fertilization by natural manure on the microbial quality of soil: Molecular approach. *Saudi Journal of Biological Science*. No. 24 (6) s. 1437–1443.
- GE Y., ZHANG J.B., ZHANG L.M., YANG M., HE J.Z. 2008. Long-term fertilization regimes and diversity of an agricultural affect bacterial community structure soil in northern China. *Journal of Soils and Sediments*. No. 8 s. 43–50.

- KARLSSON I., FRIBERG H., KOLSETH A.K., STEINBERG C., PERSSON P. 2017. Organic farming increases richness of fungal taxa in the wheat phyllosphere. *Molecular Ecology*. No. 26 (13) s. 3424–3436.
- KUCHARSKA K., WACHOWSKA U. 2014. Mikrobiom liści roślin uprawnych [The microbiome on the leaves of crop plants]. *Postępy Mikrobiologii*. Nr 53(4) s. 352–359.
- KUCHARSKI J., WYSZKOWSKA J. 2010. Oddziaływanie rolnictwa na właściwości mikrobiologiczne gleb. W: *Oddziaływanie rolnictwa na środowisko przyrodnicze w warunkach zmian klimatu* [The impact of agriculture on the microbiological properties of soil. In: *Impact of agriculture on the natural environment in the conditions of climate change*]. *Studia i Raporty IUNG-PIB*. Nr 19 s. 37–53.
- KUKIER E., KWIATEK K., GREUDA T., GOLDSZTEJN M. 2014. Mikroflora kiszonek [Microflora of silages]. *Życie Weterynaryjne*. Nr 89 (12) s. 1031–1036.
- LINDOW S.E., BRANDL M.T. 2003. Microbiology of the phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology*. No. 69 s. 1875–1883.
- MCDONALD P., HENDERSON N., HERON S. 1991. *The biochemistry of silage*. Marlow, UK. Chalcombe publications. ISBN 0-948617-225 ss. 340.
- MILLER C.M. 2011. Microbiological safety of organic fertilizers used for produce production. *Praca magisterska*. Clemson University ss. 79.
- MUCK R.E. 2010. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*. No. 39 s. 183–191.
- MUKHTAR I., MUSHTAQ S., ALI A., KHOKHAR I. 2010. Epiphytic and endophytic phyllosphere microflora of *Cassia filiformis* L. and its hosts. *Ecoprint An International Journal of Ecology*. No. 17 s. 1–8.
- NIEWIADOMSKA A., SULEWSKA H., RATAJCZAK K., WOLNA-MARUWKA A., WARACZEWSKA Z. 2017. The microbial response to the organic and natural fertilisers under maize grown for silage in monoculture. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. No. 62(4) s. 33–40.
- NONGKHLAW F.M.W., JOSHI S.R. 2014. Distribution pattern analysis of epiphytic bacteria on ethno-medicinal plant surfaces: A micrographical and molecular approach. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*. No. 2 s. 34–40.
- PAHLOW G., MUCK R.E., DRIEHUIS F., ELFERINK S.J. W.H.O., SPOELSTRA S.F. 2003. Microbiology of ensiling. W: *Silage science and technology*. Red. D.R. Buxton, R.E. Muck, J.H. Harrison. American Society of Agronomy s. 31–93.
- PERSSON A. 2015. Yeast in forage crops and silage aerobic stability at 15 Swedish dairy farms. Second cycle, A2E. Uppsala: SLU, Department of Animal Nutrition and Management ss. 29.
- PURWIN C., LIPIŃSKI K., PYSERA B. 2012. Jakość higieniczna kiszonek [Hygienic quality of silages]. *Życie Weterynaryjne*. Nr 87(1) s. 37–40.
- PURWIN C., ŁANIEWSKA-TROKENHEIM Ł., WARMIŃSKA-RADYKO I., TYWONCZUK J. 2006. Jakość kiszonek – aspekty mikrobiologiczne, zdrowotne i produkcyjne [Silage quality: Microbiological, health-promoting and production aspects]. *Medycyna Weterynaryjna*. Nr 62(8) s. 865–869.
- RASCHE F., TRONDL R., NAGLREITER C., REICHENAUER T.G., SESSITSCH A. 2006. Chilling and cultivar type affect the diversity of bacterial endophytes colonizing sweet pepper (*Capsicum annum* L.). *Canadian Journal of Microbiology*. No. 52 s. 1036–1045.
- SCHIVERA D. 2001. Internal parasites and the ecology of the farm [online]. Maine Organic Farmers and Gardeners Association. [Dostęp 1.08.2001]. Dostępny w Internecie: <http://www.mofga.org/Publications/The-Maine-Organic-Farmer-Gardener/Fall-2001/Parasites>
- SCHWEITZER J.A., BAILEY J.K., BANGERT R.K., HART S.C., WHITHAM T.G. 2006. The role of plant genetics in determining above- and below-ground microbial communities. W: *Microbial Ecology of the Aerial Plant Surface*. Red. M.J. Bailey, A.K. Lilley, T.M. Timms-Wilson, P.T.N. Spencer-Phillips. CABI s. 107–119.

- SREENATH H., JEFFRIES T. 2000. Production of ethanol from wood hydrolyzate by yeasts. *Bioresource Technology*. No. 72 s. 253–260.
- WACHOWSKA U. 2008. Zmiany w zbiorowiskach drobnoustrojów zasiedlających liście pszenicy ozimej zachodzące pod wpływem fungicydów i stymulatorów odporności roślin [Changes in the microbial communities inhabiting the winter wheat leaves under the influence of fungicides and plant resistance stimulants]. *Rozprawy i monografie 135*. Olsztyn. Wydaw. UWM ss. 113.
- WOLINSKA A., FRĄC M., OSZUST K., SZAFRANEK-NAKONIECZNA A., ZIELENKIEWICZ U., STĘPNIEWSKA Z. 2017. Microbial biodiversity of meadows under different modes of land use: Catabolic and genetic fingerprinting. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. No. 33(8): 154 s. 1–15.
- WRÓBEL B. 2012. Jakość kiszonek z runi łąkowej z dodatkiem biologicznych stymulatorów fermentacji [The quality of grass silage made with the addition of biological stimulants of fermentation]. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*. T. 12. Z. 3 (39) s. 211–225.
- XU A. 2014. Microbiological assessment of organic produce pre- and post-harvest on Maryland farms and impact of growing and handling methods on epiphytic bacteria. *Praca magisterska*. University of Maryland ss. 121.
- ZIELIŃSKA K., FABISZEWSKA A., STECKA K., WRÓBEL B. 2013. Rola bakterii fermentacji mlekowej w poprawie jakości mikrobiologicznej kiszonek z runi łąkowej w gospodarstwach ekologicznych [Role of lactic acid bacteria in raising the microbiological quality of silages made of meadow sward in ecological farms]. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*. T. 13. Z. 1(41) s. 171–182.

*Anna KILISZCZYK, Katarzyna KIERASIŃSKA, Barbara WRÓBEL*

**THE EFFECT OF FERTILIZATION  
WITH DIFFERENT DOSES OF NATURAL AND MINERAL FERTILIZERS  
ON THE VOLUME OF SELECTED GROUPS  
OF MEADOW EPIFITICAL MICROORGANISMS**

**Key words:** *aerobic bacteria, enterobacteria, liquid manure, manure, mold fungi, yeast*

**S u m m a r y**

The study The aim of the research carried out in 2009–2011 was to assess the effect of fertilizing meadow with natural fertilizers (manure and liquid manure) and mineral fertilizers on the number of selected epiphytic microorganisms living on the meadow sward. Samples of plants for testing were collected three times during the growing season. The total number of aerobic bacteria, enterobacteria, yeast and mold fungi were assessed as a part of the study. As a result of the conducted experimental research, there were no differences in the number of examined groups of microorganisms living on the meadow plants fertilized with various fertilizers and doses. However, it was found that the number of individual groups of microorganisms depended mainly on the date of sampling. The largest number of all studied microorganisms occurred in the second year of the research (2010). In the samples of plants from the third cut in the second year of the study, the highest number of bacteria of the family *Enterobacteriaceae* ( $6.61 \text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ ) and aerobic bacteria ( $8.65 \text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ ) were found. In the samples from the same research year, but from the second cut, the highest numbers of mold fungi ( $5.88 \text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ ) and yeast ( $3.44 \text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ ) were recorded.

**Adres do korespondencji:** mgr Anna Kiliszczyk, Instytut Technologiczno-Przyrodniczy w Falentach, al. Hrabaska 3, 05-090 Raszyn; e-mail: a.kiliszczyk@itp.edu.pl