

Barbara Stachowiak, Agnieszka Piotrowska-Cyplik, Jacek Dach

## Ocena aktywności fungistatycznej kompostu z biomasy roślinnej zawierającej odpady tytoniowe

Skuteczność kompostu w zwalczaniu doglebowych chorób roślin została udowodniona w wielu pracach [1,4,8,13]. Jest ona związana z mikroorganizmami zasiedlającymi kompostowany materiał, u których pod wpływem określonych bodźców środowiskowych zostają wyzwolone mechanizmy zwalczające te choroby. Są one oparte na współzawodnictwie o składniki pokarmowe pomiędzy patogenami a antagonistycznymi mikroorganizmami, produkcji antybiotyków, nadpasożytnictwie i indukcji systemicznej w roślinie-gospodarzu [5]. Jednocześnie podkreśla się, że rodzaj kompostowanego materiału, a także warunki i przebieg procesu kompostowania wywierają ogromny wpływ na mikroorganizmy zdolne do jej zasiedlenia [5,6,13].

W pracy oceniono biologiczną aktywność kompostu przygotowanego na bazie biomasy roślinnej z dodatkiem brykietów tytoniowych, a zwłaszcza jego aktywność fungistatyczną wobec grzybowych patogenów roślinnych. Brykiety są bardzo wygodną formą magazynowania dużych ilości pyłu otrzymanego na różnych etapach produkcji papierosów, jednak zagospodarowanie tego typu toksycznych odpadów stanowi poważny problem. Jedną z takich możliwości jest biologiczna biodegradacja. Z badań przeprowadzonych przez autorów wynika, że nikotyna zawarta w brykietach ulega prawie całkowitemu rozkładowi podczas kompostowania (dane niepublikowane).

### Materiały i metody

#### Materiał badawczy

W doświadczeniach wykorzystano dwa komposty o następującym składzie początkowym (w przeliczeniu na świeżą masę materiałów):

– kompost A: 36 kg osadów ściekowych, 5 kg brykietów tytoniowych, 0,6 kg słomy zbożowej, 1,2 kg słomy kukurydzianej; wilgotność mieszanki 79%,

– kompost B: 30 kg osadów ściekowych, 10 kg brykietów tytoniowych, 0,9 kg słomy zbożowej, 6 kg wiórów drzewnych; wilgotność mieszanki 70%

Kompostowanie przeprowadzono w izolowanym termicznie dwukomorowym bioreaktorze (pojemność każdej z komór 125 dm<sup>3</sup>) przez 28 d [3]. Bioreaktory były wyposażone w czujniki temperatury i pH oraz system do monitoringu

gazów wylotowych. W doświadczeniu zastosowano napowietrzanie kompostu z intensywnością 2 dm<sup>3</sup>/h. Po procesie kompostowania w bioreaktorze kompost dojrzewał przez kolejne 28 d w klimatyzowanym pomieszczeniu o temperaturze 30°C. Podczas procesu kompostowania mierzono temperaturę i pH oraz przeprowadzono analizę mikrobiologiczną próbek kompostu i oceniano ich biologiczną aktywność w stosunku do wybranych patogenów roślinnych. Na początku i po zakończeniu kompostowania oznaczono zawartość ogólnego węgla organicznego i azotu ogólnego (C/N).

#### Analiza biologicznej aktywności kompostu

Biologiczną aktywność kompostu sprawdzono w stosunku do dziesięciu grzybowych patogenów roślinnych (szczypty wskaźnikowe): *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Trichoderma viride*, *Trichothecium roseum*, *Verticillium dahliae*. Grzyby przechowywano na skosach z podłożem PDA (Merck) w temperaturze 5°C. Dobrze wyrośnięte na skosach grzyby wskaźnikowe splukano 10 cm<sup>3</sup> soli fizjologicznej. Otrzymaną zawiesinę zaszczerpiono 100 cm<sup>3</sup> upłynnionej i schłodzonej pożywki PDA. Przygotowane podłoże rozlano do płytek Petriego (po ok. 15 cm<sup>3</sup>). Po zestaleniu na każdej płytce centralnie umieszczono około 0,5 g kompostu. Próbkę inkubowano w temperaturze 28°C przez 10 d, po czym zmierzono w trzech różnych miejscach promień strefy hamowania wzrostu grzybów wskaźnikowych. Otrzymane wyniki uśredniono i podano w milimetrach. Kontrolę stanowiły próbki zawierające kompost poddany sterylizacji w autoklawie (121°C, 25 min). Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

#### Analiza mikrobiologiczna i chemiczna kompostu

Liczebność drobnoustrojów oznaczono metodą płytkową Kocha (posiew zalewowy) [12]. Warunki inkubacji przedstawiono w tabeli 1. Wszystkie analizy wykonano w trzech powtórzeniach.

Tabela 1. Warunki inkubacji podczas analizy mikrobiologicznej kompostu  
Table 1. Incubation conditions during microbiological analysis of the compost

Grupa organizmów	Podłoże wzrostowe	Temperatura inkubacji °C	Czas inkubacji d
Mezofilowe	Agar odżywczy (BTL)	37	48
Termofilowe	Agar odżywczy (BTL)	55	48
Psychrofilowe	Agar odżywczy (BTL)	5	72
Beztlenowce	Agar odżywczy (BTL)	30	48
Pleśnie i drożdże	Podłoże z antybiotykiem do oznaczania liczby drożdży i pleśni (BTL)	28	96

Dr inż. B. Stachowiak, dr inż. A. Piotrowska-Cyplik: Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, ul. Wojska Polskiego 31, 60–624 Poznań [bstach@up.poznan.pl](mailto:bstach@up.poznan.pl)

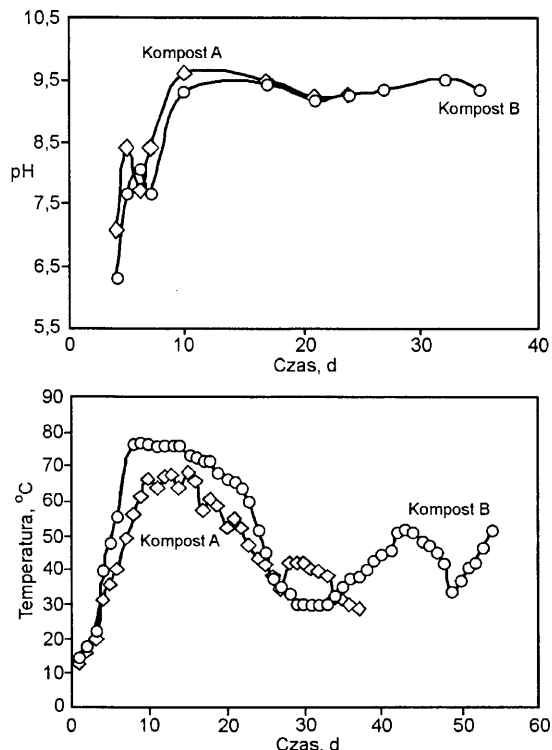
Dr inż. J. Dach: Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolniczy, Instytut Inżynierii Rolniczej, ul. Wojska Polskiego 50, 60–625 Poznań

Oznaczenie zawartości węgla organicznego wykonano metodą miareczkową z dwuchromianem potasu [7]. Azot ogólny oznaczano metodą Kjeldahla (Kjeltec System 1026 Distilling Unit Tecator, Dania) [7].

### Omówienie wyników badań

Stwierdzono, że analizowane komposty hamowały wzrost grzybów wskaźnikowych po fazie termofilowej, tj. po 21 d procesu kompostowania (tab. 2, rys. 1). W momencie rozpoczęcia badań komposty nie miały żadnej aktywności fungistatycznej, a w hodowlach płytkowych grzybów wskaźnikowych w obecności kompostów stwierdzono jedynie obfity rozwój mikroflory bakteryjnej i grzybowej wniesionej wraz z materiałem kompostowym. Wielu autorów uważa, że aktywność kompostu zwiększa się wraz z jego wiekiem i jest związana ze stopniem rozkładu substancji organicznych. Nierozłożona masa organiczna jest bogatym źródłem łatwo przyswajalnych składników pokarmowych, stąd w początkowej fazie kompostowania mechanizmy biokontroli nie zostają uruchomione, ponieważ zarówno patogen, jak i antagonista zachowują się jak saprofity [5,13]. Zatem świeży kompost nie tylko nie ogranicza rozwoju patogenów, lecz może nawet stanowić źródło infekcji, co zostało potwierdzone w badaniach własnych.

Ważnym czynnikiem wpływającym na biologiczną aktywność kompostu jest zmiana temperatury w czasie procesu kompostowania. Podczas fazy termofilowej ma miejsce sanitacja kompostu, a wysokie temperatury powodują zmniejszenie liczby organizmów flory patogennej, nasion chwastów i niepożądanych mikroorganizmów do akceptowanego poziomu [11]. Fazę tę przeżywają jedynie gatunki termooporne lub mające mechanizmy pozwalające na przetrwanie niekorzystnych zmian środowiskowych. Należą do nich przetrwalnikujące laseczki *Bacillus*, które już w 21 d (koniec fazy termofilowej)



Rys. 1. Zmiany temperatury i pH kompostu w czasie  
Fig. 1. Variations in the temperature and pH of the compost with time

w obu badanych kompostach stanowiły mikroflorę dominującą w grupie mikroorganizmów mezofilowych i termofilowych. Z dojrzewających kompostów wyizolowano wiele szczepów *Bacillus* charakteryzujących się silnym oddziaływaniem przeciugrzybicznym [2,8]. Syntezowały one pozakórkowo antybiotyki, enzymy oraz inne substancje zdolne do rozkładu grzybów [4,8,9].

Tabela 2. Promień strefy hamowania wzrostu grzybów wskaźnikowych (mm)  
Table 2. Radius of the zone of indicator fungi growth inhibition (mm)

Szczep wskaźnikowy	Kompost A			Kompost B			
	0 d	7 d	28 d	0 d	7 d	28 d	56 d
<i>Rhizoctonia solani</i>	0	0	13	0	0	6	45
<i>Verticilium dahlie</i>	0	0	0	0	0	4	45
<i>Trichoderma viride</i>	0	28	20	0	22	21	25
<i>Alternaria alternata</i>	0	0	7	3	0	8	25
<i>Fusarium solani</i>	0	0	0	0	0	32	45
<i>Fusarium oxysporum</i>	0	0	23	0	0	0	45
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0	0	0	0	0	0	45
<i>Botrytis cinerea</i>	0	0	15	0	0	38	45
<i>Cladosporium sp.</i>	0	0	0	0	0	0	45
<i>Trichothecium roseum</i>	4	0	10	4	0	5	25

Tabela 3. Zmiana liczebności grup drobnoustrojów podczas kompostowania (jtk/g)  
Table 3. Changes in the number of microorganism groups during composting (cfu/g)

Grupa mikroorganizmów	Kompost A				Kompost B				
	0 d	7 d	21 d	28 d	0 d	7 d	21 d	28 d	56 d
Mezofilowe	$4,0 \cdot 10^6$	$4,2 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^7$	$9,3 \cdot 10^7$	$1,6 \cdot 10^7$	$3,3 \cdot 10^6$	$4,6 \cdot 10^3$	$6,9 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^7$
Termofilowe	–	–	$1,6 \cdot 10^7$	$3,2 \cdot 10^6$	–	$2,6 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^6$	$3,0 \cdot 10^6$	$1,7 \cdot 10^6$
Psychrofilowe	$3,2 \cdot 10^6$	–	–	$2,3 \cdot 10^4$	$2,1 \cdot 10^7$	–	–	–	–
Pleśnie i drożdże	50	–	$7,5 \cdot 10^2$	–	$5,9 \cdot 10^4$	–	$1,4 \cdot 10^2$	–	–
Beztlenowce	$4,0 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^7$	$6,0 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^5$	$7,1 \cdot 10^5$	$2,6 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^4$	–	–

Tabela 4. Właściwości kompostu (w przeliczeniu na suchą masę)  
Table 4. Chemical properties of the compost (dry mass)

Rodzaj kompostu	Węgiel gC/kg	Azot gN/kg	C/N
Kompost A początek koniec (28 d)	362,7	44,45	8,16
	331,2	30,66	10,80
Kompost B początek koniec (56 d)	405,0	23,31	17,37
	370,8	22,75	16,30

W 28 d kompostowania spektrum fungistatycznego oddziaływania obu badanych kompostów było bardzo zbliżone. Jednak z uwagi na pojawienie się licznej grupy beztlenowców w kompoście A (tab. 3) i związane z tym niekorzystne przemiany beztlenowe, zakończono doświadczenie z udziałem tego kompostu.

W przypadku kompostu B najsilniejsze oddziaływanie fungistatyczne zaobserwowano po 30 d dojrzewania w temperaturze 30 °C, tj. w 56 d kompostowania. Wówczas kompost ten hamował całkowicie wzrost siedmiu (spośród dziesięciu) grzybów wskaźnikowych w hodowlach płytkowych. Wzrost grzybów *T. viride*, *A. alternata* i *T. roseum* hamowany był w strefie 25 mm. W celu sprawdzenia, czy fungistatyczne oddziaływanie badanych kompostów było wynikiem obecności w nich aktywnej mikroflory, czy też wywołane obecnością nikotyny, komposty poddano jałowieniu w autoklawie w temp. 121 °C (temp. wrzenia nikotyny 246 °C). W hodowlach płytkowych z kompostami poddanymi obróbce cieplnej nie zaobserwowano stref hamowania wzrostu grzybów wskaźnikowych.

Analiza mikrobiologiczna i fizyczno-chemiczna (pH, temperatura – rys. 1) wskazuje na prawidłowy przebieg kompostowania oraz na znaczny stopień dojrzałości kompostu B (tab. 4).

## Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń można twierdzić, że kompost przygotowany na bazie biomasy roślinnej z dodatkiem brykietów tytoniowych może stanowić podstawę do opracowania biologicznie aktywnych preparatów skutecznych w zwalczaniu grzybowych patogenów roślinnych. Wątpliwość może budzić jedynie obecność w kompoście substancji niebezpiecznych, a zwłaszcza nikotyny. Znane są liczne doniesienia literaturowe dotyczące biodegradacji nikotyny w ściekach przez wyizolowane mikroorganizmy, lecz nie mniej poważny problem stanowią stałe opady poprodukcyjne [10]. Wyniki badań własnych wskazują jednak, że

podczas kompostowania mieszanek zawierających brykiety tytoniowe nikotyna ulega prawie całkowitej (80%) biodegradacji do takiego poziomu, który nie stanowi zagrożenia środowiska naturalnego.

## LITERATURA

- C.M. CRAFT, E.B. NELSON.: Microbial properties of composts that suppress damping-off root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1996, 62(5), pp 1550–1557.
- K. CZACZYK, B. STACHOWIAK, K. TROJANOWSKA: Antifungal activity of *Bacillus sp.* isolated from compost. *Folia Microbiol.* 2001, 43, pp. 552–554.
- J. DACH, A. JĘDRUŚ, M. ADAMSKI, I. KOWALIK, Z. ZBYTEK: Bioreaktor do badań procesów rozkładu materiałów organicznych. *J. Res. Appl. Agr. Engin.* 2003, 48, pp. 74–77.
- W. FOLKMAN, B. LISIECKA, B. STACHOWIAK, K. TROJANOWSKA, K. GULEWICZ: Studies on fungistatic activity of *Bacillus coagulans* against *Trichothecium roseum* and characteristics of the bacterial metabolites. *J. Plant Protect. Res.* 2003, 43, pp. 121–132.
- H.A.J. HOITINK, A.G. STONE, D.Y. HAN.: Suppression of plant diseases by composts. *Hort Sci.* 1997, 32(2), pp. 184–187.
- K.D. KIM, S. NEMEC, G. MUSSON.: Effects of composts and soil amendments on soil microflora and *Phytophthora* root and crown rot of bell pepper. *Crop Protect.* 1997, 16(2), pp. 165–172.
- J. KOROL, R. KOROL: Badanie składu i właściwości osadów ściekowych. Wyd. PIOŚ, 1992.
- C.-G. PHAE, M. SHODA: Expression of the suppressive effect of *Bacillus subtilis* on phytopathogens in inoculated composts. *J. Ferment. Bioengin.* 1990, 70(6), pp. 409–414.
- A.R. PODILE, A.P. PRAKHAH: Lysis and biological control of *Aspergillus niger* by *Bacillus subtilis* AF1. *Can. J. Microbiol.* 1996, 42, pp. 533–538.
- A. RUAN, H. MIN, X. PENG, Z. HUANG: Isolation and characterization of *Pseudomonas sp.* strain HF-1, capable of degrading nicotine. *Res. Microbiol.* 2005, 156, pp. 700–706.
- J. SIUTA: Kompost z odpadów. *Nowoczesne Rolnictwo* 1999, 11(62), ss. 46–47.
- K. TROJANOWSKA, H. GIEBEL, B. GOŁĘBIOWSKA: Mikrobiologia żywności. Wyd. Akademii Rolniczej w Poznaniu, Poznań 1995.
- G. TUITERT, M. SZCZECZ, G.J. BOLLEN: Suppression of *Rhizoctonia solani* in potting mixtures amended with compost made from organic household waste. *Phytopath.* 1998, 88(8), pp. 764–773.

Stachowiak, B., Piotrowska-Cyplik, A., Dach, J. Assessing the Fungistatic Activity of a Compost Prepared from Plant Biomass with the Addition of Tobacco Waste. *Ochrona Środowiska* 2008, Vol. 30, No. 3, pp. 27–29.

**Abstract:** Compost samples prepared from plant biomass (agro-food industry waste) with added tobacco waste were analyzed for biological activity, with emphasis placed on the fungistatic activity of the compost against ten fungal phytopathogens. The basic composition of the composting mixture (cereal straw, sewage sludge, tobacco briquettes) was enriched with corn straw (compost A) and wood shavings (compost B). While briquetting is a convenient method for storing the large

quantities of the dust obtained at various stages of cigarette production, the disposal of this toxic waste material raises serious problems. One of the available methods includes biodegradation. The study has produced the following findings: (i) both the composts inhibited the growth of the indicator fungi after the thermophilic phase; (ii) compost B (the one enriched with wood shavings) showed a very strong fungistatic activity during the second mesophilic phase; (iii) the maturity value of compost B was high (C/N=16.3, determined by analysis of basic chemical composition).

**Keywords:** Compost, plant biomass, agro-food industry waste, tobacco waste, fungistatic activity, fungal phytopathogens.