

Wpłynęło 27.10.2016 r.  
Zrecenzowano 20.12.2016 r.  
Zaakceptowano 17.01.2017 r.

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

# WPŁYW NAWOŻENIA POFERMENTEM Z BIOGAZOWNI NA KSZTAŁTOWANIE LICZEBNOŚCI WYBRANYCH GRUP DROBNOUSTROJÓW W GLEBIE PŁOWEJ

**Justyna BAUZA-KASZEWSKA**<sup>ABCDEF</sup>, **Beata SZALA**<sup>CD</sup>,  
**Barbara BREZA-BORUTA**<sup>BEF</sup>, **Anna LIGOCKA**<sup>DEF</sup>,  
**Magdalena KROPLEWSKA**<sup>EF</sup>

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, Katedra Mikrobiologii i Technologii Żywności

## Streszczenie

Stosowane powszechnie metody przetwarzania odpadów organicznych stwarzają szerokie możliwości pozyskiwania produktów, które dzięki dużej zawartości substancji odżywczych dla roślin mogą być wykorzystane w rolnictwie do nawożenia.

Proces fermentacji metanowej odpadów, którego głównym celem jest wytworzenie biogazu, generuje dodatkowo pozostałości w postaci masy pofermentacyjnej. Wyniki badań potwierdzają pozytywne efekty wprowadzenia pofermentu do środowiska glebowego na plonowanie roślin uprawnych. Równie istotny jest wpływ takich zabiegów na liczebność mikroorganizmów zasiedlających to środowisko i decydujących w dużym stopniu o jego prawidłowym funkcjonowaniu.

Celem przeprowadzonych badań była analiza zmian liczebności wybranych grup drobnoustrojów w glebie płowej, wzbogaconej różnymi dawkami pofermentu. Doświadczenie wazonowe prowadzono przez 12 miesięcy. Analizy mikrobiologiczne obejmowały oznaczenie ogólnej liczby drobnoustrojów, liczby promieniowców i grzybów strzępkowych oraz mikroorganizmów o różnych właściwościach enzymatycznych (proteolitycznych, amylolitycznych, celulolitycznych). Uzyskane rezultaty dowodzą umiarkowanego wpływu nawożenia pofermentem na badane grupy drobnoustrojów – wyniki posiewów wykonanych po roku nie wykazały statystycznie istotnego wpływu jego stosowania na ogólną liczbę drobnoustrojów oraz liczbę grzybów i drobnoustrojów o właściwościach amylolitycznych. Istotnie większa liczebność bakterii proteolitycznych i celulolitycznych była efektem aplikacji do gleby wyższej, z dwóch testowanych, dawki pofermentu.

**Słowa kluczowe:** biogazownia, drobnoustroje, gleba, nawożenie, poferment

**Do cytowania For citation:** Bauza-Kaszewska J., Szala B., Breza-Boruta B., Ligocka A., Kroplewska M. 2017. Wpływ nawożenia pofermentem z biogazowni na kształtowanie liczebności wybranych grup drobnoustrojów w glebie płowej. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 17. Z. 2 (58) s. 15–26.

## WSTĘP

Fermentacja metanowa odpadów organicznych jest procesem ukierunkowanym głównie na pozyskiwanie biogazu wykorzystywanego do celów energetycznych. Ponadto w sytuacji, gdy powstające w trakcie produkcji rolnej pozostałości nie nadają się do dalszego bezpośredniego wykorzystania, technologia ta pozwala na częściowe rozwiązanie problemu ich składowania. Kolejnym ważnym aspektem związanym z jej funkcjonowaniem jest powstawanie, oprócz biogazu, dużej ilości tzw. pofermentu – pozostałości produkcyjnej, mogącej znaleźć zastosowanie do celów nawozowych. Ze względu na swój skład i właściwości, produkt ten może pozytywnie wpływać zarówno na glebę, do której jest wprowadzany, jak i na rozwój uprawianych na niej roślin. Dodanie go do środowiska glebowego wzbogaca je w materię organiczną i składniki odżywcze dla roślin, oddziałując jednocześnie na rozwój zasiedlających je mikroorganizmów [ABUBAKER i in. 2013; CYBULSKA i in. 2015; NKOA 2014; SAPP i in. 2015].

Drobnoustroje glebowe są jednym z czynników decydujących o aktywności biologicznej gleby, a zwiększenie ilości substancji organicznej w glebie stymuluje intensywność ich metabolizmu. O ile dość dokładnie przebadany został wpływ, jaki wywierają na mikroorganizmy tradycyjne nawozy organiczne, to w przypadku produktów takich, jak masa pofermentacyjna, liczba prac naukowych jest znacznie mniejsza [NATYWA i in. 2014; ZHEN i in. 2014]. Tymczasem, biorąc pod uwagę różnorodność substratów, które wykorzystywane są jako wsad w biogazowniach oraz zmienną wrażliwość poszczególnych grup drobnoustrojów na wprowadzoną do gleby biomasę, prowadzenie badań w tym kierunku wydaje się być wysoce uzasadnione [CHU i in. 2007; NKOA 2014; ZHONG i in. 2010].

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu różnych dawek pofermentu na kształtowanie liczebności wybranych grup drobnoustrojów glebowych.

## METODY BADAŃ

Doświadczenie prowadzono w warunkach laboratoryjnych, metodą wazonową, w trzech powtórzeniach dla każdego wariantu nawożenia gleby pofermentem:

K – kontrola, bez nawożenia;

I – gleba nawożona dawką pofermentu w ilości 50% dopuszczalnej dawki N ( $85 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$ );

II – gleba nawożona dawką pofermentu w ilości 100% dopuszczalnej dawki N ( $170 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$ ).

Wykorzystana w badaniach biomasa pochodziła z biogazowni rolniczej, w której substraty wsadowe stanowiły gnojowica świńska (65%) i kiszonka z kukurydzy (35%). Proces fermentacji metanowej prowadzony był w warunkach termofilnych.

Dawkę pofermentu dodawaną do gleby ustalono na podstawie zawartości azotu w biomacie.

W badaniach wykorzystano glebę płąwą, wytworzoną z piasku gliniastego (pg), która zawierała 74% frakcji piasku, 22% frakcji pyłu i 4% frakcji iltu.

Zawartość N, P, K w glebie oraz masie pofermentacyjnej podano w tabeli 1.

**Tabela 1.** Zawartość N<sub>ogól.</sub>, P i K w glebie i pofermencie

**Table 1.** The total nitrogen, phosphorus and potassium content of the soil and the digestate

Analizowany materiał Material investigated	Zawartość składników pokarmowych The content of nutrients			
	azot ogólny total nitrogen		P	K
	% ś.m.	% f.w.		
Gleba Soil		0,27	0,75	1,34
Poferment Digestate		0,26	4,59	87,28

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

Analizy mikrobiologiczne gleby wykonano bezpośrednio przed wprowadzeniem do niej pofermentu (posiew 0), a następnie po 24 h oraz 3, 6 i 12 miesiącach od założenia doświadczenia.

Badania obejmowały określenie ogólnej liczby drobnoustrojów, liczby grzybów strzępkowych, promieniowców oraz bakterii proteolitycznych, amyloolitycznych i celulozylitycznych. Wykonywano je, stosując metodę posiewu głębinowego (wgłębnego), wprowadzając po 1 cm<sup>3</sup> przygotowanych wcześniej rozcieńczeń do jałowych płytek Petriego i zalewając je upłynnionym podłożem agarowym. Promieniowce izolowano z gleby wykonując posiew powierzchniowy. Do hodowli drobnoustrojów wykorzystano odpowiednie podłoża stałe:

- ogólna liczebność drobnoustrojów – agar odżywczy Agar Standard (Merck nr kat. 1.07881),
- liczebność grzybów strzępkowych – podłoże wg Martina [MARTIN 1950],
- bakterie proteolityczne – pożywka z żelatyną [SOBCZAK i in. 1978],
- bakterie amyloolityczne – pożywka ze skrobią [BOGUSZEWSKA 1980],
- bakterie celulozylityczne – pożywka z karboksymetylocelulozą (CMC) [STRZELCZYK, SZPOTAŃSKI 1989],
- promieniowce – podłoże wg Pochona [POCHON, TARDIEUX 1962].

Zaszczepione podłoża inkubowano w temperaturze 24°C przez 7 dni – w przypadku bakterii i grzybów oraz w 28°C przez 14 dni – w przypadku promieniowców. W celu identyfikacji bakterii należących do różnych tzw. grup pokarmowych, ich hodowle zalewano przed odczytem odczynnikami umożliwiającymi obserwację stref hydrolizy poszczególnych substratów [HASTUTI i in. 2014; MAROKHÁZI i in. 2004].

W trakcie doświadczenia przeprowadzano również pomiar odczynu gleby za pomocą pH-metru MP 120. Wilgotność gleby oznaczono z kolei metodą suszarko-

wo-wagową, susząc próbki gleby w temperaturze 105°C przez 6 h. Zawartość suchej masy określono na podstawie różnic masy próbek przed i po suszeniu.

Uzyskane wyniki badań opracowano statystycznie. W celu ustalenia istotności różnic między wartościami badanych parametrów z różnych kombinacji nawozowych zastosowano test t-Studenta (na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ ).

## WYNIKI BADAŃ

Ogólna liczba drobnoustrojów wyizolowanych z gleby przed wprowadzeniem do niej pofermentu wynosiła  $2,22 \cdot 10^7$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. Liczebność pozostałych drobnoustrojów była z reguły mniejsza o około jeden rząd wielkości. Wyjątek stanowiły grzyby – najmniej liczna grupa badanych mikroorganizmów, których liczba w analizowanych próbkach nie przekraczała  $10^5$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. (tab. 2).

**Tabela 2.** Liczebność (jtk·g<sup>-1</sup> s.m.) drobnoustrojów w glebie przed zastosowaniem nawożenia pofermentem

**Table 2.** Number (cfu·g<sup>-1</sup> DM) of microorganisms in soil before digestate fertilization

Badana grupa mikroorganizmów Microorganisms investigated	Liczebność Number
Ogólna liczba drobnoustrojów Total numer of microorganisms	$2,22 \cdot 10^7$
Grzyby Fungi	$2,53 \cdot 10^5$
Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria	$4,90 \cdot 10^6$
Bakterie amylolityczne Amylolytic bacteria	$3,30 \cdot 10^6$
Bakterie celulolityczne Cellulolytic bacteria	$4,21 \cdot 10^6$
Promieniowce Actinomycetes	$2,18 \cdot 10^6$

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

W analizach wykonanych po 24 h oraz 3 miesiącach od momentu aplikacji do gleby pofermentu zaobserwowano istotny statystycznie wzrost ogólnej liczby drobnoustrojów po zastosowaniu wyższej dawki biomasy (II). Wspomniane terminy poboru próbek były jedynymi, w których liczebność mikroorganizmów przekroczyła rząd wielkości  $10^8$  jtk·g<sup>-1</sup> (tab. 3 i 4). Po półrocznej inkubacji różnice te zaczęły stopniowo zanikać, a po roku nie odnotowano już statystycznie istotnego wpływu nawożenia pofermentem na ogólną liczbę drobnoustrojów, wynoszącą wówczas  $4,13$ – $4,30 \cdot 10^7$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. (tab. 6).

Wprowadzenie do gleby masy pofermentacyjnej spowodowało początkowo nieznaczny, ale istotny statystycznie spadek liczebności grzybów (tab. 3 i 4). Po 6 i 12 miesiącach badań nie obserwowano już takiej tendencji, a liczba grzybów we wszystkich kombinacjach doświadczalnych wahała się w granicach  $1,35$ – $2,63 \cdot 10^5$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. (tab. 5 i 6).

**Tabela 3.** Liczebność (jtk·g<sup>-1</sup> s.m.) różnych grup drobnoustrojów w glebie 24 h po dodaniu pofermentu**Table 3.** Number (cfu·g<sup>-1</sup> d.m.) of different groups of microorganisms in soil 24 hours after digestate application

Badana grupa mikroorganizmów Microorganisms investigated	Wariant nawożenia Variant of fertilization		
	K	I	II
Ogólna liczba drobnoustrojów Total number of microorganisms	3,50·10 <sup>7</sup> a	7,42·10 <sup>7</sup> a	1,48·10 <sup>8</sup> b
Grzyby Fungi	3,88·10 <sup>5</sup> b	3,08·10 <sup>5</sup> ab	2,41·10 <sup>5</sup> a
Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria	4,67·10 <sup>6</sup> a	5,21·10 <sup>6</sup> a	5,91·10 <sup>6</sup> a
Bakterie amylolityczne Amylolytic bacteria	7,33·10 <sup>6</sup> a	8,33·10 <sup>6</sup> b	7,55·10 <sup>6</sup> ab
Bakterie celulolityczne Cellulolytic bacteria	7,13·10 <sup>6</sup> ab	5,92·10 <sup>6</sup> a	7,43·10 <sup>6</sup> b
Promieniowce Actinomycetes	2,41·10 <sup>6</sup> a	2,19·10 <sup>6</sup> a	2,55·10 <sup>6</sup> a

Objaśnienia: a, b = wartości w rzędach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie ( $\alpha = 0,05$ ).

Explanations: a, b = values in a row marked with different letters are statistically different ( $\alpha = 0.05$ ).

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

**Tabela 4.** Liczebność (jtk·g<sup>-1</sup> s.m.) badanych grup drobnoustrojów w glebie po 3 miesiącach od dodania pofermentu**Table 4.** The number (cfu·g<sup>-1</sup> DM) of different groups of microorganisms soil 3 months after digestate application

Badana grupa mikroorganizmów Microorganisms investigated	Wariant nawożenia Variant of fertilization		
	K	I	II
Ogólna liczba drobnoustrojów Total number of microorganisms	3,57·10 <sup>7</sup> a	3,73·10 <sup>7</sup> a	1,16·10 <sup>8</sup> b
Grzyby Fungi	3,50·10 <sup>5</sup> b	2,33·10 <sup>5</sup> b	1,73·10 <sup>5</sup> a
Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria	2,37·10 <sup>6</sup> a	2,89·10 <sup>6</sup> a	3,65·10 <sup>6</sup> a
Bakterie amylolityczne Amylolytic bacteria	1,25·10 <sup>7</sup> a	1,83·10 <sup>7</sup> b	1,72·10 <sup>7</sup> b
Bakterie celulolityczne Cellulolytic bacteria	6,47·10 <sup>6</sup> a	3,73·10 <sup>6</sup> a	3,73·10 <sup>6</sup> a
Promieniowce Actinomycetes	6,70·10 <sup>6</sup> a	5,54·10 <sup>6</sup> a	7,75·10 <sup>6</sup> a

Objaśnienia: a, b = wartości w rzędach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie ( $\alpha = 0,05$ ).

Explanations: a, b = values in a row marked with different letters are statistically different ( $\alpha = 0.05$ ).

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

Bakterie o właściwościach proteolitycznych przez 6 miesięcy nie wykazywały znaczącej reakcji na nawożenie pofermentem (tab. 3, 4 i 5). Dopiero końcowe analizy gleb, wykonane po roku od założenia eksperymentu, wykazały istotnie większą liczebność tych drobnoustrojów w glebie, do której wprowadzono wyższą dawkę biomasy (II).

W przypadku bakterii amylolitycznych zaobserwowano największy, spośród badanych grup mikroorganizmów o różnych właściwościach enzymatycznych, wzrost liczebności do wartości rzędu 10<sup>7</sup>–10<sup>8</sup> jtk·g<sup>-1</sup> s.m. Statystycznie istotne róż-

**Tabela 5.** Liczebność ( $\text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$  s.m.) badanych grup drobnoustrojów w glebie po 6 miesiącach od dodania pofermentu

**Table 5.** The number ( $\text{cfu}\cdot\text{g}^{-1}$  d.m.) of different groups of microorganisms in soil 6 months after digestate application

Badana grupa mikroorganizmów Microorganisms investigated	Wariant nawożenia Variant of fertilization		
	K	I	II
Ogólna liczba drobnoustrojów Total number of microorganisms	$2,79\cdot 10^7$ a	$3,69\cdot 10^7$ ab	$5,48\cdot 10^7$ b
Grzyby Fungi	$2,63\cdot 10^5$ a	$1,35\cdot 10^5$ a	$1,47\cdot 10^5$ a
Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria	$3,21\cdot 10^6$ a	$4,96\cdot 10^6$ a	$4,20\cdot 10^6$ a
Bakterie amylolityczne Amylolytic bacteria	$5,39\cdot 10^6$ a	$1,06\cdot 10^7$ a	$5,08\cdot 10^6$ a
Bakterie celulolityczne Cellulolytic bacteria	$3,67\cdot 10^6$ a	$4,92\cdot 10^6$ ab	$5,36\cdot 10^6$ b
Promieniowce Actinomycetes	$6,05\cdot 10^6$ a	$6,19\cdot 10^6$ a	$6,35\cdot 10^6$ a

Objaśnienia: a, b = wartości w rzędach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie ( $\alpha = 0,05$ ).

Explanations: a, b = values in a row marked with different letters are statistically different ( $\alpha = 0.05$ ).

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

**Tabela 6.** Liczebność ( $\text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$  s.m.) badanych grup drobnoustrojów w glebie po 12 miesiącach od dodania pofermentu

**Table 6.** The number ( $\text{cfu}\cdot\text{g}^{-1}$  d.m.) of different groups of microorganisms in soil 12 months after digestate application

Badana grupa mikroorganizmów Microorganisms investigated	Wariant nawożenia Variant of fertilization		
	K	I	II
Ogólna liczba drobnoustrojów Total number of microorganisms	$4,30\cdot 10^7$ a	$4,13\cdot 10^7$ a	$4,26\cdot 10^7$ a
Grzyby Fungi	$1,85\cdot 10^5$ a	$1,77\cdot 10^5$ a	$1,45\cdot 10^5$ a
Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria	$2,85\cdot 10^6$ a	$2,45\cdot 10^6$ a	$4,42\cdot 10^6$ b
Bakterie amylolityczne Amylolytic bacteria	$3,49\cdot 10^6$ a	$3,46\cdot 10^6$ a	$3,73\cdot 10^6$ a
Bakterie celulolityczne Cellulolytic bacteria	$1,85\cdot 10^6$ a	$2,29\cdot 10^6$ ab	$3,33\cdot 10^6$ b
Promieniowce Actinomycetes	$6,22\cdot 10^6$ b	$5,42\cdot 10^6$ ab	$4,86\cdot 10^6$ a

Objaśnienia: a, b = wartości w rzędach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie ( $\alpha = 0,05$ ).

Explanations: a, b = values in a row marked with different letters are statistically different ( $\alpha = 0.05$ ).

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

nicowanie między ich występowaniem w glebie nawożonej pofermentem i glebie nienawożonej zaobserwowano w dwóch pierwszych terminach doświadczalnych (tab. 3 i 4). Wyniki ostatnich posiewów we wszystkich wariantach doświadczalnych wykazały podobną statystycznie liczebność, utrzymującą się na poziomie  $10^6$   $\text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$  s.m. (tab. 5 i 6).

Wpływ pofermentu na występowanie w glebie bakterii celulolitycznych w początkowej fazie doświadczenia był niejednoznaczny. Analizy próbek pobranych po

6 i 12 miesiącach dowiodły jednak, że w glebie nawożonej wyższą dawką biomasy (II) było statystycznie więcej tych mikroorganizmów, niż w glebie nienawożonej. Ich liczebność w tych dwóch terminach wahała się w granicach od  $1,85 \cdot 10^6$  (K, 12 miesięcy) do  $5,36 \cdot 10^6$  (II, 6 miesięcy)  $\text{jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  s.m. (tab. 5 i 6).

Promieniowce stanowiły grupę drobnoustrojów, w przypadku której dopiero po roku zaobserwowano reakcję na dodanie do gleby pofermentu. Uzyskane wyniki wskazują jednak na statystycznie większą liczebność tych mikroorganizmów w próbkach z gleby kontrolnej, bez dodatku biomasy –  $6,22 \cdot 10^6$   $\text{jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  s.m., niż w glebie wzbogaconej wyższą dawką masy pofermentacyjnej –  $4,86 \cdot 10^6$   $\text{jtk} \cdot \text{g}^{-1}$  s.m. (tab. 6).

Dodatek pofermentu powodował wzrost pH w glebie bezpośrednio po aplikacji. Wartości tego wskaźnika wynosiły 7,4 dla próbek kontrolnych (K) oraz 8,2 i 8,6 dla gleby nawożonej, odpowiednio, niższą (I) i wyższą (II) dawką biomasy. W kolejnych terminach różnice odczynu były mniejsze – po roku pH w poszczególnych próbkach wahało się od 7,7 do 7,8.

Wilgotność badanych gleb wahała się w czasie całego doświadczenia od 16 do 20%.

## DYSKUSJA WYNIKÓW

Uzupełnianie zasobów materii organicznej w glebie jest jednym z podstawowych warunków decydujących o utrzymaniu na odpowiednim poziomie jej żyzności – cechy niezbędnej do prawidłowego rozwoju uprawianych w niej roślin. Jednocześnie pojawienie się dodatkowego źródła składników odżywczych nie pozostaje bez wpływu na biologiczne właściwości gleby, takie jak bioróżnorodność i aktywność metaboliczna zasiedlających ją drobnoustrojów. Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy, poszczególne grupy mikroorganizmów – grzyby, promieniowce, czy bakterie w inny sposób reagują na różne nawozy organiczne, a w przypadku tych ostatnich rodzaj nawożenia może nawet modyfikować proporcje między liczebnością bakterii G+ i G– [SAPP i in. 2015; ZHANG i in. 2015]. O kierunku ewentualnych zmian decyduje wiele czynników, takich jak typ gleby, skład i pochodzenie wprowadzanej do niej biomasy, a w przypadku pofermentu – rodzaj substratów poddawanych fermentacji [JEZIERSKA-TYS, FRĄC 2008; NKOA 2014; ZHONG i in. 2010].

Nawożenie organiczne z reguły prowadzi do wzrostu ogólnej liczby mikroorganizmów glebowych, co potwierdzają badania wykonywane z wykorzystaniem zarówno metod tradycyjnych, jak i biochemicznych czy molekularnych [GONG i in. 2009; MANDIC i in. 2012; SAPP i in. 2015; ZHANG i in. 2015; ZHEN i in. 2014]. Znane są również prace, których wyniki nie potwierdzają tej tendencji. W doświadczeniu WOLNEJ-MARUWKI i in. [2007] dodanie do gleby osadu ściekowego nie powodowało statystycznie istotnych zmian w ogólnej liczebności bakterii.

Z kolei JEZIERSKA-TYS i FRĄC [2008] zaobserwowały, że intensywny rozwój bakterii w glebie płowej nawożonej osadem ścieków z mleczarni i obornikiem w różnych kombinacjach nastąpił głównie w ciągu pierwszych 30 dni badań. Po ok. 8 miesiącach liczebność bakterii w glebach nawożonych była zbliżona do tej w obiekcie kontrolnym. W badaniach własnych szczególnie duży wzrost ogólnej liczby drobnoustrojów w glebie wzbogaconej wyższą dawką pofermentu (II) odnotowano również w pierwszych terminach doświadczalnych, chociaż statystycznie istotne różnice w odniesieniu do gleby nienawożonej utrzymywały się do 6. miesiąca badań (tab. 5). Zjawisko wzrostu liczebności drobnoustrojów w okresie bezpośrednio po nawożeniu gleby tłumaczone jest, między innymi, wprowadzeniem do niej dodatkowego ładunku drobnoustrojów typowych dla danego rodzaju biomasy oraz pobudzeniem do rozwoju natywnych mikroorganizmów glebowych w efekcie dostarczenia do niej bogatego źródła składników odżywczych.

Wpływ substancji organicznej na rozwój grzybów glebowych nie jest jednoznacznie określony. Oprócz publikacji dowodzących jej stymulującego działania na liczebność tej grupy drobnoustrojów, są także takie, których autorzy sugerują, że grzyby stanowią stabilny element składu gatunkowego mikroorganizmów glebowych, nieulegający znaczącym wahaniom pod wpływem nawożenia organicznego lub reagujący na nie w podobny sposób, jak na mineralne [CWALINA-AMBROZIAK, WIERZBOWSKA 2011; DONG i in. 2014; LAZCANO i in. 2013; PRATT 2008; ZHONG i in. 2010]. W badaniach własnych zaobserwowano początkowy spadek liczby grzybów w glebie nawożonej pofermentem, a następnie wyrównanie różnic między poszczególnymi kombinacjami nawozowymi po 6 i 12 miesiącach doświadczenia, co potwierdzałoby wcześniejsze doniesienia. Jednak, jak podają CWALINA-AMBROZIAK i BOWSZYS [2009], wprowadzenie do gleby nawozów organicznych może pozytywnie wpływać na strukturę populacji grzybów, ograniczając liczbę patogenów, przy równoczesnym wzroście liczby gatunków o właściwościach antagonistycznych.

Zmiany liczebności drobnoustrojów glebowych wykazującej aktywność metaboliczną w kierunku rozkładu różnych związków organicznych w sposób szczególnie skorelowane są z ilością i przyswajalnością danego substratu w środowisku. Z tego względu rodzaj zastosowanego nawożenia może w dużym stopniu wpływać na obecność i namnażanie się tych mikroorganizmów w glebie. LAZCANO i in. [2013] dowiódł, że wzrost aktywności proteolitycznej i amylolitycznej bakterii w glebie był większy po zastosowaniu wermikompostu i obornika, niż w przypadku nawozu mineralnego. W badaniach NIEWIADOMSKIEJ i in. [2010] liczebność bakterii proteolitycznych w glebie wzbogacanej różnymi rodzajami nawozów organicznych zależała przede wszystkim od fazy rozwojowej uprawianej kukurydzy i wahała się w granicach  $10^5$ – $10^7$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. Brak wyraźnego wzrostu liczby tych drobnoustrojów po wprowadzeniu do gleby obornika czy gnojówki autorzy tłumaczą mniejszą, w porównaniu z roślinnym, przyswajalnością dla mikroorganizmów białka pochodzenia zwierzęcego. JEZIERSKA-TYS i FRĄC [2008] dowiodły z kolei



stymulującego wpływu obornika i osadu ścieków mleczarskich na bakterie proteolityczne, przy czym efekt ten był w dużym stopniu zależny od typu nawożonej gleby. Podobne wnioski dotyczyły bakterii celulołitycznych – obserwowane wahania ich liczebności wynikały zarówno z rodzaju zastosowanego nawozu, jak i poddanej analizom gleby. Prowadzone przez JÄRVANA i in. [2014] 5-letnie badania polowe ogólnej liczebności bakterii, liczby bakterii celulołitycznych oraz DHA (aktywność dehydrogenazy, ang. dehydrogenase activity) również wykazały zmiany zależne od sezonu wegetacyjnego, zastosowanych pestycydów i uprawianej rośliny. Wyniki badań WYDRO i in. [2015] wykazały, że wysokość dawki osadu ściekowego dodanego do gleby w sposób istotny decydowała o liczebności bakterii proteolitycznych w ryzosferze traw, natomiast nie miała wpływu na liczebność bakterii amylołitycznych. W badaniach własnych statystycznie istotny wzrost liczby bakterii celulołitycznych na skutek nawożenia wyższą dawką pofermentu (II) obserwowano w 6. i 12. miesiącu inkubacji, a proteolitycznych dopiero w 12. Odwrotna tendencja miała miejsce w przypadku drobnoustrojów amylołitycznych, których liczebność w glebie nawożonej i nienawożonej od 6. miesiąca nie różniła się statystycznie (tab. 5 i 6).

Właściwości enzymatyczne i antybiotyczne promieniowców decydują o ich istotnym znaczeniu dla aktywności biologicznej gleby. Wyniki wielu prac dowodzą, że w glebie, do której wprowadzano organiczne nawozy liczba promieniowców była większa, niż tam, gdzie stosowano mineralne [BULLUCK i in. 2002; GONG i in. 2009]. Tymczasem w badaniach własnych dodanie do gleby pofermentu początkowo w ogóle nie wpływało na liczebność tej grupy mikroorganizmów, a analizy wykonane po 12 miesiącach wskazywały, że była ona większa w glebie nienawożonej (tab. 6). Częściowo potwierdzają to wyniki ZHONG i in. [2010], którzy nie zaobserwowali istotnego wpływu nawożenia na promieniowce.

## WNIOSKI

1. Przeprowadzone badania dowodzą zróżnicowanego wpływu nawożenia pofermentem na mikroorganizmy glebowe. Po 12 miesiącach eksperymentu nie zaobserwowano statystycznie istotnego wpływu pofermentu na ogólną liczbę drobnoustrojów oraz liczbę grzybów i bakterii amylołitycznych.

2. Bakterie proteolityczne i celulołityczne były jedynymi grupami drobnoustrojów, których liczebność w glebie nawożonej maksymalną dawką masy pofermentacyjnej (II) była statystycznie większa, niż w glebie kontrolnej.

**BIBLIOGRAFIA**

- ABUBAKER J., CEDERLUND H., ARTHURSON V., PELL M. 2013. Bacterial community structure and microbial activity in different soils amended with biogas residues and cattle slurry. *Applied Soil Ecology*. Vol. 72 s. 171–180.
- BOGUSZEWSKA J. 1980. Izolowanie i niektóre właściwości pozakomórkowych amylaz *Fusarium martii* [Isolating and some properties of the extracellular amylases of *Fusarium martii*]. *Acta Mycologica*. Vol. 16. Nr 2 s. 237–245.
- BULLUCK III L.R., BROSIUS M., EVANYLO G.K., RISTAINO J.B. 2002. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology*. Vol. 19 s. 147–160.
- CHU H.Y., FUJII T., MORIMOTO S., LIN X.G., YAGI K., HU J.L., ZHANG J.B. 2007. Community structure of ammonia-oxidizing bacteria under long-term application of mineral fertilizer and organic manure in a sandy loam soil. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 73. No 2 s. 485–491.
- CWALINA-AMBROZIAK B., BOWSZYS T. 2009. Changes in fungal communities in organically fertilized soil. *Plant, Soil and Environment*. Vol. 55 s. 25–32.
- CWALINA-AMBROZIAK B., WIERZBOWSKA J. 2011. Soil fungal communities shaped under the influence of organic fertilization. *Journal of Elementology*. Vol. 16. No 3 s. 365–375.
- CYBULSKA K., WRÓŃSKA I., KITCZAK T., DŁUŻEWSKA J., MAHDI-ORAIBI S., CZYŻ H. 2015. Wpływ nawożenia odpadami pofermentacyjnymi z biogazowni na zawartość biomasy żywych drobnoustrojów w glebie [The effect of fertilization with fermentation wastes from biogas plant on the content of live microbial biomass in soil]. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*. T. 15. Z. 1 (49) s. 29–36.
- DONG W.Y., ZHANG X.Y., DAI X.Q., FU X.L., YANG F.T., LIU X.Y., SUN X.M., WEN X.F., SCHAEFFER S. 2014. Changes in soil microbial community composition in response to fertilization of paddy soils in subtropical China. *Applied Soil Ecology*. Vol. 84 s. 140–147.
- GONG W., YAN X., WANG J., HU T., GONG Y. 2009. Long-term manure and fertilizer effects on soil organic matter fractions and microbes under a wheat–maize cropping system in northern China. *Geoderma*. Vol. 149 s. 318–324.
- HASTUTI U. S., YAKUB P., KHASANAH H. N. 2014. Biodiversity of indigenous amylolytic and cellulolytic bacteria in sago waste product at Susupu, North Moluccas. *Journal of Life Sciences*. Vol. 8. No 11 s. 920–924.
- JÄRVAN M., EDESI L., ADAMSON A., VÕSA T. 2014. Soil microbial communities and dehydrogenase activity depending on farming systems. *Plant, Soil and Environment*. Vol. 60 s. 459–463.
- JEZIEŃSKA -TYS S., FRĄC M. 2008. Badania nad wpływem osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich na aktywność mikrobiologiczną i biochemiczną gleby [Investigation of the influence of dairy sewage sludge on microbiological and biochemical activity of soil]. *Rozprawy i Monografie. Acta Agrophysica*. Nr 3(160) ss. 109.
- LAZCANO C., GÓMEZ-BRANDÓN M., REVILLA P., DOMÍNGUEZ J. 2013. Short-term effects of organic and inorganic fertilizers on soil microbial community structure and function. *Biology and Fertility of Soils*. Vol. 49 s. 723–733.
- MANDIĆ L., DJUKIĆ D., PESAKOVIĆ M. 2012. Microbial characteristics of vertisol under different fertilization systems. *Journal of Central European Agriculture*. Vol. 13(1) s. 1–9.
- MAROKHÁZI J., LENGYEL K., PEKÁR S., FELFÖLDI G., PATTHY A., GRÁF L., FODOR A., VENEKEI I. 2004. Comparison of proteolytic activities produced by entomopathogenic *Photobacterium* bacteria: strain- and phase-dependent heterogeneity in composition and activity of four enzymes. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 70. No 12 s. 7311–7320.
- MARTIN J. P. 1950. Use of acid rose bengale and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Science*. Vol. 6 s. 215–233.

- NATYWA M., SELWET M., MACIEJEWSKI T. 2014. Wpływ wybranych czynników agrotechnicznych na liczebność i aktywność drobnoustrojów glebowych [Effect of some agrotechnical factors on the number and activity soil microorganisms]. *Fragmenta Agronomica*. Vol. 31. No 2 s. 56–63.
- NIEWIADOMSKA A., KLAMA J., WOLNA-MARUWKA, A., SULEWSKA H. 2010. Effect of manure application on the development dynamics of proteolytic and ammonification bacteria under maize cropping. *Acta Scientiarum Polonorum. Agricultura*. Vol. 9(1) s. 11–20.
- NKOA R. 2014. Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: a review. *Agronomy for Sustainable Development*. Vol. 34 s. 473–492.
- POCHON J., TARDIEUX P. 1962. *Techniques d'analyse en microbiologie du sol*. Saint Mandé. Editions de la Tourelle.
- PRATT R.G. 2008. Fungal population levels in soils of commercial swine waste disposal sites and relationships to soil nutrient concentrations. *Applied Soil Ecology*. Vol. 38 s. 223–229.
- SAPP M., HARRISON M., HANY U., CHARLTON A., THWAITES R. 2015. Comparing the effect of digestate and chemical fertiliser on soil bacteria. *Applied Soil Ecology*. Vol. 86 s. 1–9.
- SOBCZAK E., DUSZKIEWICZ W., GRZYBOWSKI R. 1978. *Teoria i ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej i technicznej* [The theory and practice of general and technical microbiology]. Warszawa. Skrypt SGGW ss. 389.
- STRZELCZYK E., SZPOTAŃSKI T. 1989. Cellulolytic and pectinolytic activity of streptomyces isolated from root-free soil, rhizosphere and mycorrhizosphere of pine (*Pinus sylvestris* L.). *Biology and Fertility of Soils*. Vol. 9 s. 269–272.
- WOLNA-MARUWKA A., SAWICKA A., KAYZER D. 2007. Size of selected groups of microorganisms and soil respiration activity fertilized by municipal sewage sludge. *Polish Journal of Environmental Studies*. Vol. 16. No 1 s. 129–138.
- WYDRO U., WOLEJKO E., ŁOBODA T., MATEJCZYK M., BUTAREWICZ A. 2015. Influence of sewage sludge on the chosen soil properties and microbiological parameters of urban grass mixtures rhizosphere. *Journal of Ecological Engineering*. Vol. 16 s. 171–177.
- ZHANG Q., ZHOU W., LIANG G., WANG X., SUN J., HE P., LI L. 2015. Effects of different organic manures on the biochemical and microbial characteristics of albic paddy soil in a short-term experiment. *PLoS ONE* 10(4): e0124096. doi:10.1371/journal.pone.0124096.
- ZHEN Z., LIU H., WANG N., GUO L., MENG J., DING N., WU G., JIANG G. 2014. Effects of manure compost application on soil microbial community diversity and soil microenvironments in a temperate cropland in China. *PLoS One*, 9(10), p. e108555.
- ZHONG W., GU T., WANG W., ZHANG B., LIN X., HUANG Q., SHEN W. 2010. The effect of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity. *Plant and Soil*. Vol. 326 s. 511–522.

*Justyna BAUZA-KASZEWSKA, Beata SZALA, Barbara BREZA-BORUTA,  
Anna LIGOCKA, Magdalena KROPLEWSKA*

## EFFECT OF DIGESTATE FROM BIOGAS PLANT ON THE NUMBER OF SELECTED GROUPS OF SOIL MICROORGANISMS

**Key words:** *biogas plant, digestate, fertilization, microorganisms, soil*

### S u m m a r y

Commonly used methods of organic waste processing create possibilities to obtain products that, due to the high content of nutrients, can be used for agriculture purposes as fertilizers. The process of waste methane fermentation, focused on the biogas production, generates additional residual biomass

called digestate. The research confirm the positive effects of digestate on the yield of crops. Equally important is the impact of such treatments on the number of soil microorganisms.

The aim of the study was to analyze the changes in the number of selected groups of microorganisms in the soil enriched with different doses of digestate. The experiment was conducted 12 months. Microbiological analyzes included determination of the total number of microorganisms, number of fungi and actinomycetes, proteolytic, amylolytic and cellulolytic microorganisms. The results show a moderate impact on digestate fertilization on the analyzed groups of microorganisms – after a year of experiment the results showed no statistically significant effect of digestate on the total number of microorganisms and the number of fungi and amylolytic bacteria.

**Adres do korespondencji:** dr inż. Justyna Bauza-Kaszewska, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Katedra Mikrobiologii i Technologii Żywności, ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz; tel. +48 52 374-95-35, e-mail: [bauza@utp.edu.pl](mailto:bauza@utp.edu.pl)