

Słowa kluczowe: komposty, biologiczna kontrola, aktywność fungistatyczna, patogeny roślin

Barbara STACHOWIAK*, Agnieszka PIOTROWSKA-CYPLIK*, Jacek DACH**

OCENA BIOLOGICZNEJ AKTYWNOŚCI KOMPOSTÓW Z ODPADÓW PRZEMYSŁU ROLNO-SPOŻYWCZEGO

W pracy oceniano biologiczną aktywność kompostów przygotowanych z odpadów przemysłu rolno-spożywczego (słomy zbożowej, osadu ściekowego) z dodatkiem brykietów tytoniowych w stosunku do dziesięciu grzybowych patogenów roślin. Do składu podstawowego kompostowanej masy wprowadzano słomę kukurydzianą - kompost A oraz wióry drzewne - kompost B. Oba badane komposty hamowały wzrost grzybów wskaźnikowych po fazie termofilnej. Kompost B z dodatkiem wiór drzewnych wykazywał najsilniejsze oddziaływanie fungistatyczne podczas drugiej fazy mezofilnej. Analiza podstawowego składu chemicznego badanego kompostu wskazuje na jego wysoki stopień dojrzałości (C/N=16,3).

1. WPROWADZENIE

Skuteczność kompostów w kontroli doglebowych chorób roślin została udowodniona w wielu pracach [1,4,9,15]. Jest ona związana z mikroorganizmami zasiedlającymi kompostowany materiał, u których pod wpływem określonych bodźców środowiskowych zostają wyzwolone mechanizmy kontroli. Są one oparte na współzawodnictwie o składniki pokarmowe pomiędzy patogenami a antagonistycznymi mikroorganizmami, produkcji antybiotyków, nadpasożytnictwie i indukcji systemicznej w gospodarzu-roślinie [6]. Jednocześnie podkreśla się, że rodzaj kompostowanego materiału, a także warunki i przebieg procesu kompostowania wywierają ogromny wpływ na rodzaj mikroorganizmów zdolnych do jej zasiedlenia [6,7,15].

W niniejszej pracy oceniano biologiczną aktywność kompostów przygotowanych na bazie odpadów przemysłu rolno-spożywczego z dodatkiem brykietów tytoniowych. 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 możliwości jest biologiczna biodegradacja.

* Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań, bstach@up.poznan.pl

** Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Instytut Inżynierii Rolniczej, ul. Wojska Polskiego 50, 60-625 Poznań

Z badań przeprowadzonych przez nasz zespół wynika, że nikotyna zawarta w brykiecie ulega prawie całkowitemu rozkładowi podczas kompostowania (dane niepublikowane).

2. MATERIAŁY I METODY

2.1. MATERIAŁ BADAWCZY

W doświadczeniach wykorzystano dwa rodzaje kompostów o następującym składzie w przeliczeniu na świeżą masę materiałów:

Kompost A*: osad ściekowy: 36 kg, brykiet tytoniowy: 5 kg, słoma zbóż: 0,6 kg, słoma kukurydziana: 1,2 kg, wilgotność mieszanki: 79%

Kompost B:** osad ściekowy: 30 kg, brykiet tytoniowy: 10 kg, słoma zbóż: 0,9 kg, wióry drzewne: 6 kg, wilgotność mieszanki: 70%

Kompostowanie prowadzono w izolowanym termicznie dwukomorowym bioreaktorze (objętość każdej z komór 125 dm³) przez 28 dni [3]. Bioreaktor wyposażony był w czujnik temperatury, pH oraz system do monitoringu gazów wylotowych. W doświadczeniu stosowano napowietrzanie 2 dm³ na godzinę. Po procesie kompostowania w bioreaktorze, kompost dojrzewał kolejne 28 dni w klimatyzowanym pomieszczeniu o temperaturze 30°C.

Podczas procesu kompostowania kontrolowano temperaturę, pH oraz prowadzono analizę mikrobiologiczną kompostów i oceniano ich biologiczną aktywność w stosunku do wybranych patogenów roślinnych. Na początku i po zakończeniu kompostowania oznaczano zawartość węgla organicznego, azotu ogólnego i wyznaczono stosunek C/N.

2.2. METODYKA BADAŃ

Metoda oznaczania biologicznej aktywności kompostów [9]

Biologiczną aktywność kompostów sprawdzano w stosunku do dziesięciu grzybowych patogenów roślin (szczyepy wskaźnikowe): *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* sp., *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Trichoderma viride*, *Trichothecium roseum*, *Verticillium dahliae*. Grzyby te przechowywano na skosach z podłożem PDA (Merck) w temperaturze 5°C.

Przebieg oznaczenia: Dobrze wyrosnięte na skosach grzyby wskaźnikowe splukiwano 10 mL soli fizjologicznej. Otrzymaną zawiesiną zaszczepiano 100 mL upłynnionej i schłodzonej pożywki PDA. Przygotowane podłoże rozlewano do płytek Petriego (po około 15 mL). Po zestaleniu na każdej płytce centralnie umieszczano około 0,5 g kompostu. Próby inkubowano w temperaturze 28°C przez 10 dni. Po tym czasie mierzono w trzech różnych miejscach promień strefy hamowania wzrostu grzyba wskaźnikowego. Otrzymane wyniki uśredniono i podano w milimetrach.

Kontrolę stanowiły próby zawierające komposty poddane sterylizacji w autoklawie (121°C, 25 min.). Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Analiza mikrobiologiczna kompostów

Analiza mikrobiologiczna kompostów obejmowała oznaczenia: ogólnej liczby drobnoustrojów mezofilnych, termofilnych, psychrofilnych, beztlenowców oraz pleśni i drożdży. Ilość drobnoustrojów oznaczano metodą płytkową Kocha (posiew zalawowy) [14]. Warunki inkubacji przedstawiono w tabeli 1.

Tab. 1. Warunki inkubacji stosowane podczas analizy mikrobiologicznej kompostów

Grupa mikroorganizmów	Podłoże wzrostowe	Temperatura inkubacji	Czas inkubacji
Mezofile	Agar odżywczy (BTL)	37°C	48h
Termofilne	Agar odżywczy (BTL)	55°C	48h
Psychrofilne	Agar odżywczy (BTL)	5°C	72h
Beztlenowce	Agar odżywczy (BTL)	30°C	48h
Pleśnie i drożdże	Podłoże z antybiotykiem do oznaczania liczby drożdży i pleśni (BTL)	28°C	96h

Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Analiza chemiczna kompostów

Oznaczanie zawartości węgla organicznego wykonano metodą miareczkową z dwuchromianem potasu [8]. Azot ogólny oznaczano metodą Kjeldahla (Kjeltec System 1026 Distilling Unit Tecator, Dania) [8].

4. OMÓWIENIE WYNIKÓW

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że badane komposty hamowały wzrost grzybów wskaźnikowych po fazie termofilnej tj. po 21 dniu procesu kompostowania (tab. 2, rys. 1). W momencie założenia komposty nie wykazywały żadnej aktywności fungistatycznej, a w hodowlach płytkowych grzybów wskaźnikowych w obecności kompostów, stwierdzono jedynie obfity rozwój mikroflory bakteryjnej i grzybowej wniesionej z materiałem kompostowym. Wielu autorów uważa, że aktywność kompostów wzrasta wraz z „wiekiem” i jest związana z poziomem rozkładu materii organicznej. Nierozłożona masa organiczna jest bogatym źródłem łatwoprzyswajalnych składników pokarmowych, stąd w początkowej fazie kompostowania mechanizmy biokontroli nie zostają uruchomione, ponieważ zarówno patogen, jak i antagonista egzystują jako sparfity [6,15]. Zatem świeży kompost nie tylko nie ogranicza rozwoju patogenów, lecz może wręcz stanowić źródło infekcji, co zostało potwierdzone w naszych badaniach.

Ważnym czynnikiem wpływającym na biologiczną aktywność kompostów są zmiany temperatury w czasie procesu kompostowania.

Tab. 2. Oddziaływanie badanych kompostów na wzrost grzybów wskaźnikowych

Kompost	A			B				
	Czas [dni]	0	7	28	0	7	28	56
Szczep wskaźnikowy								
<i>Rhizoctonia solani</i>	0	0	13	0	0	6	45	
<i>Verticillium dahliae</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	

Podczas fazy termofilnej ma miejsce sanitacja kompostów, a wysokie temperatury powodują zmniejszenie się liczby flory patogenicznej, nasion chwastów i niepożądanych mikroorganizmów do akceptowanego poziomu [13]. Fazę tą przeżywają jedynie gatunki termoodporne lub posiadające mechanizmy pozwalające na przetrwanie niekorzystnych zmian środowiskowych. Należą do nich przetrwalnikujące laseczki *Bacillus*, które już w 21 dniu (koniec fazy termofilnej) w obu badanych kompostach stanowiły mikroflorę dominującą w grupie mikroorganizmów mezofilnych i termofilnych. Z dojrzewających kompostów wyizolowano wiele szczepów *Bacillus* charakteryzujących się silnym oddziaływaniem przeciwgrzybicznym [2,9]. Syntetyzowały one pozakomórkowo antybiotyki, enzymy oraz inne substancje zdolne do rozkładu grzyba [4,9,10]. W 28 dniu 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 beztlenowienie przemiany, kompost ten zlikwidowano.

Tab. 3. Zmiany badanych grup drobnoustrojów podczas kompostowania

Kompost	Kompost A*				Kompost B**					
	Czas [dni]	0	7	21	28	0	7	21	28	56
Grupa mikroorganizmów										
Mezofilne	$4,0 \times 10^6$	$4,2 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$	$9,3 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$3,3 \times 10^6$	$4,6 \times 10^3$	$6,9 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$	
Termofilne	-	-	$1,6 \times 10^7$	$3,2 \times 10^6$	-	$2,6 \times 10^4$	$1,2 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$	$1,7 \times 10^6$	
Psychrofilne	$3,2 \times 10^6$	-	-	$2,3 \times 10^4$	$2,1 \times 10^7$	-	-	-	-	
Pleśnie i drożdże	50	-	$7,5 \times 10^2$	-	$5,9 \times 10^4$	-	$1,4 \times 10^2$	-	-	
Beztlenowe	$4,0 \times 10^5$	$1,2 \times 10^7$	$6,0 \times 10^4$	$1,5 \times 10^5$	$7,1 \times 10^5$	$2,6 \times 10^7$	$1,2 \times 10^4$	-	-	

W przypadku kompostu B** najsilniejsze oddziaływanie fungistatyczne obserwowano, po 30-dniowym okresie dojrzewania w temperaturze 30°C tj. w 56 dniu 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.

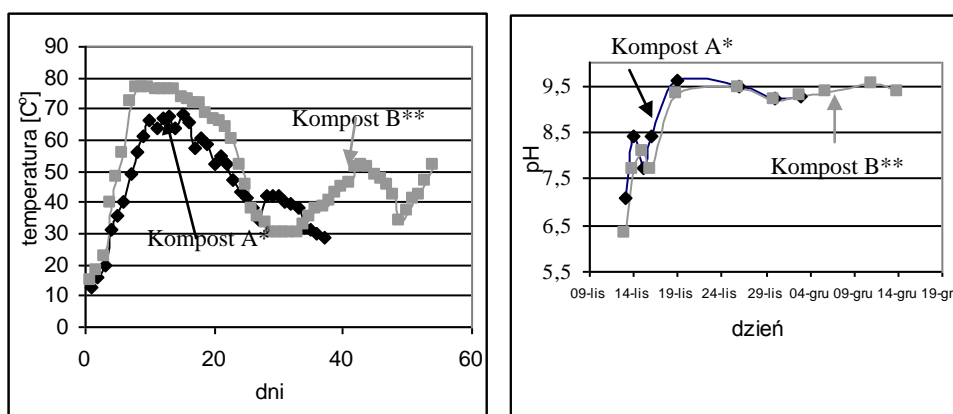
W celu sprawdzenia, czy fungistatyczne oddziaływanie badanych kompostów jest wynikiem obecności w nich aktywnej mikroflory, czy być może jest efektem obecności nikotyny, komposty poddano jałowieniu w autoklawie w 121°C (temperatura wrzenia nikotyny 246°C). W hodowlach płytkowych z kompostami poddanymi obróbce cieplnej nie obserwowano stref hamowania grzybów wskaźnikowych.

Analiza mikrobiologiczna i fizyczno-chemiczna (pH, temperatury – rys. 1) wskazuje na prawidłowy przebieg kompostowania w przypadku kompostu B** oraz na wysoki stopień jego dojrzałości (C/N=16,3 – tab. 4).

W przypadku kompostu A*, stosunek C:N po zakończeniu kompostowania był wyższy niż na początku. Wskazuje to na nieprawidłowy przebieg procesu biodegradacji materii organicznej, który wynikał z niedoboru węgla w kompostowanej biomase – wyjściowy stosunek C/N był równy 8,16 (tab. 4).

Tab. 4. Parametry chemiczne badanych kompostów

Rodzaj kompostu	C [g/kg s.s.]	N [g/kg s.s.]	C/N
Kompost A*:			
początek	362,7	44,45	8,16
koniec (28 dzień)	331,2	30,66	10,8
Kompost B**:			
początek	405	23,31	17,37
koniec (56 dzień)	370,8	22,75	16,3



Rys. 1. Zmiany wybranych parametrów fizyczno-chemicznych podczas kompostowania

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń można twierdzić, że komposty przygotowane na bazie odpadów przemysłu rolno-spożywczego z dodatkiem brykietów tytoniowych mogą stanowić podstawę do opracowania biologicznie aktywnych preparatów skutecznych w zwalczaniu grzybowych patogenów roślin.

Wątpliwość może budzić jedynie obecność w nich substancji niebezpiecznych, a zwłaszcza nikotyny. Znane są liczne doniesienia literaturowe dotyczące biodegradacji nikotyny w roztworach wodnych (ściekach) przez wyizolowane mikroorganizmy, lecz nie mniej poważny problem stanowią stałe opady poprodukcyjne o charakterze substancji stałej [12]. Jednak badania prowadzone przez nasz zespół wskazują jednak, że podczas kompostowania mieszanek zawierających brykiet tytoniowy, nikotyna ulega prawie całkowitej (80%-owej) biodegradacji - do poziomu, który nie stanowi zagrożenia dla środowiska naturalnego (dane niepublikowane).

LITERATURA

- [1] Craft C.M., Nelson E.B. 1996. *Microbial properties of composts that suppress damping-off root rot of creeping bentgrass caused by Pythium graminicola*. Appl. Environ. Microbiol., 62(5): 1550-1557.
- [2] Czaczyk K., Stachowiak B., Trojanowska K. 2001. *Antifungal activity of Bacillus sp. isolated from compost*. Folia Microbiol., 43: 552-554.
- [3] Dach J., Jędrus A., Adamski M., Kowalik I., Zbytek Z. 2003. *Bioreaktor do badań procesów rozkładu materiałów organicznych*. J Res. Appl. Agr. Engin., 48: 74-77.
- [4] Folkman W., Lisiecka B., Stachowiak B., Trojanowska K., Gulewicz K. 2003. *Studies on fungistatic activity of Bacillus coagulans against Trichothecium roseum and characteristics of the bacterial metabolites*. J. Plant Protect. Res., 43: 121-132.
- [5] Gulewicz K., Trojanowska K. 1995. *Suppressive effect of preparations obtained from bitter lupin straw against plant pathogenic fungi*. Sci. Legumes., 2: 141-148.
- [6] Hoitink H.A.J., Stone A.G., Han D.Y. 1997. *Suppression of plant diseases by composts*; Hort Sci., 32(2): 184-187.
- [7] Kim K.D., Nemeč S., Musson G. 1997. *Effects of composts and soil amendments on soil microflora and Phytophthora root and crown rot of bell pepper*. Crop Protect., 16(2): 165-172.
- [8] Korol J., Korol R. 1992. *Badanie składu i właściwości osadów ściekowych*. Wyd. PIOŚ.
- [9] Phae C.-G. i Shoda M. 1990. *Expression of the suppressive effect of Bacillus subtilis on phytopathogenes in inoculated composts*. J. Ferment. Bioengin., 70(6): 409-414.
- [10] Podile A.R. i Prakash A.P. 1996. *Lysis and biological control of Aspergillus niger by Bacillus subtilis AF1*. Can. J. Microbiol., 42: 533-538.
- [11] Poleć B. 1999. *Proekologiczna gospodarka wodno-ściekowa cukrowni*. Część III Metody badań wód, ścieków i procesów unieszkodliwiania zanieczyszczeń. Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa.
- [12] Ruan A., Min H., Peng X., Huang Z. 2005. *Isolation and characterization of Pseudomonas sp. strain HF-1, capable of degrading nicotine*. Res. Microbiol., 156: 700-706.
- [13] Siuta J. 1999. *Kompost z odpadów*. Nowoczesne rolnictwo. 11(62): 46-47.
- [14] Trojanowska K., Giebel H., Gołębiowska B. 1995. *Mikrobiologia żywności*. Wyd. AR Poznań.
- [15] Tuitert G., Szczech M., Bollen G.J. 1998. *Suppression of Rhizoctonia solani in potting mixtures amended with compost made from organic household waste*. Phytopath., 88(8): 764-773.

THE EVALUATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF COMPOSTS PREPARED FROM AGRO-FOOD INDUSTRY WASTE

The biological activity of compost prepared from agro-food industry waste (cereal straw, sewage sludge) with tobacco waste addition against ten fungal phytopathogenes was studied. The basic composition of composting mixture was enriched with corn straw – compost A and wood shavings – compost B. Both composts inhibited the growth of indicator fungi after thermophilic phase. The strongest fungistatic activity was found for compost B during second mesophilic phase. Analysis of the basic chemical composition of this compost indicates on a high maturity value (C/N=16,3).