

# **Badania egzogennej materii organicznej w celu bezpiecznego stosowania do gleby**



Redakcja  
**Stanislav Malý, Grzegorz Siebielec**



# **Badania egzogennej materii organicznej w celu bezpiecznego stosowania do gleby**

Redakcja

**Stanislav Malý, Grzegorz Siebielec**



# Spis treści

Rozdział 1 – Egzogenna materia organiczna w relacji do glebowej materii organicznej i funkcji ekosystemu. Prezentacja projektu .....	5
Rozdział 2 – Metodyka badań oraz charakterystyka badanych materiałów organicznych .....	15
Rozdział 3 – Wpływ egzogennej materii organicznej na poziom i jakość glebowej materii organicznej .....	31
Rozdział 4 – Wpływ egzogennej materii organicznej na chemiczne właściwości gleb .....	39
Rozdział 5 – Wpływ dodatku materii organicznej na właściwości fizyczne gleby .....	67
Rozdział 6 – Wpływ egzogennej materii organicznej (EOM) na różnorodność funkcjonalną i genetyczną mikroorganizmów oraz aktywność enzymatyczną gleby w odniesieniu do właściwości środowiska .....	81
Rozdział 7 – Reakcja fauny glebowej na stosowanie egzogennej materii organicznej do nawożenia gleb .....	105
Rozdział 8 – Ryzyko wzrostu emisji gazów cieplarnianych z gleby w wyniku stosowania egzogennej materii organicznej .....	115
Rozdział 9 – Ocena wpływu egzogennej materii organicznej na organizmy glebowe za pomocą testów ekotoksykologicznych .....	129



## Rozdział 1

# Egzogenna materia organiczna w relacji do glebowej materii organicznej i funkcji ekosystemu. Prezentacja projektu

**Stanislav Malý**

*Centralny Instytut Nadzoru i Badań w Rolnictwie, Brno, Republika Czeska*

Przedstawiona broszura koncentruje się na bezpiecznym stosowaniu egzogennej materii organicznej (EOM) na gruntach ornych. Zawiera podsumowanie wyników projektu „Zagrożenia oraz korzyści wynikające z wprowadzania do gleb egzogennej materii organicznej“, realizowanego w ramach programu Współpracy Transgranicznej 2007 – 2013 Republika Czeska – Rzeczpospolita Polska, przez Centralny Instytut Nadzoru i Badań w Rolnictwie (ÚKZÚZ, Brno, CZ), Uniwersytet Palackiego w Ołomuńcu (UPOL, CZ), Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy (IUNG-PIB, Puławy, PL) i Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk (IAPAN, Lublin, PL). Niniejsza broszura jest przeznaczona dla osób pracujących w dziedzinie ochrony gleby, dla rolników, producentów bioodpadów i dla tych, którzy chcą powiększyć swoją wiedzę w zakresie zrównoważonego wykorzystania materiałów organicznych w rolnictwie. Projekt koncentrował się na jakości gleby w celu dokonania oceny, jak stosowanie różnego typu EOM'ów wpłynęło na właściwości fizyczne i chemiczne gleby oraz powiązane z nimi funkcje gleb, procesy i organizmy glebowe. Autorzy nie zamierzają tworzyć konkretnych zaleceń dotyczących sposobu wykorzystania EOM'ów jako nawozu lub polepszacza gleby, ale raczej wskazówki dotyczące korzyści wynikających z ich zastosowania i równocześnie sposobów na uniknięcie niepożądanych skutków ubocznych. Rozdział wprowadzający krótko opisuje znaczenie materii organicznej w glebie i jej niektórych funkcji ekologicznych, na które wpływ może mieć dodatek egzogennej materii organicznej. Celem jest pokazanie wzajemnych powiązań i uzasadnienie badań przeprowadzonych w ramach projektu. Kolejne rozdziały opisują poszczególne zagadnienia charakteryzujące jakość gleb objęte projektem. Ponieważ przewodnik kierowany jest do szerokiego spektrum czytelników, każdy rozdział zawiera podstawowy teoretyczny oraz prezentację uzyskanych wyników wraz z ich interpretacją. Końcowy rozdział podsumowuje główne ustalenia i zawiera zalecenia dotyczące praktycznego zastosowania egzogennej materii organicznej.

## **GLEBOWA MATERIA ORGANICZNA**

Materia organiczna gleby (SOM) jest szerokim pojęciem. Według Diacono i Montemurro (2010) obejmuje wszystkie związki organiczne w niej obecne. Istnieją różne źródła SOM w glebie: (i) pozostałości roślin w różnej fazie rozkładu, (ii) mikroorganizmy i mikroflora, (iii) metabolity produkowane podczas wzrostu mikroorganizmów oraz ich rozkładu, (iv) związki humusowe. Podejście analityczne do szacowania SOM jest przedstawione w rozdziale 3. Chociaż struktury chemiczne samych związków organicznych mają istotny wpływ na możliwość ich rozkładu, sugerowano, że środowisko, wraz z florą i fauną, pełni o wiele ważniejszą rolę w tych procesach (Schmidt et al., 2011). W naturalnych ekosystemach istnieje równowaga pomiędzy

syntezą i rozkładem SOM (Bonilla et al., 2012). Natomiast zabiegi uprawowe niszczą agregaty glebowe, co prowadzi do szybszego utleniania związków organicznych i powoduje ciągły spadek zawartości SOM w glebach rolniczych. Unijna Strategia Tematyczna Ochrony Gleb (STS) wymienia spadek zawartości materii organicznej jako jedno z głównych zagrożeń jakości gleby i wzywa do takich systemów uprawy i produkcji rolniczej, która prowadziłyby do wzrostu jej zawartości (Van Camp, 2004). Aby osiągnąć powyższy cel, zaproponowano zastosowanie alternatywnych i zrównoważonych praktyk rolniczych, takich jak: system bezorkowy, odpowiedni płodozmian, zielone nawozy. Sugerowane są również dodatki różnych EOM'ów: osady ściekowe, produkty uboczne z branży spożywczej, kompostowane materiały pochodzące z odpadów przemysłowych i komunalnych, odpady pofermentacyjne, mączki pochodzenia zwierzęcego oraz różne rodzaje obornika (Diacono i Montemurro, 2010). Poza tradycyjnymi źródłami egzogenicznej materii organicznej, jak np. różnego rodzaju komposty, odpowiednie mogą być również nowe materiały, co znajduje odzwierciedlenie w definicji EOM'ów zaproponowanej w sprawozdaniu grupy zadaniowej ds. glebowej materii organicznej STS, który mówi, że jest to "cała materia organiczna, która jest zwracana do gleby w celu uprawy roślin, poprawy jej jakości oraz przywracania lub rekultywacji gruntów do wykorzystania w przyszłości", i dalej "Egzogeniczna materia organiczna obejmuje bardzo szeroki zakres bioodpadów (lub odpadów ulegających biodegradacji) ze źródeł o dużej różnorodności (Van Camp, 2004). W tym sprawozdaniu, termin EOM nie obejmuje substancji organicznych, które są już obecne w glebie.

## **AGRONOMIA I RYZYKO ZANIECZYSZCZENIA GLEBY**

Chociaż nawozy organiczne są testowane od bardzo długiego czasu, nadal istnieją poważne luki w naszej wiedzy na temat ich wpływu na właściwości gleby. Wynika to z pojawienia się nowych technik, które umożliwiają bardziej szczegółowe analizy (np. oprzyrządowanie do badania związków organicznych lub zaawansowane metody biologii molekularnej), ale również z faktu, że na rynku pojawiły się nowe materiały organiczne (np.: odpady pofermentacyjne) (Nkoa, 2014).

Właściwości EOM'ów zależą od surowca z jakiego powstały, np.: właściwości materiałów pochodzących z osadów ściekowych i materiału roślinnego będą różniły się od materiałów pochodzących z odpadów komunalnych, przemysłowych i zwierzęcych. Stwierdzono (Hargreaves et al., 2008), że wzrost pH gleby jest często głównym czynnikiem wpływającym na proces gromadzenia i rozkładu materii organicznej w glebie po zastosowaniu EOM'ów (Hargreaves et al., 2008). Po aplikacji EOM'ów, pH gleby może również obniżyć się w zależności od jego wartości w aplikowanych substancjach oraz pH gleby przed aplikacją. Zjawisko to nie jest jednak powszechne (Diacono i Montemurro, 2010). EOM'y wykazują szeroki zakres stosunków między C i N, w tym ostatnim przypadku w postaci organicznego lub mineralnego, co w znacznym stopniu warunkuje jego zachowanie po aplikacji do gleby (Hargreaves et al., 2008). Jeśli EOM'y zawierają zbyt dużo N w stosunku do C, N jest uwalniany do gleby w postaci amonowej i może być szybko utleniany przez mikroorganizmy do azotanów i w efekcie wymywany do wód gruntowych (Nkoa, 2014). W sytuacji odwrotnej, C jest mineralizowany a N zawarty w glebie jest unieruchamiany w biomase mikroorganizmów. Poza stosunkiem C:N, podatność EOM'ów na rozkład, zależy również od struktury ich składników. Proste związki organiczne, takie jak cukry lub aminokwasy będą użyte jako substrat dla mikroorganizmów glebowych, które wspierają obieg składników odżywczych. W przeciwieństwie do nawozów mineralnych, zawartość składników pokarmowych w EOM'ach bywa niezrównoważona.

Szczególną uwagę należy zwrócić na fosfor (P), którego dawki mogą być zbyt wysokie, jeśli ilość używanych EOM'ów opiera się wyłącznie na zawartości N (Diacono i Montemurro, 2010). Nie tylko sama zawartość składników odżywczych w EOM'ach, lecz również zdolności gleby do ich retencji jest ważna dla żywienia roślin. Dodatek egzogennej materii organicznej zazwyczaj zwiększa pojemność gleby w stosunku do kationów wymiennych (CEC), która zwiększa się z wraz ze wzrostem SOM ze względu na obecność ładunków ujemnych (Diacono i Montemurro, 2010).

EOM'y mogą potencjalnie przyczynić się do wzrostu żyzności gleby, przy porównywalnych warunkach glebowych, zabiegach agrotechnicznych i warunkach klimatycznych (Diacono i Montemurro, 2010). Badania przeprowadzone na odpadach pofermentacyjnych w różnych krajach europejskich, analizujące ich wpływ na plon, prowadziły do spójnego wniosku, iż ich wartość nawozowa lokowała się pomiędzy obornikiem i nawozami nieorganicznymi (Nkoa, 2014), a często dorównywała tym ostatnim. Z drugiej strony, zgodnie z przeglądem dokonany przez Herrmann'a (2013), materia organiczna zawarta w odpadach pofermentacyjnych jest bardziej odporna na rozkład mikrobiologiczny, niż zakładano. Możliwe wykorzystanie EOM'ów w rolnictwie wraz z dostępnością tych materiałów na obszarze realizowania projektu zostało opisane w rozdziale 4, który podsumowuje również wyniki podstawowych analiz chemicznych (np.: pH, EC, CEC, składniki nawozowe) badanych materiałów oraz gleb, na których je stosowano.

Bezpieczna aplikacja EOM'ów na gruntach ornych wymaga ścisłej kontroli zanieczyszczeń. Ich spektrum jest duże i obejmuje głównie metale śladowe, pozostałości pestycydów, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), ftalany, lotne związki organiczne, związki fenolowe i ich sole (Arthurson, 2009), (Nkoa, 2014). Pochodzenie surowców, z których powstają EOM'y oraz rodzaj ich przetwarzania, mogą wskazywać na rodzaj zanieczyszczeń, których można spodziewać się w danym materiale. Przykładem mogą być materiały, pochodzące od bydła lub trzody chlewnej, w przypadku których prawdopodobne jest, że będą miały wysoką zawartość miedzi (Cu) i cynku (Zn). Wszystkie EOM'y które zostały użyte do prac eksperymentalnych w ramach projektu oraz próbki gleby z doświadczeń polowych i wazonowych, zostały dokładnie przeanalizowane pod kątem zawartości zanieczyszczeń organicznych i nieorganicznych. Dane te są prezentowane w rozdziale 4.

Jednak nawet przy bardzo szczegółowych badaniach, nie można wykluczyć szkodliwego wpływu spowodowanego przez substancję niewykrytą podczas analiz. Badania ekotoksykologiczne są odpowiednim narzędziem, które może ujawnić obecność takiej substancji oraz pomóc przewidzieć wpływ badanych materiałów na faunę i florę gleby. Badania takie przeprowadza się z wykorzystaniem organizmów modelowych. Dodatkowo, ekotoksyczność odzwierciedla biodostępność zanieczyszczeń, która zależy od abiotycznych właściwości gleby, głównie zawartości ilu oraz materii organicznej. Zanieczyszczenia mogą być wiązane na ich powierzchni, co zmniejsza ich toksyczność ale również ogranicza ich rozkład przez mikroorganizmy (Hargreaves et al., 2008). Więcej informacji na temat tej metody można znaleźć w rozdziale 9.

## **FIZYKA GLEB I EGZOGENNA MATERIA ORGANICZNA**

Materia organiczna jest lepszycem strukturotwórczym, które kształtuje powstawanie agregatów glebowych, co z kolei sprzyja powstawaniu porów w glebie (Thangarajan et al., 2013). Takie gleby wykazują zwiększoną zdolność do zatrzymywania wilgoci, wymiany gazowej,



rozwoju korzeni, przewodności hydraulicznej, a także charakteryzują się zmniejszoną gęstością objętościową (Nkoa, 2014). Porowatość wpływa też na obieg składników pokarmowych i aktywność mikrobiologiczną, ponieważ większy rozmiar porów umożliwia dostęp mikroorganizmów do substratów organicznych oraz interakcje między różnymi gatunkami drobnoustrojów. Z drugiej strony, gleby o dużych porach są słabo napowietrzone oraz osuszone a materia organiczna jest zabezpieczona przed oddziaływaniem mikroorganizmów, co spowalnia tempo rozkładu glebowej materii organicznej (Cardoso et al., 2013). Jednym z najważniejszych skutków stabilizacji agregatów glebowych jest zmniejszenie ich erozyjności (Blanco i Lal, 2008) i mniejsze spływy powierzchniowe (Cardoso et al., 2013). Wpływ glebowej materii organicznej na agregację gleby zależy od struktury chemicznej cząstek organicznych. Złożone cząsteczki (np.: ligniny, substancje humusowe) mogą pozostawać w glebie nierozłożone przez dłuższy okres czasu, przyczyniając się do poprawy struktury gleby (Diacono i Montemurro, 2010). Zespół fizyki gleby z IAPAN przeprowadził szereg pomiarów gleby po zastosowaniu EOM'ów. Rezultaty ich tych badań przedstawiono w rozdziale 5.

## **BIOLOGIA GLEBY I EGZOGENNA MATERIA ORGANICZNA**

Substancje organiczne, a także nawozy i pestycydy są często stosowane doglebowo w celu uzyskania maksymalnych korzyści dla jakości gleby, podczas gdy ich ewentualne działania niepożądane na organizmy glebowe są ignorowane (Bünemann et al., 2006). Praktyka rolnicza oparta wyłącznie na takim podejściu nie może jednak zostać uznana za zrównoważoną. Organizmy glebowe są niezbędne dla wielu procesów, które mają zasadnicze znaczenie zarówno dla rolnictwa i funkcji ekologicznych gleby, takich jak obieg składników pokarmowych lub powstanie prawidłowej struktury gleby, która z kolei wpływa na infiltrację wody, wymianę gazową z atmosferą oraz biodostępność zanieczyszczeń.

Ze względu na pełnione funkcje, organizmy glebowe mogą być zaklasyfikowane do trzech podstawowych grup. Podział ten jest luźno związany z rozmiarem ich poszczególnych przedstawicieli (mikro, makro i mezofauna gleby) (Turbé, 2010). Każda z tych grup uczestniczy w transformacji EOM'ów, ale w inny sposób:

- inżynierowie chemicy
- regulatory biologiczne
- inżynierowie ekosystemu.

Mikroorganizmy glebowe, do których głównie zaliczamy bakterie i grzyby należą do tzw. grupy inżynierów chemików. Mikroorganizmy glebowe stanowią większość tzw. inżynierów chemików. Przedstawiciele tej grupy posiadają wykształcone ewolucyjnie odpowiednie cechy do pełnienia takiej funkcji m.in.: biorą udział w szeregu szlaków metabolicznych, dzięki czemu są w stanie metabolizować wszystkie naturalne oraz większość syntetycznych związków chemicznych. Mikroorganizmy glebowe są czułym wskaźnikiem szeregu zmian abiotycznych i biotycznych w środowisku glebowym. Ze względu na ich zdolność do natychmiastowego reagowania na zmiany warunków zewnętrznych, tj. wprowadzania nowych składników do gleby, dostępność wody albo tlenu, są bardzo skutecznymi identyfikatorami przemian materii organicznej zarówno pochodzenia naturalnego jak i egzogenne (tj. rozkład, mineralizacja, unieruchomienie składników pokarmowych).

Zastosowane EOM'y mają złożony wpływ na stan mikroorganizmów: oprócz zwiększenia liczebności i aktywności metabolicznej drobnoustrojów, duże zmiany można zaobserwować

również w strukturze mikroorganizmów, ponieważ poszczególne gatunki czy raczej grupy mikroorganizmów na różnych poziomach taksonomicznych różnią się zdolnością do korzystania z dodanych substratów (Pezzolla et al., 2015). Powyższe właściwości mikroorganizmów, czynią z nich wrażliwy i wczesny wskaźnik stanu środowiska oraz obecności szkodliwych substancji w glebie. Skutkiem tej wrażliwości mikroorganizmów glebowych jest duża zmienność przestrzenna i czasowa parametrów mikrobiologicznych, co powoduje duże trudności w odróżnieniu zmian naturalnie zachodzących w środowisku glebowym od niekorzystnych wpływów antropogenicznych. W związku z tym konieczna jest równoległa ocena zarówno biomasy, aktywności i różnorodności mikroorganizmów jak i fizyko-chemicznych właściwości gleby, w celu zmniejszenia ryzyka wystąpienia tzw. fałszywego alarmu. Problemy związane z zastosowaniem metod mikrobiologicznych do oceny skutków aplikacji EOM'ów na jakość gleby, są omówione w rozdziale 6.

Przykładem regulatorów biologicznych są pierwotniaki, nicienie, wazonkowcowate lub mikrostawonogi (np. skoczogonki). Nazywane są one regulatorami, ponieważ kontrolują liczebność i aktywność mikroorganizmów lub bezkręgowców poprzez różne sposoby oddziaływania m.in. pasożytnictwo lub mutualizm, gdy obie strony są od siebie zależne. Rola przedstawicieli tej grupy w transformacji materii organicznej jest niewielka w porównaniu z tzw. inżynierami chemikami. Niemniej jednak w niektórych przypadkach można zaznaczyć aktywny udział jej przedstawicieli w transformacji materii organicznej np. wazonkowcowate rozdrabniają materię organiczną, dzięki czemu ułatwiają dostęp do niej mikroorganizmom.

Inżynierowie ekosystemu stanowią kluczowy czynnik biologiczny w budowaniu struktury gleby. Typowymi przedstawicielami klimatu umiarkowanego są dżdżownice i inne grupy bezkręgowców, np. chrząszcze lub skolopendry i stonogi. Przechodząc przez profil gleby tworzą liczne pory, które ułatwiają wymianę gazową i przepływ wody. Ponadto powodują przemieszanie wprowadzonej do gleby substancji organicznej z glebą, co dodatkowo poprawia i ułatwia ich rozkład przez mikroorganizmy glebowe. Niezbędną funkcją inżynierów ekosystemu jest tworzenie agregatów glebowych, przy czym w procesie tym duży udział mają również grzyby. Oddziaływanie EOM'ów na faunę gleby jest opisane w rozdziale 7.

Szereg skomplikowanych procesów związanych z fauną i florą gleby, takich jak obieg pierwiastków i składników odżywczych oraz utrzymanie prawidłowej struktury gleby, jest ważny nie tylko dla jakości gleby, ale także dla prawidłowego funkcjonowania ekosystemów (Jefferey et al., 2010). Z tego względu procesy te nazywane są funkcjami ekosystemowymi. Obieg składników odżywczych, utrzymanie struktury gleby oraz przemiany glebowej materii organicznej to przykłady funkcji, na które może silnie wpływać dodatek EOM'ów do gleby. Pojęciem ściśle związanym z użytkowym znaczeniem recyklingu materii organicznej są tzw. „usługi ekosystemowe“ (np. kontrola erozji) oraz tzw. „dobra ekosystemowe“ (np. żywność), które oznaczają korzyści dostarczane przez ekosystemy dla ludzi (Brussard, 2012).

## **GAZY CIEPLARNIANE I EGZOGENNA MATERIA ORGANICZNA**

W porównaniu z powszechnie znanymi zagrożeniami związanymi z nieorganicznymi i organicznymi zanieczyszczeniami zawartymi w EOM'ach, o wiele mniej dotychczas wiadomo o innym możliwym negatywnym wpływie stosowania EOM'ów na ekosystemy: zwiększonej emisji gazów cieplarnianych (GHG), zwłaszcza  $N_2O$ . Ponad połowę emitowanych na Ziemi gazów cieplarnianych pochodzi z gleby a grunty orne stanowią ich poważne źródło. Zwłaszcza dwa gazy cieplarniane są istotne z tego punktu widzenia:  $CO_2$  i  $N_2O$ , którego potencjał grzewczy

jest 310 razy większy niż CO<sub>2</sub> (Nkoa, 2014). Obecność EOM'ów, które zawierają zarówno substancje organiczne oraz azotany lub N, który może być utleniany do azotanów, tworzy odpowiednie warunki dla mikroorganizmów denitryfikacyjnych produkujących N<sub>2</sub>O. Denitryfikacja, a ściślej rzecz biorąc, procesy beztlenowe, jest wzmacniana wskutek efektów wywoływanych pośrednio przez zastosowanie EOM'ów, takich jak wzrost pH lub zmniejszenie ilości O<sub>2</sub>, będące skutkiem silniejszych procesów oddychania (Thangarajan et al., 2013). Ocenia się, że gleba zawiera dwa razy więcej C w postaci organicznej niż atmosfera w postaci CO<sub>2</sub>. Jednakże, jeśli gleba jest uprawiana w sposób niewłaściwy (patrz rozdział 3 ), C organiczny może być szybko zmineralizowany i uwolniony z gleby do atmosfery jako CO<sub>2</sub>. Odwrotny proces, wzrost glebowej materii organicznej, nazywany jest procesem akumulacji C, a jeśli występuje dodatkowy transfer C z atmosfery do gleby związany z procesami fotosyntezy, mówimy o "sekwestracji węgla" (Powlson et al., 2011). Należy zauważyć, że określenie "sekwestracja" nie jest jednoznaczne i często jest stosowane wymiennie z określeniem "kumulacji". J. Čuhel omawia szczegółowo te kwestie w rozdziale 8.

### **DLACZEGO BADANIE EGZOGENNEJ MATERII ORGANICZNEJ JEST WAŻNE?**

Właściwości fizyko-chemiczne gleby, takie jak pH, tekstura, zawartości materii organicznej, dystrybucja agregatów lub koncentracja składników pokarmowych i zanieczyszczeń, określają w dużym stopniu stan flory i fauny glebowej. Ponieważ EOM'y różnią się między sobą pod względem składu chemicznego i cech fizycznych, przewidywanie przyszłych trendów w procesach glebowych po użyciu EOM'ów, może być trudne. Sytuacja jest skomplikowana, ponieważ można się spodziewać interakcji pomiędzy EOM'ami i glebą, co oznacza, że sam materiał organiczny może mieć różny wpływ na różnych glebach. To prowadzi do konieczności wykonania badań polowych i/lub laboratoryjnych, w przypadku jeśli nie mamy żadnych doświadczeń z podobnymi materiałami.

Pomimo, że skład chemiczny, którego badanie jest z reguły objęte prawodawstwem, przynosi cenne informacje o potencjalnych zagrożeniach związanych z wykorzystaniem EOM'ów na glebę, nie wyczerpuje to jednak informacji związanych z bezpiecznym użyciem tego rodzaju materiałów jako nawozów organicznych. Głównymi przyczynami tego stanu rzeczy są: (i) nie wszystkie potencjalne zanieczyszczenia są na liście rutynowo oznaczanych związków, (ii) synergizmy lub antagonizmy w nich występujące, mogą mieć wpływ na końcowy efekt ich stosowania (iii) wiązanie zanieczyszczeń organicznych na cząstkach gleby może wpłynąć na ich biodegradowalność oraz biodostępność a (iv) niezrównoważony skład chemiczny zastosowanego materiału może być szkodliwy dla fauny i flory gleby, pomimo tego, że żaden indywidualny składnik lub związek nie jest uważany za toksyczny. Ciekawymi przykładami tego ostatniego ryzyka są przypadki, gdy nadwyżka labilnej materii organicznej może spowodować szybki wzrost niektórych drobnoustrojów, które hamują rozwój mniej skutecznych konkurentów, kluczowych w procesach, np. rozkładu bardziej odpornej frakcji materii organicznej. W takich przypadkach ocena zwiększenia biomasy drobnoustrojów i oddychania, które zwykle towarzyszą dodatkowi EOM'ów do gleby (Hargreaves et al., 2008; De Araújo et al., 2010; Diacono i Montemurro, 2010) nie jest wystarczająca. Konieczne jest rozpoznanie różnorodności mikroorganizmów, co może ujawnić zmiany w strukturze drobnoustrojów.

Zmienione biologiczne właściwości gleby, często wracają do pierwotnego poziomu po upływie pewnego czasu po zastosowaniu dodatków, z reguły w ciągu 30 - 60 dni (Bünemann et al., 2006). Oznacza to, że należy brać pod uwagę nie tylko odporność gleby (odporność na

zastosowanie dodatków), a także odtwarzalność jej cech (zdolność do powrotu do stanu pierwotnego) (Griffiths et al., 2001). Podkreśla to znaczenie doświadczeń polowych, które są odpowiednie dla tego rodzaju testów. Dodatkowym argumentem za ich przeprowadzeniem jest fakt, że tylko badania polowe umożliwiają ocenę długoterminowych skutków, które mogą pojawić się po transformacji niektórych związków i/lub po wielokrotnym zastosowaniu EOM'ów.

Poszukując ewentualnych szkodliwych skutków dodatku EOM'ów dla ekologii gleby, nie powinniśmy zapominać, że głównym celem takiego nawożenia jest zwiększenie zawartości materii organicznej. W związku z tym, zalecany jest monitoring różnych frakcji glebowej materii organicznej w celu oceny skuteczności stosowania EOM'ów. Podczas planowania doświadczeń, powinno brać się pod uwagę, że kontrola warunków doświadczenia, zmniejsza się w następującej kolejności: doświadczenia laboratoryjne > doświadczenia wazonowe > doświadczenia polowe a bliskość do warunków rzeczywistych zwiększa się w kolejności odwrotnej. Badania laboratoryjne umożliwiają precyzyjne pomiary w ściśle określonych warunkach, ale skutki praktyk rolniczych, roślinności i pogody nie są uwzględniane.

## **OPIS DOSWIADCZEŃ**

W celu oszacowania możliwych skutków stosowania EOM'ów na fizyczne, chemiczne i biologiczne właściwości gleby w warunkach rzeczywistych, założone zostały dwa doświadczenia polowe w Braszowicach (RP) i Pustych Jakarticach (CZ). Przemysłowy kompost Ra i mączka zwierzęca, zostały wykorzystane w obu doświadczeniach polowych, poferment Dg tylko w Braszowicach a kompost Ag w Pustych Jakarticach. Badane dawki materiałów organicznych zostały oparte na zawartości N, z dawkami oznaczającymi 0%, 50%, 75% i 100% całkowitej ilości zastosowanego N w postaci EOM'ów. Materiały organiczne zostały zastosowane wiosną w 2013 i 2014. Natomiast próbki gleb do analiz laboratoryjnych pobrano około jednego miesiąca po zastosowaniu EOM'ów i jesienią tuż po zbiorach. Rośliną uprawianą na obu doświadczeniach polowych była kukurydza na ziarno w 2013 roku, i na kiszonkę w 2014 r. W Braszowicach w 2014, nie zastosowano EOM'ów na poletkach, na których w 2013 stosowano mączkę zwierzęcą z uwagi na wysoką zawartość fosforu w tym materiale i ryzyko eutrofizacji wód gruntowych. Oprócz analiz laboratoryjnych określających właściwości gleby, które wg przewidywań mogły zmienić się pod wpływem EOM'ów, przeanalizowano również wpływ na faunę gleby oraz rejestrowano dane agronomiczne. Listę metod analitycznych zestawiono w Tabeli 1.

Ponieważ właściwości fizyko-chemiczne gleby wpływają na przemiany egzogennej materii organicznej, wybrano również trzy gleby o różnych właściwościach dla przeprowadzenia doświadczenia wazonowego, które zostało przeprowadzone w Puławach (RP) przez IUNG - PIB. Łącznie przetestowano sześć różnych materiałów: mączka zwierzęca, poferment Dg i kompost przemysłowy Ra w roku 2013 oraz kompost przemysłowy Dw wraz z dwoma pofermentami oznaczonymi jako Bp i Sm w 2014 roku. EOM'y zastosowano w trzech dawkach (0%, 50%, 100%) odpowiadających określonemu udziałowi azotu pochodzącego z EOM w całkowitej dawki N. Rośliną testową była pszenica jara. Podobnie jak w doświadczeniach polowych, gleba do analiz laboratoryjnych została pobrana miesiąc po założeniu eksperymentu oraz po zbiorach. Wykonano również chemiczne i ekotoksykologiczne analizy testowanych materiałów organicznych.

Szczegółowy opis eksperymentów i zastosowanych materiałów znajduje się w rozdziale 2.

**Tabela 1** Lista metod użytych do oceny EOM'ów i gleb, na których stosowano testowane materiały.

Kategoria	Metoda	Zastosowanie
Fizyka gleb	Skład granulometryczny gleby oznaczany metodą dyfrakcji laserowej	Polowe, Wazonowe
Fizyka gleb	Ocena sorpcyjności i zwilżalności agregatów glebowych	Polowe, Wazonowe
Fizyka gleb	Ocena retencji wodnej gleb	Polowe
Fizyka gleb	Rozkład porów glebowych	Polowe
Fizyka gleb	Wytrzymałość agregatów glebowych	Polowe, Wazonowe
Fizyka gleb	Przewodnictwo hydrauliczne nasycone oraz infiltracja wody w agregatach glebowych	Polowe
Fizyka gleb	Gęstość objętościowa	Polowe
Chemia	pH gleby	Polowe, Wazonowe
Chemia	Przewodność elektryczna i zasolenie gleb	Polowe, Wazonowe
Chemia	Kwasowość hydrolityczna	Polowe
Chemia	Całkowita zawartość węgla i azotu	EOM, Polowe, Wazonowe
Chemia	Zawartość węgla organicznego	Polowe
Chemia	Rozpuszczalny węgiel organiczny jako prosty wskaźnik pomiaru labilnej materii organicznej	Polowe, Wazonowe
Chemia	Glebova materia organiczna – frakcja stabilna	Polowe, Wazonowe
Chemia	Pojemność sorpcyjna gleby	Polowe
Chemia	Oznaczenia różnych form pierwiastków śladowych i makroelementów	EOM, Polowe, Wazonowe
Chemia	Oznaczenia PCB, OCP, PBDE oraz WWA techniką GC-MS/MS	EOM, Polowe, Wazonowe
Chemia	Oznaczenia HBCD metodą LC-MS/MS	EOM, Polowe, Wazonowe
Chemia	Oznaczenia PFAS techniką LC-MS/MS	EOM, Polowe, Wazonowe
Mikrobiologia	Aktywność denitryfikacji (DEA) z rozróżnieniem N <sub>2</sub> O i N <sub>2</sub>	Polowe, Wazonowe
Mikrobiologia	Pomiar podstawowego i indukowanego oddychania metodą chromatografii gazowej	Polowe, Wazonowe
Mikrobiologia	Pomiar biomasy mikroorganizmów glebowych metoda fumigacji i ekstrakcji	Polowe, Wazonowe
Mikrobiologia	Aktywność β-glukozydazy	Polowe, Wazonowe
Mikrobiologia	Aktywność dehydrogenaz	Polowe, Wazonowe
Mikrobiologia	Aktywność celulazy	Polowe, Wazonowe
Mikrobiologia	Aktywność fosfatazy kwaśnej i zasadowej	Polowe, Wazonowe
Mikrobiologia	Aktywność ureazy	Polowe, Wazonowe
Mikrobiologia	Aktywność nitryfikacji	Polowe, Wazonowe
Mikrobiologia	Ocena różnorodności genetycznej <i>Archaea</i> utleniających amoniak (AOA) na podstawie analizy długości terminalnych fragmentów restrykcyjnych (t-RFLP)	Polowe, Wazonowe
Mikrobiologia	Określenie różnorodności funkcjonalnej mikroorganizmów na podstawie profilowania fizjologicznego zespołów mikroorganizmów	Polowe, Wazonowe
Mikrobiologia	Krzywe intensywności oddychania	Polowe, Wazonowe
Biologia (ekotoksykologia)	Oznaczenie wpływu nawożenia na rozmnażanie skoczogonków ( <i>Folsomia candida</i> )	EOM
Biologia (ekotoksykologia)	Oznaczenie wpływu nawożenia na rozmnażanie wazonkowcowatych ( <i>Enchytraeus crypticus</i> )	EOM
Biologia (ekotoksykologia)	Oznaczenie wpływu nawożenia na rozmnażanie roztoczy drapieżnych ( <i>Hypoaspis aculeifer</i> )	EOM
Biologia (ekotoksykologia)	Test kontaktowy aktywności dehydrogenazowej bakterii <i>Arthrobacter globiformis</i>	EOM
Biologia (ekotoksykologia)	Test roślinny (wzrost korzenia <i>Lactuca sativa</i> )	EOM
Biologia (ekotoksykologia)	Oznaczenie działania hamującego przesącza na iluminację bakterii <i>Vibrio fischeri</i>	Polowe, Wazonowe
Biologia (ekotoksykologia)	Test hamowania wzrostu ze słodkowodnym glonem <i>Pseudokirchnerilla subcapitata</i>	Polowe, Wazonowe
Biologia (ekotoksykologia)	Test hamowania wzrostu ze słodkowodną rośliną <i>Lemna minor</i>	Polowe, Wazonowe
Biologia	Fauna glebova	Polowe

## LITERATURA

- Arthurson V (2009) Closing the global energy and nutrient cycles through application of biogas residue to agricultural land - potential benefits and drawbacks. *Energies* 2:226-242.
- Blanco H, Lal R (2008) Principles of soil conservation and management. Springer, Dordrecht.
- Bonilla N, Gutiérrez-Barranquero JA, De Vicente A, Cazorla FM (2012) Enhancing soil quality and plant health through suppressive organic amendments. *Diversity* 4:475-491.
- Brusard L (2012) Ecosystem services provided by the soil biota. In Wall DH (ed) *Soil ecology and ecosystem services*. Oxford University Press, Oxford, pp 45-58.
- Bünemann EK, Schwenke GD, Van Zwieten L (2006) Impact of agricultural inputs on soil organisms - A review. *Aust J Soil Res* 44:379-406.
- Cardoso EJB, Vasconcelos RLF, Bini D, Miyauchi MYH, dos Santos CA, Alves PRL, de Paula AM, Nakatani AS, Pereira JM, Nogueira MA (2013) Soil health: Looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health? *Sci Agr* 70:274-289.
- de Araújo ASF, de Melo WJ, Singh RP (2010) Municipal solid waste compost amendment in agricultural soil: Changes in soil microbial biomass. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 9:41-49.
- Diacono M, Montemurro F (2010) Long-term effects of organic amendments on soil fertility. A review. *Agron Sustain Dev* 30:401-422.
- Griffiths BS, Bonkowski M, Roy J, Ritz K (2001) Functional stability, substrate utilisation and biological indicators of soils following environmental impacts. *Appl Soil Ecol* 16:49-61.
- Hargreaves JC, Adl MS, Warman PR (2008) A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. *Agr Ecosyst Environ* 123:1-14.
- Herrmann A (2013) Biogas Production from Maize: Current State, Challenges and Prospects. 2. Agronomic and Environmental Aspects. *Bioenergy Research* 6:372-387.
- Jeffery S, Gardi C, Jones A, Montanarella L, Marmo L, Miko L, Ritz K, Peres G, Römbke J, van der Putten WH (2010), *European Atlas of Soil Biodiversity*. European Commission, Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- Nkoa R (2014) Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: A review. *Agron Sustain Dev* 34:473-492.
- Pezzolla D, Marconi G, Turchetti B, Zadra C, Agnelli A, Veronesi F, Onofri A, Benucci GMN, Buzzini P, Albertini E, Gigliotti G (2015) Influence of exogenous organic matter on prokaryotic and eukaryotic microbiota in an agricultural soil. A multidisciplinary approach. *Soil Biol Biochem* 82:9-20.
- Powlson DS, Whitmore AP, Goulding KWT (2011) Soil carbon sequestration to mitigate climate change: A critical re-examination to identify the true and the false. *Eur J Soil Sci* 62:42-55.
- Schmidt MWI, Torn MS, Abiven S, Dittmar T, Guggenberger G, Janssens IA, Kleber M, Kogel-Knabner I, Lehmann J, Manning DAC, Nannipieri P, Rasse DP, Weiner S, Trumbore SE (2011) Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478:49-56.
- Turbé A, De Toni A, Benito P, Lavelle P, Lavelle P, Ruiz N, Van der Putten WH, Labouze E, Mudgal S (2010) Soil biodiversity: functions, threats and tools for policy makers. *Bio Intelligence Service, IRD, and NIOO, Report for European Commission (DG Environment)*, 2010.
- Thangarajan R, Bolan NS, Tian G, Naidu R, Kunhikrishnan A (2013) Role of organic amendment application on greenhouse gas emission from soil. *Sci Total Environ* 465:72-96.



## Rozdział 2

# Metodyka badań oraz charakterystyka badanych materiałów organicznych

Jacek Niedźwiecki<sup>1</sup>, Michaela Smatanová<sup>2</sup>, Rafał Gałązka<sup>1</sup>, Kamil Cigánek<sup>2</sup>,  
Grzegorz Siebielec<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Pulawy, Polska*

<sup>2</sup>*Centralny Instytut Nadzoru i Badań w Rolnictwie, Brno, Republika Czeska*

W celu przetestowania egzogennej materii organicznej (EOM) na różnych glebach i w różnych warunkach klimatycznych, doświadczenia polowe były zlokalizowane w Braszowicach, Polska oraz Pustych Jakarticach, Republika Czeska (Rysunek 1).



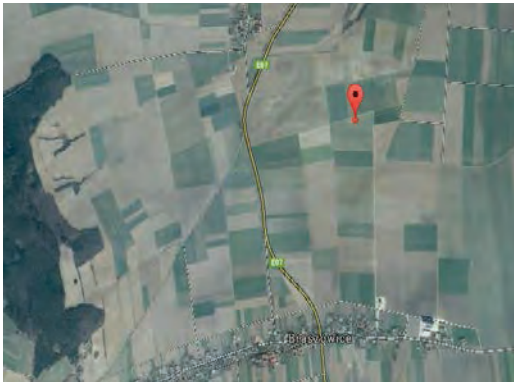
**Rysunek 1** Lokalizacja doświadczeń oraz Instytucji realizujących Projekt.



## DOŚWIADCZENIE POLOWE W BRASZOWICACH

**Opis lokalizacji:** Doświadczenie zostało zlokalizowane we wsi Braszowice w woj. dolnośląskim. Współrzędne geograficzne miejsca: 50°34'02.6"N, 16°48'07.1"E (Rysunek 2).

**Gleba i klimat:** Doświadczenie polowe przeprowadzono na glebie *Cambisol*, zgodnie z WRB - World Reference Base for Soil Resources, a wg. systematyki PTG 2011 (Polskie Towarzystwo Gleboznawcze) na glebie brunatnoziemnej (Rysunek 3). Zgodnie z klasyfikacją FAO USDA, pod względem składu granulometrycznego w większości gleby te miały skład pyłu gliniastego. Są to gleby urodzajne, należące do kompleksu pszenno-buraczanego. Występuje tu klimat umiarkowany ciepły i umiarkowany wilgotny. Ukształtowanie powierzchni to falista równina. Średnia roczna temperatura w regionie wynosi 8,2°C, natomiast suma rocznych opadów to 568,9 mm.



**Rysunek 2** Lokalizacja doświadczenia polowego w Braszowicach.



**Rysunek 3** Mapa glebowa doświadczenia polowego w Braszowicach (Zaznaczono kompleksy przydatności rolniczej gleb).

## DOŚWIADCZENIE POLOWE W PUSTYCH JAKARTICACH

**Opis lokalizacji:** Doświadczenie zlokalizowane zostało w stacji doświadczalnej ÚKZÚZ'u w Pustych Jakarticach, w pobliżu Opawy, w regionie morawsko – śląskim. Współrzędne geograficzne pola doświadczalnego: 50°34'02.6"N, 16°48'07.1"E (Rysunek 4).



**Rysunek 4** Lokalizacja doświadczenia polowego w Pustych Jakarticach.

Naturalne warunki klimatyczne stacji doświadczalnej są umiarkowanie ciepłe i umiarkowanie wilgotne z łagodnymi okresami zimowymi. Średnia suma opadów rocznych wynosi 640 mm a średnia roczna temperatura to 8°C. Pusté Jakartice zlokalizowane są w północno – zachodniej części równiny opawsko – hlucinskiej, średnia wysokość to 295 m n.p.m. Ukształtowanie powierzchni to falista równina. Hydrologicznie teren leży w dorzeczu Odry i zlewni rzeki Pszyny. Dominującą uprawą jest burak cukrowy oraz zboża z przeznaczeniem na paszę dla zwierząt.

**Warunki glebowe:** Ponieważ obiekt w Pustych Jakarticach jest stacją eksperymentalną należąca do ÚKZÚZ'u, dostępna jest dość szczegółowa charakterystyka występujących tam gleb. Gleby są w tym miejscu bardzo głębokie i umiarkowanie głębokie. W warstwie powierzchniowej i w „podglebiu“ występuje il. Less gliniasty z kolei występuje w skale macierzystej do głębokości około 120 cm. Warstwa wierzchnia ma słabą tendencję do zasklepiania się, powodującego ograniczenie przepuszczalności (słabe oglejenie). Gleby te są klasyfikowane jako gleby brunatne z zaznaczonym wymywaniem frakcji ilastych i śladami oglejenia. Prowadzi to do przemieszczania substancji humusowych i ilastych w głąb profilu glebowego. W rezultacie słabej przepuszczalności poziomy wzbogacone mogą okresowo ulegać oglejeniu. Wierzchnia warstwa gleby jest umiarkowanie bogata w próchnicę (1,92%), C<sub>org</sub> 1,13%, pH<sub>H2O</sub> 6,5.

Zawartość składników nawozowych w ekstrakcie Mehlich 3 wynosi: P – 101 mg kg<sup>-1</sup> (dobra), K 209 mg kg<sup>-1</sup> (dobra), Mg 90 mg kg<sup>-1</sup> (niska), Ca 1820 mg kg<sup>-1</sup> (odpowiednia). Zawartość frakcji koloidalnej 28-31%.

## SCHEMAT DOŚWIADCZEŃ POLOWYCH

### Rośliny

W doświadczeniach polowych w Braszowicach i Pustych Jakarticach uprawiana była kukurydza. Szczegóły przedstawia Tabela 1. W roku 2013 uprawiano kukurydzę na ziarno, a w 2014 na kiszonkę. Ziarno zostało przed siewem zaprawione środkami grzybo- i owadobójczymi.

**Tabela 1** Zmianowanie.

Rok	Roślina - odmiana
2013	Kukurydza <i>Zea mays</i> L. variety: N K Terada FAO 260
2014	Kukurydza na kiszonkę <i>Zea mays</i> L. variety: Ułan - FAO 270

### Opis źródeł egzogennej materii organicznej

Przetestowano następujące materiały zawierające egzogenną materię organiczną

**Kompost (Ag)** – nawóz organiczny wyprodukowany w Republice Czeskiej z obornika i gnojowicy (drobiowego, trzody chlewnej oraz bydłowego), słomy, trocin lub innej ściółki organicznej, innej degradowalnej substancji organicznej (osady z oczyszczalni ścieków, biodegradowalne odpady kuchenne i stołkówkowe, resztki zgniecionych lub rozbitych jaj z hodowli i wylęgarni piskląt – nie stanowiące zagrożenia epidemiologicznego) w procesie termofilowej fermentacji tlenowej w biofermentorach. Według wstępnych badań dostarcza do gleby niezbędnych substancji odżywczych we właściwych proporcjach, wspomaga rozwój bakterii i poprawia strukturę gleby. W związku z wysoką temperaturą procesów produkcji (ok. 75°C), nie zawiera nasion chwastów mogących znajdować się w materiałach wyjściowych.

**Mączka zwierzęca (Mb)** – nawóz organiczny pochodzenia zwierzęcego (z odpadów II i III kategorii) zgodnie z Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009. Jest częściowo odłuszczone. Używany w celu uzupełnienia azotu i fosforu w glebie. Pierwiastki te są związane w połączeniach organicznych, co powoduje ich stopniowe uwalnianie. Według wstępnych badań w pierwszym roku uwolnione zostaje ok. 50% azotu a w kolejnych latach po ok. 25%. Poza wapniem zawiera też niezbędne mikroelementy. Dostarczany jest w formie brązowej mączki.

**Kompost przemysłowy (Rb)** – nawóz organiczny powstający w wyniku homogenizacji i kompostowania materiałów zawierających degradowalne składniki organiczne – osady ściekowe, trociny, biodegradowalne odpady z ogrodów i parków, gleba, resztki roślin leczniczych (pozostałości po ekstrakcji), osadu wapna. Celem jego stosowania jest włączanie zawartego w nim węgla w aktywny humus glebowy, wspieranie funkcji mikrobiologicznych gleby oraz wprowadzanie niezbędnych składników nawozowych. Odczyn kompostu pozwala regulować niekorzystne reakcje w glebach kwaśnych. Zmienia strukturę gleb lekkich w szczególności piaszczystych, poprzez poprawę ich zdolności do magazynowania wody oraz redukuje wymywanie składników nawozowych.

**Poferment (odpad z biogazowni) (Dg)** – wytwarzany z pozostałości z produkcji frytek w procesie fermentacji beztlenowej. Jest bogaty w mikro- i makroelementy. Zawiera niezbędne substancje odżywcze dla roślin i może być źródłem azotu i węgla organicznego. Zgodnie z decyzją (nr 16/0/2013) Urzędu Powiatowego w Ząbkowicach Śląskich (woj. dolnośląskie), był stosowany w doświadczeniu polowym w Braszowicach na podstawie zapisów Rozporządzenia Ministra Środowiska w sprawie procesu odzysku R10 (Dz.U. z 2015 poz. 132). Podstawowe właściwości chemiczne EOM'ów przedstawia Tabela 2.

**Tabela 2** Podstawowe właściwości chemiczne egzogennej materii organicznej testowanej w doświadczeniach polowych i wazonowych.

Nazwa	Skrót	pH	Zawartość węgla całkowitego	Zawartość azotu całkowitego	Zawartość fosforu całkowitego
			%		
Mączka zwierzęca	Mb	6,1	40,1	8,4	6,42
Kompost przemysłowy	Ra	5,3	17,9	2,3	0,75
Kompost	Ag	8,4	24,1	2,6	3,35
Poferment z produkcji frytek (2013)	Dg	7,4	40,7	6,9	2,79
Poferment z wysłoków (2014)	Bp	7,6	38,4	4,6	0,68
Kompost przemysłowy	Dw	8,3	23,4	1,7	0,39
Poferment z kukurydzy (2014)	Sm	7,3	40,4	4,4	0,89

W doświadczeniu polowym zastosowano typową dla kukurydzy dawkę nawożenia azotowego - 200 kg ha<sup>-1</sup>. Na potrzeby doświadczenia nawożenie przeprowadzono w następujący sposób: 100%, 75% oraz 50% dawki azotu wprowadzano w postaci EOM'ów (Tabele 3, 4, 5, 6). Pozostała część dawki azotu dostarczona została w postaci nawożenia mineralnego, natomiast na poletkach kontrolnych zastosowano 100% dawkę składnika w postaci nawozów sztucznych. Nawożenie mineralne i organiczne wykonano z odpowiednim wyprzedzeniem w stosunku do siewu. Nawożenie innymi składnikami nawozowymi (P, K, Mg, Ca) miało natomiast miejsce

jesienią 2012 r. Jako nawóz mineralny użyty został azotan amonu z wapnem. Aplikowanie EOM'ów odbywało się do głębokości 15 – 20 cm w obu latach trwania doświadczenia.

Rozmiar poletek w Braszowicach wynosił 20 m<sup>2</sup>, a w Pustych Jakarticach 25 m<sup>2</sup>. Ilość wysianego ziarna została ustalona wg zaleceń dotyczących danego obszaru rolniczego oraz odmiany kukurydzy. Końcowy rozstaw rzędów wynosił 70 x 15 cm w obu doświadczeniach.

**Tabela 3** Kombinacja dawek nawozowych w Braszowicach w obu latach doświadczenia.

<b>EOM</b>	<b>Dawka EOM (% całkowitej dawki N)</b>	<b>Nawożenie mineralne (% całkowitej dawki N)</b>
Kontrola	0	100% N
Mb I*	50%	50% N
Mb II*	75%	25 % N
Mb III*	100%	0
Ra I	50%	50% N
Ra II	75%	25 % N
Ra III	100%	0
Dg I	50%	50% N
Dg II	75%	25 % N
Dg III	100%	0

\* - stosowano tylko w 2013 roku

**Tabela 4** Kombinacja dawek nawozowych w Pustych Jakarticach w obu latach doświadczenia.

<b>EOM</b>	<b>Dawka EOM (% całkowitej dawki N)</b>	<b>Nawożenie mineralne (% całkowitej dawki N)</b>
Kontrola	0	100% N
Mb I	50%	50% N
Mb II	75%	25 % N
Mb III	100%	0
Ra I	50%	50% N
Ra II	75%	25 % N
Ra III	100%	0
Ag I	50%	50% N
Ag II	75%	25 % N
Ag III	100%	0

**Tabela 5** Dawki EOM'ów oraz azotu mineralnego w Braszowicach w obu latach doświadczenia.

EOM	Udział dawki azotu w postaci EOM'u	Udział dawki azotu w postaci mineralnej	N mineralny [kg/ha]	Całkowita dawka EOM'u [t/ha]
Kontrola		100%	200	-
Mb I*	50%	50%	100	1,55
Mb II*	75%	25 %	50	2,3
Mb III*	100	0	0	3,05
Ra I	50%	50%	100	9,75
Ra II	75%	25 %	50	14,65
Ra III	100	0	0	19,5
Dg I	50%	50%	100	11,65
Dg II	75%	25 %	50	17,45
Dg III	100	0	0	23,3

\* - stosowano tylko w 2013 roku

**Tabela 6** Dawki EOM'ów oraz azotu mineralnego w Pustych Jakarticach w obu latach doświadczenia.

EOM	Udział dawki azotu w postaci EOM'u	Udział dawki azotu w postaci mineralnej	N mineralny [kg/ha]	Azotan amonu 27 % N [kg/ha]	Całkowita dawka EOM'u [t/ha]
Kontrola		100%	200	740	0
Mb I	50%	50%	100	370	1,24
Mb II	75%	25 %	50	185	1,84
Mb III	100	0	0	0	2,44
Ra I	50%	50%	100	370	7,32
Ra II	75%	25 %	50	185	14,64
Ra III	100	0	0	0	19,48
Ag I	50%	50%	100	370	4,72
Ag II	75%	25 %	50	185	9,4
Ag III	100	0	0	0	12,56

Plan doświadczeń był taki sam w obu latach dla Braszowic i Pustych Jakartice i zawierał 10 kombinacji nawożenia z czterema powtórzeniami dla każdej kombinacji. Tabela 7 przedstawia listę zabiegów agrotechnicznych przeprowadzonych na polach doświadczalnych.

Każde poletko otoczone było przestrzenią ochronną o szerokości 1 m.

Rozstaw rzędów: 70 x 15 cm, 95,000 roślin ha<sup>-1</sup>

Powierzchnia zbioru: 25 m<sup>2</sup> (Pusté Jakartice), 20 m<sup>2</sup> (Braszowice)

Liczba rzędów na poletku: 4 (Pusté Jakartice), 6 (Braszowice)

Ilość rzędów ścinanych w czasie żniw w celu pobrania próbek roślinnych i określenia plonu: dwa środkowe rzędy.

**Tabela 7** Dаты zabiegów agrotechnicznych z dwóch okresów wegetacyjnych w doświadczeniach polowych w Braszowicach i Pustych Jakarticach.

<b>Doświadczenie polowe w Braszowicach</b>			
<b>2013r</b>	<b>zabiegi agrotechniczne</b>	<b>2014r</b>	<b>zabiegi agrotechniczne</b>
24.04	włókwowanie	5.04	włókwowanie
13-14.05	aplikacja EOM'ów i nawozów mineralnych	7-11.04	aplikacja EOM'ów i nawozów mineralnych
13-14.05	mieszanie EOM'ów i nawozów glebogryzarką glebową	7-11.04	mieszanie EOM'ów i nawozów glebogryzarką glebową
15.05	bronowanie	12.04	bronowanie
16.05	siew kukurydzy	26.04	siew kukurydzy
18.05	ochrona roślin, herbicyd LUMAX® 537,5 SE	28.04	ochrona roślin, herbicyd LUMAX® 537,5 SE
17-18.06	pobieranie próbek glebowych	6.05	pobieranie próbek glebowych
8-11.10	żniwa (ręcznie)	29.09	żniwa (ręcznie)
30-31.10	pobieranie próbek glebowych	1.10	pobieranie próbek glebowych
4.11	brona talerzowa		
6.11	orka jesienna		
<b>Doświadczenie polowe w Pustych Jakarticach</b>			
<b>2013r</b>	<b>zabiegi agrotechniczne</b>	<b>2014r</b>	<b>zabiegi agrotechniczne</b>
21.04	włókwowanie Z 7011	5.11	orka Z11441
22.04	agregat glebowy 2x Z 6245	5.11	orka zimowa Z11441
27.04	pomiary polowe	8.04	agregatowanie 2x Z 6245
30.04	nawożenie (Ra, Ag)	27.4.	pomiary polowe
30.04	agregat glebowy 2x Z 6245	22.04	nawożenie
9.05	agregat glebowy 2x Z 6245	30.04	agregatowanie Z 6245
10.05	siew HEGE-95	30.04	siew
21.05	aplikacja Mb + MF No.2,3,4	6.05	pobieranie próbek glebowych
27.05	wschody	17.05	wschody
10.06	pobieranie próbek glebowych (Ag, Ra)	3.08	kwitnienie
24.06	pobieranie próbek glebowych (Mb)	24.09	żniwa (ręcznie)
22.10	żniwa (ręcznie)	24.09	pobieranie próbek glebowych
6.11	pobieranie próbek glebowych		



**Rysunek 5** Mieszanie EOM'ów z glebą za pomocą glebogryzarki. Doświadczenie polowe w Braszowicach.



**Rysunek 6** Pobieranie próbek glebowych w doświadczeniu polowym w Braszowicach.



**Rysunek 7** Żniwa na poletkach doświadczalnych w Braszowicach.

## **OPIS ZBIORU ROŚLIN**

Uprawiane rośliny zostały ręcznie ścięte 10 cm nad ziemią. Ścięte rośliny zebrano z dwóch środkowych rzędów z każdego poletka. Rośliny z każdej replikacji zostały zważone. Wyniki zbiorów z Pustych Jakartic i Braszowic (2013/2014) są przedstawione w tabelach 8-12. Na podstawie jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA, nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w plonie kukurydzy pomiędzy badanymi kombinacjami. Oznacza to, że potencjał nawożeniowy EOM'ów był zbliżony do nawożenia nawozami mineralnymi i wprowadzenie azotu w postaci EOM nie zmniejszyło plonów kukurydzy na badanych glebach.

**Tabela 8** Pusté Jakartice - plony w pierwszym roku doświadczenia 2013.

EOM	Plon kukurydzy na ziarno (t/ha)				Średnia (t/ha)
	blok A	blok B	blok C	blok D	
Kontrola	11,30	14,13	11,03	12,50	12,24
Mb I	11,82	13,20	10,51	12,71	12,06
Mb II	10,10	12,40	10,91	12,31	11,43
Mb III	11,23	12,83	11,62	12,43	12,03
Ra I	10,92	13,52	13,62	13,71	12,94
Ra II	11,73	12,93	10,93	13,70	12,32
Ra III	10,83	12,40	11,77	14,00	12,25
Ag I	11,54	12,72	11,40	13,23	12,22
Ag II	12,20	13,30	12,34	12,11	12,49
Ag III	10,03	12,14	10,61	13,13	11,48
	Plon słomy (t/ha)				
Kontrola	117,50	137,50	97,50	123,50	119,00
Mb I	117,50	110,00	106,50	127,50	115,38
Mb II	135,00	94,00	135,00	122,50	121,63
Mb III	97,50	107,50	102,50	110,00	104,38
Ra I	105,00	124,00	116,50	117,50	115,75
Ra II	111,50	111,50	120,00	132,50	118,88
Ra III	89,00	107,50	104,00	112,50	103,25
Ag I	105,00	122,50	115,00	107,50	112,50
Ag II	110,00	110,00	110,00	110,00	110,00
Ag III	106,50	110,00	115,00	120,00	112,88

**Tabela 9** Pusté Jakartice plony w drugim roku doświadczenia 2014.

EOM	Plon kukurydzy na kiszonkę (t/ha)				Średnia (t/ha)
	blok A	blok B	blok C	blok D	
Kontrola	78,22	75,07	79,79	73,49	76,6
Mb I	81,89	65,09	79,79	69,29	74,0
Mb II	75,07	66,67	78,74	64,04	71,1
Mb III	77,17	64,57	79,79	87,14	77,2
Ra I	80,84	64,04	83,99	69,29	74,5
Ra II	71,39	71,39	81,89	72,44	74,3
Ra III	70,34	71,39	81,89	62,99	71,7
Ag I	73,28	72,44	85,04	78,74	77,4
Ag II	71,39	77,69	73,49	67,19	72,4
Ag III	74,54	68,77	85,04	72,44	75,2



**Tabela 10** Braszowice - plony w pierwszym roku doświadczenia 2013.

EOM	Plon kukurydzy na ziarno (t/ha)				Średnia (t/ha)
	blok A	blok B	blok C	blok D	
Kontrola	5,57	4,34	3,59	3,97	4,37
Mb I	3,64	4,42	3,59	3,68	3,83
Mb II	5,51	3,74	4,60	3,90	4,44
Mb III	4,51	4,28	4,37	4,36	4,38
Ra I	4,44	4,61	4,03	4,72	4,45
Ra II	5,56	4,19	4,31	5,14	4,80
Ra III	4,70	4,43	4,84	3,98	4,49
Dg I	3,36	4,30	2,82	5,34	3,95
Dg II	4,30	4,37	4,09	4,34	4,28
Dg III	5,14	3,85	5,52	5,50	5,00

**Tabela 11** Braszowice - plony w pierwszym roku doświadczenia 2013.

EOM	Plon słomy (t/ha)				Średnia (t/ha)
	blok A	blok B	blok C	blok D	
1. Kontrola	153,6	139,2	98,4	130,8	130,5
2. Mb I	109,2	130,8	106,8	139,2	121,5
3. Mb II	134,4	114	156	129,6	133,5
4. Mb III	140,4	112,8	120	134,4	126,9
5. Ra I	132	111,6	127,2	146,4	129,3
6. Ra II	154,8	109,2	164,4	146,4	143,7
7. Ra III	127,2	129,6	141,6	122,4	130,2
8. Dg I	98,4	114	86,4	187,2	121,5
9. Dg II	111,6	142,8	105,6	148,8	127,2
10. Dg III	150	103,2	174	165,6	148,2

**Tabela 12** Braszowice - plony w drugim roku doświadczenia 2014.

EOM	Plon kukurydzy na kiszonkę (t <sub>s.m.</sub> /ha)				Średnia (t <sub>s.m.</sub> /ha)
	blok A	blok B	blok C	D blok	
Kontrola	17,4	16,6	15,7	17,6	16,8
Mb I	18,7	15,3	18,5	14,2	16,7
Mb II	14,2	14,2	22,0	15,5	16,4
Mb III	18,1	16,2	19,6	15,5	17,3
Ra I	19,4	13,3	17,4	17,4	16,9
Ra II	17,4	12,2	18,5	16,8	16,2
Ra III	16,6	15,3	15,3	16,3	15,9
Dg I	15,1	12,2	16,6	16,3	15,1
Dg II	19,6	15,0	17,4	17,4	17,4
Dg III	17,4	14,7	18,3	15,5	16,5

## DOŚWIADCZENIE WAZONOWE W PUŁAWACH

W latach 2013 – 2014 w Stacji Doświadczalnej w Puławach przeprowadzono dwa doświadczenia wazonowe. Gleby użyte w w/w doświadczeniach pochodziły z obszarów transgranicznych – dwie z Polski – miejscowości Nowa Wieś i Pastuchów oraz jedna z Czech – miejscowość Dlouhá Ves. Tabela 13 prezentuje ich podstawowe właściwości.

**Tabela 13** Podstawowe właściwości gleb wybranych do przeprowadzenia doświadczeń wazonowych.

	<b>Dlouhá Ves (CZ)</b>	<b>Nowa Wieś (PL)</b>	<b>Pastuchów (PL)</b>
<b>pH<sub>H2O</sub></b>	7,0	5,78	6,88
<b>Skład granulometryczny</b>	ł pyłasty	Gлина piaszczysta	Gлина pyłasta
<b>C<sub>całkowity</sub></b>	1,93 %	0,77 %	1,14 %

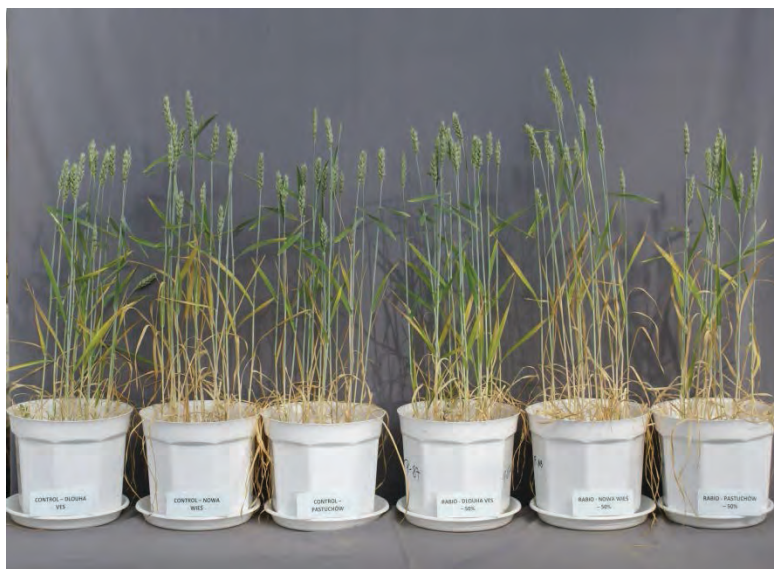
W roku 2013 w doświadczeniu wazonowym zastosowano następujące rodzaje egzogennej materii organicznej:

1. Kompost przemysłowy – **Ra** – nawóz organiczny powstający w wyniku homogenizacji i kompostowania materiałów zawierających biodegradowalne składniki organiczne – osady ściekowe, trociny, biodegradowalne odpady z ogrodów i parków, glebę, resztki roślin leczniczych (pozostałości po ekstrakcji), osadu wapna.
2. Mączka zwierzęca - **Mb** – nawóz organiczny pochodzenia zwierzęcego (drugiej i trzeciej kategorii) wyprodukowany zgodnie z technologią wg. Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009.
3. Poferment – **Dg** – materiał pochodzący z biogazowni używającej jako surowca odpadów z wytwórni frytek. Głównymi składnikami są obierki ziemniaków, niewymiarowe i wadliwe frytki, osad nadmierny.

Natomiast w roku 2014 przebadano:

1. Kompost przemysłowy – **Dw** – nawóz organiczny wyprodukowany z posegregowanych biodegradowalnych odpadów domowych (odpady kuchenne, resztki pokarmu, owoce, warzywa), odpadów z parków i zieleńców (trawa, liście, chwasty, gleba) oraz innych biodegradowalnych odpadów (popiół drzewny, trociny) a także odpadów drewnianych oraz osadów ściekowe z oczyszczalni komunalnej.
2. Poferment – **Dg** – odpad z biogazowni używającej jako substratu wysłodków z buraków cukrowych. Biogazownia mieści się w Strzelinie.
3. Poferment – **Sm** – odpad z biogazowni używającej jako substratu kiszonki z kukurydzy (70%) oraz szlamu (30%). Biogazownia mieści się w Łagiewnikach.

Dawki EOM'ów obliczono na podstawie zawartego w nich azotu i stanowiły one równowartość 50% i 100% całkowitego nawożenia azotowego. W wazonach kontrolnych zastosowano pełne nawożenie mineralne (azotan amonu). W przypadku dawki 50%, nawożenie zostało również uzupełnione azotanem amonu. Każda kombinacja została powtórzona czterokrotnie. Rośliną uprawianą w latach 2013 – 2014 była pszenica jara, odmiana Tybalt (Rysunek 8). Z każdego doświadczenia pobrano dwie serie próbek gleby – miesiąc po aplikacji EOM'ów oraz po zbiorach (Rysunek 9). Tabela 14 prezentuje daty czynności wykonywanych w trakcie trwania doświadczeń wazonowych.



**Rysunek 8** Doświadczenie wazonowe - rozwój pszenicy (od lewej: kontrola - Dlouhá Ves, Nowa Wieś, Pastuchów; dawka kompostu Ra 50% - Dlouhá Ves, Nowa Wieś, Pastuchów).

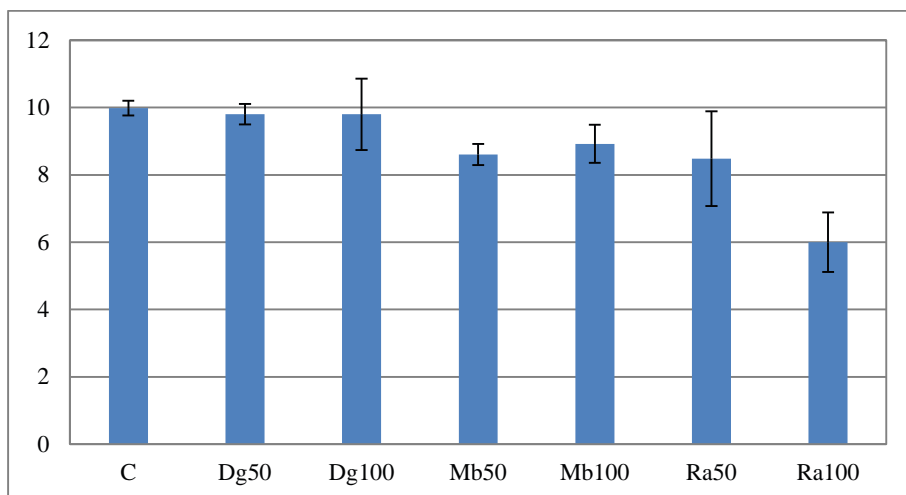
**Tabela 14** Daty zabiegów wykonywanych w doświadczeniach wazonowych.

<b>Czynność</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>
Założenie doświadczenia	2013.05.13	2014.05.06
Dodatek EOM'ów	2013.05.20 - 21	2014.05.07
Siew	2013.05.22	2014.05.12
Pierwszy pobór próbek gleby	2013.06.24 – 25	2014.06.11 – 12
Żniwa	2013.08.27	2014.08.26
Drugi pobór próbek gleby	2013.08.27 - 28	2014.08.26 - 27

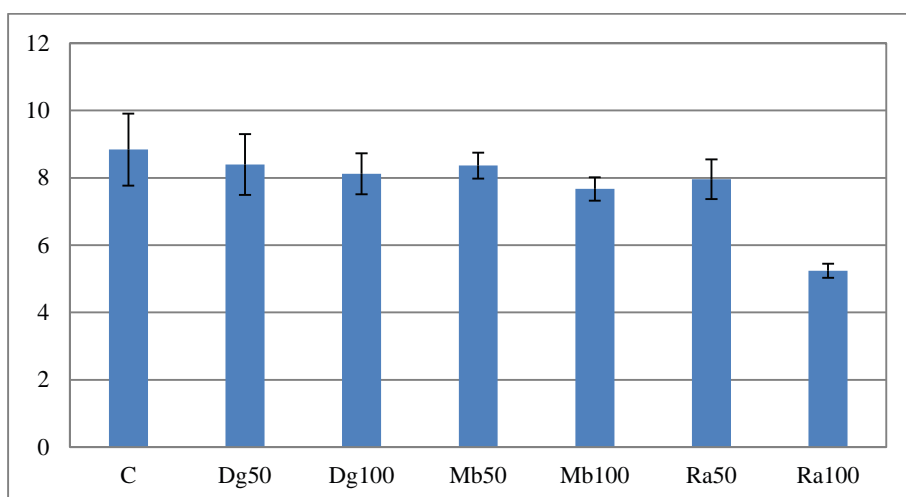


**Rysunek 9** Doświadczenie wazonowe – pobieranie próbek.

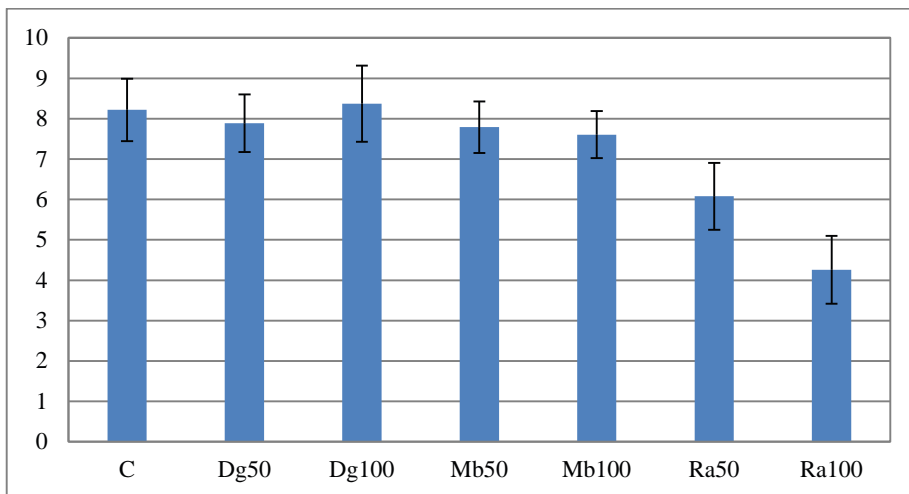
Wyniki uzyskane po przeprowadzeniu doświadczeń wazonowych, pokazują iż pofermenty nie zmniejszają plonu pszenicy w porównaniu do nawożenia mineralnego, nawet jeśli pełna dawka jest zastosowana jest w postaci organicznej, niezależnie od gatunku gleby oraz rodzaju zastosowanego pofermentu (Wykresy 1 – 6). W niektórych przypadkach nastąpiło nawet zwiększenie plonu. Z drugiej strony zastosowanie kompostów (Ra, Dw), spowodowało spadek plonu, zwłaszcza przy pełnej dawce azotu dostarczonej w postaci kompostu. Podobny efekt zaobserwowano dla plonu biomasy (suma masy słomy i ziarna). Natomiast w przypadku mączki zwierzęcej nie zaobserwowano spadku plonu, oprócz wazonów z glebą z Dlouhá Ves.



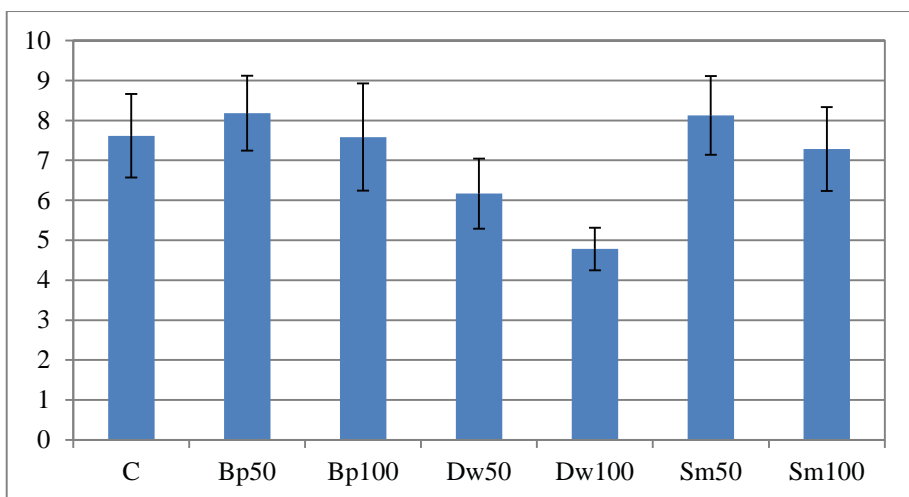
**Wykres 1** Wpływ nawożenia EOM'ami na plon ziarna pszenicy (g) (Dlouhá Ves - 2013).



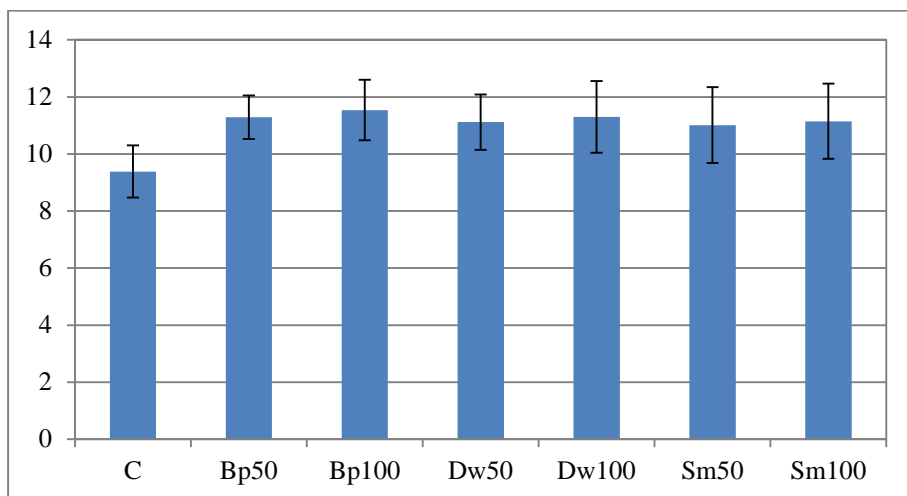
**Wykres 2** Wpływ nawożenia EOM'ami na plon ziarna pszenicy (g) (Nowa Wieś - 2013).



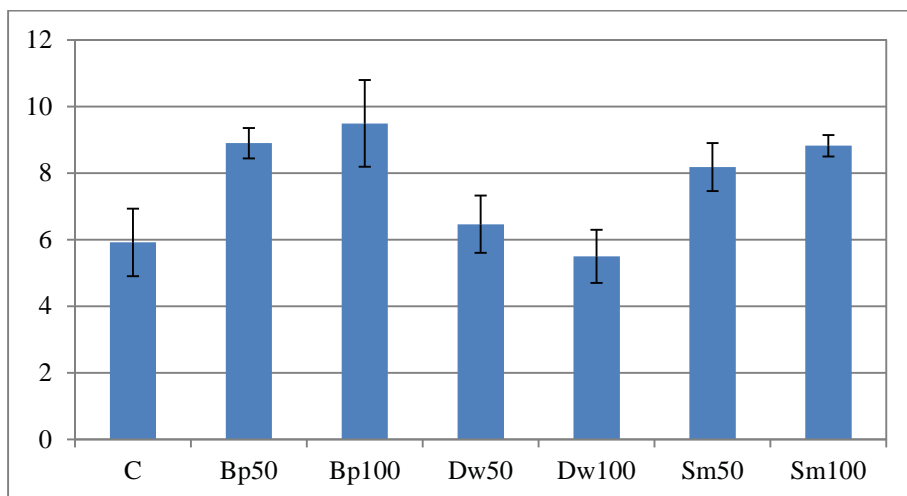
**Wykres 3** Wpływ nawożenia EOM'ami na plon ziarna pszenicy (g) (Pastuchów – 2013).



**Wykres 4** Wpływ nawożenia EOM'ami na plon ziarna pszenicy (g) (Dlouhá Ves - 2014).



**Wykres 5** Wpływ nawożenia EOM'ami na plon ziarna pszenicy (g) (Nowa Wieś - 2014).



**Wykres 6** Wpływ nawożenia EOM'ami na plon ziarna pszenicy (g) (Pastuchów - 2014).

Podsumowując, wszystkie testowane odpady z biogazowni zapewniały plon kukurydzy lub pszenicy na poziomie zbliżonym do uzyskiwanego w wyniku stosowania nawożenia mineralnego a nawet go przewyższającym. Nasuwa to wniosek, że substancje odżywcze dostarczane wraz z odpadami do gleby są w formie pozwalającej na ich natychmiastowe wykorzystanie przez rośliny. Mączka zwierzęca również nie spowodowała zmniejszenia plonu, z wyjątkiem gleby o składzie iłu pylastego z miejscowości Dlouhá Ves. Wydaje się, że komposty nie zapewniają wystarczającej ilości dostępnego azotu w pierwszym roku po aplikacji z powodu powolnej mineralizacji materii organicznej. Spadku plonu nie zaobserwowano w doświadczeniach polowych, które co roku są intensywnie uprawiane i nawożone, jednakże zjawisko to może wystąpić na glebach mniej zasobnych i żyznych. W takich przypadkach nawożenie kompostami powinno być uzupełniane przez nawożenie azotem mineralnym w celu utrzymania plonu na tym samym poziomie.



## Rozdział 3

# Wpływ egzogennej materii organicznej na poziom i jakość glebowej materii organicznej

Radosław Kaczyński, Grzegorz Siebielec

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska*

### FUNKCJE MATERII ORGANICZNEJ W GLEBIE

Glebowa materia organiczna (OM) to wszystkie substancje organiczne pochodzące od żywych organizmów (roślin i zwierząt), które trafiają do gleby i podlegają procesom rozkładu. Niezależnie od momentu, zawsze zawiera w swym składzie szeroki zakres substancji począwszy od nienaruszonych tkanek roślinnych i zwierzęcych, po całkowicie rozłożone i przekształcone mieszaniny związków chemicznych znane jako próchnica glebowa.

Glebowa materia organiczna jest podstawowym parametrem decydującym o fizycznych, chemicznych i biologicznych funkcjach gleby, takich jak: żyzność, właściwości sorpcyjne i buforujące, pojemność wodna gleby, odporność na degradację. Wysoka zawartość materii organicznej jest czynnikiem stabilizującym strukturę gleby, obniżającym jej podatność na zagęszczenie oraz erozję wodną i wietrzną (Stuczyński et al., 2007). Ponadto, glebowa materia organiczna może być źródłem lub magazynem atmosferycznego dwutlenku węgla, w zależności od sposobu użytkowania danej gleby, pokrywy roślinnej oraz stosunków wodnych (Lal, 2009). W kontekście globalnym, węgiel zmagazynowany w postaci glebowej materii organicznej stanowi główną część całego węgla organicznego znajdującego się na lądach (Houghton et al., 2001). W wierzchniej warstwie gleby (do 0,2 m) znajduje się 615 Gt węgla organicznego (Guo i Gifford, 2002).

Utrzymanie zasobów materii organicznej jest ważne nie tylko ze względu na funkcję produkcyjną gleby, ale także ze względu na rolę gleby w sekwestracji (przechwytywaniu) dwutlenku węgla z atmosfery, co przyczynia się do zmniejszenia efektu cieplarnianego. Intensywne rolnictwo, zwłaszcza w monokulturach, niszczy strukturę gleby, zwiększa jej aerację oraz powoduje przyspieszoną mineralizację próchnicy, co skutkuje uwalnianiem do atmosfery dużych ilości dwutlenku węgla. Emisja dwutlenku węgla z gleby ma znaczący udział w całkowitym bilansie CO<sub>2</sub> ze wszystkich sektorów gospodarki (Bieńkowski, Jankowiak, 2006). Naturalne zróżnicowanie zawartości OM w glebach jest uwarunkowane następującymi czynnikami: skład granulometryczny, położenie w terenie, głębokość zwierciadła wód gruntowych oraz stosunki wodne (właściwości retencyjne gleby). Gleby lekkie znajdujące się w wyższych położeniach, poza zasięgiem wód gruntowych przeważnie charakteryzują się niższą zawartością OM aniżeli gleby cięższe o opadowo - gruntowej gospodarce wodnej. Najwyższą zawartością OM charakteryzują się gleby hydrogeniczne, powstające w środowisku trwałego znacznego uwilgotnienia, jak np.: czarne ziemie lub gleby torfowe. Spośród czynników antropogenicznych wpływających na zawartość materii organicznej w glebie największe znaczenie mają: użytkowanie gruntów (grunt orny, trwałe użytki zielone, lasy), intensywność rolnictwa, stosowany płodozmian i nawożenie organiczne. Spadek zawartości materii organicznej to wyraźny sygnał świadczący o degradacji środowiska i spadku żyzności gleb. Nieracjonalna



gospodarka rolna może prowadzić do spadku zawartości OM jako rezultat stosowania melioracji odwadniających lub przyspieszonej mineralizacji próchnicy na skutek zbyt intensywnej uprawy. Intensywna produkcja roślinna w połączeniu z uproszczeniem płodozmianów oraz dominacją upraw zbożowych może prowadzić do zmniejszenia ilości resztek poźniwnych wchodzących w cykl przemian próchnicy, co w konsekwencji może doprowadzić do spadku jej zawartości w glebie. W ostatnich latach (dekadach) w wielu regionach Unii Europejskiej wzrasta ilość gospodarstw bezinwentarzowych wyspecjalizowanych wyłącznie w produkcji roślinnej. Nie prowadzą one produkcji zwierzęcej, a co za tym idzie pozbawione są dopływu nawozów naturalnych, które są najlepszym źródłem glebowej materii organicznej.

## **FRAKCJE OM**

Glebowa materia organiczna nie jest jednorodną substancją ale mieszaniną wielu związków organicznych o zmiennym składzie i różnych proporcjach poszczególnych składników. Istnieje wiele fizycznych, chemicznych i biologicznych metod służących do wydzielenia poszczególnych składowych OM. Dotychczas, w badaniach nad glebową materią organiczną stosowano następujący podział OM: kwasy huminowe, kwasy fulwowe oraz huminy. Przy frakcjonowaniu OM w laboratoriach stosowano metody: Tiurina; Boratyńskiego i Wilka; Kononowej i Bielczikowej (Kleszczycki et al., 1967). Generalna zasada stosowana przy tych metodach opierała się na rozdzieleniu OM na kwasy fulwowe, huminowe i huminy w oparciu o różną rozpuszczalność tych związków. Kwasy fulwowe rozpuszczają się zarówno w kwasach jak i zasadach, kwasy huminowe jedynie w zasadach, a huminy nie są rozpuszczalne i nie mogą być ekstrahowane ze względu na to, iż są silnie związane z mineralną częścią gleby.

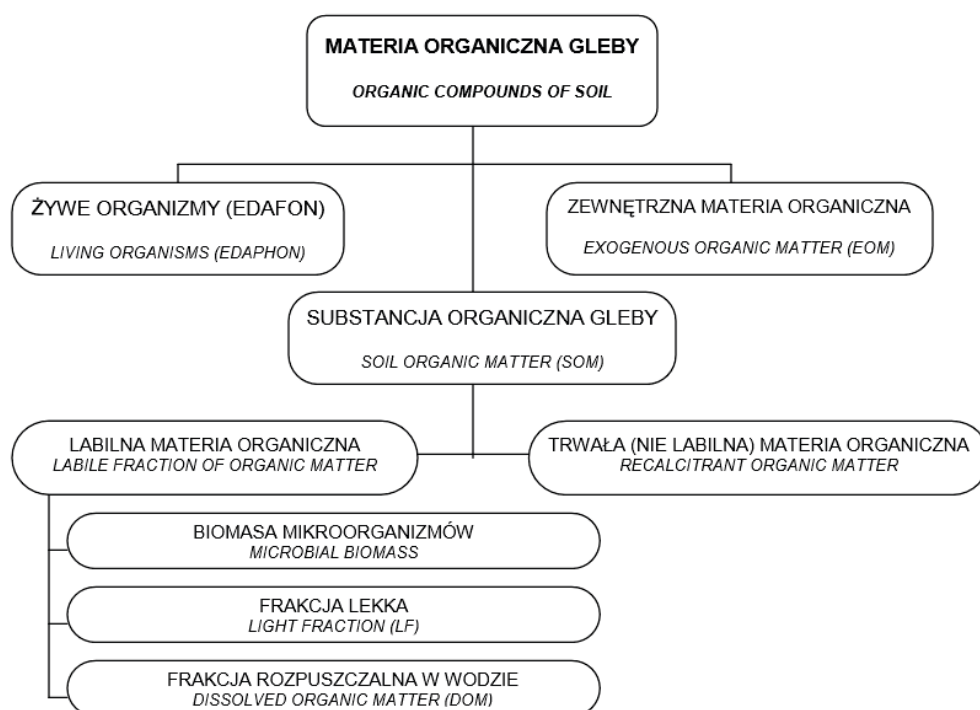
Metody używane obecnie w badaniach nad OM są nakierowane na wydzielenie frakcji labilnej, która jest szybko rozkładana przez mikroorganizmy oraz frakcji stabilnej, która ma wyraźnie dłuższy czas rozkładu. Spośród różnych frakcji OM (labilna, stabilna i trwała) frakcja labilna jak np. biomasa mikroorganizmów oraz frakcja cząsteczkowej materii organicznej ma krótszy czas rozkładu aniżeli ogólna OM i jest bardziej wrażliwa na zmiany sposobu użytkowania (Strosser, 2010). Labilna frakcja materii organicznej reaguje szybko na zmiany w środowisku glebowym i jest uważana za dobry wskaźnik produktywności i kondycji gleby oraz stanowi ważne źródło energii dla mikroorganizmów glebowych.

### **Krótką charakterystyka obecnie wydzielanych w badaniach frakcji OM**

- a) Labilna OM - łatwo reaktywna część materii organicznej, która zapewnia źródło energii i składników pokarmowych dla mikroorganizmów oraz uwalnia część składników pokarmowych potrzebnych roślinom. Jej czas połowicznego rozkładu waha się pomiędzy kilkoma dniami a kilkoma latami. Frakcja labilna bierze udział w krótkoterminowych przemianach materii organicznej w glebie w ciągu roku. Według Haynesa (2000), labilna frakcja OM zawiera: biomasę mikroorganizmów, frakcję lekką (LF) oraz frakcję łatwo rozpuszczalną w wodzie (DOM- Dissolved Organic Matter). Biomasa mikroorganizmów stanowi 1-5% glebowej materii organicznej. Na jej zawartość w glebie, duży wpływ mają czynniki antropogeniczne, włączając w to zanieczyszczenia: pierwiastkami śladowymi, pestycydami i antybiotykami (Voroney et al., 2007). Frakcja lekka (LF) zawiera różne pozostałości roślin, zwierząt oraz mikroorganizmów w różnym stopniu rozkładu. Jest ona definiowana jako część materii organicznej, która jest zawieszona w roztworze o gęstości

1,6-2,0 g/cm<sup>-3</sup>. Frakcja lekka może stanowić około 8% całkowitego węgla organicznego w glebie oraz około 5% azotu całkowitego (Gregorich i Beare, 2007). Rozpuszczalna frakcja DOM stanowi najbardziej ruchliwą i najszybciej rozkładającą się frakcję materii organicznej, która stanowi pierwsze źródło energii dla mikroorganizmów znajdujących się w glebie (Haynes, 2000).

- b) stabilna (trwała) OM – trudno i powoli rozkładająca się część OM. Główna i najważniejsza funkcja tej frakcji to funkcja sorpcyjna dla kationów wymiennych. Trwała OM jest najczęściej wbudowana w agregaty glebowe. Czas jej połowicznego rozkładu wynosi od roku do kilku dekad. W skład trwałej materii organicznej wchodzi ligniny i inne substancje, które są trudno rozkładane przez mikroorganizmy.
- c) nieczynna (wbudowana) materia organiczna- najbardziej nieaktywna i najmniej ruchliwa część OM, która odpowiada głównie za fizyczne właściwości gleby. Ma niewielką pojemność sorpcyjną. Wbudowana materia organiczna jest fizycznie i chemicznie chroniona przed rozkładem przez mikroorganizmy. Czas jej połowicznego rozkładu wynosi od kilkudziesięciu do kilkuset lat.



**Rysunek 1** Podział materii organicznej (McLauchlan i Hobbie, 2004, zmienione przez Haynes, 2000).

## OZNACZANIE GLEBOWEJ MATERII ORGANICZNEJ

Metody służące do oznaczania OM w badaniach rolniczych zazwyczaj polegają na oznaczeniu zawartości całkowitego węgla organicznego oraz opcjonalnie materii organicznej (w oparciu o zawartość węgla i znane przeliczniki). Dotychczas, najczęściej stosowane metody do oznaczania węgla organicznego to: w Polsce metoda Tiurina, w której węgiel organiczny jest utleniany do CO<sub>2</sub> za pomocą mieszaniny dwuchromianu potasu i kwasu siarkowego. Nadmiar dwuchromianu jest miareczkowany solą Mohra (Ostrowska et al., 1991). W przypadku Czech najszerzej używana jest metoda Walkley- Black'a. Jest ona bardzo podobna do metody Tiurina - używany jest ten sam główny reagent (utleniacz), ale reakcja przebiega w nieco innych warunkach - mieszanina jest podgrzewana przez 45 minut w temperaturze 125 °C (Walkley, 1947). Obecnie metoda suchego spalania w wysokiej temperaturze w analizatorze elementarnym staje się najpopularniejsza w obu krajach. Bardziej zaawansowane badania, zwłaszcza ukierunkowane na badanie wpływu czynników agronomicznych na zmiany zawartości materii organicznej wymagają bardziej skomplikowanych analiz, także charakteryzujących poszczególne frakcje OM.

Jak było powiedziane wcześniej, obecnie w badaniach wyróżnia się frakcję labilną i stabilną materii organicznej. Są one frakcjonowane za pomocą metod chemicznych, fizycznych i biologicznych. Przeważnie, zawartość węgla w jednej frakcji jest oznaczana za pomocą konkretnej metody, a zawartość węgla w drugiej frakcji jest obliczana jako różnica zawartości całkowitego C<sub>org</sub> i zawartości węgla w pierwszej, ekstrahowanej frakcji.

Fizyczne metody oznaczania zawartości różnych frakcji OM wykorzystują różnice w gęstości lub rozmiarze cząstek poszczególnych frakcji. Tymi metodami oznacza się frakcję lekką (LF), która jest oddzielana od reszty OM poprzez flotację.

Metody biologiczne frakcjonowania MO polegają na wykorzystaniu mikroorganizmów do oddzielania węgla labilnego od węgla trwałego. Przyjmuje się, że mikroorganizmy najpierw rozkładają węgiel najbardziej labilny, który jest następnie oznaczany na podstawie pomiaru wydzielanego CO<sub>2</sub> (McLauchlan i Hobbie, 2004).

Metody chemiczne wydzielania frakcji labilnej OM polegają na traktowaniu gleby kwasem, nadmanganianem VII potasu lub na ekstrakcji za pomocą gorącej wody. Stosując te metody zakłada się, że jeżeli frakcja labilna jest łatwo rozkładana przez mikroorganizmy glebowe, to tak samo łatwo może być rozkładana przez wymienione związki chemiczne i gorącą wodę (McLauchlan i Hobbie, 2004). Zawartość węgla we frakcji ekstrahowanej gorącą wodą wskazuje na ilość w glebie materii organicznej, która ulega łatwemu rozkładowi. Znając zawartość węgla we frakcji labilnej i nielabilnej, można obliczyć wskaźnik labilności, który jest ilorazem tych dwóch frakcji (Cieścińska, 2007). Węgiel labilny jest jednym z elementów potrzebnych do obliczenia wskaźnika zagospodarowania węgla (CMI). Przy obliczaniu tego wskaźnika uwzględnia się stosunek zasobów węgla w glebie badanej oraz porównawczej oraz wskaźnik labilności (LI) tych próbek. Wskaźnik ten jest m. in. przydatny do porównania zmian, które zachodzą w zawartości węgla labilnego i ogólnego na skutek praktyki rolniczej.

## WYNIKI DOŚWIADCZEŃ WAZONOWYCH I POŁOWYCH

Stosowanie większości testowanych w projekcie doglebowych dodatków organicznych powoduje wzrost zawartości węgla organicznego, nawet w przypadku dawek stosowanych w doświadczeniach polowych. Dawki dodatków (EOM'ów) nie przekraczały ekwiwalentu 200 kg N/ha wnoszonego do gleby. Wszystkie testowane dodatki spowodowały łagodny liniowy wzrost zawartości węgla w glebie wraz ze wzrostem dawki EOM'u (Wykres 1). Oznacza to, iż te dodatki organiczne mogą być znaczącym źródłem węgla wprowadzanego do gleby w warunkach braku nawozów naturalnych, jeśli tylko nie powodują pogorszenia innych właściwości gleby i jej nie zanieczyszczają.

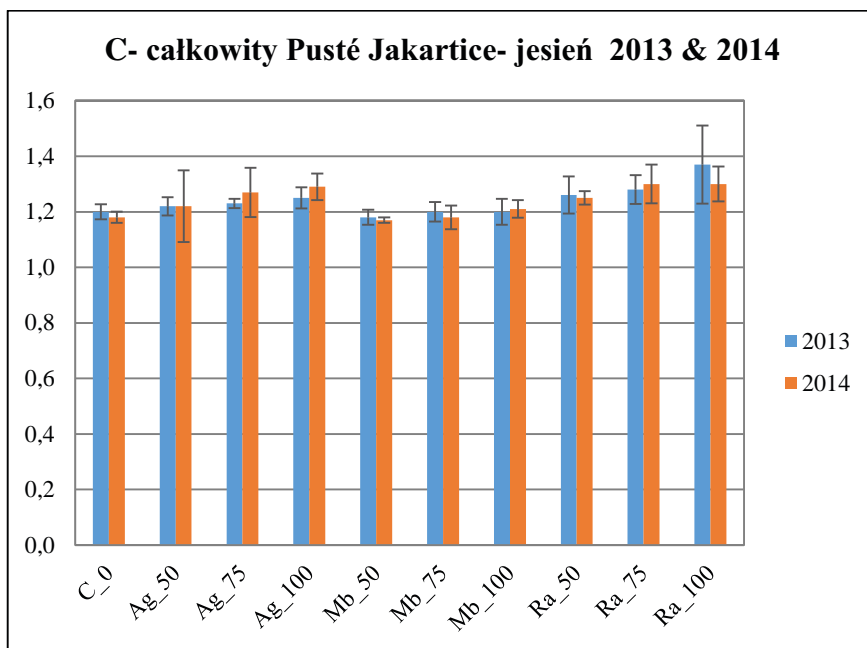
Oczywiście największego wzrostu zawartości węgla oczekuje się, gdy aplikowane są dodatki takie jak kompost. Komposty dostarczają dużo większą ilość węgla organicznego w porównaniu do takich materiałów jak np. mączka mięsno - kostna. Zwierzęce produkty uboczne zawierają natomiast relatywnie dużo azotu i fosforu, dlatego też powinny być ustalone górne limity ich dawek. Z tego powodu, odpady zwierzęce oparte na mączce mięsno - kostnej mogą być raczej zaliczone do środków poprawiających właściwości gleby (kondycjonujących glebę) aniżeli jako źródło glebowej materii organicznej.

Wykres 2, przedstawia wpływ testowanych dodatków, stosowanych w obydwu doświadczeniach polowych na ilość węgla organicznego w glebie. Najwyższe dawki dodatków spowodowały wzrost zawartości węgla już w pierwszym roku stosowania, bez względu na lokalizację doświadczenia. Akumulacja węgla na poletkach nawożonych mączką mięsno - kostną może być procesem dłuższym z powodu małej dawki dodatku, wyliczonej na podstawie zawartości N oraz relatywnie małej zawartości węgla organicznego w tym materiale.

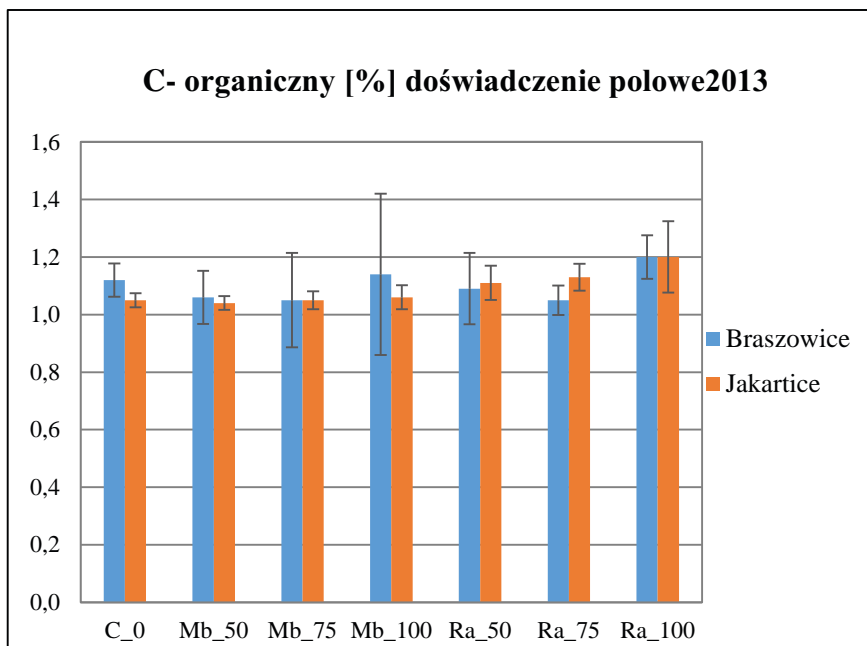
Stosowanie egzogennej materii organicznej do gleby nie wpływa znacząco na stabilność endogennego węgla organicznego znajdującego się w glebie, w porównaniu z poletkami kontrolnymi, nawożonymi jedynie mineralnym nawozem azotowym. Jest to pozytywny efekt świadczący o braku negatywnego działania testowanych dodatków organicznych na naturalny cykl przemian OM (Wykres 3).

Zarówno w doświadczeniach polowych jak i wazonowym, nie stwierdzono znaczących zmian w zawartości frakcji labilnej węgla organicznego na skutek aplikacji dodatków. Udział frakcji labilnej nie był także zależny od zastosowanej dawki dodatku (Wykres 4).

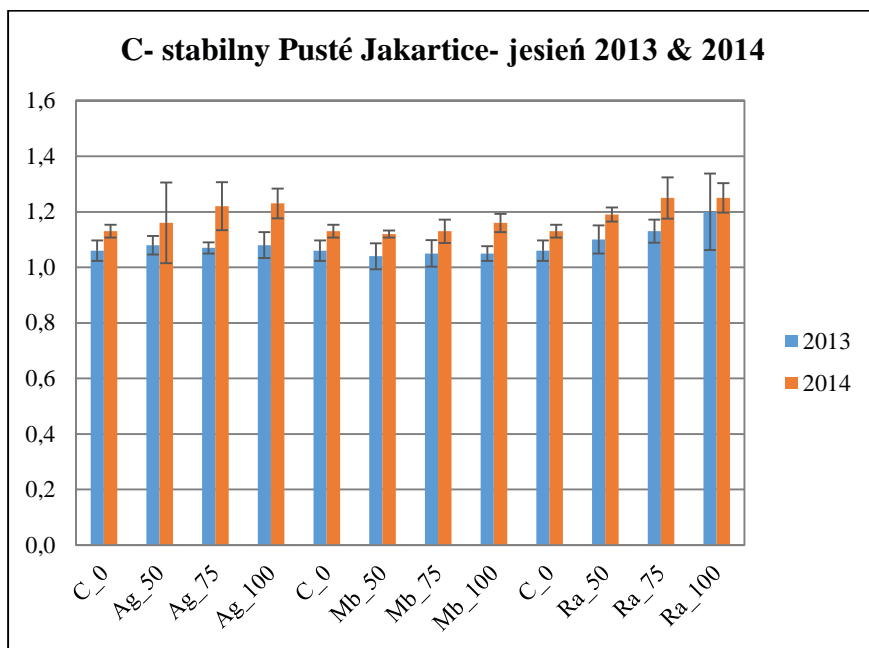
Nie stwierdzono wpływu dodatku odpadów zwierzęcych, kompostu oraz nawet pofermentu na zawartość węgla labilnego. Spodziewano się, iż dodatek pofermentu zawierającego znaczną część azotu i węgla w formie łatwo dostępnej i mobilnej wpłynie znacząco na zawartość węgla labilnego. Analizy frakcji węgla organicznego w glebie wykazały, iż w krótkiej perspektywie aplikacja dodatków organicznych do gleby nie wpływa znacząco na obieg węgla w glebie, na stabilność węgla, prawdopodobnie nie wpływając również na procesy erozyjne. Jednakże w dłuższej perspektywie czasowej, testowane dodatki organiczne mogą istotnie wzbogacać glebę w węgiel organiczny i poprawiać jej właściwości.



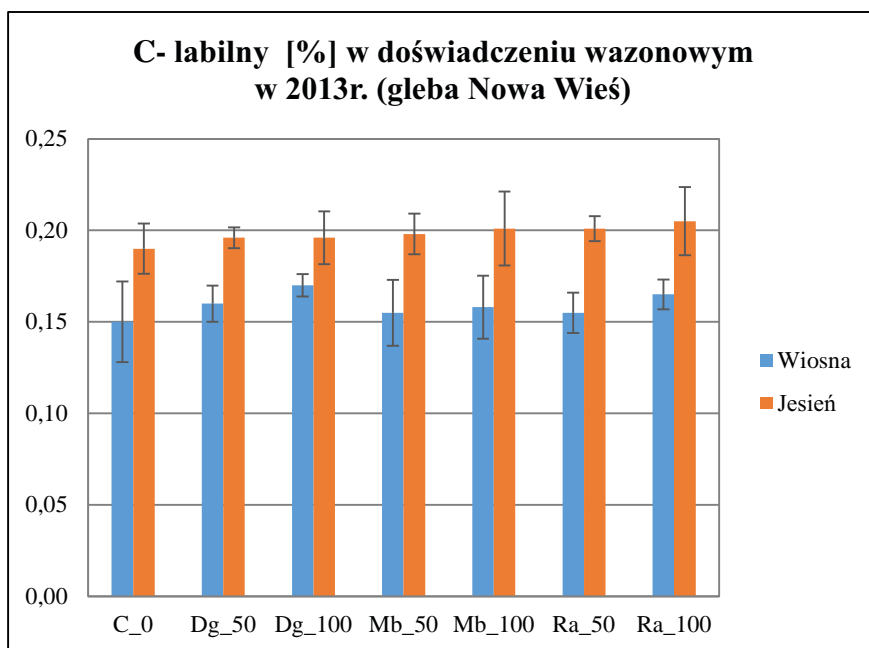
**Wykres 1** Całkowity węgiel organiczny w glebie z doświadczenia w Pustych Jakarticach po aplikacji dodatków organicznych.



**Wykres 2** Zawartość węgla organicznego w doświadczeniach polowych Braszowice i Pusté Jakartice w roku 2013 po aplikacji egzogennej materii organicznej.



**Wykres 3** Frakcja stabilna węgla organicznego w glebie z doświadczenia w Pustych Jakarticach po zastosowaniu dodatków.



**Wykres 4** Frakcja labilna węgla organicznego w zależności od typu i dawki dodatku oraz czasu pobrania próbki.

## LITERATURA

- Bieńkowski J, Jankowiak J (2006) Zawartość węgla organicznego w glebie i jego zmiany pod wpływem różnych systemów produkcji. *Fragm Agron* 2:216-225.
- Gregorich EG, Beare MH (2007) Physically Uncomplexed Organic Matter. In: Gregorich E (ed) *Soil sampling and methods of analysis*. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL, USA, pp 607-615.
- Guo LB, Gifford RM (2002) Soil carbon stocks and land use change. *Glob Change Biol* 8:345-360.
- Haynes R J (2000) Labile organic matter as an indicator of organic matter quality in arable and pastoral soils in New Zealand. *Soil Biol Biochem* 32:211-219.
- Houghton J, Ding Y (2001) Climate change 2001: The scientific basis: Contribution of working group I to the third assessment report of the intergovernmental panel on climate change.
- Kleszczycki A, Kozakiewicz A, Łakomiec I (1967) Porównanie metod stosowanych w badaniach próchnicy gleb mineralnych. *Rocz Gleb* 17:229-24.
- Krasowicz S, Oleszek W, Horabik J, Dębicki R, Jankowiak J, Stuczynski T, Jadczyński J (2011) Racjonalne gospodarowanie środowiskiem glebowym Polski. *Polish Journal of Agronomy* 7:43-58.
- Lal R (2009) Challenges and opportunities in soil organic matter research. *Euro J Soil Sci* 60:158-169.
- McLauchlan KK, Hobbie SE (2004) Comparison of labile soil organic matter fractionation techniques. *Soil Sci Soc Am J* 68:1616-1625.
- Ostrowska A, Gawliński S, Szczubiałka Z (1991) *Methods for analyzing and assessing the properties of soil and plants*. Instytut Ochrony Środowiska.
- Strosse E (2010) Methods for determination of labile soil organic matter: An overview. *Journal of Agrobiology* 27:49-60.
- Voroney RP, Brookes PC, Beyaert RP (2007) Soil microbial biomass C, N, P, and S. In: Gregorich E (ed) *Soil sampling and methods of analysis*. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL, USA, pp 637-642.
- Walkley A (1947) A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils-effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Sci* 63:251-264.

## Rozdział 4

# Wpływ egzogennej materii organicznej na chemiczne właściwości gleb

Radosław Kaczyński<sup>1</sup>, Petra Kosubova<sup>2</sup>, Rafał Gałązka<sup>1</sup>, Grzegorz Siebielec<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Polska*

<sup>2</sup>*Centralny Instytut Nadzoru i Badań w Rolnictwie, Brno, Republika Czeska*

### POTENCJALNE MOŻLIWOŚCI APLIKACJI EGZOGENNEJ MATERII ORGANICZNEJ DO GLEB

Ilość próchnicy w glebie odgrywa zasadniczą rolę w kształtowaniu jej żyzności, dlatego powinno się dążyć do utrzymania jej właściwego poziomu. Spadek pogłowia zwierząt gospodarskich przyczynia się do zmniejszenia produkcji obornika i gnojowicy – nawozów, które uważane są za główne źródło odnawialnej glebowej materii organicznej (Wiater, 2000; 2001). W związku z tym, zasadne wydają się poszukiwania innych jej źródeł, które przyczynią się do zwiększenia lub przynajmniej utrzymania żyzności i produktywności gleb.

Praktycznie istnieją trzy sposoby regulacji ilości materii organicznej w glebie:

- zrównoważony płodozmian
- stosowanie nawozów organicznych i naturalnych
- nawożenie mineralne i właściwa uprawa

Wśród praktyk, które poprawiają żyzność gleby lub wzbogacają ją w materię organiczną, można wyróżnić: właściwy płodozmian, międzyplony oraz poplony. W przypadku uprawy tej samej rośliny na tym samym polu w monokulturze, poziom składników odżywczych oraz materii organicznej będzie się stopniowo zmniejszał. W wyniku ciągłego ubytku tych samych składników, żyzność gleby może się zmniejszyć. Jeśli więc, te same składniki są pobierane co roku przez rośliny, ich ilość w glebie może stać się niewystarczająca. Płodozmian oznacza system uprawy, w którym gatunek rośliny uprawiany na danym polu jest planowo zmieniany. Różne gatunki roślin zarówno pobierają z gleby jak również zwracają pewne ilości składników odżywczych do gleby. System korzeniowy każdej uprawianej rośliny sięga innej głębokości i z takiej głębokości pobierane są składniki odżywcze oraz woda a także pozostają na niej resztki pożywno. Celem płodozmianu jest taka uprawa, która powoduje pobieranie różnych ilości składników odżywczych i pozostawia po sobie żyzną i zdrową, pozbawioną patogenów glebę. Do istotnych zasad planowania płodozmianu należą:

- Uprawa roślin strączkowych w celu zwiększenia ilości azotu. Strączkowe to rośliny takie jak np. groch i fasola.
- Uprawa roślin liściastych wraz z łodygami i liśćmi przyczynia się do zwiększenia ilości materii organicznej.
- W przypadku uprawy roślin głęboko ukorzeniających się po roślinach płytko ukorzeniających się, pobór składników odżywczych następuje z różnych poziomów profilu glebowego.



Płodozmian służy również ochronie przeciw nadmiernemu nagromadzeniu się szkodników oraz patogenów roślin. Sukcesywna uprawa roślin z innych rodzin na tym samym polu pomaga utrzymać glebę w stanie wolnym od organizmów chorobotwórczych.

Uprawa poplonów oraz stosowanie nawozów zielonych mają ogromne znaczenie dla ochrony jakości gleby i poziomu OM. Takie zabiegi powinny być stosowane przez wszystkie gospodarstwa, zwłaszcza przez rolników posiadających uprawy na glebach piaszczystych, narażonych na ryzyko erozji, oraz nie prowadzących hodowli zwierząt gospodarskich i w związku z tym nie stosujących obornika bądź gnojowicy. Odpowiedni dobór roślin na międzyplon lub poplon może nie tylko zapobiec degradacji gleby ale wzbogacić ją w azot oraz poprawić jej strukturę. Dobry poplon pozostawia po sobie znaczną ilość materii organicznej, która pomaga odbudować zasoby OM. Penetracja gleby przez korzenie roślin poplonu prowadzi do jej spulchnienia i poprawy struktury. Międzyplon poprawia stosunki wodno – powietrzne w glebie, zmniejsza parowanie oraz straty wody a także wzmacnia aktywność mikrobiologiczną, poprawia zdrowotność roślin oraz naturalnie przeciwdziała występowaniu chwastów. Pokrywa roślinna gleby przeciwdziała erozji. Międzyplon pobiera również dużą ilość składników odżywczych z niższych warstw gleby, co zapobiega ich wymywaniu do wód gruntowych. Rozkład resztek roślinnych wzbogaca powierzchniową warstwę gleby. Do uprawy poplonu ścierniskowego powinna zostać wybrana roślina o krótkim okresie wegetacyjnym, szybkorosnąca i produkująca duże ilości zielonej masy, przy małych wymaganiach wodnych podczas kiełkowania i wzrostu. Najbardziej rozpowszechnionymi poplonami są: gorczyca biała, facelia, rzodkiew, łubin, bobik, seradela, słonecznik, groch paszowy, żyto.

Z w/w zabiegów, najważniejsze jest stosowanie nawozów organicznych i pozostawianie resztek poźniwych. W doświadczeniach uprawowych z różnymi roślinami stwierdzono, że uprawa roślin okopowych, przemysłowych i zbóż (w przypadku kiedy słoma jest zbierana z pola), oddziałują negatywnie natomiast trawy wieloletnie i rośliny strączkowe oddziałują pozytywnie na poziom materii organicznej w glebie. Płodozmian z dużym udziałem roślin okopowych pozostawia na polu małą ilość resztek poźniwych z niskim tempem humifikacji, co może prowadzić do zmniejszenia się ilości próchnicy, jeśli nie jest uzupełniana nawożeniem naturalnym. Kompleksowa metoda oceny bilansu materii organicznej, została opracowana w Niemczech w 2004 roku przez Stowarzyszenie Niemieckich Instytutów Rolniczych (VDLUFA). Zalecane wartości dla tej metody w kg  $C_{org}$ , przedstawiono jako górne i dolne wartości. Wartości niższe odnoszą się głównie do gleb dobrych z optymalnym nawożeniem azotowym, natomiast górne wartości odpowiadają glebom, w których występuje długookresowy deficyt próchnicy.

Źródłem próchnicy w glebie mogą być różne materiały organiczne dodawane do niej. Mogą to być naturalne nawozy (obornik, gnojowica) oraz pozostałości poźniwne (słoma), zielone nawozy, kompost, odpady miejskie i przemysłowe (osady ściekowe, pofermenty z biogazowni, niektóre odpady zwierzęce). Materiały te różnią się tempem humifikacji lub zdolnością odtwarzania próchnicy. Egzogenna materia organiczna (EOM) to wszystkie formy materii organicznej stosowane doglebowo, które nie pochodzą z biomasy roślin powstałej na danym polu. Do EOM'ów zalicza się szeroki wachlarz bioodpadów (lub biodegradowalnych odpadów) z różnych źródeł. Roczna produkcja bioodpadów w całej Unii Europejskiej wynosi 1,6 miliarda ton, z których 61% stanowią odpady z hodowli zwierząt, 25% pozostałości roślinne, 7% odpady przemysłowe, 7% odpady komunalne (osady ściekowe, bioodpady, odpady roślinne). Ocenia się,

**Tabela 1** Zmiany zasobów glebowej materii organicznej w  $\text{kg C}_{\text{org}}\text{ha}^{-1}\text{rok}^{-1}$ , dla różnych upraw i nawozów organicznych i naturalnych aplikowanych do gleby (VDLUFA 2004).

Uprawy i nawozy organiczne	$\text{kg C}_{\text{org}} \text{ha}^{-1} \text{rok}^{-1}$	
	Wartość niższa	Wartość wyższa
buraki cukrowe	-760	-1300
ziemniak	-760	-1000
kukurydza	-560	-800
zboża, rośliny oleiste, rośliny włókniste	-280	-400
rośliny strączkowe	160	240
uprawy wieloletnie	600	800
lucerna	200	300
materia organiczna [1t]:	80-110	
Słoma	8	
liście buraczane	34	
obornik świeży	40	
obornik przefermentowany	62	
obornik przekompostowany	8	
gnojowica trzody chlewnej	9	
gnojowica bydła	22	
obornik drobiu	58	
kompost	58	

ze 97% materiałów organicznych wprowadzanych do gleby stanowią obornik i gnojowica, 2% to odpady przemysłowe a 1% stanowią osady ściekowe (Gonet, 2007).

**Obornik** to podstawowy nawóz organiczny. Jest cennym źródłem trwałych i łatwo dostępnych składników odżywczych i mikroelementów, poprawia strukturę gleby oraz jej właściwości fizyczne, pomaga utrzymać stały poziom próchnicy i przeciwdziała jej ubytkowi. Trwale wzbogaca glebę w materię organiczną, co poprawia jej właściwości sorpcyjne oraz stosunki wodno – powietrzne. Stymuluje aktywność biologiczną gleby oraz łagodzi niekorzystny wpływ nawożenia mineralnego, poprzez spowalnianie tempa zakwaszania. Zawartość składników mineralnych w oborniku, zależy między innymi od sposobu jego składowania. Świeży obornik zawiera średnio 25% suchej masy a zawartość składników odżywczych w jego świeżej masie wynosi: 0,5% azotu, 0,25% fosforu ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) i 0,6% potasu ( $\text{K}_2\text{O}$ ) oraz pewną ilość wapnia, magnezu i mikroskładników odżywczych. Zaletą obornika jest długi okres jego oddziaływania. Składniki odżywcze mogą być uwalniane przez kilka lat od momentu jego aplikacji. Najlepsza biodostępność składników nawozowych występuje w drugim roku od momentu jego dodania do gleby. Tylko w glebach piaszczystych mineralizacja obornika przebiega szybciej.

W gospodarstwach, które nie prowadzą produkcji zwierzęcej, obornik może być zastąpiony **słomą**. Jest to również nawóz o wysokiej wartości i stanowi źródło wielu składników odżywczych, makro- i mikroelementów oraz materii organicznej. Jako nawóz, słoma jest często niedoceniana. Jej świeża masa zawiera 0,5 – 0,75% azotu, średnio 0,2% fosforu oraz 1,5% potasu. Średnio, z jednego hektara zbiera się ok. 5 ton słomy zbóż ozimych. Taka ilość to ok. 20 kg azotu, 12 kg fosforu, 62 kg potasu, 7 kg magnezu. Zawartość pierwiastków śladowych jest niska natomiast ładunek siarki to 5 – 8 kg a wapnia 11 – 20 kg. Słoma rzepaku jest jeszcze cenniejsza – 5 ton suchej masy zawiera 4,8 tony materii organicznej. Dojrzała słoma, w porównaniu do innych nawozów organicznych, posiada wysoką zawartość suchej masy – 90% oraz węgla, a także niewielką ilość azotu. Stosunek węgla do azotu wynosi 80 – 100:1, podczas gdy w przefermentowanym oborniku ten stosunek wynosi 15 – 20:1. Ponieważ słoma ta zawiera stosunkowo niewielką ilość azotu, powinna być przyorana (po uprzednim dokładnym

rozdrobnieniu – 75% słomy powinno mieć długość do 10 cm) z dodatkiem azotu. Brak uzupełniającego nawożenia azotowego, może w rezultacie prowadzić do deficytu tego składnika w glebie, przyczynić się do zmniejszenia wzrostu i wydajności plonu. Dodatek azotu przed orką powinien wynosić 6 – 12 kg na każdą tonę słomy. Azot może być dodany w postaci mocznika, azotanu amonu, roztworu RSM, obornika lub gnojowicy (Harasim, 2011).

**Kompost gospodarski** – należy do najlepszych nawozów organicznych używanych w rolnictwie. Jego wartość jest oceniana na podstawie składu surowca użytego do jego produkcji oraz procesu kompostowania. Poza obornikiem, kompost jest głównym nawozem używanym w rolnictwie ekologicznym jako naturalny środek utrzymujący żyzność gleby. Stosowanie kompostu poprawia właściwości fizyko – chemiczne i biologiczne gleby. Systematyczne stosowanie kompostu na glebach lekkich może zwiększyć pojemność sorpcyjną natomiast w glebach ciężkich poprawić ich strukturę. Kompost znacznie wzbogacił glebę w materię organiczną w wielu dotychczas przeprowadzonych doświadczeniach na całym świecie. Stosowanie kompostu zwiększa również aktywność mikrobiologiczną. Do jego produkcji używane są różne surowce roślinne oraz obornik i odpady z przerobu produktów rolniczych. Zawartość składników odżywczych zależy od użytych substratów i waha się w następujących zakresach: 0,75 – 1,5% N, 0,25-0,5% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 0,5-1,0% K<sub>2</sub>O. Poza głównymi makroskładnikami odżywczymi, zawiera też różne ilości innych makro- i mikroelementów oraz, co jest niezmiernie ważne, azot w nim zawarty nie podlega tak szybkim stratom jak ten zawarty w oborniku (Krzysztoforski, 2011).

Kolejną grupę polepszaczy gleb stanowią różnego rodzaju **osady ściekowe oraz komposty komunalne**. Stałe odpady komunalne powstają w gospodarstwach domowych, obiektach handlowych oraz innych miejscach będących pod zarządem komunalnym. Duża część tych odpadów jest biodegradowalna i składa się z odpadów domowych oraz roślinnych, powstających na zieleniach miejskich. Odpady organiczne z terenów miejskich i przemysłowych są ogromnym źródłem materii organicznej i składników odżywczych, jeśli zapewni się ich rozsądne stosowanie w przypadku gdy nie są zanieczyszczone. Idąc za przykładem innych miast w Unii Europejskiej, gdzie uważa się, że dzielnica miasta o liczebności od 60 – 100 tys. mieszkańców może zapewnić materiał do pracy jednej kompostowni, Polska również stara się wykorzystać odpady organiczne do kompostowania. Następujące materiały są stosowane jako surowiec: trawa, liście drzew i krzewów, rozdrobnione gałęzie drzew i krzewów, odpady pochodzenia roślinnego z targów, pozostałości roślinne z miejskich terenów zielonych, klombów i odpady ogrodowe. Materiały te mogą być także mieszane z dodatkiem trocin, pyłów, tytoniu, żywności i surowców niezakwalifikowanych jako pasza, osadem ściekowym (Mazur i Filipek-Mazur, 2001). Badania dotyczące składu chemicznego powstającego z resztek roślinnych w kompostowni w Warszawie, wykazały zróżnicowaną kompozycję chemiczną suchej masy powstającego kompostu. W szeregu badań zawartości makroskładników w przeliczeniu na suchą masę były następujące: 0,9 – 1,8% N; 0,12 – 0,94% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 0,10 – 1,04% K<sub>2</sub>O; 0,43 – 7,7% CaO; 0,36 – 1,41% MgO. Zawartość pierwiastków śladowych nie osiągała nadmiernych poziomów i wynosiła: Zn 92 - 390 mg/kg, Pb 21 - 99 mg/kg, Cu 13 - 80 mg/kg, Cd 0,41 - 1,4 mg/kg, Ni 7 - 28 mg/kg; Cr 2 - 42 mg/kg. Zawartość materii organicznej w suchej masie wahała się w zakresie od 30 - 58% (Wasiak i Mamełka, 1999).

Komunalne osady ściekowe to produkt uboczny oczyszczania ścieków w oczyszczalniach ścieków komunalnych. Taki osad może zostać poddany procesowi recyklingu w poniższych zastosowaniach:

- W rolnictwie rozumianym jako uprawa wszystkich produktów rolnych wchodzących na rynek, włączając w to produkcję pasz dla zwierząt
- Do uprawy roślin używanych następnie do produkcji kompostu
- Do uprawy roślin nieprzeznaczonych do spożycia i przeznaczonych na paszę
- Rekultywacji gleb włączając w to rekultywację na cele rolnicze
- Regulacja gruntów na określone potrzeby wynikające z planów gospodarki odpadami, planów zagospodarowania przestrzennego lub decyzji o warunkach zabudowy i zagospodarowania terenu.

Osady ściekowe mogą być stosowane, jeśli zostały ustabilizowane poprzez poddanie ich obróbce biologicznej, chemicznej, termicznej lub innej w celu zmniejszenia jego podatności na gnienie. Wskazana jest też obróbka osadu w celu możliwie największej redukcji odoru, zwłaszcza jeśli jest stosowany w lecie, w pobliżu osiedli ludzkich i obszarów turystycznych. Muszą też spełniać określone limity zawartości patogenów i zanieczyszczeń (w większości krajów takie regulacje określają jedynie zawartość pierwiastków śladowych).

Wpływ kompostowanych osadów na plon, jest porównywalny z wpływem obornika. Trzyletnie doświadczenie wazonowe przeprowadzone na dwóch glebach o różnej teksturze (Filipek-Mazur, 1997), wykazało, że plon całkowity 6 roślin uprawianych na glebie lekkiej po aplikacji osadów organicznych zwiększył się o 4 – 10 % w porównaniu do nawożenia obornikiem. Większy wzrost plonów odnotowano jedynie w przypadku nawożenia mineralnego (14 – 23% w zależności od dawki nawozu). Na glebach cięższych plony były na ogół wyższe a w stosunku do nawożenia obornikiem, osad z oczyszczania ścieków garbarskich zwiększył plon o 1 – 5%. Średnio, w przypadku obu gleb, obornik i osad ściekowy miały taki sam wpływ. W przypadku gdy kompost zawierał różne dodatki torfu (0 – 20%), plon 6 roślin w trzech latach doświadczenia był 8 – 16% wyższy, przy wzroście 13% w przypadku nawożenia mineralnego.

Najnowsze badania wartości nawozowej wermikompostów (kompostów uzyskiwanych przy udziale dżdżownic) oraz różnych rodzajów materii organicznej, włączając w to osady ściekowe, wykazały korzystny wpływ na plony roślin oraz na skład chemiczny i właściwości gleby. Plon kupkówki (*Dactylis glomerata*) w pierwszym roku po zastosowaniu wermikompostu, wzrósł o 86% a w stosunku do niego nawożenie osadem garbarskim i odpadami komunalnymi wyrażono skutkowało wzrostem plonu o 15 – 18% (Mazu et al., 2000).

**Pofermenty z biogazowni** są materiałem stosunkowo nowym, ale o ciągle wzrastającym znaczeniu. Przefermentowane substancje (nazywane też pulpą pofermentacyjną, osadem z fermentacji, produktem fermentacji lub po prostu pofermentem) są drugim po metanie produktem procesu fermentacji metanowej. W procesie fermentacji substratów, niezależnie od ich rodzaju, zachodzą następujące procesy: zmniejszenie zawartości materii organicznej, zwiększenie zawartości części mineralnej w odniesieniu do suchej masy, całkowita lub częściowa higienizacja oraz rozkład związków zapachowych. W zależności od czynników wymienionych powyżej, rozkład pochłania zwykle 30 – 60% materii organicznej zawartej w substracie. Ocenia się, że z ok. 80% suchej materii organicznej powstaje biogaz, 10% jest przekształcane w związki rozpuszczalne i przechodzi do pofermentu, natomiast pozostałe 10% jest przekształcane w inne związki – kwasy humusowe. W praktyce przyjmuje się, że roczna produkcja pofermentu, wynosi 85% ilości użytych substratów. W procesie fermentacji metanowej, znaczna część węgla (C),

wodoru (H), i tlenu (O), jest usuwana z przefermentowanej materii. Te pierwiastki służą jako składniki biogazu – metanu (CH<sub>4</sub>) oraz dwutlenku węgla (CO<sub>2</sub>), a pierwiastki biogenne: azot (N), fosfor (P) oraz potas (K) określają przydatność pofermentu jako nawozu. Należy również zauważyć, że w pofermencie azot występuje głównie w formie amonowej, bezpośrednio dostępnej dla roślin. W przypadku najbardziej powszechnych substratów takich jak obornik i kiszonki kukurydzy, zawartość azotu w pofermencie wynosiła 5,4 kg/t<sup>-1</sup>, fosforu 2,1 - 5,4 kg/t<sup>-1</sup>, potasu 5,4 - 6,7 kg/t<sup>-1</sup>. Dostępność składników pokarmowych dla roślin jest podobna do pobierania składników zawartych w nawozach mineralnych, ponieważ związki N, P i K są łatwo dostępne dla roślin. Dotyczy to głównie azotu, ponieważ jego forma amonowa (NH<sub>4</sub>-N), stanowi nawet 80% całkowitej jego zawartości (azot całkowity = azot zawarty w związkach organicznych + N-NH<sub>4</sub> + N-NO<sub>3</sub>). Dla porównania, w oborniku ten udział wynosi ok. 10 – 15%. Wysoki udział azotu amonowego w pofermencie ma swoje dobre strony: w takiej formie jest łatwo przyswajalny dla roślin i może być natychmiast wbudowywany w strukturę związków organicznych roślin i co ma szybszy wpływ na plon w porównaniu do obornika, który najpierw musi przejść mineralizację, zanim azot w nim zawarty stanie się dostępny dla roślin. Wysoka zawartość azotu amonowego może ograniczać również eutrofizację wód, która stanowi obecnie duży problem środowiskowy. Amonowa forma azotu może być sorbowana wymiennie przez glebę i jest znacznie mniej podatna na wymywanie do wód gruntowych niż azotany. Poferment zawiera też dużą ilość materii organicznej, która wpływa pozytywnie na właściwości fizykochemiczne gleby, podobnie jak naturalne nawozy organiczne (Gołębiewski, 2014).

**Tabela 2** Niektóre właściwości chemiczne pofermentu z biogazowni niemieckich (Dohler, 2007).

Substrat(y)	Proporcje substratów	Zawartość suchej masy [%]	Zawartość składników pokarmowych [kg m <sup>3</sup> świeżej masy]			
			Ncałkowity	N - NH <sub>4</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
kukurydza (35% sm) + gnojowica bydlęca (8% sm)	70/30	9,0	5,8	3,8	2,3	9,1
kukurydza (35% sm) + gnojowica trzody chlewnej (6% sm)	40/60	6,3	5,5	3,6	2,6	5,2
kukurydza (35% sm) + kiszonka z żyta (29,4% sm)	80/20	10,9	7,0	4,6	2,8	11,1
kukurydza (35% sm) + gnojowica trzody chlewnej (6% sm) + ziarno pszenicy (86,6% sm)	85/10/5	10,5	7,5	4,9	3,6	10,1
kukurydza (35% sm) + gnojowica bydlęca (8% sm) + sianokiszonka (25,0% sm)	40/55/5	7,5	5,5	3,6	2,1	8,1
Gnojowica bydlęca (8% sm)	100	5,1	5,0	3,3	1,8	6,5

Skład chemiczny pofermentu zależy od rodzaju substratów użytych w procesie fermentacji metanowej. Można stwierdzić z całą pewnością, że jeśli w procesie fermentacji użyto typowych substratów takich jak: obornik, obornik i kukurydza lub produktów ubocznych z przemysłu rolno spożywczego (odpady z gorzelnii, serwatki, wysłodki z buraków cukrowych), pochodzących z produkcji rolniczej, poferment jest bezpiecznym i cennym nawozem.

Dotychczas w Polsce ze względu na małą ilość biogazowni (pierwsza została otwarta w 2005 roku), poferment stosowany był na niewielką skalę. Pomimo przeprowadzenia pierwszych doświadczeń dotyczących jego użycia jako nawozu, brak jest jednak eksperymentów wieloletnich. Jednym z pierwszych badań nad wartością nawozową pofermentu, były badania przeprowadzone na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu i SGGW. Według Szymańskiej (2011), poferment stanowi bardzo dobry nawóz. Przebadano jego wpływ na plon i skład chemiczny roślin (kukurydza, gorczyca, rzepak, trawa). Po zastosowaniu pofermentu, uzyskano znacząco wyższe plony.

**Tabela 3** Wpływ nawożenia na plon tymotki w doświadczeniu wazonowym (Szymańska, 2011).

Typ nawozu	Plon
Poferment (gnojowica + słoma kukurydziana)	31,6
Poferment (gnojowica + Kolby kukurydziane)	27,9
Poferment (gnojowica + gliceryna)	4,4
Poferment (100 % gnojowica)	20,1
Gnojowica trzody chlewnej	21,0
Saletra amonowa	19,9
Nawożenie mineralne NPK (12,11,18)	18,9
Kontrola	15,8

Pozytywny wpływ pofermentu, zależy też, między innymi, od rodzaju gleby. Na glebach piaszczystych i kwaśnych jest on silniejszy. W takich przypadkach plon był nawet o 75% wyższy niż na kontroli (gleba nawożona mineralnie). W przypadku gleb wapnowanych z wysokim pH, wzrost plonu nie był tak wysoki ale ciągle znaczący. Doświadczenia wykazały też większą wartość nawozową w stosunku do surowej gnojowicy – 20% wzrost plonu. Przeprowadzono również dwa doświadczenia w Czechach, mające na celu ocenę potencjalnych możliwości zastąpienia pofermentem nawożenia mineralnego w uprawie warzyw. Doświadczenie wykazało brak statystycznie istotnej różnicy w plonach roślin nawożonych pofermentem (równoważna dawka azotu) w porównaniu do nawożenia mineralnego. Dodatkową korzyścią był jednak fakt wzbogacenia gleby w materię organiczną poprzez dodatek pofermentu, oraz niższa zawartość azotanów w bulwach kalarepy (Kouřimská et al., 2012; Losek et al., 2014).

Spśród innych materiałów organicznych, w tym odpadów, które potencjalnie mogą być użyte jako źródło glebowej materii organicznej, wartymi odnotowania są:

- podłoża do uprawy grzybów,
- mączki kostno – mięsne,
- odpady rolnicze i z przemysłu spożywczego,
- odpady z przecierów i wywarów,
- osady denne,
- odpady leśne.

Należy wspomnieć, że stosowanie dodatków organicznych do gleby jest regulowane prawodawstwem krajowym i europejskim. Odpady organiczne zatwierdzone do użycia rolniczego, muszą spełnić standardy dotyczące zawartości zanieczyszczeń (zanieczyszczenie mikrobiologiczne, zawartość metali i pierwiastków śladowych), o ile nie są prawnie zwolnione z tego wymogu. Dodatki zarejestrowane jako nawozy lub polepszacze gleby, muszą być też przebadane pod względem właściwości chemicznych, fizycznych i biologicznych oraz uzyskać

właściwe certyfikaty stwierdzające ich pozytywny wpływ na glebę i rośliny oraz brak negatywnego oddziaływania na środowisko i człowieka. Dodatkowo muszą spełniać minimalne wymagania dotyczące zawartości składników odżywczych.

### **Potencjalna ilość nawozów organicznych w Polsce i Czechach**

Żyzność gleby definiowana jest jako jej zdolność do zapewnienia optymalnych warunków (składników odżywczych, wody, powietrza) dla wzrostu i rozwoju roślin i organizmów glebowych oraz skompensowanie zmian w niej zachodzących. Podstawą żyzności gleby, jest zawartość materii organicznej. W Czechach roczny ubytek niezhumifikowanej materii organicznej wynosi od 4 – 4,5 t/ha<sup>-1</sup>. Ilość ta jest uzupełniana w 50 – 60 % przez pozostawiane na polu resztki poźniwne, natomiast pozostałe 40 – 50% musi być uzupełnione w postaci nawożenia organicznego (Škarpa, 2013).

Zgodnie z danymi Czeskiego Urzędu Statystycznego, pogłowie bydła w tym kraju zmniejszyło się o 36,5% a trzody chlewnej nawet o 60,3% (bydło w 1994: 2 161 438, 2014: 1 373 560; trzoda chlewna: 1994: 4 070 898, 2014: 1 617 061) przez ostatnie 20 lat (porównując lata 1994 i 2014). Zanotowana tendencja spadkowa pogłowia zwierząt ma negatywny wpływ na niską produkcję obornika w przeliczeniu na sztukę bydła lub trzody chlewnej, a tym samym przekłada się to na niski wkład materii organicznej i składników pokarmowych z tych nawozów na jednostkę powierzchni. Spadek produkcji bydła wpływa też na zmianę struktury produkcji roślinnej na glebach rolniczych. Brak uprawy wieloletnich roślin pastewnych, prowadzi do zmniejszenia ilości związków organicznych dostarczanych do gleby z resztkami poźniwnymi. Kolejną konsekwencją takiego stanu rzeczy jest negatywny wpływ na płodozmian, gdyż maleje ilość uprawianych gatunków roślin, a możliwości zmianowania są ograniczone.

Obecnie w Czechach tylko około 0,6 – 0,7 tony nawozów organicznych na hektar rocznie jest stosowanych w postaci obornika (po odjęciu strat spowodowanych składowaniem) (Šrefl, 2009). W tej sytuacji koniecznym jest zwrócenie szczególnej uwagi na możliwości wykorzystania właściwych produktów ubocznych i odpadów, jako potencjalnego źródła materii organicznej, jako ważnego czynnika utrzymującego i zwiększającego żyzność gleby. W związku z rosnącą różnorodnością i ilością odpadów organicznych, które mogą być powtórnie wykorzystane a wynikające z bardziej nowoczesnego podejścia do ochrony środowiska i rozwoju technologii umożliwiających ich przetwarzanie, wzrastają też możliwości stosowania materii organicznej do gleb w postaci nawozów organicznych i organiczno – mineralnych, wytworzonych z biodegradowalnych odpadów organicznych, przy użyciu fermentacji tlenowej – kompostowania oraz fermentacji beztlenowej powstałych w procesie produkcji biogazu oraz nawozów organicznych powstałych z różnorodnych odpadów z produkcji żywności, np.: przetworzonych zwierzęcych produktów ubocznych. Trend ten potwierdzają dane z Czeskiego Urzędu Statystycznego o produkcji obornika i nawozów organicznych w latach produkcji rolnej 2006/07 – 2012/13, które pokazują gwałtowny wzrost produkcji nawozów organicznych w Czechach (Tabela 4).

Kompostowanie w Czechach ma długą historię. Kompost jest zdefiniowany jako mieszanina materii organicznej, gleby oraz aktywnej mikroflory glebowej, w której zachodzą procesy humifikacji. Właściwości chemiczne i fizyczne kompostu, są rezultatem użytych substratów (odpadów biodegradowalnych) oraz zastosowanego procesu kompostowania. Głównym celem jego produkcji jest otrzymanie materiału, który zawiera wystarczającą ilość materii organicznej

**Tabela 4** Wykorzystanie obornika i nawozów organicznych do produkcji rolniczej (kg/ha gruntów rolnych)\*  
(źródło: Czeski Urząd Statystyczny).

Rok plonowania	Całkowita ilość obornika	W tym				Nawozy organiczne
		Obornik	Gnojowica	Gnojówka	Inne	
2012/2013	4 873,9	2 655,0	1 165,0	607,1	446,7	741,0
2011/2012	4 851,1	2 706,8	1 147,2	634,4	362,7	476,2
2010/2011	5 025,0	2 807,5	1 246,6	661,7	309,1	362,8
2009/2010	4 903,6	2 825,2	1 226,7	708,5	143,1	282,6
2008/2009	5 179,8	2 951,8	1 281,5	816,7	129,8	153,0
2007/2008	5 255,6	3 015,7	1 203,2	905,5	131,2	87,0
2006/2007	5 356,6	3 172,2	1 114,1	963,1	107,2	87,1

\* - z wyłączeniem produkcji na własne potrzeby

oraz maksymalizacja zużycia różnych odpadów zawierających materię organiczną i składniki odżywcze, które nabierają nowej jakości w procesie kompostowania.

W Czechach, ulegająca biodegradacji frakcja odpadów komunalnych sięga 40% całkowitej ich produkcji. Wg badań, możliwości przerobowe większych kompostowni, to zaledwie 30 – 40% ilości tej frakcji. Chociaż kompost stanowi ważne źródło składników odżywczych oraz materii organicznej, poprawia żyzność gleby oraz chroni przed erozją, jego stosowanie przez rolników, z różnych powodów, nie jest optymalne. Ich stosowanie na szerszą skalę w Czechach napotyka pewne trudności, z których najważniejsze to: niewystarczająca produkcja, trudna dostępność dla rolników, zróżnicowana jakość produktu, duże odległości dostawy, aspekty ekonomiczne jego stosowania. Pomimo tego, stosowanie kompostu na glebach rolniczych wydaje się być bardzo obiecujące.

Wzrost produkcji nawozów organicznych miał miejsce dzięki bezprecedensowemu rozwojowi biogazowni, które jako produkt uboczny fermentacji beztlenowej, wytwarzają resztki pofermentacyjne – poferment, który może być stosowany w rolnictwie jako taki właśnie nawóz. Według informacji Czeskiego Ministerstwa Rolnictwa, w dniu 2013.07.31, istniało tam 487 biogazowni, z których 317 były to biogazownie rolnicze.

Roczna produkcja pofermentu w Czechach jest szacowana na prawie 8 milionów ton, co oznacza, że stanowi to istotny nawóz (Venclová, 2014). Chociaż przez czeskie prawodawstwo pofermenty są definiowane jako nawóz organiczny, eksperci zgadzają się, że ich efekt nawozowy jest raczej bliższy działaniu połączonych nawozów mineralnych (z przeważającą częścią N w formie amonowej oraz w formach organicznych). Stosowanie pofermentu wymaga również uwzględnienia jego właściwości i składu, na który główny wpływ mają substraty z których powstaje, a co za tym idzie, determinuje to jakość (labilność) materii organicznej w nim zawartej. Fermentacja beztlenowa obornika w obszarze intensywnej hodowli zwierząt, wydaje się być jednym z najlepszych sposobów optymalizacji ich wykorzystania. System fermentacji beztlenowej nie tylko pozwala na przetworzenie świeżego obornika ale też biomasy roślinnej i biodegradowalnych odpadów z przetwórstwa rolno – spożywczego, w sposób, który chroni środowisko i tworzy warunki dla zrównoważonego obiegu składników nawozowych i energii pomiędzy sektorem przemysłowym i rolniczym.

Obecnie na rynku w Czechach dostępnych jest prawie 500 różnych nawozów organicznych. Znaczną ich część stanowią komposty (ok. 115), pofermenty (ok. 200) oraz mączki zwierzęce (12). Dodatkowo, występuje duża ilość nawozów organicznych, pochodzących wyłącznie z beztlenowej fermentacji obornika lub pasz w celu produkcji biogazu, do których nie stosuje się



wymogu rejestracji pod warunkiem użytku własnego. Istniejące przepisy nie nakładają obowiązku rejestracji lub zgłoszenia pofermentu powstającego tylko z obornika lub paszy, produkowanego tylko na swój użytek tj. użycia na własnym polu. Z drugiej strony, obowiązkową jest rejestracja wszystkich pofermentów powstających z odpadów (osadów ściekowych, produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego), w tym te, które są stosowane w rolnictwie, co redukuje zagrożenie dla gleby i łańcucha pokarmowego.

Zakres ochrony wód przed zanieczyszczeniami powodowanymi przez azotany pochodzące ze źródeł rolniczych wynikający z Dyrektywy 91/676 /EEC, która została transponowana do ustawodawstwa Czeskiego jako Rozporządzenie No. 262/2012 o wyznaczeniu obszarów zagrożonych i planie działań, pofermenty bez dalszej mechanicznej segregacji są uważane za nawozy o szybkim uwalnianiu azotu. Komposty i części stałe po segregacji są traktowane jako nawozy o powolnym uwalnianiu azotu. Podział ten jest istotny ze względu na możliwość właściwego stosowania nawozów organicznych na terenach zagrożonych zanieczyszczeniem wód przez azotany.

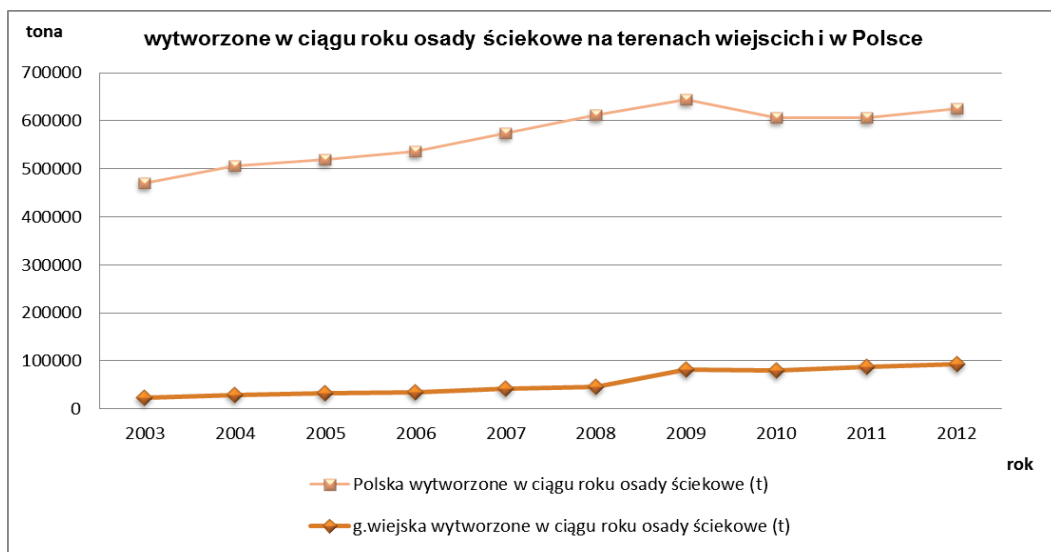
Podstawowymi nawozami organicznymi stosowanymi w Polsce są nawozy naturalne w postaci obornika i gnojowicy. Ich produkcja ze względu na stopniowy spadek pogłowia zwierząt hodowlanych nadal spada. W 2013 roku produkcja obornika w Polsce wynosiła około 80-90 mln ton, co daje około 5-6 ton na hektar użytków rolnych (GUS). Ilość ta nie jest wystarczająca, aby utrzymać równowagę materii organicznej, nawet na stałym poziomie (Kuś i Kopiński, 2012) i dlatego musi być stosowane dodatkowe nawożenie organiczne, na przykład w postaci słomy. Należy również zauważyć, że obsada zwierząt gospodarskich, a tym samym ilość obornika na 1 ha użytków rolnych jest bardzo zróżnicowana w skali kraju.

W Wielkopolsce obsada zwierząt wynosi 1 DJP/ha<sup>-1</sup> użytków rolnych, w województwie podlaskim wynosi 0,8, z kolei w zachodniopomorskim czy dolnośląskim, położonym w części przygranicznej z Czechami to tylko 0,2. Oznacza to, że w skrajnych przypadkach, aby zrekompensować ujemny bilans materii organicznej w gospodarstwach 80% słomy wyprodukowanej przez gospodarstwa powinny być przyorywane, przy braku innych nawozów organicznych (Kuś et al., 2006). Podstawowymi odpadami, które mogą być powszechnie stosowane w rolnictwie są komunalne osady ściekowe. Jak wykazano, 75% osadów ściekowych produkowanych w Polsce spełnia aktualne kryteria jakości chemicznej wymaganej dla osadów stosowanych do nawożenia gleby (dane IUNG). Obecna produkcja komunalnych osadów ściekowych w Polsce wynosi ponad 600 tysięcy ton rocznie (Wykres. 1).

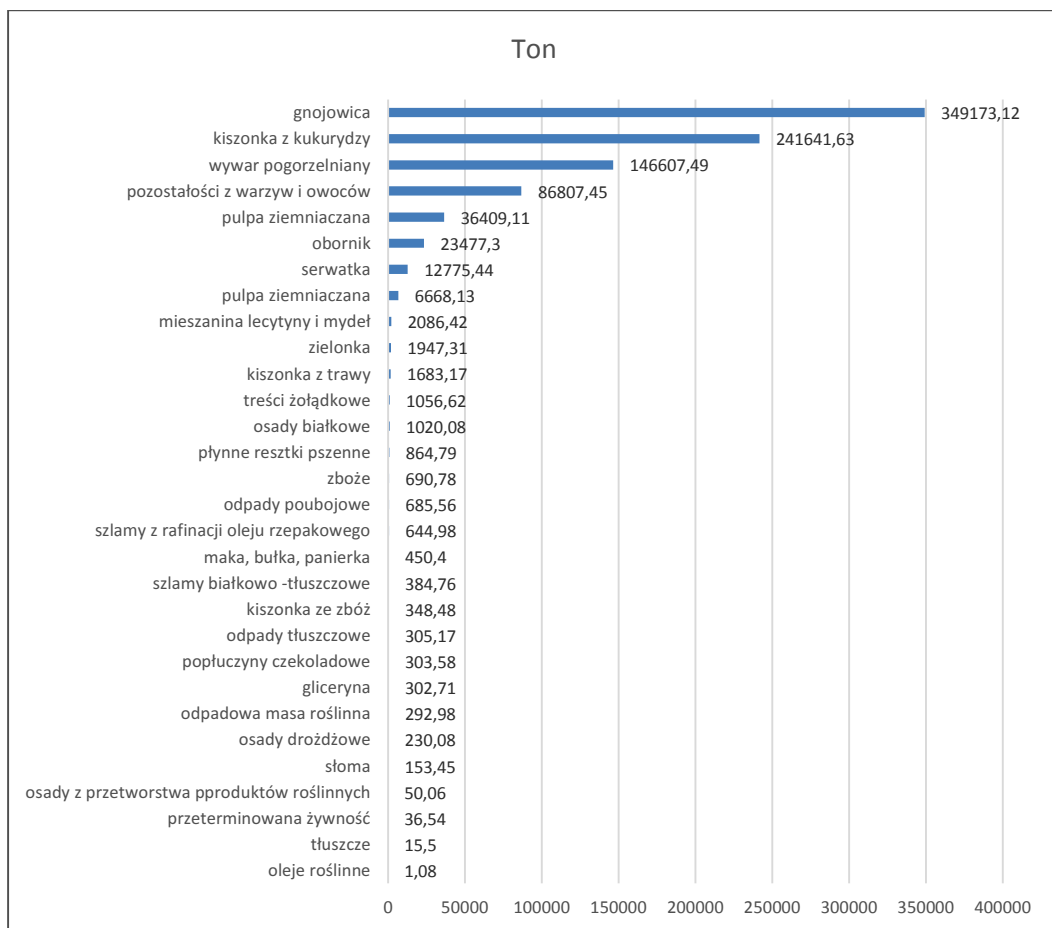
Ilość odpadów z produkcji biogazu w Polsce wzrasta. W Polsce istnieje 254 biogazowni, z czego 58 to biogazownie rolnicze, o łącznej mocy ok.188 MW, 91 biogazowni znajdują się przy składowiskach odpadów, 75 jest podłączonych do oczyszczalni ścieków. Według Urzędu Regulacji Energetyki 58 biogazowni rolniczych jest zarejestrowanych, z których 8 należy do jednego podmiotu. Większość biogazowni rolniczych znajduje się w województwie pomorskim (9 instalacji), zachodniopomorskim (6 instalacji) i lubelskim (5 instalacje).

Przeważającymi substratami dla produkcji biogazu są obornik, kiszonki z kukurydzy i wywary gorzelniane.

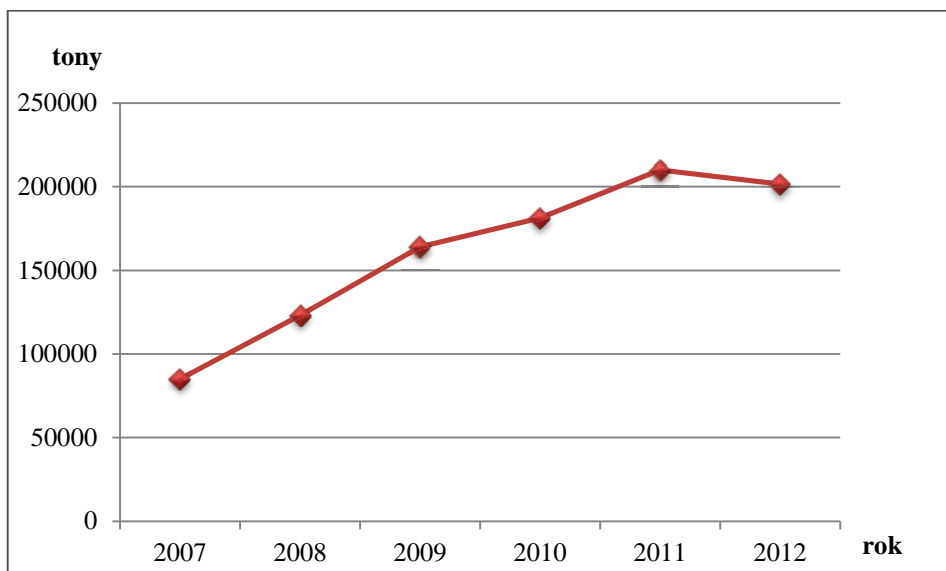
Dodatkowo obserwowany jest wzrost wytwarzanych odpadów biodegradowalnych, które potencjalnie mogą być przetwarzane na kompost do nawożenia gleby lub stosowane bezpośrednio do gleby (Wykres 3).



**Wykres 1** Zmiany w wysokości produkcji osadów powstających w Polsce na podstawie danych GUS.



**Wykres 2** Substraty stosowane w polskich biogazowniach w tonach rocznie (dane z Urzędu Regulacji Energetyki).



**Wykres 3** Zmiany w ilości odpadów biodegradowalnych wytworzonych w Polsce na podstawie danych GUS.

Wśród odpadów organicznych, które są dopuszczone do stosowania zgodnie z metodą odzysku R10 (stosowanie na powierzchni gleby do nawożenia lub ulepszenia) są:

- 02 07 05 (kod odpadów w nawiasie) osady z oczyszczalni ścieków przemysłowych
- 02 01 03 odpady biomasy roślin
- 02 01 99 szlamy z czyszczenia stawów rybackich
- 02 01 06 odchody zwierząt gospodarskich w rozumieniu organizacji hodowli i rozrodzie zwierząt gospodarskich
- 02 01 07 odpady z gospodarki leśnej
- 02 01 99 podłoża pochodzą z upraw grzybów
- 02 03 80 i inne produkty uboczne pulpy z zakładów przetwórczych (z wyłączeniem 02 03 81)
- 02 07 80 miąższ osadów pofermentacyjnych (nie zawierające części mineralnych)
- 20 02 01 odpady ulegające biodegradacji z terenów zielonych
- 19 05 03 materiału po procesie kompostowania
- 19 06 05 ciecze z beztlenowej fermentacji obornika, odpadów roślinnych lub roślin
- 19 06 06 przefermentowane odpady z beztlenowego rozkładu odchodów, roślin i odpadów zwierzęcych.

Ich zastosowanie do nawożenia gleb wymaga zgody wydziału powiatowego ochrony środowiska, po oznaczeniu zawartości zanieczyszczeń w odpadach i próbkach glebowych z pola przeznaczonego do nawożenia odpadem. Pozostałe szczegółowe zasady stosowania odpadów są określone w rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 5 kwietnia 2011 w sprawie procesu odzysku R10.

Ilość odpadów z produkcji pieczarek wynosi 1500 tysięcy ton, stanowiąc znaczący potencjał do nawożenia gleby. Odpady te mogą zawierać około 30% węgla organicznego, 2% azotu i 0,5% fosforu. Odpady z produkcji pieczarek nie są zanieczyszczone pierwiastkami śladowymi, dzięki

czemu istnieje możliwość wykorzystania tego materiału do nawożenia gleb, jako właściwego sposobu jego zagospodarowania.

Brak jest dokładnych danych na temat wielkości krajowej produkcji osadów z oczyszczenia stawów hodowlanych i hodowli ryb. Szacuje się, że ilość osadów z jednego stawu rybnego wynosi 15 t (Zdanowicz, 2011).

Obecna ilość odpadów ulegających biodegradacji z utrzymania terenów zielonych jest na poziomie około 340 tysięcy ton rocznie i nie przewiduje się, aby ta ilość uległa drastycznym zmianom w kolejnych latach (Kucharczak et al., 2010).

Brak jest również danych dotyczących wielkości masy odpadów z przetwórstwa roślin na poziomie krajowym w Polsce, choć wiadomo, że odpady mogą stanowić około 25-35% przetworzonego surowca. Ponieważ są to łatwo ulegające degradacji odpady, więc mogą znaleźć szczególne zastosowanie jako surowiec w produkcji biogazu.

## **RYZIKO ZANIECZYSZCZENIA GLEB ZWIĄZANE Z APLIKACJĄ EGZOGENNEJ MATERII ORGANICZNEJ DO GLEB**

Niektóre pierwiastki śladowe (TE - trace elements) są potencjalnie szkodliwe dla fauny i flory oraz ludzi, jeśli występują w nadmiernych ilościach. Ich występowanie w środowisku glebowym jest wynikiem działania czynników naturalnych i antropogenicznych. Do naturalnych czynników zalicza się: skład mineralny skały macierzystej oraz procesy glebotwórcze. W zależności od klimatu, właściwości gleby oraz właściwości geochemicznych danego pierwiastka, TE podlegają procesom wymywania w głąb profilu glebowego lub akumulacji w warstwie wierzchniej (Alloway 1990; Kabata – Pendias i Pendias, 1999). Spośród czynników antropogenicznych, największy udział w zanieczyszczeniu gleb metalami mają emisje przemysłowe związane głównie z przemysłem górniczym i hutniczym oraz niewłaściwą gospodarką odpadami przemysłowymi (Siebielec et al., 2012). Większość pierwiastków jest niezbędna dla fizjologicznych funkcji roślin i zwierząt. Zgodnie z obecnym stanem wiedzy, tylko kadm, ołów, arsen i rtęć, nie pełnią żadnych funkcji w organizmach żywych (Kabata – Pendias i Pendias, 1999; Chaney et al., 2000). Ale nie tylko te cztery pierwiastki bywają szkodliwe. Inne pierwiastki, występujące w nadmiarze, również mogą mieć działanie toksyczne. Zanieczyszczenie gleb metalami może mieć wpływ na ich przydatność rolniczą i produktywność, właściwości biologiczne oraz jakość produktów rolnych (Siebielec et al., 2012). Gleba może być zanieczyszczona przez dodanie nawozów, zarówno sztucznych jak i organicznych, jeśli zawierają niewłaściwe ilości TE. Nawozy mogą zawierać pewne ilości metali w związku ze swoim pochodzeniem, np.: ich zawartość w nawozach fosforowych zależy od źródła fosforytów. Czasami zawartość kadmu w tych nawozach może być wyższa niż 50 mg/kg<sup>-1</sup> (Wei et al., 2008).

Również materiały organiczne, takie jak obornik, bioodpady, komposty, które są używane jako nawozy, mogą zawierać podwyższone zawartości TE w porównaniu do ich naturalnego poziomu w glebach. Tabela 5 (Wei et al., 2008 za Jackson i Bertsch, 2001; Bolan et al., 2003, 2004) prezentuje zawartość metali w powszechnie stosowanych różnego rodzaju obornikach. Tabela 6 (Smith, 2008) prezentuje zawartość TE (mg/kg<sup>-1</sup>) w kompostach wytworzonych z ręcznie i mechanicznie segregowanych odpadów komunalnych, kompostach organicznych oraz kompostach domowych, w porównaniu do osadów ściekowych stosowanych w rolnictwie oraz do typowej zawartości w glebach.

**Tabela 5** Zawartość metali w powszechnie stosowanych obornikach (mg/kg<sup>-1</sup>) (Wei et al., 2008).

Metale	Trzoda chlewna		Bydło		Drób	
	Zawartość całkowita	Rozpuszczalne w wodzie	Zawartość całkowita	Rozpuszczalne w wodzie	Zawartość całkowita	Rozpuszczalne w wodzie
Cd	0,25	0,07	0,87	0,12	0,10	0,02
As					16,79	15,45
Cu	419	130	356	112,5	656,1	314,1
Pb	13,4	1,26	7,53	0,34	0,74	0,02
Cr	13,2	1,23	11,15	0,98	2,59	0,42
Zn	1210	23,56	765	123	246,9	18,24
Ni	12,3	3,23	8,67	1,23	7,97	5,53
Co					0,68	0,31
Se					0,95	0,38
Mn	865	14,56	274,5	6,46	345	17,65

**Tabela 6** Zawartość metali (mg/kg) w mechanicznie i ręcznie segregowanych odpadach komunalnych, kompoście z odpadów stałych, kompoście z odpadów zielonych, oraz kompoście domowym w porównaniu do osadów ściekowych używanych w rolnictwie oraz typowej zawartości w glebach (wyjaśnienie skrótów pod tabelką) (Smith, 2008).

Typ/źródło <sup>a</sup>	Zn	Cu	Ni	Cd	Pb	Cr	Hg	n	Kraj
2006 - średnia	194	51	16	0,66	114	23	0,19	285	UK
2006 - 90%ile	251	72	23	0,95	160	33	0,37	285	UK
2004	182	46	17	0,60	96	20	0,20		UK
SS (odpady pokarmowe)	38	36	5	0,70	24	<1	nd	1	USA
SS	269	57	23	0,98	90	39	0,45	90-140	Włochy
SS (przemysłowe)	271	114	30	1,76	62	57	0,39	9-31	Włochy
SS średnia	671	149	649	4,00	200	177	nd	4	pld. - wsch. Hiszpania
SS - średnia	159	51	17	0,92	131	22	nd	kilka	UK
SS	176	82	nd	nd	nd	nd	nd		USA
SS	19	4,2	nd	nd	nd	nd	nd		Japonia
SS - średnia	181	50	21	0,42	40	27	0,19	552- 582	Austria
SS - mediana	229	45	12	0,82	69	22	0,15	195	Belgia
SS - średnia	326	110	26	1,07	106	43	0,63	12-27	Francja
SS - średnia	219	89	26	1,38	84	33	nd	127	Włochy
SS - średnia	219	39	16	0,41	49	32	0,12	175	Luksemburg
SS - mediana	181	52	13	0,32	47	27	0,18	179-196	Niemcy
SS - średnia	233	43	19	0,78	78	34	0,33	490	Niemcy
SS - mediana	180	43	nd	0,46	43	nd	0,13	60	Niemcy
SS (odpady pokarmowe + odpady zielone + odpady papierowe, osady ściekowe, odpady drewniane, odpady rybne)	768	312	21	3,10	224	46	0,60	1	Kanada
SS - min	100	32	11	0,47	56	14	0,12	10	UK
SS - max	266	92	20	0,87	162	33	0,34	10	UK
SS - średnia	182	49	16	0,63	96	22	0,22	10	UK
Miejskie odpady stałe - min	300	150	40	2,00	250	80	nd		Włochy
Miejskie odpady stałe - max	600	300	50	4,00	350	100	nd		Włochy
Ręcznie sortowane miejskie odpady stałe	655	236	28	nd	210	21	nd		USA
Odpady warzywne i owocowe	178	55	21	1,00	77	37	0,44	27-78	Włochy
Odpady - biomasa	451	97	25	b5	134	50	nd	4	Włochy
GW CA - średnia	116	40	24	3,90	60	28	<0,5	21-22	UK
GW CA - min	47	20	4	0,70	19	10	<0,5	21-22	UK
GW CA - max	185	69	49	9,10	102	49	<0,5	21-22	UK
GW CA + GW HC - średnia	176	48	27	3,72	163	26	<0,5	9	UK
GW CA + GW HC - min	147	30	16	1,50	103	5	<0,5	9	UK
GW CA + GW HC - max	209	72	36	6,10	233	30	<0,5	9	UK
GW HC+ KW - średnia	130	38	30	3,92	56	27	<0,5	21	UK

Typ/źródło <sup>a</sup>	Zn	Cu	Ni	Cd	Pb	Cr	Hg	n	Kraj
GW HC+ KW - min	43	19	11	0,60	21	11	<0,5	21	UK
GW HC+ KW - max	220	58	64	8,40	109	43	<0,5	21	UK
GW - średnia	470	31	13	<LoD	80	nd	0,15		Belgia
GW - średnia	168	40	21	0,46	38	24	0,14	65	Austria
GW - mediana	169	32	9	0,76	44	17	0,12	229	Belgia
GW - średnia	187	51	22	1,40	87	46	0,52	22-123	Francja
GW - średnia	166	63	23	0,95	72	33	nd	70	Włochy
GW - średnia	164	32	13	0,34	45	24	0,13	57	Luksemburg
GW - mediana	141	37	13	0,28	31	29	0,12	28-86	Niemcy
GW - średnia	168	33	18	0,70	61	27	0,27	490	Niemcy
GW - mediana	205	42	nd	0,71	56	nd	0,16	12	Niemcy
GW+ KW	347	74	10	1,90	356	23	nd	1	Belgia
MS	1650	630	110	6,00	900	220	5,00		Holandia
MS	1000	266	nd	3,70	230	nd	2,00		Niemcy
MS	1000	250	190	7,00	600	270	4,00		Francja
MS	2330	780	90	12,0	1570	nd	nd		Szwajcaria
MS - średnia	583	213	36	3,50	236	72	2,40	5	USA
MS	757	312	56	4,88	607	54	nd	1	UK
MS - średnia (6 - cio letnia)	647	240	52	5,00	750	81	nd		Włochy
MS - min	320	90	15	1,50	79	38	nd	8	USA
MS - max	1147	424	76	4,70	362	186	nd	8	USA
MS - średnia	655	281	34	3,30	234	76	nd	8	USA
MS	1321	451	138	b5,00	687	310	nd	9	Włochy
MS	650	237	328	2,00	235	365	nd		Hiszpania
MS - średnia	382	158	22	1,95	210	113	nd		Włochy
MS	470	110	13	0,69	38	33	0,67		Francja
MS - min	130	25	10	0,22	73	3,7	0,001	16	UK
MS - max	560	306	94	1,87	683	51	0,93	16	UK
MS - mediana	286	91	31	0,41	167	16	0,15	16	UK
MS - min	235	161	18	0,70	64	24	0,10	9	Austria
MS - max	990	500	253	6,10	963	344	4,10	9	Austria
MS - mediana	769	247	149	2,70	224	209	1,30	9	Austria
MS	396	362	nd	1,49	385	nd	nd	3	Hiszpania
MS	411	91	23	1,90	101	nd	nd		Brazylia
MS	212	47	21	0,65	37	nd	nd		Brazylia
MS (AD)	399	159	21	0,72	470	26	0,27		UK
MS - min	390	160	19	<1,0 <sup>b</sup>	120	13	0,33	167	Australia
MS - max	1400	690	65	6,30	410	70	6,60	167	Australia
MS - średnia	680	309	30	1,15	257	20	1,00	167	Australia
MS - 90% ile	834	400	38	1,30	330	24	2,20	167	Australia
MS	583	357	56	4,3	269	56	nd	3	Portugalia
MS	563	224	197	1,16	414	73	0,37	1	UK
MS	148	78	14	0,78	108	11	0,18	1	UK
MS - min	100	24	3	b 0,1	17	8	b0,02	186	Australia
MS - max	1500	320	53	14,0	560	340	3,20	186	Australia
MS - średnia	365	108	22	1,18	197	27	0,32	186	Australia
Kompost domowy - średnia	240	52	18	1,77	124	28	nd	64	UK
Kompost domowy - max	693	177	107	16,0	745	198	nd	64	UK
UK - osady ściekowe - 1996/97									
Robocza średnia ważona <sup>c</sup>	792	568	57	3,30	221	157	2,40		
UK - zawartość w glebie - mediana	97	23	25	0,80	74	41	nd		
Świat - zawartość w glebie - mediana	90	30	50	0,35	35	70	nd		

nd – nie oznaczano

<LoD – poniżej granicy wykrywalności metody

<sup>a</sup> - skróty: SS – segregowane ręcznie (domowo); MS – segregowane mechanicznie; GW – odpad zielony; CA – punkt zbiórki odpadów; HC – odpady bytowe; KW – odpady kuchenne; AD – kompostowanie beztlenowe.

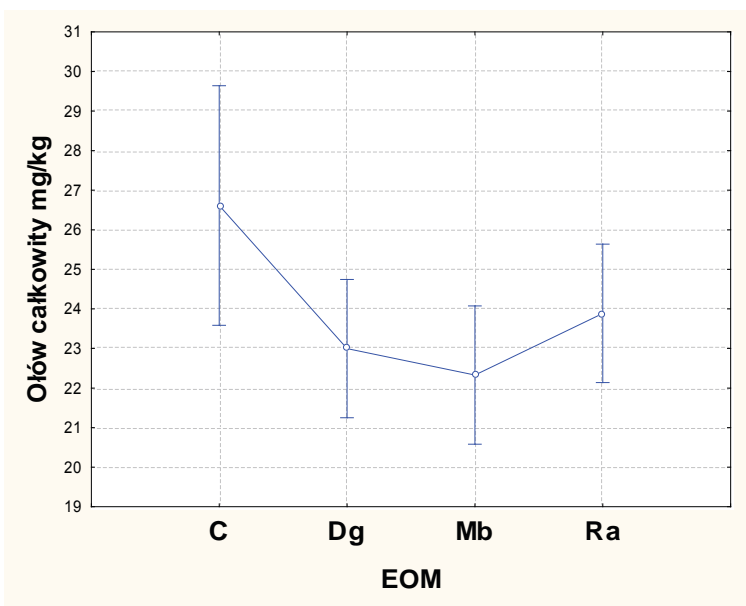
<sup>b</sup> - 90% próbek poniżej granicy wykrywalności - 1,0 mg kg<sup>-1</sup> sm.; <sup>c</sup> – stosowane rolniczo

Szkodliwość metali dla ludzi i innych żywych organizmów znana jest m.in. ze sławnych wypadków zanieczyszczeń rtęcią i kadmem, znanych jako choroby minamata i itai – itai, które miały miejsce w Japonii w latach 50 – tych XX wieku (Wei et al., 2008). Już w II w. pne., grecki botanik Nikander opisał paraliż i kolki spowodowane przez ołów. Trzy wieki później grecki lekarz Dioscorides zaobserwował że w wyniku ekspozycji na działanie ołowiu „umysł ustępuje” (Pearce, 2007). Jednak toksyczność większości pierwiastków jest względna i zależy od ich stężenia oraz właściwości gleby. Z drugiej strony, większość metali w stężeniach naturalnych jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania organizmów roślinnych, zwierzęcych i ludzkich. Nikiel jest niezbędny do utrzymania struktury i funkcji ureazy. Ponadto może zwiększać aktywność katalazy, oksydazy polifenolowej oraz kwasu askorbinowego. Żelazo, miedź, cynk, mangan i molibden są składnikami enzymów, które na poziomie komórkowym odpowiadają za dokończenie reakcji oksydacji – redukcji (Wei et al., 2008). Uważa się, że ilość niektórych pierwiastków śladowych jest niewystarczająca w produkcji roślinnej i diecie człowieka. Spośród wszystkich mikroelementów najpowszechniej notowanym jest deficyt żelaza (Marschner, 1995), który szybko przejawia się na młodych liściach roślin, kiedy zostaje wstrzymana synteza chlorofilu z powodu niskiego jego poziomu. Również deficyty cynku, miedzi i kobaltu poważnie oddziałują na plon (Wei et al., 2008). Z tego powodu nawożenie EOM’ami może być rozpatrywane jako łagodzenie skutków niedoboru metali, lub „przyspieszania” transportu mikrośladników odżywczych do roślin oraz ich jadalnych części.

Egzogenna materia organiczna testowana w projekcie i opisana w rozdziale drugim, została przeanalizowana pod kątem całkowitej zawartości pierwiastków. Przed aplikacją na polu, pobrano próbki, które następnie przeanalizowano na aparacie ICP – MS, po uprzedniej mineralizacji w wodzie królewskiej. Uzyskane wyniki przedstawia Tabela 7, która zawiera również najwyższe dopuszczalne stężenia poszczególnych pierwiastków w Polsce i w Czechach. Wyniki analiz pokazują, że zawartość poszczególnych pierwiastków kształtuje się poniżej dopuszczalnych wartości zarówno w Polsce jak i w Czechach, z wyjątkiem arsenu zawartego w mączce zwierzęcej. Ta sytuacja jest prawdopodobnie związana z akumulacją tego pierwiastka w kościach (Vijayasundaram, 2009).

Również gleba z doświadczeń polowych i wazonowych została przeanalizowana pod kątem zawartości pierwiastków śladowych po zastosowaniu EOM’ów. Procedura analityczna była podobna jak w przypadku próbek egzogennej materii organicznej. Powietrznie suche próbki gleby zostały zmineralizowane przy użyciu wody królewskiej a zawartość pierwiastków, oznaczono na aparacie ICP – MS. Tabele 8, 9, 10 i 11, prezentują całkowitą zawartość metali w porównaniu do polskich i czeskich standardów jakości gleby zdefiniowanych prawnie. Nie stwierdzono istotnych różnic potencjalnie toksycznych TE na poletkach, na których stosowano różne typy i dawki EOM’ów (Wykres 4).

Uzyskane wyniki zawartości TE w glebie z obu doświadczeń polowych (Braszowice, Pusté Jakartice) oraz doświadczeń wazonowych prowadzonych w Puławach w Polsce przez IUNG – PIB w latach 2013 – 2014 pokazują, że dodatek EOM’ów wybranych do przetestowania w Projekcie, nie stwarza zagrożenia dla zanieczyszczenia gleby metalami. Nawet użycie EOM’ów w dwóch kolejnych latach, nie zwiększyło ich całkowitej zawartości w porównaniu z kontrolą.



**Wykres 4** Wpływ nawożenia egzogenną materią organiczną na całkowitą zawartość ołowiu w glebie w Braszowicach przez okres dwóch lat.

Podobna sytuacja została zaobserwowana w obu doświadczeniach wazonowych. Nie ma wzrostu zawartości metali w porównaniu do kontroli. Warto odnotowania jest fakt, że niektóre EOM'y, zwiększyły całkowitą zawartość manganu w glebie, zarówno na polu jak i w wazonach. Jest to szczególnie cenne, ponieważ mangan często jest pierwiastkiem deficytowym, zwłaszcza w glebach piaszczystych.



**Tabela 7** Zawartość metali w egzogennej materii organicznej testowanej w Projekcie.

EOM	Ab	V	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Sr	Mo	Cd	Pb	Na	Mg	Al	K	Ca	Fe	
		mg/kg <sup>-1</sup>																			
Kompost	Ag	7,72	14,63	1304,44	5,05	13,91	99,26	804,50	14,93	1,54	80,13	4,10	0,37	5,65	5882	8618	17763	25541	126054	6216	
Kompost przemysłowy	Ra	30,4	24,63	917,30	5,68	14,57	25,24	186,30	6,94	0,20	45,71	0,84	0,37	12,08	407	4557	19088	10605	10061	16148	
Kompost przemysłowy	Dw	23,44	50,40	1255,98	3,78	18,48	35,24	403,46	5,16	0,44	88,47	1,70	1,25	51,41	691	7179	12933	13312	40111	26480	
Mączka zwierzęca	Mb	17,93	4,53	26,02	0,26	2,17	10,54	106,06	35,35	0,47	49,09	0,77	0,05	0,69	7911	2110	237	5717	84208	1092	
Poferment	Dg	4,74	11,16	204,25	10,18	24,12	32,62	323,17	0,24	0,13	5,31	2,18	1,04	7,04	3708	5054	653	17682	12338	277470	
Poferment	Bp	2,48	5,33	308,50	3,47	16,48	68,66	208,89	0,70	1,63	226,59	5,54	2,40	8,59	6018	6099	1439	71201	29302	2987	
Poferment	Sm	2,38	4,09	181,15	2,36	11,59	120,38	122,00	nd	0,24	46,09	1,18	0,53	2,16	1758	4786	1207	43354	11734	1837	
Najwyższe dopuszczalne zawartości w Polsce			500			300	1000	2500					20	750							
Najwyższe dopuszczalne zawartości w Rep. Czeskiej – nawozy organiczne (sucha masa > 13 %)			100			50	150	600	20			20	2	100							
Najwyższe dopuszczalne zawartości w Rep. Czeskiej – nawozy organiczne (sucha masa < 13 %)			100			50	250	1200	20			20	2	100							
Najwyższe dopuszczalne zawartości w Rep. Czeskiej – zmodyfikowane osady			200			100	500	2500	30				5	200							

**Tabela 8** Zawartość wybranych metali i makroelementów na poletkach doświadczalnych zlokalizowanych w Braszowicach w 2014 w porównaniu do polskich i czeskich dopuszczalnych zawartości.

EOM	Dawka	mg/kg <sup>-1</sup>																					
		Be	V	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Sr	Mo	Cd	Sn	Ba	Pb	Na	Mg	Al	K	Ca	Fe
C	0	0,63	26,31	33,66	502,21	5,95	25,43	9,09	44,18	7,39	0,18	13,74	0,25	0,22	1,05	101,48	30,31	209	2850	21669	3312	2061	18019
Dg	50	0,58	23,64	29,72	486,11	5,68	23,75	8,23	41,62	7,17	0,18	12,96	0,21	0,22	0,92	89,66	21,82	134	2449	17811	2548	1786	16147
Dg	75	0,60	23,27	29,33	527,34	6,09	24,53	8,36	41,47	7,39	0,18	12,71	0,22	0,23	1,11	95,88	22,53	185	2507	17909	2685	1835	16571
Dg	100	0,61	26,44	36,26	567,82	6,36	25,48	8,95	46,23	7,27	0,17	14,07	0,22	0,23	1,00	92,15	22,54	178	2917	20724	3144	2143	19404
Mb	50	0,59	24,23	30,18	508,99	5,91	24,38	8,85	42,88	7,09	0,18	12,37	0,23	0,21	0,92	87,31	21,66	124	2514	17649	2502	1807	16664
Mb	75	0,57	23,82	30,25	542,32	6,10	23,97	8,05	39,84	7,03	0,16	13,60	0,23	0,22	0,92	91,33	21,51	185	2474	17683	2828	1870	16472
Mb	100	0,57	23,78	29,91	537,37	6,15	24,47	8,60	42,56	6,74	0,17	11,69	0,20	0,22	0,89	83,08	21,65	125	2504	16626	2420	1823	16652
Ra	50	0,62	26,23	34,30	531,80	6,21	24,81	8,95	43,39	7,06	0,17	13,89	0,25	0,21	1,01	98,61	21,58	195	2713	20442	3131	1948	17780
Ra	75	0,56	23,82	31,51	544,75	5,88	23,22	9,60	43,59	7,22	0,17	12,51	0,22	0,22	0,91	83,01	24,64	145	2429	17081	2537	1881	16459
Ra	100	0,64	26,63	36,95	559,85	6,59	26,87	9,54	50,59	7,91	0,17	14,51	0,26	0,23	1,07	101,30	27,65	201	2736	20160	3178	1997	17704
Najwyższe dopuszczalne zawartości w Polsce				150		20	100	150	300	20			10	4	20	200	100						
Najwyższe dopuszczalne zawartości w Rep. Czeskiej		7	220	200		50	80	100	200	30			5	1			140						

**Tabela 9** Zawartość wybranych metali i makroelementów na poletkach doświadczalnych zlokalizowanych w Pustych Jakarticach w 2014 w porównaniu do polskich i czeskich dopuszczalnych stężeń.

EOM	Dawka	mg/kg <sup>-1</sup>																					
		Be	V	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Sr	Mo	Cd	Sn	Ba	Pb	Na	Mg	Al	K	Ca	Fe
C	0	0,57	24,76	23,83	586,18	6,01	12,89	9,96	44,59	4,77	0,18	16,22	0,66	0,28	0,63	79,98	18,71	174	2134	15447	2321	2588	16656
Ag	50	0,56	23,78	23,14	567,46	5,85	13,09	9,93	45,09	4,61	0,19	14,87	0,65	0,28	0,79	77,48	18,95	135	2199	15795	2282	2641	17288
Ag	75	0,59	25,10	25,36	577,86	5,76	12,92	9,86	45,92	4,65	0,20	17,32	0,52	0,28	0,66	81,25	18,64	193	2163	16213	2531	2685	16599
Ag	100	0,53	22,88	22,29	543,12	5,41	11,71	9,07	43,85	4,52	0,19	15,89	0,49	0,28	0,59	67,90	18,34	134	1997	14627	2159	2470	15784
Mb	50	0,54	23,04	22,84	536,69	5,41	12,34	9,43	43,90	4,55	0,19	14,55	0,59	0,27	0,58	72,26	17,76	132	2002	14688	2120	2381	15943
Mb	75	0,59	24,13	23,31	555,26	5,59	12,16	9,32	43,48	4,62	0,21	15,91	0,53	0,28	0,81	75,58	37,62	165	2073	15748	2406	2437	16336
Mb	100	0,57	24,10	23,35	558,89	5,61	12,51	9,52	43,98	4,74	0,20	16,27	0,51	0,28	0,62	75,19	19,30	137	2098	15483	2166	2537	16728
Ra	50	0,57	24,09	23,04	577,11	6,00	13,15	10,17	46,29	4,75	0,18	15,92	0,67	0,28	0,61	82,35	19,55	177	2132	15433	2300	2520	16710
Ra	75	0,58	25,04	24,40	575,97	5,61	12,63	9,65	45,85	4,77	0,20	16,61	0,53	0,28	0,64	73,45	18,89	136	2077	15565	2257	2413	16462
Ra	100	0,57	24,34	23,11	559,92	5,61	12,44	9,54	44,04	4,69	0,19	17,00	0,50	0,27	0,67	76,83	18,67	192	2118	15894	2482	2550	16459
Najwyższe dopuszczalne zawartości w Polsce				150		20	100	150	300	20			10	4	20	200	100						
Najwyższe dopuszczalne zawartości w Rep. Czeskiej	7	220	200		50	80	100	200	30				5	1			140						

**Tabela 10** Zawartość wybranych metali w glebie z Nowej Wsi w doświadczeniu wazonowym w 2013.

EOM	Dawka	mg kg <sup>-1</sup>																					
		Be	V	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Sr	Mo	Cd	Sn	Ba	Pb	Na	Mg	Al	K	Ca	Fe
C	0	0,11	13,16	7,95	402,30	2,02	4,58	5,74	43,83	3,94	0,11	10,59	0,33	0,18	0,81	50,60	19,23	83	614	7524	685	906	6395
Dg	50	0,10	13,15	7,85	398,28	2,04	4,64	5,85	38,33	3,97	0,09	10,28	0,28	0,17	0,78	51,46	19,36	83	603	7407	671	826	6349
Dg	100	0,06	13,10	7,75	402,31	2,06	4,73	5,97	38,93	4,00	0,09	10,49	0,25	0,17	0,75	51,64	23,23	92	616	7333	676	836	6395
Mb	50	0,10	13,09	7,76	404,95	2,13	4,61	5,84	37,43	4,04	0,10	10,19	0,32	0,18	0,85	50,94	19,64	89	616	7539	680	896	6497
Mb	100	0,09	13,52	7,97	409,82	2,08	4,59	5,78	38,18	3,89	0,09	11,03	0,26	0,17	0,80	51,44	19,11	98	619	7673	733	898	6392
Ra	50	0,11	13,93	8,21	415,01	2,11	4,87	6,05	39,42	3,97	0,10	11,00	0,31	0,18	0,81	52,51	20,95	84	583	7025	665	815	6005
Ra	100	0,07	12,70	7,76	403,78	2,03	4,68	5,89	37,53	3,98	0,09	9,90	0,25	0,18	0,82	50,76	23,41	82	614	7271	669	827	6432
Najwyższe dopuszczalne zawartości w Polsce				150		20	100	150	300	20			10	4	20	200	100						
Najwyższe dopuszczalne zawartości w Rep. Czeskiej		7	220	200		50	80	100	200	30			5	1			140						

**Tabela 11** Zawartość wybranych metali w glebie z Nowej Wsi w doświadczeniu wazonowym w 2014.

EOM	Dawka	mg kg <sup>-1</sup>																					
		Be	V	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Sr	Mo	Cd	Sn	Ba	Pb	Na	Mg	Al	K	Ca	Fe
C	0	0,46	16,70	11,77	388,41	2,61	7,62	7,74	50,20	5,85	0,23	47,09	0,22	0,16	1,10	55,53	27,61	94	1404	13214	1597	1880	10432
Bp	50	0,26	11,66	6,89	415,44	1,80	5,17	5,87	41,27	4,14	0,16	10,94	0,18	0,15	0,81	53,26	20,09	93	692	8315	754	1011	6745
Bp	100	0,25	11,74	6,91	410,44	1,82	5,01	5,77	40,95	4,11	0,16	11,33	0,16	0,16	0,81	59,04	19,84	102	699	8454	799	1013	6737
Dw	50	0,25	11,31	6,71	411,88	1,84	4,86	5,74	41,14	4,08	0,15	10,52	0,16	0,15	0,89	51,88	20,02	87	680	8068	715	1021	6636
Dw	100	0,28	12,46	8,07	416,79	1,72	5,16	6,07	44,71	4,10	0,15	11,83	0,21	0,15	0,85	60,73	19,82	105	746	8704	885	1204	6973
Sm	50	0,25	11,50	6,83	400,69	1,79	4,79	5,77	40,81	4,02	0,15	10,86	0,17	0,15	0,79	52,65	19,74	93	699	8247	750	1010	6656
Sm	100	0,25	11,76	6,96	421,57	1,92	5,17	10,12	45,44	4,16	0,17	11,47	0,16	0,15	0,89	55,16	20,89	108	718	8546	834	1012	6787
Najwyższe dopuszczalne zawartości w Polsce				150		20	100	150	300	20			10	4	20	200	100						
Najwyższe dopuszczalne zawartości w Rep. Czeskiej		7	220	200		50	80	100	200	30			5	1			140						

Jak wspomniano wcześniej, produkcja i stosowanie kompostów oraz odpadów pofermentacyjnych, ma wiele korzystnych aspektów: zmniejszenie ilości odpadów, poprawa jakości i żyzności gleby (Berner et al., 2004). Z drugiej strony EOM'y mogą zawierać różne zanieczyszczenia organiczne, które wywierają negatywny wpływ na zdrowie zwierząt i ludzi. Zanieczyszczenia metalami w kompostach i odpadach pofermentacyjnych są stosunkowo dobrze poznane, natomiast wiedza nt. zanieczyszczeń organicznych w w/w materiałach jest ograniczona (Lasaridi et al., 2006; Brändli et al., 2007). Jednym z celów projektu były badania nad trwałymi zanieczyszczeniami organicznymi (POP) i innymi przemysłowymi związkami chemicznymi a także ich wpływem na glebę w doświadczeniach polowych. Analiza obejmowała następujące substancje: chloroorganiczne pestycydy (OCP), polichlorowane bifenyle (PCB), polibromowane etery difenyłowe (PBDE), heksabromocyklododekan (HBCD), substancje perfluoroalkilowe (PFAS) i wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). Z wyjątkiem WWA, które powstają w procesie spalania, w/w związki mają różne zastosowania i były szeroko wykorzystywane w przeszłości. Np.: OCP – DDT i lindan wykorzystywano jako środki owadobójcze. Obecnie stosowanie DDT jest ograniczone tylko do przypadków malarii i tyfusu. PCB używano jako chłodziwo i płyny izolacyjne oraz plastyfikatory i płyny hydrauliczne, itp. Z kolei bromowane środki (PBDE, HBCD), używano w produkcji elektroniki, plastików oraz tekstyliów w celu zmniejszenia ich palności. Stosowanie HBCD jest obecnie tymczasowo dozwolone w produkcji pianek izolacyjnych do budynków. PFAS to dość zróżnicowana grupa związków, używanych powszechnie w zróżnicowanych zastosowaniach takich jak: powlekanie, piany gaśnicze, obrazowanie fotograficzne, płyny hydrauliczne, itp. Pomimo że stosowanie OCP, PCB, PBDE HBCD i PFAS zostało globalnie zakazane lub znacznie ograniczone w Konwencji Sztokholmskiej w sprawie POP, zanieczyszczenia te są okresowo wykrywane w różnych matrycach środowiskowych oraz odpadach takich jak: osady ściekowe, bioodpady komunalne, przemysłowe produkty uboczne (Stockholm Convention, 2001). Jeśli te materiały są stosowane jako nawozy, ich użycie powinno być uwarunkowane spełnianiem norm zawartości POP oraz poprzedzone badaniami kontrolnymi.

Ogólnie rzecz biorąc zawartość szkodliwych związków organicznych w badanych EOM'ach wykazała duże zróżnicowanie. Najwyższa zawartość POP została odnotowana w kompoście Dw, zwłaszcza WWA obecne były w wysokim stężeniu, podczas gdy zawartość innych związków była znacząco niższa (Tabela 12). Suma stężeń 16WWA wahała się od 0,10 do 5,71 mg/kg<sup>-1</sup> suchej masy (sm). Struktura zawartości WWA z dominującymi fluorantem i pirenem nie była jednakowa dla wszystkich EOM'ów.

Jak dotąd nie ma przepisów EU podających konkretne wartości graniczne zawartości POP w nawozach organicznych, takich jak komposty i odpady pofermentacyjne. Takie przepisy istnieją w niektórych państwach członkowskich, regulując tę kwestię na poziomie krajowym bądź regionalnym (Tavazzi et al., 2013). Takie ustawodawstwo nie jest jednak wdrażane ani w Polsce ani w Czechach. Wszystkie stosowane EOM'y, z wyjątkiem kompostu Dw, spełniłyby wymagane limity zawarte w ustawodawstwie poszczególnych krajów członkowskich. Przemysłowy kompost Dw, zawierający sumę 16 WWA w stężeniu 5,71 mg/kg sm, nie spełniłby kryteriów w np: Danii, Szwajcarii lub Słowenii. Z drugiej strony wszystkie testowane EOM'y były zgodne z ustawodawstwem Czeskim dotyczącym zawartości POP w osadach i ściekach stosowanych doglebowo (Rozporządzenie No. 257/2009, Rozporządzenie No. 382/2001).

Wszystkie wymienione wcześniej zanieczyszczenia organiczne zostały oznaczone również w próbkach gleby, pochodzących z obu doświadczeń polowych oraz wazonowych w celu

sprawdzenia, czy aplikacja EOM'ów może zwiększyć zawartość POP w glebie. W ramach projektu, przebadano tylko wpływ WWA i DDT, ponieważ zawartość innych szkodliwych związków organicznych była bardzo niska. Żaden z badanych EOM'ów nie zwiększył statystycznie poziomu tła WWA na żadnym poletku lub wazonie (Wykres 5). Równocześnie nie odnotowano, statystycznie istotnego wzrostu poziomu WWA w glebie w ciągu dwóch lat trwania doświadczeń w żadnej lokalizacji (Wykres 6).

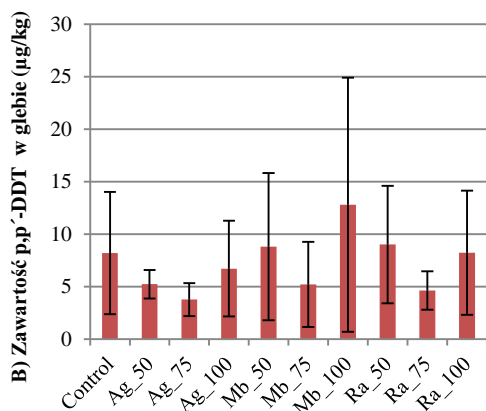
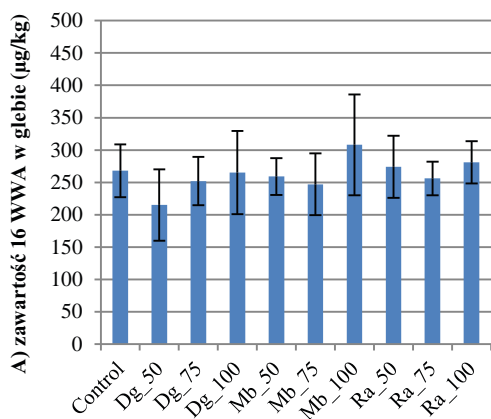
W przypadku DDT, ocena statystyczna oddziaływania EOM'ów była silnie zależna od niskiej zawartości tego związku w glebie oraz od dużej zmienności powtórzeń w obrębie doświadczenia (Wykres 5B), co może być związane z nierównomiernymi opryskami DDT w przeszłości. Gleba z doświadczeń polowych wykazała trzykrotnie większą zmienność pod względem zawartości DDT, niż gleba z doświadczeń wazonowych (Wykres 6B).

W większości przypadków, zawartość zanieczyszczeń organicznych w testowanych EOM'ach, spełniała normy określone przez ustawodawstwo różnych państw członkowskich oraz nie zanotowano wzrostu poziomu ich tła w glebie z doświadczeń polowych i wazonowych.

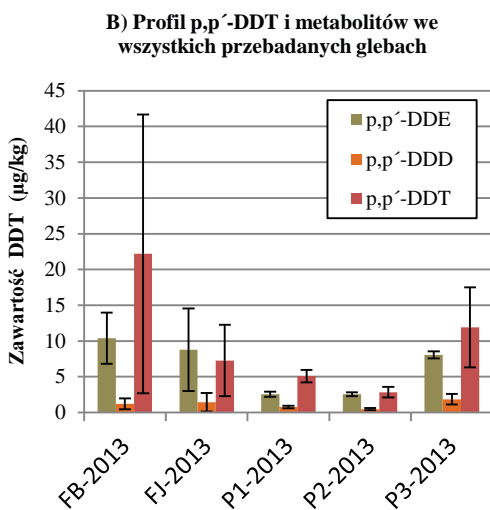
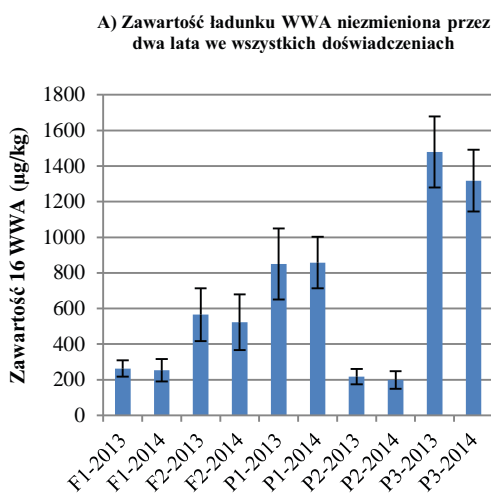
**Tabela 12** Zawartość POP w testowanej egzogennej materii organicznej w porównaniu do dopuszczalnych stężeń w Czechach i UE.

Rodzaj zanieczyszczenia	LOQ	Ag	Ra	Dg	Mb	Sm	Bp	Dw	limit w CZ <sup>1</sup>	Limit w EU <sup>2</sup>
WWA (16EPA)	0,02	1,98	2,64	0,31	0,10	0,36	0,77	5,71	-	3,0-10,0
WWA (12EPA)	0,01	1,91	2,57	0,30	0,09	0,34	0,75	5,56	6,0 (a)	-
PCB (7 kongenerów)	0,004	0,013	0,011	ND	ND	0,005	0,006	0,069	0,2 (a)	0,08-0,8
PCB (6 kongenerów)	0,003	0,013	0,011	ND	ND	0,005	0,006	0,067	0,6 (b)	0,1-1,0
DDT (6 isomerów)	0,003	0,004	0,009	0,021	0,003	0,006	0,018	0,007	0,1 (a)	-
HCH (3 isomerów)	0,002	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-
HCB	0,0005	0,0012	0,0006	<LOQ	0,0008	0,0027	0,0042	0,0017	-	-
PBDE (9 kongenerów)	0,0009	0,0015	<LOQ	ND	ND	ND	ND	0,0011	-	-
HBCB (3 isomerów)	0,002	0,035	0,032	0,002	ND	0,002	ND	0,130	-	-
PFAS (6 kwasów)	0,0006	0,0006	0,0007	<LOQ	ND	<LOQ	0,0014	0,0009	-	0,1

<sup>1</sup>Czeskie limity dla osadów (a) i ścieków (b) w mg kg<sup>-1</sup> sm, <sup>2</sup>Limity poszczególnych państw członkowskich dla kompostów i odpadów pofermentacyjnych w mg kg<sup>-1</sup> sm, ND – nie wykryto, LOQ – granica oznaczalności metody



**Wykres 5** Porównanie zawartości 16 WWA (A) i p,p'-DDT (B) na różnych poletkach w doświadczeniach polowych (po lewej - Braszowice, po prawej Pusté Jakartae).



**Wykres 6** Zawartość WWA (A) i p,p'-DDT (B) w doświadczeniach polowych i wazonowych.



## LITERATURA

- Alloway BJ (1990) Soil processes and behaviour of metals. In: Heavy metals in soils. Blackie and Son Ltd., Glasgow, pp 7-29.
- Berner A, Bieri M, Galli U, Fuchs JG, Mayer J, Schleiss, K (2004) Effects of composts and digestate on the environment, Soil fertility and plant health. Review of the Current Literature. FiBL-Report, The PDF can be downloaded at <http://orgprints.org/2631/>.
- Bolan NS, Khan MA, Donaldson DC, Adriano DC, Matthew C (2003) Distribution and bioavailability of copper in farm effluent. *Sci Total Environ* 309:225-236.
- Bolan NS, Adriano DC, Mahimairaja S (2004) Distribution and bioavailability of trace elements in livestock and poultry manure by-products. *Crit Rev Environ Sci Technol* 34:291-338.
- Brändli RC, Bucheli TD, Kupper T, Furrer R, Stahel WA, Stadelmann FX, Tarradellas J (2007) Organic pollutants in compost and digestate. Part 1. Polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons and molecular markers. *J Environ Monit* 9:456-464.
- Chaney RL, Brown S, Stuczynski T, Daniels WL, Henry CL, Li YM, Siebielec G, Malik M, Angle JS, Ryan JA, Compton H (2000) Risk assessment and remediation of soils contaminated by mining and smelting of lead, zinc and cadmium. *Rev Int Contam Ambient* 16 :175-192.
- Dohler H, Krotzsch S (2007) Faustzahlen Biogas. KTBL, Darmstadt.
- Filipek-Mazur B (1997) Badania nad wartością nawozową osadów organicznych z biologiczno-mechanicznej oczyszczalni ścieków garbarskich po separacji chromu. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie. Rozprawy*, nr 227.
- Fost HL, Ketchum LHJ (2000) Trace metal concentration in durum wheat from application of sewage sludge and commercial fertilizer. *Adv Environ Res* 4:347-355.
- Golebiewski M (2014) Zagospodarowywanie substancji pofermentacyjnej z biogazowni rolniczych. [http://www.bioallians.pl/images/stories/Poferment\\_prbka.pdf](http://www.bioallians.pl/images/stories/Poferment_prbka.pdf).
- Gonet S (2007) Materia organiczna w tematycznej strategii ochrony gleb Unii Europejskiej. *Roczniki Gleboznawcze* 58:15-26.
- Harasim A (2011) Gospodarowanie słomą. IUNG-PIB.
- Jackson BP, Bertsh PB (2001) Determination of arsenic speciation in poultry wastes by IC – ICP – MS. *Environ Sci Technol* 34:4868-4873.
- Kabata - Pendias A, Pendias H (1999) Biogeochemia pierwiastków śladowych. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Korschens M (2004) Humusbilanzierung. Methode zur Beurteilung und Bemessung der Humusversorgung von Ackerland. Standpunkt VDLUFA, Bonn.
- Kourimska L, Poustkova I, Babicka L (2012) The use of digestate as a replacement of mineral fertilizers for vegetable growing. *Scientia Agric Bohemia* 43:121-126.
- Kowalczyk-Jusko A (2014) Masa pofermentacyjna - odpad czy nawóz. Dissertation, Masovian Agricultural Advisory Centre, Radom.
- Krzysztoforski M (2011) Sporządzanie kompostów i biopreparatów. CDR Radom.
- Kucharczak K, Stępień W, Gworek B (2010) Kompostowanie odpadów komunalnych jako metoda odzysku substancji organicznej. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 42:240-254.
- Kus J, Kopinski J (2012) Gospodarowanie Glebową materią organiczną we współczesnym rolnictwie. *Zagadnienia Doradztwa Rolniczego* 68:5-26.
- Kus J, Madej A, Kopinski J (2006) Bilans słomy w ujęciu regionalnym. In: Harasim A (ed) *Regionalne zróżnicowanie produkcji rolniczej w Polsce*. 3th edn. IUNG, pp 211-226.
- Lasaridi K, Protopapa I, Kotsou M, Pilidis G, Manios T, Kyriacou A (2006) Quality assessment of composts in the Greek market: the need for standards and quality assurance. *J Environ Manage* 80: 58-65.
- Losak T, Hlusek J, Zatloukalova A, Musilova L, Vitezova M, Skarpa P, Zlamalova T, Fryc J, Vitez T, Marecek J, Martensson A (2014) Digestate from biogas plants is an attractive alternative to mineral fertilisation of kolhrabi. *JSDEWES* 2:309-318.

- Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher plants, second edition. Academic Press, London.
- Mazur K, Filipek-Mazur B (2001) Wartość nawozowa kompostów i wermikompostów z odpadów roślinnych oraz osadów ścieków przemysłowych i komunalnych. Materiały konferencji nt. „Kompostowanie odpadów – dobry interes czy uciążliwa konieczność?”, Wyd. Zielone Brygady.
- Mazur K, Filipek-Mazur B, Gonddek K (2000) Badania nad wartością nawozową wermikompostów. Skład chemiczny wermikompostów i ich wpływ na plon roślin. *Folia Univers. Agricult. Stetinensis* 211, *Agricultura* 84:289-296.
- Pearce JMS (2007) Burton's line in lead poisoning. *Eur Neurol* 57:118-119.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 5 kwietnia 2011 r. w sprawie procesu odzysku R10.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi.
- Sensi GS, Baldassarre G, Sensi N, Radina B (1999) Trace elements inputs into soils by anthropogenic activities and implications for human health. *Chemosphere* 39:343-377.
- Siebielec G, Smreczak B, Klimkowicz – Pawlas A, Maiszewska – Kordybach B, Terelak H, Koza P, Łysiak M, Gałązka R, Pecio M, Suszek B, Miturski T, Hryńczuk B (2012) Monitoring chemizmu gleb ornych w polsce w latach 2010 – 2012.
- Skanderová K (2014) Postoj ministerstva zemědělství k problematice využívání odpadů v zemědělství. MZe.  
[http://www.zeraagency.eu/dokumenty/008009002001/7\\_skanderova\\_mze.pdf](http://www.zeraagency.eu/dokumenty/008009002001/7_skanderova_mze.pdf)
- Stockholmská úmluva o persistentních organických látkách z 22. května 2001,  
<http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs/tabid/2509/Default.aspx>
- Škarpa P (2013) Výroba a využití organických hnojiv – organické látky.  
[http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/stranka.php?prez=40](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?prez=40).
- Smith SR (2008) A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. *Environ Internat* 35:142-156.
- Šrefl J (2009) Řízená biotechnologie kompostování a úloha sekce kompostárenství CZ BIOM pro její aktivaci. Sborník z konference „Co se zbytkovou biomasou v zemědělství – hnojivo, energie, suroviny? 66 s.
- Szymanska M (2011) Praktyczne aspekty wykorzystania substancji pofermentacyjnej. Dissertation. Kielce.
- The Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutant adopted on 22 May 2001: Accessed 16 March 2015,  
<http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs/tabid/2509/Default.aspx>
- Tavazzi S, Locoro G, Comero S, Sobiecka E, Loos R, Eder P, Saveyn H, Blaha L, Benisek M, Gans O, Hartl W, Voorspoels S, Ghiani M, Umlauf G, Mariani G, Suurkuusk G, Paracchini B, Cristache C, Fissiaux I, Alonzo-Ruiz A, Gawlik B (2013) Occurrence and levels of selected compounds in European compost and digestate samples. European Commission – Joint Research Centre, JRC Scientific and Policy Reports (EUR 26164 EN/ISBN 978-92-79-33195-4).
- Venclová B (2014) Udržitelnost není jen prázdné slovo. *Zemědělec* 22(51):39.
- Vijayasundaram V, Ramasamy PL, Palaniappan RM (2009) The study of the changes in the thermal properties of *Labeo rohita* bones due to arsenic exposure. *J Therm Anal Calorim* 98:183-188.
- Vyhláška č. 257/2009 Sb., o používání sedimentů na zemědělské půdě.
- Vyhláška Ministerstva zemědělství 474/2000 Sb. ze dne 13. prosince 2000 o stanovení požadavku na hnojivo.
- Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 382/2001 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě.
- Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu.
- Wasiak G, Mamełka D (1999) Dissertation. Kompostowanie i użytkowanie kompostu.

- Wei S, Zhou Q (2008) Trace elements in agro – ecosystems. In: Prasad MNV (ed) Trace elements as contaminants and nutrients. Consequences in Ecosystems and Human Health. A John Wiley & Sons, INC., Publication, Hoboken, New Jersey.
- Wiater J (2000) Wpływ nawożenia organiczno-mineralnego na bilans węgla organicznego w glebie. *Fol. Univ. Agricult Stetin Agricultura* 84:515-520.
- Wiater J (2001). Wpływ nawożenia wybranymi odpadami z przemysłu rolno-spożywczego, drzewnego i rolnictwa na plonowanie i cechy jakościowe owsa bezplewkowego. *Zesz Probl Post Nauk Rol* 477:511-519.
- Zdanowicz T (2011) Raport o oddziaływaniu planowanego przedsięwzięcia na środowisko. Przedsięwzięcie: Modernizacja Ośrodka Pstrągowego „Kamień-Jutrzenka”.

## Rozdział 5

# Wpływ dodatku materii organicznej na właściwości fizyczne gleby

**Jerzy Lipiec, Marcin Turski, Andrzej Bieganowski, Bogusław Usowicz**

*Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, Lublin, Polska*

### WSTĘP

Materia organiczna poprawia żyzność gleby, zwiększa plony i wpływa na wiele procesów fizycznych i funkcji gleby. Natomiast jej zawartość w glebach uprawnych stopniowo maleje ze względu na zmiany w sposobie użytkowania ziemi i klimatu. Wykazano, że około 42 do 78 Gt węgla zostały utracone w skali globalnej pod wpływem zabiegów uprawowych i erozji gleby (Lal, 2004). Z pracy przeglądowej (Post i Kwon, 2000) wynika, że w warunkach intensywnej uprawy roli przez 30-50 lat utrata węgla organicznego z wierzchniej warstwy gleby o grubości 20 cm może wynosić nawet 50%. W wyniku utraty materii organicznej zmniejsza się trwałość struktury, zdolność retencyjna, pojemność wymienna kationów gleby, krążenie pierwiastków w środowisku i infiltracja wody opadowej, a zwiększa się podatność na zaskorupianie, erozję, zagęszczenie gleby i emisja dwutlenku węgla do atmosfery. Nawet niewielka utrata materii organicznej może spowodować pogorszenie struktury oraz obniżenie jakości fizycznej gleby (Watts et al., 2001). Z tego względu zawartość materii organicznej w glebie jest kluczowym atrybutem fizycznej jakości gleby (Franzluebbbers, 2002).

Materia organiczna jest zdolna zatrzymać 20 razy więcej wody w stosunku do jej masy. Dlatego liczne badania wykazały, że wzbogacenie gleby materią organiczną prowadzi do zwiększenia jej zdolności retencyjnych (np. Pachepsky et al., 2006). Ponadto, zwiększona liczebność dżdżownic w glebie zasobnej w materię organiczną i wytwarzane makropory zwiększają przepuszczalność wodną gleby. Anderson (2011) wykazał, że stosowanie 13,5 Mg ha<sup>-1</sup> rok<sup>-1</sup> materii organicznej przez 100 lat spowodowało aż 9-krotny wzrost przepuszczalności wodnej gleby. Z drugiej strony, hydrofobowe związki zawarte w niektórych rodzajach materii organicznej, mogą pokrywać ziarna glebowe i oddziaływać negatywnie na infiltrację i magazynowanie wody w profilu glebowym (Hallet et al., 2004).

Materia organiczna wraz z produktami przemian mikrobiologicznych są elementami wiążącymi pojedyncze ziarna i tworzącymi grudki glebowe, które stabilizują strukturę gleby oraz układ porów i tym samym polepszają jakość fizyczną gleby (McKenzie et al., 2011). Lepsza struktura agregatowa gleby umożliwia zmagazynowanie większej ilości wody opadowej w glebie dla wzrostu roślin, a także zapewnia ochronę fizyczną " węgla organicznego" w agregatach przed rozkładem mikrobiologicznym (Wiesmeier et al., 2012). Większa zawartość materii organicznej i wody w agregatach glebowych wpływa na właściwości cieplne oraz przepływ i akumulację ciepła (Usowicz et al., 2013) Wpływ ten zależy od udziału poszczególnych składników gleby zróżnicowanych pod względem przewodnictwa cieplnego. Ważną rolę odgrywa stosunkowo niskie przewodnictwo cieplne materii organicznej 0,25 W m<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>. Dla porównania przewodnictwo cieplne kwarcu wynosi 8,80 W m<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>) i wody 0,57 W m<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup> podczas gdy powietrza tylko 0,025 W m<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>. Przewodnictwo cieplne znacząco wpływa na podział energii na

powierzchni czynnej gleby (Usowicz et al., 2013). Ponadto większa zawartość materii organicznej, szczególnie w wilgotnej glebie sprawia, że barwa gleby jest ciemniejsza i zatem zwiększa absorpcję energii słonecznej z powodu niższego albedo.

Zmiany w strukturze wpływają na właściwości fizyczne gleby kształtujące warunki wzrostu roślin poprzez zmiany uwilgotnienia, temperatury, natlenienia oraz pobierania składników pokarmowych przez korzenie (Bengough et al., 2006; Lipiec et al., 2012). Najważniejszymi czynnikami fizycznymi wpływającymi na funkcje gleby są polowa pojemność wodna, rozkład wielkości porów, infiltracja, zwilżalność, przewodnictwo wodne w stanie nasycenia oraz trwałość struktury (wytrzymałość mechaniczna agregatów glebowych). W związku z tym, w niniejszym rozdziale omówiono w jaki sposób zmieniają się właściwości fizyczne gleby w wyniku dodatku różnych rodzajów materii organicznej.

## **METODYKA OCENY WPLYWU DODATKU WYBRANYCH RODZAJÓW MATERII ORGANICZNEJ NA RETENCJĘ WODY, PRZEWODNICTWO WODNE, PRZEWODNICTWO CIEPLNE I TRWAŁOŚĆ STRUKTURY**

Ocenę wpływu dodatku wybranych rodzajów materii organicznej na właściwości fizyczne gleby w obrębie czesko-polskiego projektu badawczego przeprowadzono w doświadczeniach polowych i wazonowych. Stosowano następujące rodzaje materii organicznej: kompost z obornika i gnojowicy (Ag), kompost z organicznych odpadów przemysłowych homogenizowanych (Ra), kompost z odpadów przemysłowych biodegradowalnych (Dw), mączka zwierzęca (Mb), osad pofermentacyjny z biogazowni z odpadów poprodukcyjnych frytek (Dg), osad pofermentacyjny biogazowni z wysłodków buraczanych (Bp), osad z biogazowni rolniczej (Sm).

Obiekty badań z uwzględnieniem rodzaju materii organicznej i stosowanych dawek oraz terminy badań opisano w odrębnych rozdziałach. Poniżej scharakteryzowano krótko badane właściwości fizyczne gleby.

Krzywe retencji wody (WRC) wyznaczono w celu określenia zdolności magazynowania wody i rozkładu wielkości porów w glebie. Cechy te są ważne w agronomii, zwłaszcza do określenia ilości wody dostępnej dla roślin oraz stanowią ważne parametry wejściowe w modelowaniu matematycznym ruchu i bilansu wody oraz składników pokarmowych (Pachepsky i Rawls, 2006). Na podstawie WRC określono polową pojemność wodną (FWC) oraz zawartość trzech grup porów ( w  $\mu\text{m}$ ):  $> 50$  (makropory),  $50-0,2$  (pory zatrzymujące wodę dostępną dla roślin) i  $< 0,2$  (zatrzymujące wodę niedostępną dla roślin).

Właściwości przewodzące gleby oceniano na podstawie pomiarów infiltracji wody (WI) i etanolu (EI), przewodnictwa wodnego w stanie nasyconym oraz przewodnictwa cieplnego. Etanol używano dlatego, że jego infiltracja zależy przede wszystkim od struktury porów glebowych, a nie od obecności związków hydrofobowych (Hallett et al., 2004). Stosunek SE i SW (wskaźnik hydrofobowości RI) dostarcza informacji w jakim stopniu infiltracja wody jest ograniczona hydrofobowością gleby.

Pomiary przewodnictwa wodnego gleby w stanie nasyconym (SHC) przeprowadzono w próbach o nienaruszonej strukturze w cylindrach Kopecky'ego o pojemności  $100 \text{ cm}^3$  (Oosterbaan i Nijland 1994). SHC zależy od rozmiaru, kształtu i rozkładu porów, które są w dużej mierze kształtowane przez zawartość materii organicznej i zabiegi agrotechniczne. Właściwość ta jest

bardzo wrażliwa na zmiany w strukturze gleby, ale ze względu na dużą zmienność przestrzenną, pomiary wykonuje się w wielu powtórzeniach.

Przewodnictwo cieplne gleby wpływa istotnie na podział energii na powierzchni czynnej i związany rozkład temperatury oraz ruch wody w profilu glebowym i przygruntowej warstwie atmosfery. Znajomość przewodnictwa cieplnego gleby przydatna jest w rolnictwie, meteorologii oraz przemyśle. Przewodnictwo cieplne zależy przede wszystkim od wilgotności, gęstości i zawartości materii organicznej w glebie. Przewodnictwo cieplne mierzono przy użyciu czujnika dwuigłowego (Decagon Devices Inc.). Oznaczenie polega na generowaniu ciepła w igłach i pomiarach temperatury sąsiadującej gleby podczas okresu chłodzenia. Następnie odczyty przetwarzano przez odjęcie temperatury otoczenia. Jednostką przewodnictwa cieplnego jest  $W\ m^{-1}\ K^{-1}$ . Równocześnie prowadzono pomiary zawartości wody w glebie (w %,  $m^3\ m^{-3}$ ) przy użyciu metody reflektometrycznej (TDR).

Trwałość struktury gleby scharakteryzowano na podstawie pomiarów wytrzymałości na zgniatanie agregatów glebowych. Miarą wytrzymałości jest siła potrzebna do rozpoczęcia kruszenia agregatu. Odporność na kruszenie jest dobrym wskaźnikiem jakości struktury gleby i jej zmian w zależności sposobu użytkowania i zawartości materii organicznej w glebie. Oznaczenia wykonano za pomocą maszyny wytrzymałościowej (Zwick/Roell), a obliczenia wytrzymałości na zgniatanie wyrażonej w MPa według procedury opisanej w literaturze (Dexter i Watts, 2001).

Ponadto, przeprowadzono pomiary uziarnienia gleby obejmujące zawartość cząstek piasku, pyłu i łu. Uziarnienie gleby jest często używane do szybkiego i dokładnego prognozowania trudno mierzalnych krzywych retencji wodnej i innych właściwości wodnych za pomocą modeli matematycznych (ang: pedotransfer functions) (Pachepsky i Rawls, 2006).

## **WYNIKI I DYSKUSJA**

Wpływ egzogennej materii organicznej na właściwości fizyczne był związany z rodzajem tej materii, dawką, terminem pomiaru i lokalizacją pola doświadczalnego.

### **Polowa pojemność wodna (FWC) oraz rozkład wielkości porów**

Polowa pojemność wodna gleby w Pustych Jakarticach (Czechy) gleby wahała się od 32,2 do 35,4 %,  $m^3\ m^{-3}$  niezależnie od rodzaju materii organicznej, dawki i terminu pomiaru. Dodatek Ra i Mb w różnych dawkach spowodował korzystny wzrost FWC (choć nieistotny statystycznie przy  $P < 0,05$ ) w większości terminów badań (Tabela 1). Wzrost ten był w dużym stopniu związany ze zwiększeniem udziału porów o średnicy 50–0,2  $\mu m$  magazynujących wodę dostępną dla roślin (różnica pomiędzy FWC i wilgotnością punktu wędnięcia) (dane nie zamieszczone). Udział tych porów wahał się od 16,8 do 24,1%,  $m^3\ m^{-3}$  we wszystkich obiektach i terminach badań. Wpływ dodatku Ag w porównaniu z Ra i Mb na FWC oraz rozkład wielkości porów był znacznie mniejszy.

**Tabela 1** Polowa pojemność wodna (FWC), infiltracja wody (WI), infiltracja etanolu (EI), wskaźnik hydrofobowości (RI) i przewodnictwo wodne (SHC) gleby w Pustych Jakarticach (Cz) w doświadczeniu polowym. Egzogenne materiały organiczne: kompost z obornika i gnojowicy (Ag), mączka zwierzęca (Mb) i kompost z organicznych odpadów przemysłowych homogenizowanych (Ra).

Właściwość	Termin pomiaru	Objekt kontrolny	Ag			Mb			Ra		
			50	75	100	50	75	100	50	75	100
FWC (%, $m^3 m^{-3}$ )	S 2013	34,40	34,20	35,60	34,40	35,40	34,90	35,00	33,30	35,20	35,10
	A 2013	34,30	32,90	33,50	34,10	34,00	34,50	33,40	33,70	34,10	33,60
	S 2014	32,70	32,20	33,00	33,30	33,60	32,90	33,00	33,60	33,80	33,30
	A 2014	33,90	33,80	33,60	35,30	34,20	31,90	34,30	34,30	34,10	33,10
WI ( $mm^3 s^{-1}$ )	S 2013	4,35	3,90	2,53	4,87	4,22	3,74	2,28	4,22	3,97	3,46
	A 2013	2,04	1,10	1,28	1,17	1,45	1,24	1,38	1,00	1,54	1,18
	S 2014	4,56	4,22	3,43	4,04	3,97	4,97	4,67	4,17	5,48	5,64
	A 2014	2,95	2,79	3,48	3,08	3,40	3,19	3,72	3,26	3,18	3,58
EI ( $mm^3 s^{-1}$ )	S 2013	1,39	2,08	1,46	1,35	1,01	1,13	1,09	1,38	1,68	2,00
	A 2013	2,78	<b>1,28*</b>	1,85	1,68	2,03	1,84	1,62	1,57	1,76	1,41
	S 2014	3,05	3,00	2,64	3,11	2,93	3,10	2,82	2,89	3,39	3,70
	A 2014	1,16	1,25	1,20	0,97	1,21	1,20	1,27	1,16	1,04	1,22
RI	S 2013	1,14	1,34	1,94	1,19	0,75	0,79	1,20	0,93	0,93	1,42
	A 2013	3,43	2,58	3,29	3,20	2,90	3,26	2,56	3,56	3,37	3,57
	S 2014	1,78	1,70	1,73	1,95	1,70	1,50	1,39	1,93	1,53	1,47
	A 2014	0,88	1,01	0,75	0,66	0,78	0,78	0,73	0,70	0,67	0,73
SHC ( $m \text{ doba}^{-1}$ )	S 2013	0,58	0,49	1,14	0,66	<b>1,90*</b>	0,48	0,67	0,87	1,02	0,58
	A 2013	0,25	0,56	0,47	0,39	0,59	0,61	0,69	0,71	0,64	0,60
	S 2014	1,21	1,24	1,23	2,14	0,70	0,82	1,77	2,16	1,62	1,83
	A 2014	0,81	0,76	1,44	0,75	2,20	0,60	2,46	0,53	0,66	1,18

Objaśnienia: \*różnica statystycznie istotna ( $P < 0,05$ ) w porównaniu do obiektu kontrolnego; 50, 75 i 100 = procent dawki w odniesieniu do poziomu nawożenia azotowego; S = wiosna, A = jesień.

Polowa pojemność wodna gleby w Braszowicach (Polska) wahała się od 28,5 do 34,8%,  $m^3 m^{-3}$  we wszystkich obiektach i terminach badań. W większości terminów badań FWC gleby była największa na poletkach z dodatkiem Dg (Tabela 2). Przyrost FWC po zastosowaniu 50% dawki tego materiału organicznego w porównaniu do obiektu kontrolnego był statystycznie istotny ( $P < 0,05$ ) jesienią 2014 tj. po dwuletnim okresie stosowania. Wpływ Mb i Ra na FWC nie był tak wyraźny i wahał się w dużym stopniu w zależności od terminu pomiaru i stosowanej dawki. Na przykład, na poletkach z dodatkiem Mb, niezależnie od dawki, w porównaniu do obiektu kontrolnego stwierdzono wzrost FWC (statystycznie nieistotny) wiosną 2013r. Natomiast jesienią 2013r. wartość FWC na poletkach z dodatkiem 75% dawki Mb wynosząca 32,4 %  $m^3 m^{-3}$  była istotnie mniejsza ( $P < 0,05$ ) niż w glebie kontrolnej (34,8%,  $m^3 m^{-3}$ ).

Podsumowując, można stwierdzić, że dodanie Ra i Mb do gleby w Pustych Jakarticach i Dg w Braszowicach spowodowało korzystne zwiększenie zawartości wody odpowiadającej polowej pojemności wodnej. To może być związane ze wzrostem udziału porów 50-0,2  $\mu m$  oraz powierzchni właściwej, która ma znaczący wpływ na zdolność zatrzymywania wody w glebie (Witkowska-Walczak et al., 2014). Zwiększona polowa pojemność wodna umożliwia utrzymanie odpowiedniego uwilgotnienia gleby dla roślin w dłuższym okresie czasu bez opadów deszczu oraz dobrego natlenienia. Porównanie wyników z obu doświadczeń polowych wskazuje na to, że wartości polowej pojemności wodnej i zawartości porów 50-0,2  $\mu m$ , zarówno minimalne jak i maksymalne, były większe w Pustych Jakarticach niż Braszowicach, co może być wynikiem drobniejszego uziarnienia.

**Tabela 2** Polowa pojemność wodna, infiltracja wody (WI), infiltracja etanolu (EI), wskaźnik hydrofobowości (RI) i przewodnictwo wodne (SHC) gleby w Braszowicach (PL) w doświadczeniu polowym. Egzogenne materiały organiczne: osad pofermentacyjny z biogazowni z odpadów poprodukcyjnych frytek (Dg), mączka zwierzęca (Mb) i kompost z organicznych odpadów przemysłowych homogenizowanych (Ra).

Właściwość	Termin pomiaru	Obiekt kontrolny	Dg			Mb			Ra		
			50	75	100	50	75	100	50	75	100
FWC (%, m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )	S 2013	31,60	32,20	32,60	31,90	33,30	32,40	31,70	33,60	30,70	31,90
	A 2013	34,80	33,60	33,50	33,60	34,20	<b>32,40*</b>	33,60	33,80	32,50	33,00
	S 2014	29,20	29,90	29,30	29,30	29,30	29,20	29,50	29,40	29,80	29,70
	A 2014	31,60	32,40	28,50	29,90	31,70	30,20	30,40	30,30	31,10	31,20
WI (mm <sup>3</sup> s <sup>-1</sup> )	S 2013	3,38	3,27	3,12	2,5	3,15	2,84	2,52	5,59	3,44	3,68
	A 2013	0,78	0,94	0,67	1,01	0,75	0,73	0,94	1,70	0,73	0,81
	S 2014	2,92	2,75	2,97	2,52	2,32	2,14	2,65	4,08	3,14	3,87
	A 2014	1,72	3,27	1,89	1,42	2,36	1,46	2,31	2,2	1,57	1,89
EI (mm <sup>3</sup> s <sup>-1</sup> )	S 2013	1,66	1,44	1,32	1,36	1,12	<b>1,02*</b>	1,14	1,52	1,64	1,95
	A 2013	1,14	1,43	1,70	1,54	0,98	1,32	1,91	1,28	1,34	1,36
	S 2014	4,22	3,87	5,29	4,11	3,95	4,31	4,84	4,12	3,37	4,74
	A 2014	2,55	3,50	3,57	4,23	3,72	2,70	2,50	3,60	2,56	3,72
RI	S 2013	1,15	1,10	1,39	1,70	0,95	1,18	1,38	0,64	1,59	1,57
	A 2013	4,12	3,91	6,44	4,39	4,52	4,46	4,96	3,41	4,62	4,03
	S 2014	3,35	2,84	4,00	3,69	3,80	4,37	4,36	2,87	2,38	2,55
	A 2014	4,69	3,54	4,26	8,47	4,42	4,69	3,24	3,76	3,81	4,57
SHC (m doba <sup>-1</sup> )	S 2013	3,45	1,91	3,92	3,17	1,22	2,39	3,43	3,99	4,96	3,42
	A 2013	1,21	1,27	1,62	1,37	0,81	2,18	0,56	2,28	2,81	0,87
	S 2014	2,01	2,11	2,46	3,26	2,32	2,49	2,74	3,38	2,96	2,96
	A 2014	0,50	1,53	2,04	2,64	<b>3,23*</b>	1,99	<b>2,42*</b>	2,79	1,08	2,94

Objaśnienia: \*różnica statystycznie istotna (P<0,05) w porównaniu do obiektu kontrolnego; 50, 75 i 100 = procent dawki w odniesieniu do poziomu nawożenia azotowego; S = wiosna, A= jesień.

### Infiltracja i wodoodporność agregatów glebowych

Niezależnie od rodzaju, wpływ materii organicznej na infiltrację wody i etanolu (szybkość zwilżania) oraz wskaźnik hydrofobowości (R) gleby w Pustych Jakarticach był statystycznie nieistotny (P <0,05) w obu latach badań. W drugim roku badań (2014) zaobserwowano natomiast wzrost szybkości infiltracji wody w wyniku zmian w strukturze porów glebowych wraz ze wzrostem dawki Mb i Ra. Wartości wskaźników hydrofobowości były na ogół poniżej wartości krytycznej 1,95. Gleby o większej wartości R są uważane jako hydrofobowe (Hallet et al., 2001). Wartość krytyczna wskaźnika hydrofobowości została przekroczona (do ponad 2,9) tylko jesienią 2013 zarówno w obiekcie z glebą kontrolną jak też wzbogaconej wszystkimi rodzajami materii organicznej tj. Ag, Mb i Ra.

W doświadczeniu w Braszowicach, podobnie jak w Pustych Jakarticach, nie stwierdzono istotnego wpływu żadnego rodzaju materii organicznej na infiltrację wody oraz wskaźnik hydrofobowości (w pierwszym roku badań (2013) tabela 2). Natomiast, w drugim roku badań (2014) w terminie jesiennym infiltracja wykazywała tendencję wzrostową w glebie wzbogaconej Mb i Ra w dawkach 75 i 100%. Zwiększonej infiltracji wody towarzyszył spadek wskaźnika hydrofobowości. Niezależnie od rodzaju materii organicznej wskaźniki hydrofobowości były większe podczas pomiarów jesiennych niż wiosennych. Zakresy zmian w tych terminach wynosiły odpowiednio 3,24–8,47 i 0,635–4,0. Wszystkie wartości R w terminie jesiennym były



powyżej poziomu krytycznego (1,95) i wskazują na występowanie hydrofobowości gleby. Na ogół, wskaźniki hydrofobowości gleby osiągnęły wartości maksymalne na poletkach z najwyższymi dawkami badanych rodzajów materii organicznej. Taki efekt zaobserwowany jesienią może być wypadkową wysokiej zawartości materii organicznej oraz wysokiej temperatury w poprzedzającym okresie letnim. W mniejszym stopniu wpływ ten zaznaczył się w Pustych Jakarticach, gdzie wskaźniki hydrofobowości wahały się od 0,752 do 1,94 wiosną i od 0,66 do 3,57 jesienią.

W większości porównywalnych obiektów i terminów badań wskaźniki hydrofobowości były większe w glebie w Braszowicach niż Pustych Jakarticach. Wyniki wskazują na to, że różne reakcje wskaźnika hydrofobowości w poszczególnych lokalizacjach mogą być powodowane przez czynniki inne niż stosowanie zewnętrznej materii organicznej. Jednym z czynników może być różna liczebność i rozmieszczenie grzybów wytwarzających substancje hydrofobowe oraz ilość wydzielin korzeni roślin (Krümmelbein et al., 2006). Mała hydrofobowość odgrywa pozytywną rolę w zmagazynowaniu wody opadowej w profilu glebowym. Z drugiej strony, zwiększona hydrofobowość i wynikająca mniejsza szybkość zwilżania może poprawić trwałość strukturalnych agregatów glebowych (Król et al., 2015), ze względu na mniej intensywny rozpad agregatów przez pęcherzyki powietrza wypierane z wnętrza agregatów podczas zwilżania.

W doświadczeniu wazonowym w r. 2013 infiltracja (szybkość zwilżania) wody i etanolu do agregatów glebowych oraz wskaźnik hydrofobowości nie były istotnie ( $P < 0,05$ ) modyfikowane przez wzbogacenie gleby materią organiczną (Tabele 3-5). Na ogół, wpływ materii organicznej na badane właściwości był większy po zbiorze roślin niż w terminie wiosennym (4 tygodnie po dodaniu materii organicznej). Infiltracja wody do agregatów z gleby Dlouhá Ves (Czechy) (Tabela 3) i Nowej Wsi (Polska) (Tabela 4) była na ogół większa w glebie wzbogaconej Dg, Mb i Ra niż kontrolnej. Największy i statystycznie istotny wzrost ( $P < 0,05$ ) z 2,01 do 7,33 mm<sup>3</sup> s<sup>-1</sup> wystąpił w glebie z Dlouhá Ves po dodaniu 50% dawki Ra. W przypadku gleby z Pastuchowa infiltracja wody wykazywała tendencje wzrostową w wazonach z dodatkiem Mb i spadkową z dodatkiem Dg i Ra. Zakresy zmienności infiltracji wody po zbiorze roślin w glebach z Dlouhá Ves, Nowej Wsi i Pastuchowa wynosiły odpowiednio (w mm<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>) 2,01-7,33; 2,26-6,07 i 2,47-4,82. Infiltracja etanolu w glebie z Nowej Wsi, po dodaniu wszystkich rodzajów materii organicznej, zwiększyła się znacznie, choć statystycznie nieistotnie ( $P < 0,05$ ). Natomiast w przypadku gleb z Dlouhá Ves i Pastuchów kierunek zmian był odwrotny. Spadek infiltracji etanolu w glebie z Dlouhá Ves z 3,27 w obiekcie kontrolnym do 1,61 mm<sup>3</sup> s<sup>-1</sup> w wazonach z dodatkiem 100% dawki Mb był istotny ( $P < 0,05$ ). Zakresy zmian infiltracji etanolu w 3 glebach z Dlouhá Ves, Nowej Wsi i Pastuchowa (w mm<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>) wynoszące odpowiednio 1,61-3,27, 3,09-6,1 i 2,3-3,85 wskazują na to, że najbardziej gruboziarnista gleba z Nowej Wsi charakteryzowała się najwyższymi wartościami minimalnymi oraz maksymalnymi. Wpływ egzogennej materii organicznej na wskaźnik hydrofobowości był statystycznie nieistotny ( $P < 0,05$ ), chociaż większy w glebie wzbogaconej wszystkimi rodzajami materii organicznej niż kontrolnej. Niezależnie od obiektu, zakres zmienności wskaźnika hydrofobowości (w mm<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>) był znacznie większy w glebie z Dlouhá Ves (0,77-4,73) niż z Nowej Wsi (2,14-3,24) i Pastuchowa (1,52-2,17).

**Tabela 3** Infiltracja wody (WI), ifiltracja etanolu (EI) I wskaźnik hydrofobowości (RI) agregatów glebowych z gleby Dlouhá Ves (Cz) w doświadczeniu wazonowym. Egzogenne materiały organiczne: osad pofermentacyjny z biogazowni z odpadów poprodukcyjnych frytek (Dg), mączka zwierzęca (Mb) i kompost z organicznych odpadów przemysłowych homogenizowanych (Ra) w r. 2013 oraz osad pofermentacyjny z wysłoków buraczanych (Bp), kompost z odpadów przemysłowych biodegradowalnych (Dw) i osad z biogazowni rolniczej (Sm) w r.2014.

Właściwość	Termin pomiaru	2013								2014							
		Objekt kontrolny	Dg		Mb		Ra		Objekt kontrolny	Bp		Dw		Sm			
			50	100	50	100	50	100		50	100	50	100	50	100		
WI (mm <sup>3</sup> s <sup>-1</sup> )	S	2,09	1,26	1,60	2,31	1,71	1,77	0,72	4,49	4,43	2,18	4,64	6,23	5,02	2,52		
	A	2,01	3,13	3,41	4,98	4,44	<b>7,33*</b>	1,91	1,56	0,75	0,89	1,39	1,34	1,53	0,65		
EI (mm <sup>3</sup> s <sup>-1</sup> )	S	0,82	0,93	0,79	0,96	1,61	1,34	0,56	4,95	4,39	3,99	4,00	2,87	4,11	3,74		
	A	3,27	2,68	1,94	2,83	<b>1,61*</b>	2,54	2,07	1,46	1,18	1,49	1,56	1,64	2,01	1,91		
RI	S	1,48	1,80	2,43	1,84	4,14	2,63	1,85	2,16	2,89	6,48	1,69	0,92	1,74	4,51		
	A	4,73	1,97	1,20	1,95	1,67	<b>0,77*</b>	2,11	2,54	3,77	4,65	7,53	3,47	2,60	7,02		

Objaśnienia: \*różnica statystycznie istotna (P<0,05) w porównaniu do obiektu kontrolnego; 50 i 100 = procent dawki w odniesieniu do poziomu nawożenia azotowego; S = wiosna, A= jesień.

**Tabela 4** Infiltracja wody (WI), ifiltracja etanolu (EI) I wskaźnik hydrofobowości (RI) agregatów glebowych z gleby w Nowej Wsi (PL) w doświadczeniu wazonowym. Egzogenne materiały organiczne: osad pofermentacyjny z biogazowni z odpadów poprodukcyjnych frytek (Dg), mączka zwierzęca (Mb) i kompost z organicznych odpadów przemysłowych homogenizowanych (Ra) w r. 2013 oraz osad pofermentacyjny z wysłoków buraczanych (Bp), kompost z odpadów przemysłowych biodegradowalnych (Dw) i osad z biogazowni rolniczej (Sm) w r.2014.

Właściwość	Termin pomiaru	2013								2014							
		Objekt kontrolny	Dg		Mb		Ra		Objekt kontrolny	Bp		Dw		Sm			
			50	100	50	100	50	100		50	100	50	100	50	100		
WI (mm <sup>3</sup> s <sup>-1</sup> )	S	3,57	2,14	2,35	2,78	3,05	3,91	3,24	3,59	1,53	2,67	7,65	5,91	1,82	3,36		
	A	2,26	5,19	5,94	5,79	6,07	4,59	2,87	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
EI (mm <sup>3</sup> s <sup>-1</sup> )	S	4,53	4,41	3,27	4,95	4,51	4,16	4,97	2,20	2,10	2,74	<b>3,67*</b>	<b>3,84*</b>	2,32	2,55		
	A	3,09	6,10	4,83	3,84	5,30	4,58	4,49	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
RI	S	2,81	4,50	3,28	3,50	4,05	2,84	4,19	4,45	4,13	2,85	1,27	1,54	3,76	1,78		
	A	2,93	3,12	2,89	2,12	3,10	2,14	3,24	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		

Objaśnienia: \*różnica statystycznie istotna (P<0,05) w porównaniu do obiektu kontrolnego; 50 i 100 = procent dawki w odniesieniu do poziomu nawożenia azotowego; S = wiosna, A= jesień, nd = nieznaczone.

Również w r. 2014, wpływ dodatku Dw, Sm i Bp na infiltrację wody w terminie wiosennym (4 tygodnie po dodaniu materii organicznej) był statystycznie nieistotny (P<0,05), choć zmiany w niektórych przypadkach były znaczące. Na przykład 100% dawki Dw spowodowały wzrost infiltracji wody (w mm<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>) z 4,49 do 6,23 w glebie z Dlouhá Ves oraz z 3,59 do 5,91 w glebie Nowa Wsi (tabela 4). Również infiltracja etanolu w tym terminie wzrosła z 2,2 w glebie kontrolnej do 3,67-3,84 (P<0,05) w glebie wzbogaconej Dw. Wskaźnik hydrofobowości nie zmieniał się istotnie (P<0,05) po dodaniu badanych rodzajów materii organicznej. Niezależnie od obiektu, zakresy zmienności wskaźnika hydrofobowości wynosiły w glebach z Dlouhá Ves, Nowej Wsi i Pastuchowa odpowiednio 0,916-4,51 (Tabela 3), 1,78-4,45 (tabela 4) i 1,5-2,55 (tabela 5).

**Tabela 5** Infiltracja wody (WI), ifiltracja etanolu (EI) I wskaźnik hydrofobowości (RI) agregatów glebowych gleby z Pastuchowa (PL) w doświadczeniu wazonowym. Egzogenne materiały organiczne: osad pofermentacyjny z biogazowni z odpadów poprodukcyjnych frytek (Dg), mączka zwierzęca (Mb) i kompost z organicznych odpadów przemysłowych homogenizowanych (Ra) w r. 2013 oraz osad pofermentacyjny z wysłoków buraczanych (Bp), kompost z odpadów przemysłowych biodegradowalnych (Dw) i osad z biogazowni rolniczej (Sm) w r.2014.

Właściwość	Termin pomiaru	2013								2014							
		Objekt kontrolny	Dg		Mb		Ra		Objekt kontrolny	Bp		Dw		Sm			
			50	100	50	100	50	100		50	100	50	100	50	100		
WI (mm <sup>3</sup> s <sup>-1</sup> )	S	4,54	3,26	3,81	4,26	1,77	3,02	6,33	2,81	3,53	2,57	2,45	3,54	3,53	2,04		
	A	4,08	2,99	2,47	4,64	4,82	3,67	2,95	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
EI (mm <sup>3</sup> s <sup>-1</sup> )	S	3,64	3,44	3,08	2,86	2,48	3,49	4,03	2,04	2,91	3,04	2,59	2,67	2,40	2,12		
	A	3,56	3,85	3,30	3,29	2,41	3,24	2,30	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
RI	S	1,74	2,30	1,66	1,63	4,42	2,23	1,46	1,58	1,77	2,55	2,21	2,11	1,39	2,11		
	A	2,17	2,49	2,60	1,52	1,26	1,84	1,65	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		

Objaśnienia: \*różnica statystycznie istotna (P<0,05) w porównaniu do obiektu kontrolnego; 50 i 100 = procent dawki w odniesieniu do poziomu nawożenia azotowego; S = wiosna, A= jesień, nd = nieznaczone.

Pomiary wszystkich właściwości fizycznych gleby po zbiorze roślin przeprowadzono wyłącznie w glebie z Dlouhá Ves z powodu braku wystarczającej ilości agregatów w glebach o niestabilnej strukturze z Nowej Wsi i Pastuchowa. Nie stwierdzono istotnego wpływu materii organicznej na infiltrację wody i etanolu oraz wskaźnik hydrofobowości, chociaż wskaźnik ten się zwiększył po dodaniu wszystkich rodzajów materii organicznej. Wpływ ten zaznaczył się w największym stopniu po dodaniu 50% dawki Dw i 100% dawki Sm, który spowodował wzrost wartości tego wskaźnika z 2,54 do ponad 7 (Tabela 5).

Podsumowując, wyniki wskazują na to, że dodanie Mb i Ra spowodowało wzrost infiltracji wody do agregatów z gleb w doświadczeniach polowych w Pustych Jakarticach i Braszowicach oraz w glebach z Dlouhá Ves i Nowej Wsi w doświadczeniach wazonowych. Również dodanie materii organicznej Dg w doświadczeniach wazonowych (niebadana w doświadczeniach polowych) spowodowało wzrost infiltracji wody w wyżej wymienionych glebach. W przypadku gleby z Pastuchowa w doświadczeniach wazonowych, infiltracja wody wykazywała tendencję wzrostową po dodaniu Mb i spadkową po dodaniu Dg i Ra. Na ogół infiltracja wody zwiększała się wraz ze wzrostem wielkości dawki stosowanych rodzajów materii organicznej.

### Przewodnictwo wodne w stanie nasycenia gleby wodą (SHC)

Przewodnictwo wodne gleby w doświadczeniu polowym w Pustych Jakarticach było większe na poletkach z dodatkiem 75% i/lub 100% dawek wszystkich rodzajów materii organicznej w porównaniu z poletkami kontrolnymi (Tabela 1). Mimo, że różnice nie były statystycznie istotne (P<0,05), wartości przewodnictwa wodnego gleby wzbogaconej materia organiczną były nawet kilka razy większe niż w glebie kontrolnej. Największy przyrost stwierdzono po dodaniu Ra. Niezależnie od rodzaju materii organicznej, zmiany przewodnictwa wodnego były mniej wyraźne, gdy stosowano dawkę 50%.

W Braszowicach, podobnie jak w Pustych Jakarticach, dodatek wszystkich rodzajów materii organicznej spowodował wzrost przewodnictwa wodnego. Największy przyrost stwierdzono na w glebie wzbogaconej Mb i Ra w ostatnim terminie badań (jesień 2014), kiedy przewodnictwo wodne gleby było kilkakrotnie i istotnie większe (P<0, 05) w obiektach z glebą wzbogaconą

dawkami 50 i 100% obu rodzajów materii organicznej w porównaniu do gleby kontrolnej (Tabela 2).

Powyższe dane wskazują na to, że wysokie dawki materii organicznej, zwłaszcza Ra i Mb, mogą przyczynić się do szybszego ruchu wody w profilu glebowym. Wysoka wartość przewodnictwa wodnego jest często związana z obecnością stosunkowo dużych porów biologicznych wytworzonych m.in. przez korzenie roślin poprzedzających lub dżdżownice. Szybki ruch wody przez pory biologiczne w warunkach intensywnego opadu deszczu (przepływ preferencyjny) czy roztopów zimowych i wiosennych zmniejsza spływ powierzchniowy, a tym samym umożliwia zmagazynowanie większej ilości wody w niżej położonych warstwach gleby (Gerke, 2006). Z drugiej strony taki przepływ może zwiększać wymywanie rozpuszczonej w wodzie substancji organicznej (Ceccherini i Pietramellara, 2011).

### **Wytrzymałość na zgniatanie**

Oddziaływanie materii organicznej na wytrzymałość na zgniatanie agregatów glebowych było zależne od rodzaju materii organicznej, typu gleby i terminu badań (Tabela 6). W r. 2013 wpływ Dg, Mb i Ra na wytrzymałość agregatów glebowych na zgniatanie nie był statystycznie istotny ( $P < 0,05$ ), chociaż 100% dawka niektórych rodzajów materii organicznej spowodowała znaczny wzrost tej właściwości. Na przykład dodanie Dg w tej dawce zwiększyło wytrzymałość w 1-szym terminie badań wiosną (4 tygodnie o dodaniu materii organicznej) z 0,12 do 0,21 MPa w glebie z Dlouhá Ves oraz z 0,014 do 0,205 MPa w glebie z Nowej Wsi podczas gdy w glebie z Pastuchowa stwierdzono spadek z 0,061 do 0,038 MPa.

W 2-gim terminie badań po zbiorze roślin, zarówno wartości wytrzymałości na zgniatanie jak też różnice pomiędzy obiektami były znacznie niższe niż w 1-szym terminie. Niezależnie od rodzaju materii organicznej zakresy wytrzymałości agregatów na zgniatanie w glebach z Dlouhá Ves, Nowej Wsi i Pastuchowa wynosiły kolejno 0,112-0,132 MPa, 0,013-0,054 MPa i 0,036-0,083 MPa. Odpowiednie zakresy w 2-gim terminie po zbiorze roślin wynosiły 0,148-0,23, 0,016-0,075 i 0,042-0,0735 MPa.

Wpływ dodatku Dw, Bp i Sm na wytrzymałość na zgniatanie agregatów w 1-szym terminie badań w roku 2014 był statystycznie nieistotny ( $P < 0,05$ ), ale wartość tej cechy była większa w obiektach wzbogaconych wszystkimi rodzajami materii organicznymi niż w glebie kontrolnej niezależnie od typu gleby (Tabela 6). W przypadku gleby z Dlouhá Ves wzrost wytrzymałości z 0,159 MPa w glebie kontrolnej do 0,238 MPa w glebie wzbogaconej 100% dawką był statystycznie istotny ( $P < 0,05$ ). W 2-gim terminie badań po zbiorze roślin stwierdzono istotny wzrost ( $P < 0,05$ ) wytrzymałości na zgniatanie w glebie z Dlouhá Ves (z 0,362 do 0,776 MPa) po dodaniu 100% dawki Dw oraz w glebie z Pastuchowa (od 0,11 do 0,157 MPa) po dodaniu 50% dawki Bp. Zakresy zmienności tej cechy w glebach z Dlouhá Ves, Nowej Wsi i Pastuchowa wynosiły odpowiednio 0,235-0,776, 0,011-0,0485 i 0,0778-0,16 MPa.

Zarówno większy wzrost wytrzymałości na zgniatanie agregatów w wyniku stosowania Sm i Dw jak też wyższe wartości minimalne i maksymalne w glebie z Dlouhá Ves w porównaniu do pozostałych gleb mogą być związane z większą zawartością iłu i jego zdolnością do łączenia cząstek glebowych razem. Obecność iłu może ponadto stymulować tworzenie związków organo-mineralnych w tym z dodaną materią organiczną, a tym samym poprawiać trwałość agregatów glebowych oraz ochronę materii organicznej wewnątrz agregatów przed biodegradacją (Kurochkina i Pinski, 2002). Zwiększona trwałość agregatów glebowych może również sprzyjać

preferencyjnemu przepływowi wody przez duże przestwory między agregatami glebowymi (Gerke, 2006) oraz zmniejszyć podatność gleb na niekorzystne nadmierne zagęszczenie gleby podczas przejazdów ciężkich maszyn i narzędzi rolniczych (Horn, 2004; Lipiec et al., 2012). Natomiast, mała wytrzymałość na zgniatanie jest miarą korzystnej predyspozycji gleby, z punktu widzenia wzrostu roślin, do tworzenia drobniejszych agregatów glebowych (kruchosc gleby) (McKenzie et al., 2011).

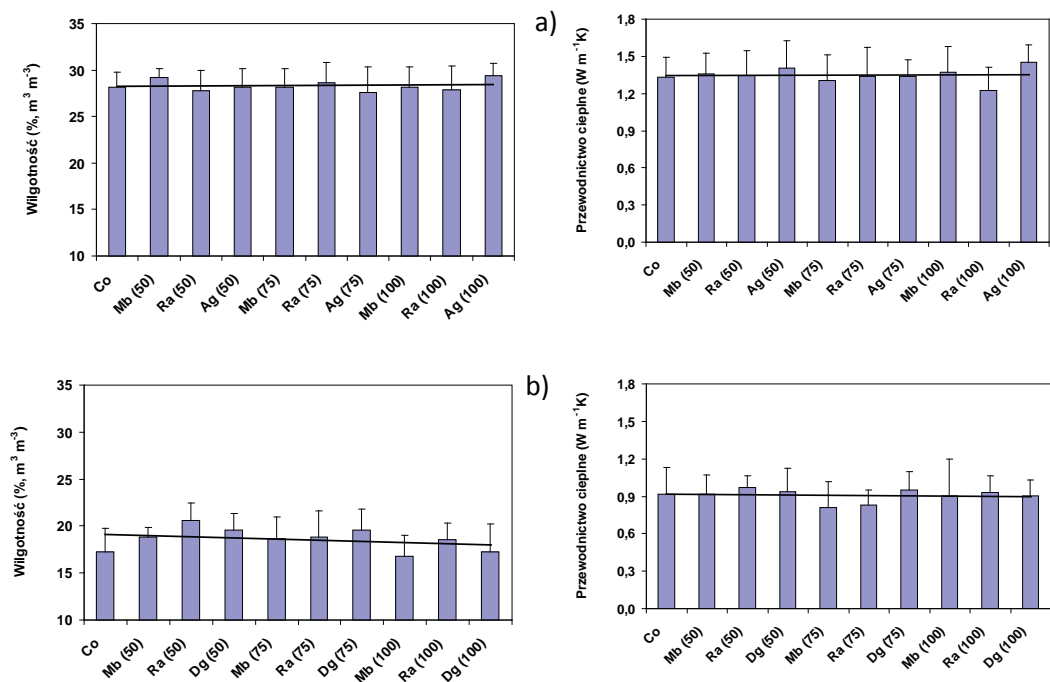
**Tabela 6** Wytrzymałość na zgniatanie agregatów glebowych (w MPa) z trzech gleb w doświadczeniu wazonowym. Egzogenne materiały organiczne: osad pofermentacyjny z biogazowni z odpadów poprodukcyjnych frytek (Dg), mączka zwierzęca (Mb) i kompost z organicznych odpadów przemysłowych homogenizowanych (Ra) w r. 2013 oraz osad pofermentacyjny z wysłoków buraczanych (Bp), kompost z odpadów przemysłowych biodegradowalnych (Dw) i osad z biogazowni rolniczej (Sm) w r.2014.

Rok	Lokalizacja	Termin pomiaru	Obiekt kontrolny	Dg		Mb		Ra	
				50	100	50	100	50	100
2013	Dlouha Ves (CZ)	S	0,116	0,102	0,213	0,132	0,120	0,136	0,112
		A	0,148	0,153	0,187	0,153	0,162	0,144	0,230
	Nowa Wieś (PL)	S	0,014	0,025	0,021	0,054	0,025	0,024	0,014
		A	0,076	0,020	0,016	0,024	0,021	0,044	0,030
	Pastuchów (PL)	S	0,061	0,037	0,038	0,062	0,083	0,058	0,077
		A	0,074	0,042	0,045	0,053	0,061	0,054	0,047
Rok	Lokalizacja	Termin pomiaru	Obiekt kontrolny	Bp		Dw		Sm	
				50	100	50	100	50	100
2014	Dlouha Ves (CZ)	S	0,159	0,198	0,368	0,246	0,268	0,131	<b>0,238*</b>
		A	0,362	0,454	0,343	0,354	0,776	0,292	0,235
	Nowa Wieś (PL)	S	0,033	0,049	0,044	0,047	0,041	0,066	0,044
		A	0,046	0,041	0,024	0,011	0,031	0,049	0,030
	Pastuchów (PL)	S	0,084	0,443	0,260	0,106	0,110	0,099	0,096
		A	0,110	<b>0,157*</b>	0,078	0,154	0,087	0,110	0,160

Objaśnienia: \*różnica statystycznie istotna ( $P < 0,05$ ) w porównaniu do obiektu kontrolnego; 50 i 100 = procent dawki w odniesieniu do poziomu nawożenia azotowego; S = wiosna, A= jesień.

### Wilgotność i przewodnictwo cieplne gleby

Wilgotność i przewodnictwo cieplne gleby nie były w programie projektu, ale zostały zbadane ze względu na ich komplementarność. Rys. 1 ilustruje przykładowe wyniki badań polowych obu właściwości przeprowadzonych w czerwcu 2013 r tj. po 5 tygodniach od wzbogacenia gleb materia organiczną. Linia trendu wskazuje na wzrost zawartości wody wraz ze wzrostem dawki stosowanych rodzajów materii organicznej w doświadczeniu w Pustych Jakarticach. Natomiast w doświadczeniu w Braszowicach nie stwierdzono trendu. Zwiększenie zdolności magazynowania większej ilości wody umożliwia lepsze zaopatrzenie roślin w wodę oraz ochronę gleby przed suszą. W przypadku przewodnictwa cieplnego linia trendu pozostała praktycznie bez zmian. Jak wskazują odchylenia standardowe, rozproszenie wyników zarówno wilgotności jak i przewodnictwa cieplnego gleby było nieco większe w Braszowicach niż Pustych Jakarticach lub podobne w zależności od rodzaju i dawki materii organicznej.



**Rys. 1** Wilgotność i przewodnictwo cieplne gleb z liniami trendu (a) Pusté Jakartice (b) Braszowice. Egzogenne materiały organiczne: Co (obiekt kontrolny), mączka zwierzęca (Mb), kompost z organicznych odpadów przemysłowych homogenizowanych (Ra) i osad pofermentacyjny z biogazowni z odpadów poprodukcyjnych frytek (Dg). 50, 75 and 100 = procent dawki w odniesieniu do poziomu nawożenia azotowego. Odcinki oznaczają odchylenia standardowe.

## Rozkład granulometryczny

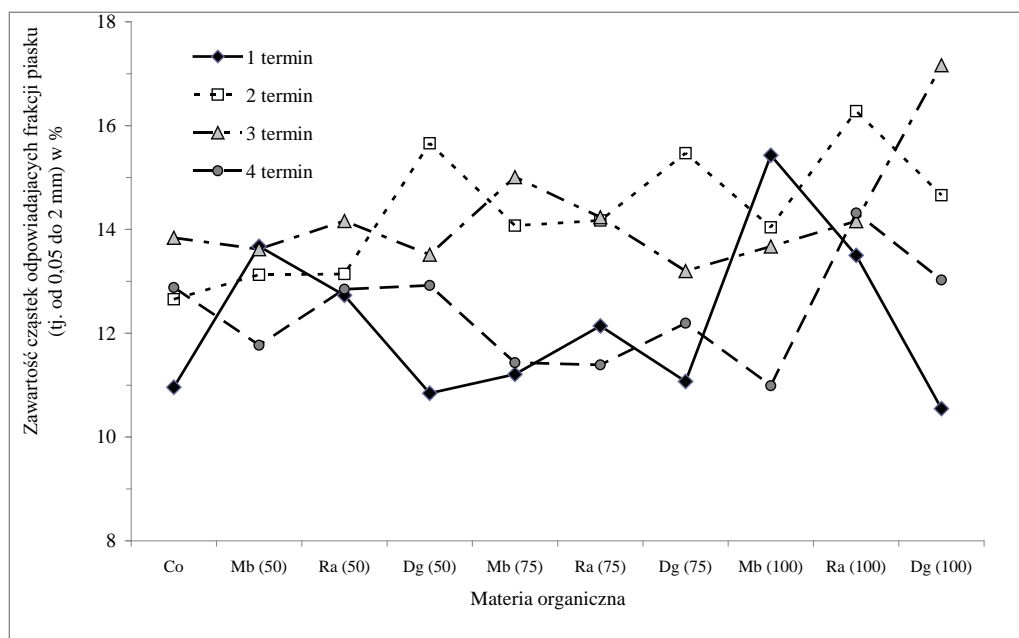
Rozkład granulometryczny jest jedną z podstawowych wielkości charakteryzujących glebę. W sposób bezpośredni i/lub pośredni wpływa na takie właściwości gleby jak: stosunki powietrzno-wodne, właściwości cieplne i sorpcyjne oraz aktywność mikrobiologiczną. Rozkład granulometryczny może być wyznaczany metodami wykorzystującymi dwa różne zjawiska fizyczne. Pierwsza grupa metod za podstawę przyjęła prawo Stokes'a opisujące zjawisko sedymentacji. Druga grupa metod oparta jest na zjawisku rozpraszania światła. Metody te mają swoje zalety jak i wady.

Metody sedymentacyjne, z których dwie najważniejsze to metoda higrometryczna oraz pipetowa, nadal należy uznać za najczęściej stosowane w laboratoriach gleboznawczych. Ich zasadniczą zaletą jest brak konieczności zakupu drogiego sprzętu. Wadą, dużą czasochłonność pomiarów i mała czułość. Metoda dyfrakcji laserowej daje powtarzalne wyniki, jest znacznie bardziej czuła, a analizy są realizowane dużo szybciej. Jednakże urządzenia (dyfraktometry laserowe) są obecnie bardzo drogie.

Powszechnie znanym i dyskutowanym w literaturze problemem jest trudność w porównywaniu wyników uzyskanych obiema grupami metod. W zdecydowanej większości autorzy prac badawczych informują o zaniżaniu przez metodę dyfrakcji laserowej zawartości frakcji ilastej (najdrobniejszej) - w porównaniu z metodami sedymentacyjnymi.

Mając świadomość problemów interpretacyjnych w niniejszym projekcie postanowiono wykorzystać metodę dyfrakcji laserowej. Przesłanką do takiej decyzji był fakt jej dużej czułości oraz brak konieczności usuwania substancji organicznych z próbek poddanych pomiarom (usuwanie substancji organicznych jest warunkiem koniecznym przy wykorzystaniu metod sedimentacyjnych). Ponieważ rozkład granulometryczny samej gleby jest praktycznie niezmienny założono, że wykorzystując dużą czułość metody, w oparciu o zmiany rozkładu granulometrycznego możliwe będzie monitorowanie stanu rozkładu substancji organicznych dodawanych do gleby. Autorzy projektu mieli świadomość, że przy braku informacji w literaturze na ten temat, założenie to może nie zostać spełnione. O ile jednak przesłana uzyskania informacji o dynamice rozkładu substancji organicznej przy wykorzystaniu metody dyfrakcji laserowej miała swoje uzasadnienie, to pewnym był fakt, że przy małej czułości metod sedimentacyjnych i konieczności usuwania substancji organicznych, takich informacji na pewno by nie uzyskano.

Wyniki uzyskane w takich pomiarach (zarówno polowych jak i wazonowych) nie pozwoliły na jednoznaczną interpretację zjawiska rozpadu substancji organicznej. Przykładowe wyniki zawartości cząstek odpowiadających frakcji piasku dla 4 terminów poboru próbek w Pustych Jakarticach przedstawiono na Rysunku 2. Jako wyjaśnienie braku zaobserwowanych trendów można wskazać dwa powody: i) zmienność w przestrzeni (na polu) rozkładu granulometrycznego samej gleby jest na tyle duża, że zamaskowało do efekt dodania do niej substancji organicznej; ii) ponieważ górny zakres pomiarowy dyfraktometru laserowego wynosił 2 mm to konieczne było przesianie gleby przez sito o takiej wielkości oczka. To mogło spowodować usunięcie większych, nierozłożonych kawałków substancji organicznych i w konsekwencji niemożność jednoznacznej interpretacji wyników rozkładu granulometrycznego.



**Rys. 2** Zawartość cząstek odpowiadających frakcji piasku w Pustej Jakartice (Cz). Egzogenne materiały organiczne: Co (obiekt kontryny), mączka zwierzęca (Mb), kompost z organicznych odpadów przemysłowych homogenizowanych (Ra) i osad pofermentacyjny z biogazowni z odpadów poprodukcyjnych frytek (Dg); 50, 75 and 100 = procent dawki w odniesieniu do poziomu nawożenia azotowego; 1 termin=wiosna 2013, 2 termin = jesień 2013, 3 termin = wiosna 2014, 4 termin=jesień 2014.

## WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań w ramach czesko-polskiego projektu można wyciągnąć następujące wnioski:

Retencja wody odpowiadająca polowej pojemności wodnej wykazała tendencję wzrostową w glebie wzbogaconej Ra i Mb w Pustych Jakarticach (Czechy) i Dg w Braszowicach (Polska). Na ogół wpływ dodatku wszystkich rodzajów materii organicznej na infiltrację (szybkość zwilżania) wody i etanolu oraz wskaźnik hydrofobowości agregatów glebowych był nieznaczny i statystycznie nieistotny ( $P < 0,05$ ) w pierwszym roku badań (2013) w doświadczeniach polowych w Pustych Jakarticach i Braszowicach. Natomiast w drugim roku badań pod koniec doświadczenia (jesień 2014) infiltracja wody i przewodnictwo wodne w stanie nasyconym wykazywały tendencję wzrostową w glebach wzbogaconych Mb i Ra w obu lokalizacjach. Wyniki te wskazują na to, że wzbogacenie gleby Ra i Mb może przyczynić się do zwiększenia szybkości przepływu wody w glebie.

Wpływ dodatku wszystkich rodzajów materii organicznej na wytrzymałość na zgniatanie agregatów glebowych był statystycznie nieistotny ( $P < 0,05$ ). Natomiast parametr ten wykazywał tendencję wzrostową w glebach wzbogaconych Ra i Mb w ostatnim terminie badań (jesień 2014) w Pustych Jakarticach i Braszowicach.

Stwierdzono tendencję wzrostową linii trendu wilgotności gleby wraz ze wzrostem wielkości dawki stosowanych rodzajów materii organicznej w doświadczeniu w Pustych Jakarticach. Natomiast w doświadczeniu w Braszowicach nie stwierdzono takiej tendencji. Zmiany przewodnictwa cieplnego pod wpływem dodatku materii organicznej były stosunkowo mniejsze niż wilgotności gleby.

Na ogół wpływ dodatku materii organicznej na badane właściwości fizyczne gleby zwiększał się wraz ze wzrostem dawki.

## LITERATURA

- Anderson S (2011) Cropping systems, Effects on soil physical properties. In: Gliński J, Horabik J, Lipiec J (eds) Encyclopedia of agrophysics. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York, pp 180-184.
- Bengough AG, Bransby MF, Hans J, McKenna SJ, Roberts TJ, Valentine TA (2006) Root responses to soil physical conditions; growth dynamics from field to cell. *J Exp Bot* 57:437-447.
- Ceccherini MT, Pietramellara G (2011) DNA in soils: Mobility by capillarity. In: Gliński J, Horabik J, Lipiec J (eds) Encyclopedia of agrophysics. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York, pp 224-227.
- Dexter AR, Watts CW (2001) Tensile strength and friability. In: Smith KA, Mullins CE (eds) Soil analysis: Physical methods, second ed. Marcel Dekker Inc., New York, pp 405-433.
- Franzluebbers AJ (2002) Soil organic matter as an indicator of soil quality. *Soil Till Res* 66:95-106.
- Gerke HH (2006) Preferential flow descriptions for structured soils. *J Plant Nutr Soil Sc* 169:382-400.
- Hallett PD, Baumgartl T, Young IM (2001) Subcritical water repellency of aggregates from a range of soil management practices. *Soil Sci Soc Am J* 65:184-190.
- Hallett PD, Nunan N, Douglas JT, Young IM (2004). Millimeter-scale spatial variability in soil water sorptivity: scale, surface elevation, and subcritical repellency effects. *Soil Sci Soc Am J* 68:352-358.



- Horn R (2004) Time dependence of soil mechanical properties and pore functions for arable soils. *Soil Sci Soc Am J* 68:1131-1137.
- Kurochkina GN, Pinski DL (2002) Mechanism of adsorption of high-molecular surfactants on synthetic analogues of soil aluminosilicates. *Eurasian Soil Sci* 35:1046-1051.
- Król A, Lipiec J, Fraç M (2015) The effect of dairy sewage sludge amendment on repellency and hydraulic conductivity of soil aggregates from two depths of Eutric Cambisol. *J Plant Nutr Soil Sci* (in press) DOI: 10.1002/jpln.201400231.
- Krümmelbein J, Wang Z, Zhao Y, Peth S, Horn R (2006) Influence of various grazing intensities on soil stability, soil structure and water balance of grassland soils in Inner Mongolia, P.R. China. *Adv Geocol* 38:93-101.
- Lal R (2004) Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. *Science*, 304:1623-1627.
- Lipiec J, Horn R, Pietrusiewicz J, Siczek A (2012) Effects of soil compaction on root elongation and anatomy of different cereal plant species. *Soil Till Res* 121:74-81.
- McKenzie BM, Tisdall M, Vance WH (2011) Soil physical quality. In: Gliński J, Horabik J, Lipiec J (eds) *Encyclopedia of agrophysics*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York, pp 770-777.
- Oosterbaan RJ, Nijland HJ (1994) Determining the saturated hydraulic conductivity. In: Ritsema HP (ed) *Drainage principles and applications* (2nd edn.). ILRI Publication 16, Netherlands, pp 435-476.
- Pachepsky YA, Rawls WJ, Lin HS (2006) Hydropedology and pedotransfer functions. *Geoderma* 131:308-316.
- Post WM, Kwon KC (2000) Soil carbon sequestration and land-use change: processes and potential. *Glob Change Biol* 6:317-327.
- Usowicz B, Lipiec J, Usowicz JB, Marczewski W (2013) Effects of aggregate size on soil thermal conductivity: Comparison of measured and model-predicted data. *Int J Heat Mass Tran* 57:536-541.
- Watts CW, Whalley WR, Longstaff DJ, White RP, Brooke PC, Whitmore AP (2001) Aggregation of a soil with different cropping histories following the addition of organic materials. *Soil Use Manage* 17:263-268.
- Wiesmeier M, Steffens M, Mueller CW, Kölbl A, Reszkowska A, Peth S, Horn R, Kögel-Knabner I (2012) Aggregate stability and physical protection of soil organic carbon in semi-arid steppe soils. *Eur J Soil Sci* 63:22-31.
- Witkowska-Walczak B, Sławiński C, Bartmiński B, Melke J, Cymerman J (2014) Water conductivity of arctic zone soils (Spitsbergen). *Int Agrophys* 28:529-535.

## Rozdział 6

# Wpływ egzogennej materii organicznej (EOM) na różnorodność funkcjonalną i genetyczną mikroorganizmów oraz aktywność enzymatyczną gleby w odniesieniu do właściwości środowiska

Magdalena Frąć<sup>1</sup>, Agata Gryta<sup>1</sup>, Karolina Oszust<sup>1</sup>, Bořivoj Šarapatka<sup>2</sup>,  
Nina Bilińska-Wielgus<sup>1</sup>, Małgorzata Brzezińska<sup>1</sup>, Ladislav Čáp<sup>2</sup>, Petra Poláková<sup>2</sup>,  
Stanislav Malý<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, Lublin, Polska*

<sup>2</sup>*Uniwersytet Palackiego w Ołomuńcu, Olomouc, Republika Czeska*

<sup>3</sup>*Centralny Instytut Nadzoru i Badań w Rolnictwie, Brno, Republika Czeska*

## WSTĘP

W ostatnich latach prowadzone są liczne dyskusje na temat wpływu systemów rolniczych na jakość gleby, z uwzględnieniem zrównoważonego zarządzania, produkcji i ochrony gleb. Zmiany właściwości gleb związane są przede wszystkim ze stosowanymi zabiegami agrotechnicznymi. Uprawa roli wywiera duży wpływ na szybkość przemian glebowej materii organicznej, jak również na fizyczne i chemiczne właściwości gleby (Cannel i Hawes, 1994). Materia organiczna wprowadzona w postaci resztek poźniwnych i innych materiałów organicznych, w tym odpadów ma wpływ na właściwości gleby (Lopez-Bellido et al., 2010). Określenie wpływu systemu uprawy na właściwości gleby jest tematyką wielu prac naukowych (Li et al., 2012; Karlen et al., 2013).

Mikroorganizmy bytujące w glebie stanowią znaczną część biomasy żyjącej na Ziemi (Whitman et al., 1998), warstwa gleby zawiera od  $10^3$  do  $10^4$  kg/ha biomasy mikrobiologicznej (Brady i Weil, 2002). Mikroorganizmy glebowe pełnią kluczową rolę w rozkładzie materii organicznej oraz w obiegu i uwalnianiu pierwiastków. Wpływają one zarówno na właściwości fizyczne, jak i chemiczne gleby, a w konsekwencji również na jej produktywność (Rutigliano et al., 2004). Właściwości mikrobiologiczne są uważane za równie czułe na zmiany warunków środowiska, jak właściwości fizyczne i chemiczne. Dodatkową zaletą monitoringu właściwości mikrobiologicznych jest możliwość szybszej obserwacji skutków zmian warunków środowiska w porównaniu do właściwości chemicznych czy fizycznych (Lynch et al., 2004). Ponadto, działania związane z urbanizacją, rolnictwem czy użyciem różnego rodzaju środków ochrony roślin, wpływają na różnorodność mikroorganizmów występujących w glebie (Zhang et al., 2004; Gryta et al., 2013). Jedną z metod wykorzystywanych w celu określenia odpowiedzi ekosystemów na zmiany warunków środowiskowych jest analiza różnorodności biologicznej. Zmiany jakościowe w zbiorowiskach mikroorganizmów mają znaczący wpływ na integralność funkcjonalną gleby (Insam, 2001). Dlatego też, różnorodność mikrobiologiczna ma fundamentalne znaczenie dla zrównoważonego zarządzania środowiskiem. Gleba stanowi ogromny rezerwuuar mikroorganizmów, które determinują jakość gleby oraz produktywność roślin. Skuteczne metody badania bioróżnorodności, występowania, rozmieszczenia oraz metabolizmu mikroorganizmów glebowych są niezbędne w ocenie stanu jakościowego gleby (Hill et al., 2000).

Wśród mikroorganizmów występujących w glebie bakterie są najszerzej rozpowszechnione, jednakże zarówno archeony, grzyby, jak i wirusy stanowią liczną i ważną grupę zasiedlającą środowisko glebowe (Fierer et al., 2007). Archeony występujące w glebie to mikroorganizmy posiadające cechy komórek bakteryjnych i eukariotycznych, pełnią ważne funkcje w procesach biochemicznych zachodzących w glebie. Archeony utleniające amoniak (AOA) są ważną grupą mikroorganizmów zaangażowaną w procesy związane z obiegiem azotu, są również używane w monitoringu jakości gleb jako bioindykatory środowiskowe (Ritz et al., 2009).

Różnorodność funkcjonalna zbiorowisk mikroorganizmów glebowych jest również istotnym parametrem często wykorzystywanym w wielu opracowaniach do opisu stanu gleby w kontekście różnorodności mikroorganizmów. Zastosowanie tej metody doskonale uwidacznia zmiany różnorodności mikrobiologicznej związane z praktykami rolnymi, które wpływają na przebieg procesów w ekosystemach lądowych (Philippot et al., 2013). Ingerencja taka powoduje szereg zmian w aktywności mikrobiologicznej, między innymi w potencjale katabolicznym (zdolności mikroorganizmów do rozkładu substratów węglowych w celu wytworzenia energii). Warto zauważyć, że oprócz mikroorganizmów, których metabolizm opiera się na wykorzystaniu substratów węglowych, istnieje wiele grup o innym typie metabolizmu, które aby uzyskać energię potrzebną do wzrostu są w stanie korzystać z szerokiego wachlarza substancji nieorganicznych, (np. mikroorganizmy utleniające amoniak). Niemniej jednak te pierwsze znacznie przeważają w glebie. Profilowanie fizjologicznego poziomu populacji (Community level physiological profiles - CLPP), czyli zdolności mikroorganizmów do katabolicznej odpowiedzi, wskazuje na możliwość potencjału gleb do wykorzystania szeregu substratów węglowych. Profil odpowiedzi katabolicznej, który jest miarą krótkoterminowego, indukowanego substratem poziomu respiracji, został w tej pracy wykorzystany do obliczenia zróżnicowania katabolicznych funkcji zachodzących *in situ*. W szczególności różnorodność kataboliczna została wdrożona w celu zbadania efektu oddziaływania czynników środowiskowych, a także antropogenicznych na stan mikroorganizmów glebowych. CLPP to szybka metoda skrinningowa pozwalająca wykazać różnice, w profilu metabolicznym zbiorowisk mikroorganizmów, charakterystyczne dla poszczególnych obiektów (Insam i Goberna, 2004). Metoda ta jest powszechnie używana do scharakteryzowania zbiorowisk mikroorganizmów różnych siedlisk, od naturalnych środowisk glebowych do gleby nawożonej materią organiczną. Stosowanie odpadów organicznych może powodować zmiany w strukturze zbiorowisk mikroorganizmów, co w rezultacie przyczynia się do zmian w procesie obiegu węgla w glebie. Przykładem są wyniki badań, dotyczące wpływu osadów z oczyszczalni ścieków mleczarskich na różnorodność funkcjonalną mikroorganizmów glebowych (Frąc et al., 2012). W badaniach nad osadami ścieków mleczarskich oraz innymi odpadami, obejmującymi różne egzogenne substancje organiczne, zanotowano, że funkcjonalność mikroorganizmów była inna w zależności od obiektu (Torsvik i Øvreås, 2002).

Procesy biochemiczne przebiegające w środowisku glebowym są ściśle związane z obecnością w glebie enzymów. Wiele reakcji związanych z przemianą materii organicznej w glebie katalizowanych jest przez enzymy wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe mikroorganizmów oraz przez enzymy wydzielane przez korzenie roślin. Każdy typ gleby charakteryzuje się odmiennym, specyficznym składem enzymatycznym. Enzymy mają strukturę białek, wrażliwych na czynniki środowiskowe pochodzenia antropogenicznego i naturalnego, dlatego też oznaczenie aktywności wybranych enzymów jest dobrym wskaźnikiem jakości gleby. Aktywność enzymatyczna jest zależna od zmian zachodzących w glebie i jest czułym i wiarygodnym parametrem służącym do opisywania jej stanu (Bielińska i Mocek-Płóciński, 2012). Według Dicka et al. (1996) ocena

aktywności enzymatycznej może być również biologicznym wskaźnikiem zarządzania glebą w przeszłości. Ponadto, ogólna aktywność enzymatyczna zależy od sposobu uprawy gleby. W glebach uprawianych metodami ekologicznymi obserwuje się wyższą aktywność niż w przypadku uprawy konwencjonalnej (Mikanová et al., 2006). Z badań jednoznacznie wynika, że na aktywność enzymatyczną ma wpływ również stosowanie nawozów, pestycydów czy innych środków wspomagających uprawę roślin. Biomasa mikroorganizmów glebowych oraz aktywność enzymatyczna może wzrastać po aplikacji materiałów zawierających dodatkowe źródła energii. Stymulacja aktywności enzymatycznej jest większa w przypadku stosowania nawozów organicznych niż mineralnych. Efekt wpływu nawozów organicznych oraz aplikacji osadów na aktywność enzymatyczną gleb został opisany w wielu pracach naukowych (Albiach et al., 2001; Parham et al., 2002).

Dehydrogenazy stanowią grupę enzymów należących do klasy oksydoreduktaz, katalizujących reakcje utleniania związków organicznych. Aktywność dehydrogenaz określa intensywność procesów oddechowych mikroorganizmów glebowych i jest wykorzystywana jako wskaźnik ogólnej aktywności mikrobiologicznej gleby.  $\beta$ -glukozydaza jest jednym z enzymów wchodzących w skład kompleksu hydrolizującego celulozę. Pełni ważną rolę w obiegu węgla, dlatego też jest używana jako wskaźnik jakości gleby, dostarczający informacji na temat zmian zawartości węgla organicznego. Aby ocenić wpływ nawożenia organicznego niezbędne jest zrozumienie i poznanie zależności pomiędzy mikroorganizmami a środowiskiem poprzez badanie różnorodności strukturalnej i funkcjonalnej mikroorganizmów glebowych oraz ocena ich aktywności w odpowiedzi na stosowanie egzogennej materii organicznej. Przeprowadzone badania obejmowały określenie najczęściej stosowanych parametrów biologicznych i biochemicznych.

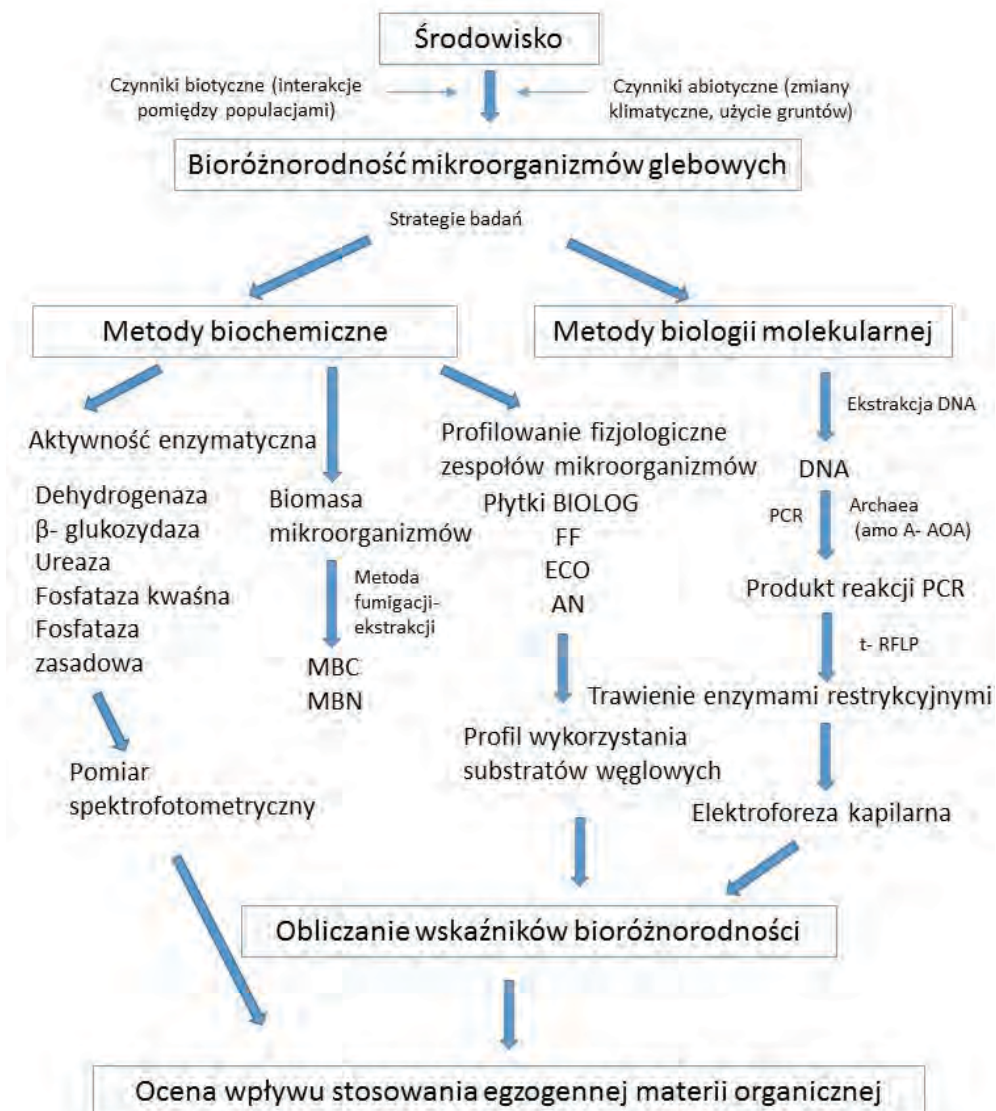
Głównym celem badań była ocena wpływu różnych rodzajów egzogennej materii organicznej (EOM) na parametry mikrobiologiczne, które uważane są za istotne wskaźniki jakości i stanu ekologicznego gleb. Szczegółowe cele podjętych badań były następujące:

- Ocena i porównanie genetycznej różnorodności wybranej grupy mikroorganizmów glebowych - archaea utleniających amoniak (AOA), w glebie z dodatkiem różnych źródeł egzogennej materii organicznej (kompost – Ag; kompost z odpadów organicznych – Ra, Dw; mączka zwierzęca – Mb oraz osad pofermentacyjny z biogazowni – Dg, Bp, Sm). Doświadczenia prowadzono w warunkach polowych i wazonowych.
- Ocena różnorodności funkcjonalnej mikroorganizmów przy użyciu profilowania fizjologicznego poziomu populacji, w szczególności bakterii, grzybów oraz mikroorganizmów beztlenowych, w odpowiedzi na wprowadzenie do gleb EOM.
- Ocena aktywności enzymatycznej (dehydrogenaz,  $\beta$ -glukozydazy, ureazy, celulazy, fosfatazy kwaśnej i alkalicznej) po aplikacji egzogennej materii organicznej pochodzącej z różnego rodzaju odpadów.

Na wybranych próbkach gleb przeprowadzono dodatkowe analizy, które obejmowały ocenę wpływu testowanych EOM na nasilenie procesu nityfikacji, które łączy aktywność z różnorodnością (t-RFLP) oraz na intensywność wzrostu mikroorganizmów glebowych.

## MATERIAŁ I METODY

Badania obejmowały ocenę wpływu różnych typów egzogennej materii organicznej (EOM) na różnorodność genetyczną i funkcjonalną oraz aktywność enzymatyczną gleby. Badania przeprowadzono w oparciu o doświadczenia polowe i wazonowe. Badaniami objęto 7 typów materiałów organicznych, które charakteryzowały się zróżnicowaną jakością biochemiczną. W badaniach zastosowano: kompost z obornika i gnojowicy (Ag), dwa rodzaje kompostu z odpadów organicznych (Ra, Dw), mączkę zwierzęcą (Mb) oraz trzy rodzaje osadu pofermentacyjnego z biogazowni (Dg – osad po fermentacji odpadów po produkcji frytek, Bp – osad po fermentacji wysłodków buraczanych, Sm – osad z biogazowni rolniczej). Analizy mikrobiologiczne obejmowały określenie różnorodności funkcjonalnej i genetycznej oraz aktywności enzymatycznej, co zostało szczegółowo przedstawione na rysunku 1.



**Rysunek 1** Analizy mikrobiologiczne gleby po aplikacji egzogennej materii organicznej (EOM).

**Różnorodność genetyczna mikroorganizmów** została określona przy użyciu nowoczesnych metod biologii molekularnej. Wraz z rozwojem technik molekularnych stało się możliwe prowadzenie kompleksowych badań nad różnorodnością mikroorganizmów, również tych, których nie można było opisać za pomocą tradycyjnych, hodowlanych metod laboratoryjnych. Metody molekularne polegają na określaniu różnorodności mikroorganizmów na podstawie analizy kwasów nukleinowych (DNA) wyizolowanych ze środowiska. Metody oparte na łańcuchowej reakcji polimerazy (ang. polymerase chain reaction, PCR) charakteryzują się wysoką czułością oraz dostarczają informacji na temat zmian strukturalnych zachodzących w zbiorowiskach danego środowiska. Jedną z metod stosowanych do oceny różnorodności genetycznej mikroorganizmów jest technika analizy polimorfizmu długości terminalnych fragmentów restrykcyjnych (ang. terminal restriction fragment length polymorphism, t-RFLP). Produkt reakcji PCR poddawany jest trawieniu specjalnie wybranymi enzymami restrykcyjnymi. Uzyskane fragmenty charakteryzują się różną długością i są wykrywane podczas elektroforezy kapilarnej w analizatorze genetycznym. Na podstawie otrzymanego, charakterystycznego wzoru fragmentów oblicza się wskaźniki bioróżnorodności (Liu et al., 1997). Podczas analizy możliwa jest charakterystyka wielu próbek gleby jednocześnie (Osborn et al., 2000), co pozwala na uzyskanie rzetelnych wyników o wysokiej powtarzalności. Metoda t-RFLP jest stosowana do obserwacji okresowych zmian w populacji archaea, co umożliwia wykrywanie i monitorowanie ich różnorodności w glebie po aplikacji egzogennej materii organicznej (EOM). Oceny różnic pomiędzy uzyskanymi profilami genetycznymi dokonano przy użyciu wielowymiarowej analizy statystycznej (Statistica v.10.0). Podobieństwo między próbkami zostało wyznaczone za pomocą analizy skupień przeprowadzonej metodą Warda na podstawie odległości euklidesowych.

**Różnorodność funkcjonalna mikroorganizmów glebowych** została określona na podstawie profilu wykorzystania substratów węglowych umieszczonych w mikro płytках Biolog EcoPlates (dedykowanych do oceny różnorodności zbiorowisk mikroorganizmów), w płytках FF (dla zbiorowisk mikrogrzybów) oraz w płytках AN (dedykowanych zbiorowiskom mikroorganizmów beztlenowych). Profile fizjologicznego poziomu populacji (CLPP) wyznaczono poprzez obliczanie wskaźników różnorodności: Shannona (H), wykorzystywanego do oceny poziomu stabilności zbiorowiska; Richness (R), opisującego liczbę uruchomionych substratów umieszczonych w poszczególnych płytках oraz średniej aktywności wykorzystania substratów węglowych (AWCD) opisującej ogólną aktywność metaboliczną zbiorowiska. Dla każdego obiektu doświadczalnego obliczono także procent wykorzystania substratów węglowych.

**Aktywność enzymatyczna** została określona z wykorzystaniem metod spektrofotometrycznych. Aktywność dehydrogenaz (DHA) określano wykorzystując 2,3,5-trifenyloctetrazoliowy chlorek (TTC) jako substrat reakcji. Wytworzony trifenyloformazan (TPF) ekstrahowano metanolem i oznaczano kolorymetrycznie przy długości fali 485 nm (Thalman, 1968; Alef i Nannipieri, 1995b). Aktywność  $\beta$ -glukozydazy określano poprzez inkubację gleby z roztworem p-nitrofenylu- $\beta$ -D-glukozydu (PNG) jako substratu. Uwolniony p-nitrofenol ekstrahowano i oznaczano kolorymetrycznie przy długości fali 400 nm (Eivazi i Tabatabai, 1988; Alef i Nannipieri, 1995a). Aktywność fosfataz determinowano z użyciem fosforanu p-nitrofenylu jako substratu. Wydzielony p-nitrofenol poddawano ekstrakcji i oznaczano kolorymetrycznie przy długości fali 400 nm (Tabatabai i Bremner, 1969). Do określania aktywności proteazy jako substratu użyto kazeiny, powstały niebieski kompleks (kwasy aromatyczne, aminokwasy reagują z fenolem zawartym w odczynniku Folina-Ciocalteu'a) mierzono kolorymetrycznie przy długości fali 700 nm (Ladd i Butler, 1972). Analizę aktywności ureazy prowadzono przez inkubację próbki

gleby z roztworem mocznika. Wydzielony jon amonu ekstrahowano z użyciem roztworu chlorku potasu i mierzono kolorymetrycznie przy długości fali 410 nm (Tabatabai i Bremner, 1972). W celu określenia aktywności reduktazy azotanowej próbki gleby inkubowano stosując  $\text{KNO}_3$  jako substrat. Po inkubacji uwalniany azotan(III) ekstrahowano i mierzono kolorymetrycznie przy długości fali 520 nm (Abdelmagid i Tabatabai, 1987). Aktywność celulazy oznaczono stosując CM-celulozę jako substrat. Uwolnione cukry redukujące spowodowały zredukowanie heksacyjanożelazianu potasu, który uległ reakcji z siarczanem amonu żelaza(II), z wytworzeniem kompleksu heksacyjanożelazianu(II) żelaza(III), który mierzono kolorymetrycznie przy długości fali 690 nm (Schinner i von Mersi, 1990).

## **KRZYWE WZROSTU ODDYCHANIA ORAZ AKTYWNOŚĆ NITRYFIKACYJNA (I ETAP) (SNA)**

Właściwości wzrostu mikroorganizmów heterotroficznych oceniano na podstawie krzywych wzrostu oddychania mikroorganizmów glebowych po dodaniu podłoża zawierającego glukozę, niewielką ilość  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  i  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Zużycie  $\text{O}_2$  rejestrowano co 15 minut. Szybkość wzrostu  $\mu$ , która określa podwojenie biomasy mikrobiologicznej w jednostce czasu, oraz czas niezbędny do osiągnięcia maksymalnej szybkości oddychania  $T_{\text{peakmax}}$ , określono na podstawie krzywych wzrostu.

Aktywność nityfikacyjną (I etap) (SNA), polegającą na utlenieniu amoniaku do azotanów (III), oceniano w buforowanej zawieszynie gleby ( $\text{pH} = 7,2$ ) w obecności substratu  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Utlenianie azotanów (III) do azotanów (V) blokowano przez dodatek chloranu sodu. Próbkę zawiesziny glebowej do oznaczania azotanów (III) pobierano po 2 i 6 godzinach inkubacji, wyrażając nasilenie nityfikacji jako zwiększenie zawartości  $\text{NO}_2\text{-N}$ . Uzyskane wyniki można uznać za potencjalną aktywność nityfikacyjną (I etapu) w warunkach optymalnych.

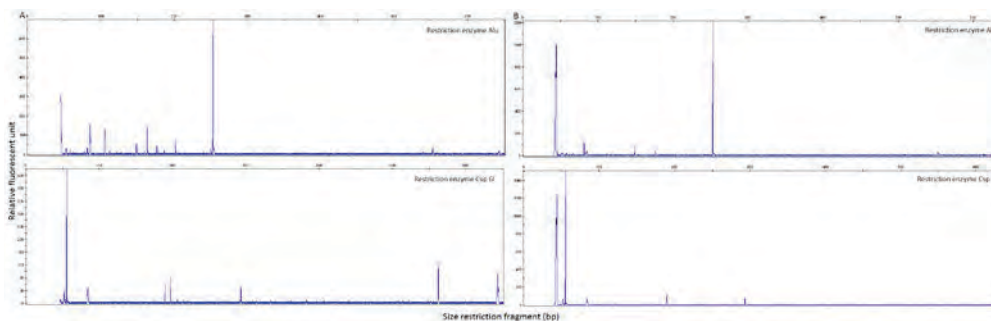
## **WYNIKI**

### **Różnorodność genetyczna mikroorganizmów – populacji archaea na podstawie analizy t-RFLP**

Środowiskowa różnorodność populacji archaea utleniających amoniak (AOA) została określona poprzez liczbę zaobserwowanych terminalnych fragmentów restrykcyjnych (T-RFs) uzyskanych po restrykcji. Uzyskany profil, określany jako „genetyczny odcisk palca”, jest charakterystycznym układem fragmentów DNA o unikalnej długości i intensywności. Każdy fragment obserwowany jest na elektroforogramie jako pik o określonej wielkości (pary zasad, pz). Każda analizowana gleba charakteryzuje się odmiennym, ale niezupełnie innym, profilem pików uzyskanych z wyizolowanego z gleby DNA. Otrzymane profile wszystkich badanych gleb cechowały się dużą liczbą pików różnej wielkości, wskazując na obecność wielu różnych gatunków należących do AOA (Rys. 2). Różnice w otrzymanych profilach genetycznych wskazują na różny ilościowy i jakościowy skład badanej grupy mikroorganizmów w analizowanych glebach. Co więcej, odnotowano wysoką powtarzalność zarówno co do obecności, jak i względnej zawartości fragmentów restrykcyjnych (T-RFs). Uzyskana powtarzalność dotyczyła zarówno powtórnej analizy tej samej próbki gleby, jak również powtórzeń polowych. Stwierdzono znaczne różnice w profilach genetycznych pomiędzy próbkami gleb pochodzącymi z różnych eksperymentów (doświadczenie wazonowe, doświadczenie polowe - Braszowice, doświadczenie polowe – miejscowość Pusté Jakartice).

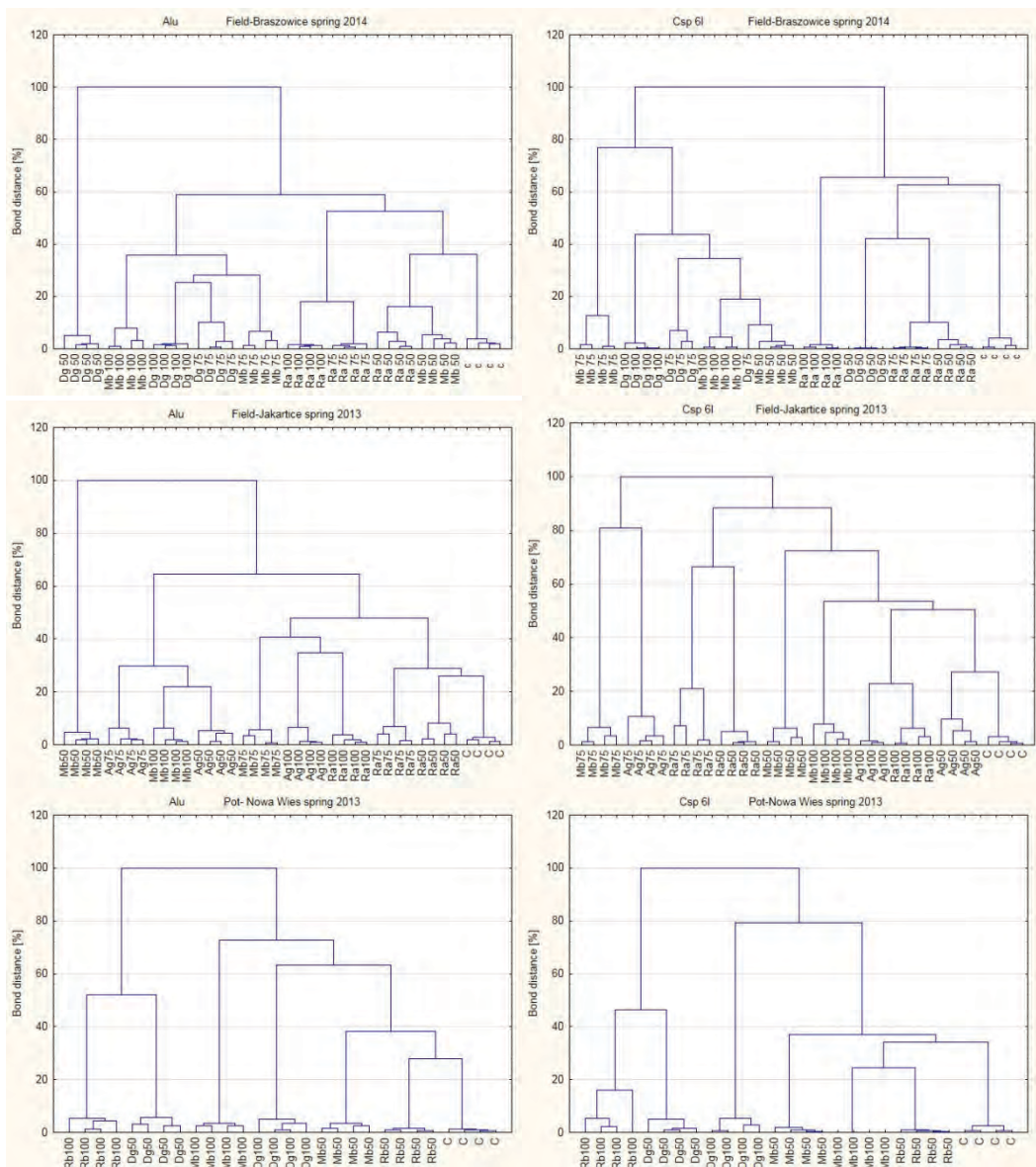
Odmienna struktura populacji AOA w glebach z przeprowadzonych eksperymentów wynikała z różnic pomiędzy wielkością uzyskanych T-RFs, jak również pomiędzy ich względną zawartością procentową. Analiza skupień wykazała wysokie podobieństwo pomiędzy próbkami gleby, będącymi powtórzeniami polowymi (ten sam rodzaj EOM, ta sama dawka) (Rys. 3.). Obliczone na podstawie powierzchni pików wskaźniki bioróżnorodności: indeks Shannona (H) oraz indeks Simpsona (S) nie wykazały istotnych różnic dla badanych rodzajów EOM oraz ich dawek. Uzyskane profile genetyczne scharakteryzowane na podstawie wskaźników bioróżnorodności świadczą o wyraźnej stabilności mikroorganizmów glebowych pochodzących z doświadczenia polowego i wazonowego. Produktami restrykcji enzymem AluI były fragmenty DNA o długości od 52 pz do 644 pz, w przypadku restrykcji enzymem Csp6I: od 51 pz do 644 pz. Większa liczba pików oraz wzrost intensywności sygnału na elektroforogramie wskazuje na zwiększone występowanie AOA w glebie z dodatkiem EOM.

Aplikacja odpadów organicznych (EOM) spowodowała wzrost różnorodności archaea utleniających amoniak w glinie piaszczystej, na której prowadzono doświadczenie wazonowe. W szczególności różnorodność archaea uczestniczących w procesie nityfikacji była znacząco wyższa w porównaniu do gleby bez dodatków materii organicznej. Ogólnie można stwierdzić, że zastosowane typy EOM poprawiają jakość gleby o właściwościach gliny piaszczystej, natomiast w przypadku łu pylastego i gliny pylastej nie zaobserwowano wpływu wprowadzonej materii organicznej na zbiorowiska archaea utleniających amoniak. Prawdopodobnie było to spowodowane neutralnym odczynem gleby (wartość pH 7). Stan populacji archaea był stabilny i nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy badanymi obiektami. Analiza różnorodności genetycznej AOA na podstawie obliczonych wskaźników nie wykazała istotnego wpływu EOM na zbiorowiska badanych archeonów, zarówno w eksperymencie polowym, jak i wazonowym. Obiekty doświadczenia wazonowego prowadzone na glinie piaszczystej oraz łu pylastym z dodatkiem Dg charakteryzowały się największą liczbą zaobserwowanych fragmentów restrykcyjnych oraz najwyższymi wartościami wskaźnika różnorodności Richness. Dodatek osadu pofermentacyjnego z biogazowni przetwarzającej odpady ziemniaczane po produkcji frytek (Dg) w dawce 50% w stosunku do azotu, istotnie zwiększał różnorodność mikrobiologiczną. Prawdopodobnie efekt ten był spowodowany poprawą fizykochemicznych właściwości glebowej materii organicznej oraz humusu. Badania mikrobiologiczne wskazują, że dodatek egzogennej materii organicznej jest bezpieczny dla środowiska, ponadto aplikacja EOM może być szczególnie użyteczna w celu poprawy jakości gleby o charakterze gliny piaszczystej.



**Rysunek 2** Profile t-RFLP genu *amoA* archeonów utleniających amoniak dla 2 typów gleb: A- doświadczenie polowe w Braszowicach, dodatek Dg (dawka 100%), B- doświadczenie wazonowe- gleba (DW) o właściwościach gliny pylastej (dawka 100%). Na rysunku pokazano jedno z czterech powtórzeń. Objasnienia: Relative fluorescent unit – Względne jednostki fluorescencji; Restriction enzyme – Enzym restrykcyjny; Size restriction fragment (bp) – Wielkość fragment restrykcyjnego (pz).





**Rysunek 3** Dendrogramy populacji AOA na podstawie profili t-RFLP, dla trzech różnych doświadczeń (doświadczenie polowe w Braszowicach, doświadczenie polowe w miejscowości Pusté Jakartice oraz doświadczenie wazonowe na glebie o właściwościach gliny piaszczystej). Analiza skupień została wykonana metodą Warda z zastosowaniem odległości euklidesowych. Objasnienia: Field – Doświadczenie polowe; Spring – wiosenny pobór próbek; Bond distance – Odległość wiązań; Pot – Doświadczenie wazonowe.

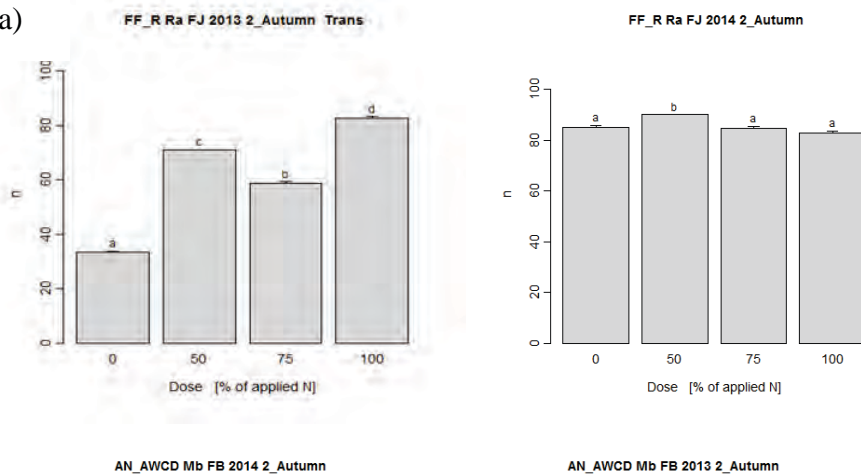
## **Różnorodność funkcjonalna mikroorganizmów glebowych określona na podstawie profilu fizjologicznego poziomu populacji**

Przeprowadzone badania wykazały zmiany aktywności funkcjonalnej mikroorganizmów glebowych w obiektach z nawożeniem egzogenną materią organiczną (EOM). Dodatek EOM może chronić glebę przed degradacją dzięki przemianom mikrobiologicznym. Mikroorganizmy, uzyskując dodatkowe źródło łatwo przyswajalnego węgla i azotu, zwiększają swoją liczebność i różnorodność, prowadząc do poprawy żyzności gleby. Wskaźniki bioróżnorodności oparte o średnią aktywność wykorzystania substratów węglowych (AWCD) oraz wskaźniki Richness (R) i Shanonna (H), wyliczone na podstawie liczby lub intensywności wykorzystania poszczególnych substratów węglowych umieszczonych na płytkach Systemu Biolog®, zwłaszcza liczone na podstawie płytek AN i FF, były czułymi wskaźnikami wpływu EOM na jakość mikrobiologiczną gleby w eksperymentach polowych w Braszowicach i miejscowości Pusté Jakartice, jak i w eksperymencie wazonowym. Zastosowanie różnych dawek EOM sprzyjało zmianom różnorodności funkcjonalnej zbiorowisk mikroorganizmów glebowych. Wskaźniki bioróżnorodności wykazały, że rolnicze zagospodarowanie odpadów organicznych, takich zaproponowane w projekcie EOM, jest odpowiednim sposobem ich utylizacji, zapewniającym prawidłowy obieg materii organicznej. Odnotowano jednocześnie zróżnicowany pod względem wielkości i kierunku wpływ rodzaju EOM na różnorodność funkcjonalną zbiorowisk mikroorganizmów glebowych (określony na podstawie AWCD i R), który różnił się w zależności od dawki i typu materiału. Jako przykład czasowych zmian w różnorodności funkcjonalnej zbiorowisk mikroorganizmów na rysunku 4 przedstawiono różnice wartości wskaźnika Richness (R) po zastosowaniu kompostu przemysłowego Ra (a) i zmiany średniej absorbancji (AWCD) po zastosowaniu kompostu Ag (b) w doświadczeniu polowym w miejscowości Pusté Jakartice. Pomimo tych czasowych różnic odnotowanych w niemalże wszystkich obiektach doświadczalnych, różnorodność funkcjonalna mikroorganizmów ulegała samoregulacji. Przykładowy efekt takiego oddziaływania został zaprezentowany na rysunku 5., który przedstawia wartości wskaźnika bioróżnorodności Shanonna (H) po zastosowaniu mączki zwierzęcej, w różnych terminach analiz w miejscowości Pusté Jakartice (a) i Braszowicach (b).

Wykorzystanie płytek systemu Biolog® z substratami węglowymi pozwoliło na wskazanie kierunku zmian w różnorodności funkcjonalnej mikroorganizmów po zastosowaniu EOM. Zmiany te przyczyniły się do lepszego rozkładu materii organicznej, wpływając bezpośrednio na fizjologię mikroorganizmów i zwiększenie reakcji katabolicznych. Dla zbiorowisk mikroorganizmów beztlenowych, grzybów i bakterii odnotowano zróżnicowane wzory procentowego wykorzystania grup substratów węglowych. Jako przykład przedstawiono rysunek 6., który przedstawia procent wykorzystania grup substratów węglowych, obliczony na podstawie płytek AN z próbkami gleby z miejscowości Pusté Jakartice (1. termin analiz, z 2013 roku) oraz na podstawie płytek ECO dla gleby z Braszowic (2. termin analiz, z 2014 roku).

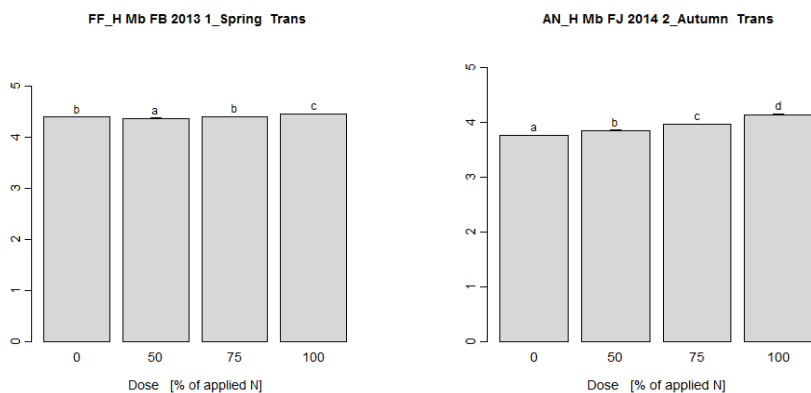
Stabilnością układu określa się opór wewnętrzny wobec potencjalnych zakłóceń zewnętrznych mogących powstać podczas wprowadzania EOM do gleby. We wczesnych etapach rozkładu materii organicznej zanotowano różnorodną odpowiedź fizjologicznego poziomu populacji (Community level physiological profiles - CLPP), w zależności od rodzaju EOM i typu gleby. Jednocześnie nie odnotowano różnic w CLPP w obiektach z wysoką i niską dawką materii organicznej.

a)

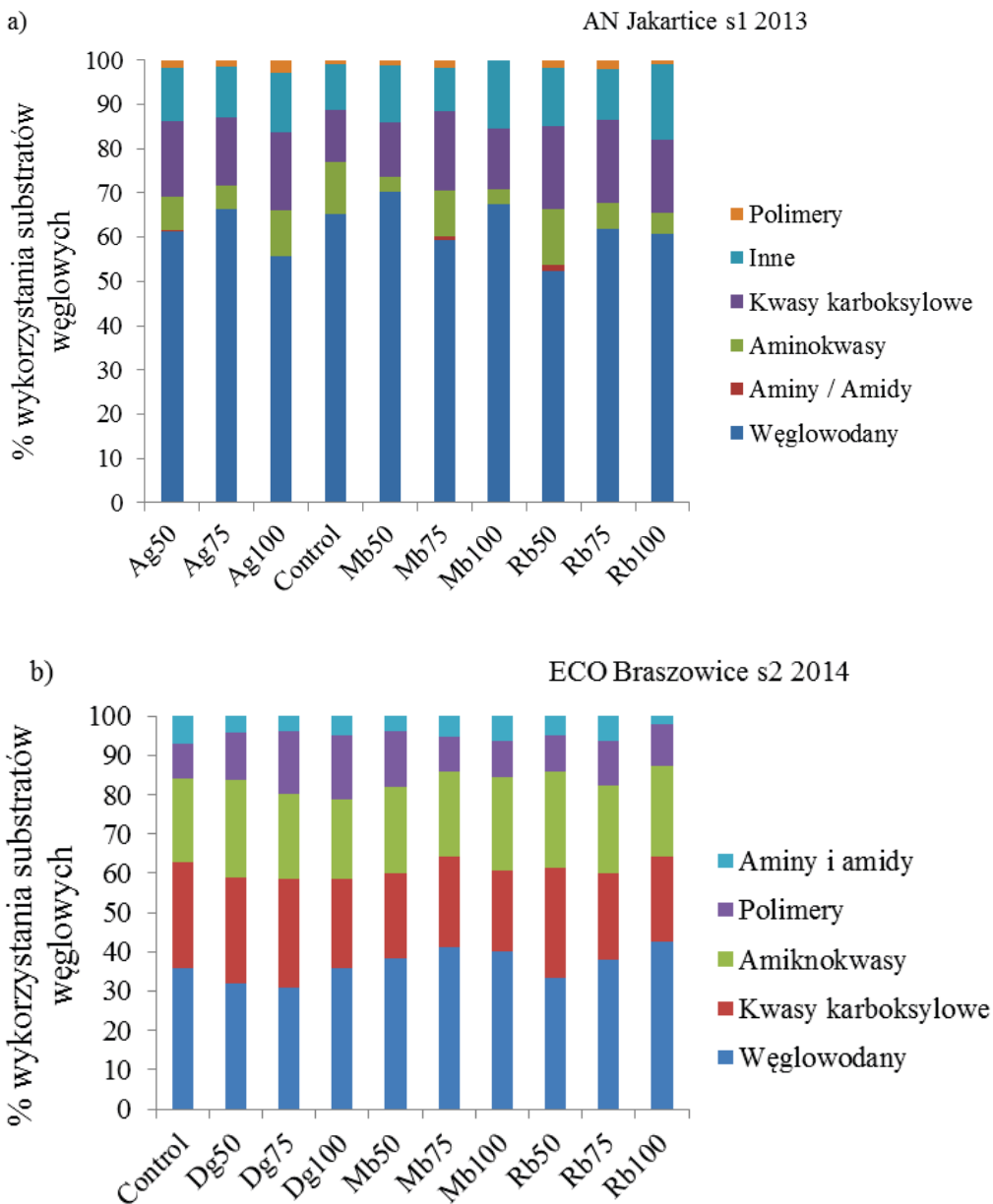


b)

**Rysunek 4** Zmiany różnorodności funkcjonalnej grzybów (FF) w glebie z miejscowości Pusté Jakartice (FJ) na podstawie wskaźnika Richness (R), po zastosowaniu kompostu Ra (a), i zbiorowisk mikroorganizmów beztlenowych (AN) w glebie z Braszowic (FB), po zastosowaniu mączki zwierzęcej (Mb), na podstawie wskaźnika AWCD (b). Objaśnienia: Dose [% of applied N] – Dawka [% zastosowanego N]; Autumn – jesień (2. termin analiz).



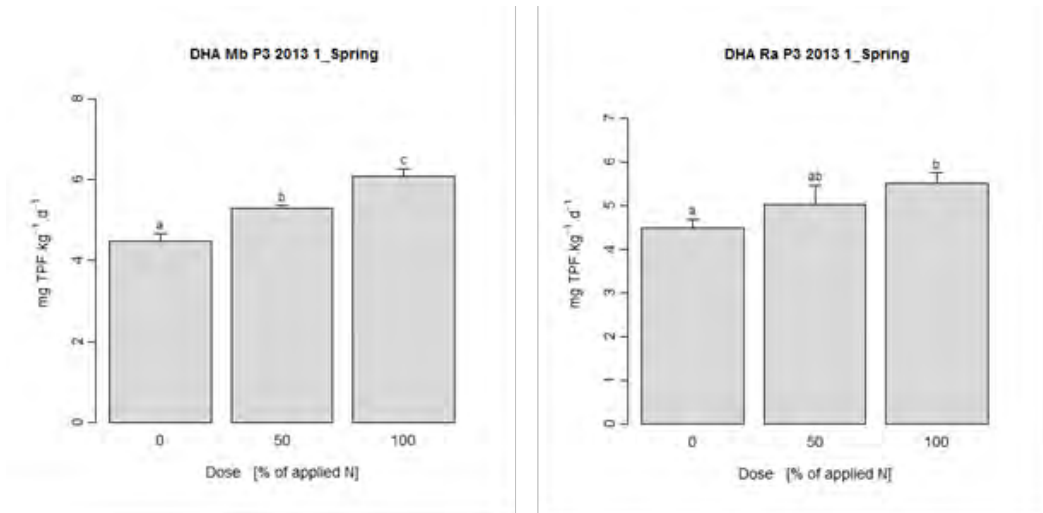
**Rysunek 5** Wskaźnik Shannon'a (H) po zastosowaniu mączki zwierzęcej w różnych terminach analiz obliczony dla gleby z miejscowości Pusté Jakartice (FJ) (a) i Braszowic (FB) (b); objaśnienia: Spring – wiosna (1. termin analiz); Autumn – jesień (2. termin analiz); Dose [% of applied N] – Dawka [% zastosowanego N].



**Rysunek 6** Procent wykorzystania grup substratów węglowych na podstawie płytek AN dla miejscowości Pusté Jakartice, 1 termin analiz, 2013 rok (a) i na podstawie płytek ECO dla Braszowic, 2 termin analiz, 2014 rok (b).

## Wpływ stosowania egzogennej materii organicznej na aktywność enzymatyczną gleby

Badania przeprowadzone w warunkach doświadczenia wazonowego wykazały istotne różnice w aktywności enzymatycznej, zależne od testowanej gleby, typu wprowadzonej materii organicznej (EOM) oraz terminu analiz. Zaobserwowano istotne podwyższenie aktywności dehydrogenaz po zastosowaniu obydwu dawek Dg, Mb i Ra, lecz tylko w glebie P3 (Pastuchów). Pozostałe dodatki egzogennej materii organicznej nie powodowały istotnych zmian aktywności dehydrogenaz. Badania nie wykazały natomiast różnic w aktywności  $\beta$ -glukozydazy, która w glebach wzbogaconych EOM pozostawała na poziomie mierzonym w glebie kontrolnej w obu terminach analiz. Najbardziej widoczne zmiany, obserwowane w przypadku DHA w doświadczeniu wazonowym P3 (Pastuchów) zostały przedstawione na rysunku 7.



**Rysunek 7** Aktywność dehydrogenaz w doświadczeniu wazonowym w glebie P3 (Pastuchów) po zastosowaniu egzogennej materii organicznej (Mb i Ra). Objaśnienia: Dose [% of applied N] – Dawka [% zastosowanego N].

Stymulacja DHA w glebie P3 po dodaniu Dg, Mb i Ra może mieć związek ze stosunkowo wysoką wartością pH testowanej gleby (ok. 7,2) w porównaniu do gleb P2 (Nowa Wieś) i P1 (Długa Wieś) wykazujących pH, odpowiednio ok. 5,8 i 6,6. Zgodnie z przyjętą metodą, oznaczenie DHA przeprowadzane jest w obecności buforu, przy pH neutralnym. Mimo to, naturalny odczyn charakterystyczny dla testowanej gleby ma silny wpływ na poziom aktywności dehydrogenaz, co zostało potwierdzone w wielu badaniach (Alef i Nannipieri, 1995b). Ponadto, Dg, Mb i Ra charakteryzowały się wyższą zawartością fosforu (ok. 33 223 mg P kg<sup>-1</sup>) w porównaniu do innych typów EOM (Bp, Dw i Sm wykazujących średnio ok. 6 508 mg P kg<sup>-1</sup>). Tak znaczna różnica może wskazywać, że stymulacja DHA, ogólnego wskaźnika aktywności mikrobiologicznej gleby, w doświadczeniu P3 była wynikiem uzupełnienia niedoboru fosforu w glebie.

Wyniki otrzymane w doświadczeniach polowych wskazują na tendencję wzrostu aktywności dehydrogenaz pod wpływem zastosowanych dodatków EOM (Rys. 8). W porównaniu do doświadczeń wazonowych, zmiana aktywności dehydrogenaz była mniej jednorodna, prawdopodobnie wskutek zmiennych warunków środowiskowych, naturalnie obserwowanych w warunkach polowych. Dla porównania wpływu zastosowanych dodatków EOM, przygotowaliśmy uproszczoną tabelę (Tabela 1) wskazującą stymulację DHA (znak +) lub brak

istotnego wpływu EOM na aktywność dehydrogenaz (n.s.). Zastosowanie osadu pofermentacyjnego z biogazowni (Dg) do gleby w Braszowicach spowodowało podwyższenie wartości DHA w wiosennym oraz jesiennym terminie poboru próbek (w 2013 r. i 2014 r.). Podobnie, stymulacja DHA widoczna była do dodania kompostu Ag do gleby w miejscowości Pusté Jakartice (z wyjątkiem poboru próbek wiosną 2013 r.).

Kilka przykładów zmian aktywności dehydrogenaz pod wpływem EOM przedstawia rysunek 8 (osad pofermentacyjny Dg oraz kompost Ag na polach doświadczalnych w miejscowościach Pusté Jakartice i Braszowice). W niektórych przypadkach po zastosowaniu dawki D50 i D75 aktywność dehydrogenaz wzrastała w porównaniu do gleby kontrolnej, lecz ulegała podwyższeniu przy dawce najwyższej (D100). W zasadzie nie było określonej tendencji zmian DHA pod wpływem EOM. Dodanie kompostu z odpadów przemysłowych Ra powodowało istotne podwyższenie DHA tylko w jesiennym poborze (pole w miejscowości Pusté Jakartice), lub tylko w drugim roku doświadczenia (2014 r., Braszowice). Wpływ mączki zwierzęcej Mb był jeszcze słabszy w przypadku obydwu pól doświadczalnych (Tabela 1). Nie stwierdzono natomiast istotnego wpływu egzogennej materii organicznej na aktywność  $\beta$  glukozydazy, zarówno w doświadczeniu polowym, jak i wazonowym (dane nie prezentowane).

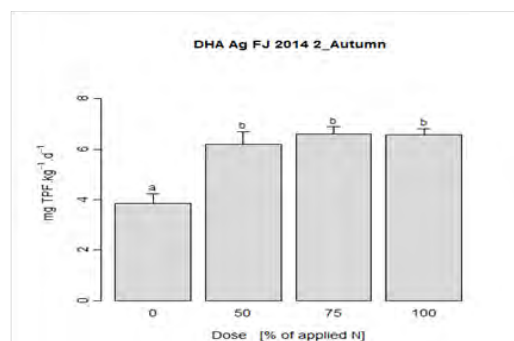
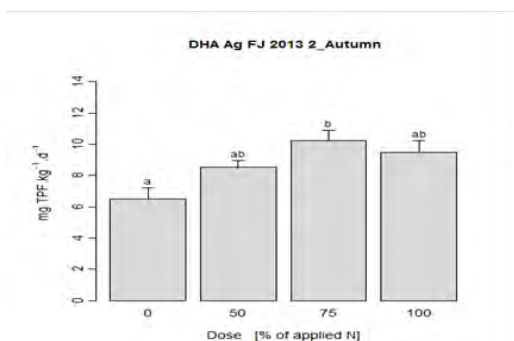
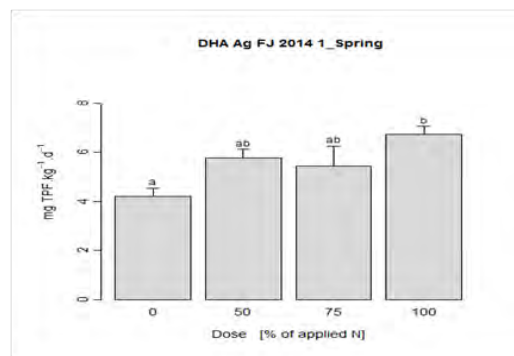
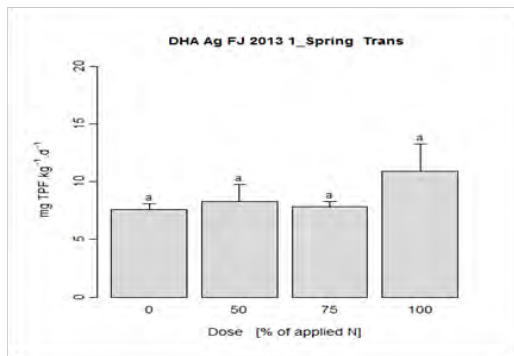
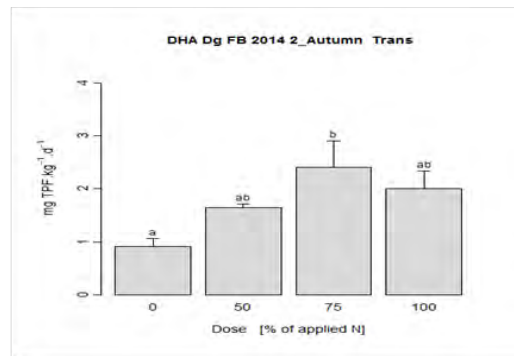
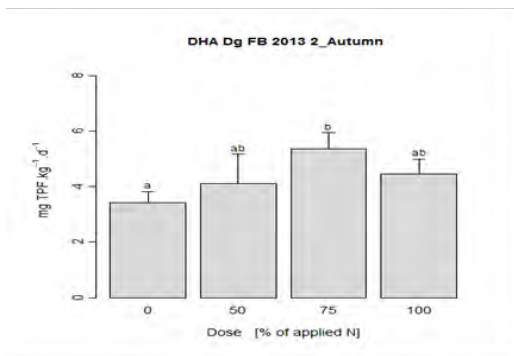
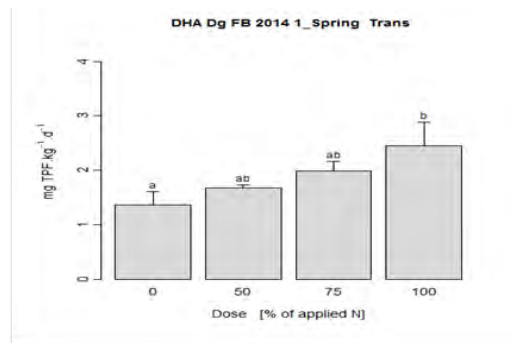
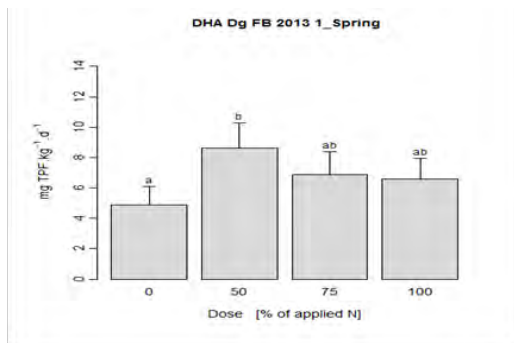
**Tabela 1** Porównanie wpływu dodatków EOM na aktywność dehydrogenaz (DHA) w doświadczeniu polowym, Braszowice i Pusté Jakartice - istotny wzrost (znak +) lub brak istotnego wpływu (n.s.) w porównaniu do gleby kontrolnej; Dg – osad pofermentacyjny z biogazowni; Ag – kompost; Mb – mączka zwierzęca; Ra – kompost z odpadów przemysłowych.

Braszowice		2013	2014
Dg	Wiosna	+	+
	Jesień	+	+
Mb	Wiosna	+	n.s.
	Jesień	n.s.	n.s.
Ra	Wiosna	n.s.	+
	Jesień	n.s.	+

Pusté Jakartice		2013	2014
Ag	Wiosna	n.s.	+
	Jesień	+	+
Mb	Wiosna	n.s.	n.s.
	Jesień	n.s.	+
Ra	Wiosna	n.s.	n.s.
	Jesień	+	+

Powyższe wyniki wskazują, że wpływ testowanych dodatków EOM na aktywność dehydrogenaz silnie zależał od właściwości nawożonej gleby. Na przykład, mączka zwierzęca (Mb) stymulowała aktywność w doświadczeniu wazonowym P3, natomiast wywierała bardzo słaby wpływ w obydwu doświadczeniach polowych. Podobnie, kompost z odpadów przemysłowych (Ra) powodował podwyższenie DHA w doświadczeniu wazonowym P3, jednak jego wpływ w doświadczeniach polowych zależał od terminu analiz (Tabela 1). Natomiast pozytywny wpływ osadu Dg (materii wykazującej relatywnie wysoką zawartość węgla całkowitego i fosforu, odpowiednio, 40,7% i 27 905 mg kg<sup>-1</sup>) potwierdzony został w obydwu doświadczeniach polowych. Biorąc pod uwagę wyniki dotyczące wskaźnika DHA należy podkreślić, że każda aplikacja EOM powinna być poprzedzona przetestowaniem wpływu danego dodatku na glebie planowanej do nawożenia.



**Rysunek 8** Aktywność dehydrogenaz w różnych terminach analiz w glebie z doświadczeń polowych zlokalizowanych w miejscowościach Pusté Jakartice (FJ) (a) oraz Braszowice (FB) (b) po zastosowaniu egzogennej materii organicznej (Dg, Ag). Objasnienia: Spring – wiosna (1. termin analiz); Autumn – jesień (2. termin analiz); Dose [% of applied N] – Dawka [% zastosowanego N].

**Tabela 2** Istotne statystycznie grupy jednorodne dla aktywności poszczególnych enzymów w glebie z doświadczenia polowego w miejscowości Pusté Jakartice w zależności od dawki azotu wprowadzonego z EOM. Podobny efekt zanotowano także w doświadczeniu polowym w Braszowicach.

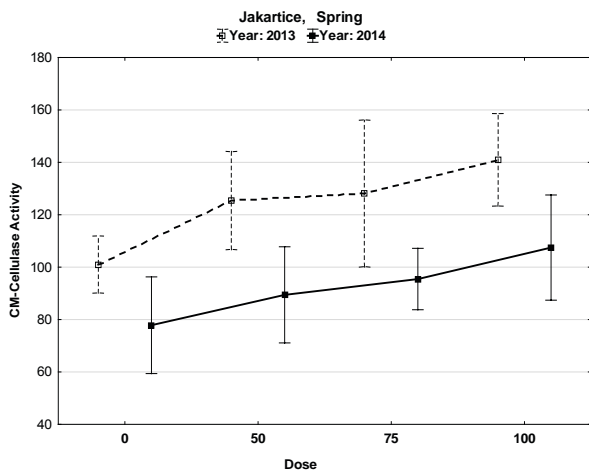
Rok	Pora roku	Różnice statystyczne (ANOVA)	Grupy jednorodne (test Tukey'a) % N w EOM			
			0	50	75	100
2013	Wiosna	aktywność celulaz	a	ab	ab	b
		aktywność fosfatazy kwaśnej	a	ab	ab	b
2013	Jesień	aktywność fosfatazy zasadowej	a	b	b	c
2014	Wiosna	aktywność celulaz	a	ab	ab	b
		aktywność fosfatazy zasadowej	a	a	a	a

Badania obejmowały również określenie wpływu dodatku materii organicznej na aktywność celulazy, fosfatazy kwaśnej i zasadowej oraz ureazy. Ocena statystyczna aktywności enzymów glebowych została przeprowadzona za pomocą analizy wariancji, a istotne różnice określono testem Tukey'a. Przeprowadzone badania wskazują, że istotne różnice w aktywności celulazy, oraz fosfataz kwaśnej i zasadowej, zależały od zastosowanej dawki azotu oraz typu materii organicznej (EOM) wprowadzonej do gleby. Nie stwierdzono istotnych różnic w aktywności ureazy w glebie z miejscowości Pusté Jakartice, natomiast w glebie z Braszowic zaobserwowano zmiany aktywności badanego enzymu, związane z dawką azotu wprowadzonego do gleby z EOM. Badania w doświadczeniach polowych przeprowadzono dwukrotnie w każdym roku (wiosną i jesienią). W tabeli 2 przedstawiono podsumowanie analizy statystycznej aktywności enzymów glebowych w zależności od zastosowanej dawki azotu, w latach 2013 i 2014.

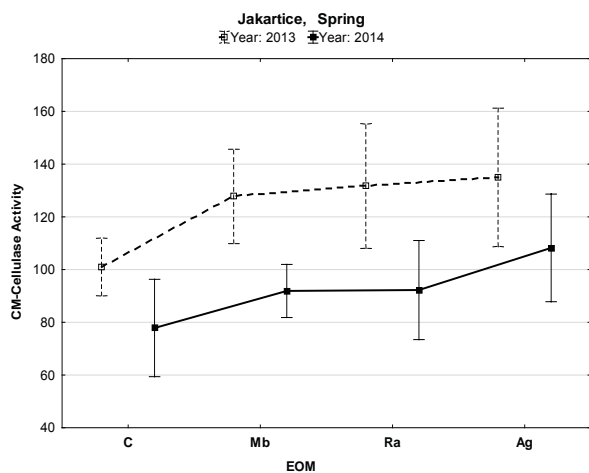
Wpływ egzogennej materii organicznej na aktywność enzymatyczną gleby badany był również w oparciu o doświadczenie wazonowe. Na podstawie przeprowadzonych badań zanotowano wzrost aktywności enzymatycznej wraz z wyższą dawką azotu wprowadzanego do gleby z EOM. Dokonując uproszczenia w analizie uzyskanych wyników, które zostaną szczegółowo zinterpretowane w przyszłych publikacjach naukowych, zaobserwowano wpływ materii organicznej na aktywność enzymatyczną, który zaznaczył się zwłaszcza w pierwszym terminie analiz po aplikacji EOM.

Badania obejmowały nie tylko ocenę oddziaływania różnych dawek azotu wprowadzonego do gleby z EOM, z uwzględnieniem nawożenia mineralnego dla gleby kontrolnej (100 = 100% N w EOM i 0 = 100% N zastosowanego w formie nawozów mineralnych), ale również wpływ różnych typów zastosowanej materii organicznej. Na rysunku 9a-9c przedstawiono przykładowe wyniki aktywności celulazy w glebie z doświadczenia polowego zlokalizowanego w miejscowości Pusté Jakartice.

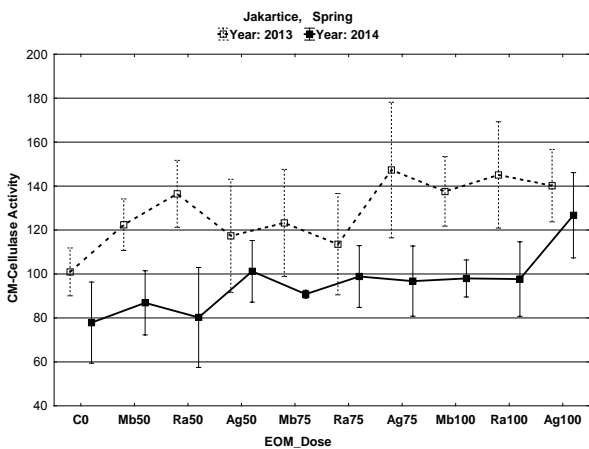




a)



b)



c)

**Rysunek 9** Aktywność celulazy w stosunku do a) dawki azotu w EOM, b) typu materii organicznej oraz c) interakcji - typ materii organicznej + dawka azotu w EOM (np. Ag 100).

Przeprowadzone krótkoterminowe badania wskazują, że:

- Aktywność enzymatyczna (aktywność celulazy oraz fosfatazy kwaśnej i zasadowej) różniła się istotnie w czasie prowadzenia eksperymentu.
- Zaobserwowano wpływ Mb (mączki zwierzęcej) i Ag (kompostu z obornika, gnojowicy i słomy) na aktywność badanych enzymów, przy czym efekt ten był najwyższy po zastosowaniu 100% dawki N wprowadzonego z EOM.
- Wpływ pozostałych typów egzogennej materii organicznej nie był jednoznaczny. Po zastosowaniu Ra (kompostu z odpadów przemysłowych) aktywność istotnie wzrastała już przy niższej % dawce N wprowadzonego z EOM. Obiekty z niższymi % dawkami N stanowiły zazwyczaj odrębną grupę jednorodną między glebą kontrolną a wzbogaconą najwyższą dawką N z EOM.

W drugim terminie analiz (pobór prób jesienią) stwierdzono mniejsze różnice w aktywności enzymatycznej pomiędzy obiektami doświadczalnymi. Jednakże zaobserwowano wpływ zastosowanej materii organicznej (wyrażonej % zawartością azotu) na aktywność wybranych enzymów glebowych w stosunku do gleby kontrolnej.

Podsumowując, wprowadzona egzogenna materia organiczna, sposób jej aplikacji oraz zastosowana dawka, mają istotny wpływ zarówno na zbiorowiska mikroorganizmów, jak również na wydzielanie zewnątrzkomórkowych enzymów, dla których istotny jest również typ zastosowanego odpadu. Efekt ten zaznaczył się głównie podczas aplikacji odpadów z produkcji zwierzęcej, jak mączka zwierzęca oraz z kompostu przemysłowego.

### **Krzywe wzrostu**

Tradycyjnie, mikroorganizmy glebowe zostały sklasyfikowane jako autochtoniczne i zymogenne, co odpowiada obecnej koncepcji ekologicznej, odpowiednio strategii rozwoju -K lub -r. Powolny wzrost na trudno rozkładalnych, złożonych związkach organicznych jest typową cechą mikroorganizmów strategii -K. Mikroorganizmy strategii -r wymagają do wzrostu dużej koncentracji łatwo degradowalnych prostych związków organicznych, takich jak wydzieliny korzeniowe lub resztki roślinne. Mikroorganizmy strategii -r efektywnie asymilują dostępne substancje organiczne, wchodząc w fazę szybkiego wzrostu logarymicznego. Po wykorzystaniu dostępnych substratów następuje spadek biomasy tych mikroorganizmów (Dilly, 2005). Można zauważyć, że nie ma wyraźnej granicy między obiema grupami, a mówimy o tzw. kontinuum -r-K, ponieważ mikroorganizmy te koegzystują w glebie, zajmując odmienne nisze ekologiczne. Ze względu na to, że egzogenna materia organiczna zazwyczaj zawiera dużo łatwo degradowalnych substratów, można oczekiwać, że po jej aplikacji do środowiska glebowego nastąpi przesunięcie stosunku mikroorganizmów na korzyść fenotypów o strategii rozwoju -r.

Najbardziej widocznym efektem przeprowadzonych pomiarów jest skracanie czasu wymaganego do osiągnięcia maksymalnej szybkości oddychania po dodaniu substratu ( $t_{peakmax}$ ) wraz ze zwiększaniem dawki zastosowanej egzogennej materii organicznej (Rys. 10). Względnie słabsze odpowiedzi wykazały mikroorganizmy w glebie nawożonej mączką zwierzęcą, w porównaniu z innymi materiałami odpadowymi. W związku z tym, że szybka odpowiedź zespołu mikroorganizmów na dodane do gleby labilne związki organiczne jest oznaką dominacji fenotypów o strategii -r, uzyskane wyniki potwierdzają hipotezę, że wprowadzenie do gleby EOM stymuluje wzrost mikroorganizmów o strategii rozwoju -r. Wyniki wskazują, że w niektórych przypadkach, istotny wpływ EOM na  $t_{peakmax}$  pozostaje wykrywalny nawet do drugiego

(jesiennego) poboru próbek. W doświadczeniu polowym w miejscowości Pusté Jakartice w 2014 roku, zaobserwowano wpływ zastosowanych materiałów odpadowych na  $t_{peakmax}$  tylko jesienią, nie odnotowując oddziaływania EOM w wiosennym terminie poboru próbek glebowych. Efekt ten był prawdopodobnie spowodowany krótszym odstępem czasu między aplikacją EOM a terminem poboru próbek, ponieważ glebę pobrano po dwóch tygodniach od aplikacji egzogennej materii organicznej, podczas gdy zwykle próbki pobierane są po 1 miesiącu. W związku z powyższym mikroorganizmy mogły nie mieć wystarczająco dużo czasu na adaptację do warunków spowodowanych przez wprowadzone do gleby substraty. Podejrzanie to wynika z faktu, że w tych samych glebach jesienią (pół roku później) zaobserwowano obniżenie  $t_{peakmax}$ .

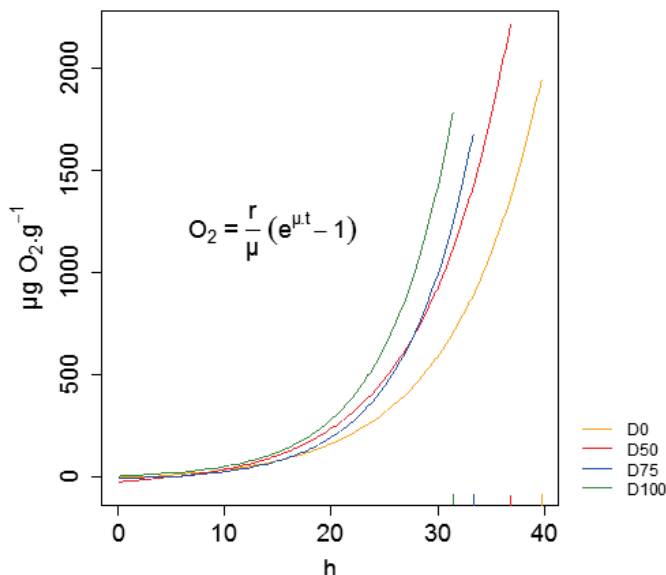
Szybkość wzrostu  $\mu$  reagowała odmiennie niż  $t_{peakmax}$  na wprowadzoną do gleby egzogenną materię organiczną. Krótszy czas potrzebny do podziału mikroorganizmów odpowiada zazwyczaj wyższym wartościom  $\mu$ . W związku z tym, nie jest zaskakujące, że zastosowanie EOM spowodowało wzrost  $\mu$ , ale efekt ten był mniej wyraźny niż w przypadku  $t_{peakmax}$ . W przypadku zastosowanego kompostu z odpadów przemysłowych (Ra) stwierdzono najsilniejszy wpływ na  $\mu$ , który obserwowany był we wszystkich terminach poboru próbek, z wyjątkiem poborów w Braszowicach jesienią 2013 i w miejscowości Pusté Jakartice wiosną 2014 roku. Podobnie jak w przypadku  $t_{peakmax}$ , wpływ materiałów odpadowych wprowadzonych do gleby na szybkość wzrostu ( $\mu$ ) w miejscowości Pusté Jakartice w 2014 roku stwierdzono tylko jesienią.

Aby ocenić jak wpływ badanych materiałów odpadowych na właściwości mikroorganizmów zmieniany był przez położenie geograficzne, porównano wyniki otrzymane dla kompostu z odpadów przemysłowych (Ra), który został zastosowany do nawożenia w obu miejscowościach w 2013 i w 2014 roku. Uzyskane wyniki były porównywalne, jednakże zauważalne były pewne drobne różnice. Badania wykazały, że zastosowany odpad organiczny miał istotny pozytywny wpływ na wzrost mikroorganizmów, jednak efektu tego nie zaobserwowano jesienią 2013 roku w Braszowicach oraz wiosną 2014 roku w miejscowości Pusté Jakartice. W przypadku zastosowanej w obu lokalizacjach, jednorazowo w 2013 roku mączki zwierzęcej wyniki były porównywalne. Różnice między obiektami w  $t_{peakmax}$  stwierdzono w obu lokalizacjach wiosną, a wartości  $\mu$  różniły się wiosną tylko w Braszowicach, natomiast podczas pomiarów wykonanych na próbkach gleby pobranych jesienią nie zaobserwowano już żadnego oddziaływania EOM.

Analiza korelacji wykazała, że wpływ zastosowanych materiałów na strategię rozwoju mikroorganizmów glebowych na ogół był związany z wartością pH badanych gleb. Pozytywny wpływ zwiększenia wartości pH na  $\mu$  oraz negatywny na  $t_{peakmax}$  był bardziej przejrzysty w Braszowicach niż w miejscowości Pusté Jakartice, co mogło być spowodowane niższymi wartościami pH gleby w Braszowicach. Wiadomo, że wzrost drobnoustrojów jest wolniejszy w glebach kwaśnych zatem wprowadzenie egzogennej materii organicznej, które na ogół powoduje zwiększenie wartości pH gleby, prawdopodobnie stworzyło bardziej korzystne warunki dla mikroorganizmów glebowych. W niektórych przypadkach stwierdzono istotne zależności pomiędzy stężeniem labilnych frakcji materii organicznej a  $\mu$  (dodatnie) oraz  $T_{peakmax}$  (ujemne). Efekty te obserwowano zwykle wiosną, ale nie wykryto jednoznacznych tendencji w odniesieniu do poszczególnych analizowanych materiałów odpadowych.

W doświadczeniu wazonowym, w którym pomiary wykonano tylko wiosną, zaobserwowano nieco inne wyniki. Najbardziej istotny wpływ EOM na wzrost mikroorganizmów stwierdzono w glebie z Nowej Wsi, która charakteryzowała się najniższą wartością pH i najniższą zawartością materii organicznej spośród trzech badanych gleb. Badaniom poddano łącznie 6 materiałów

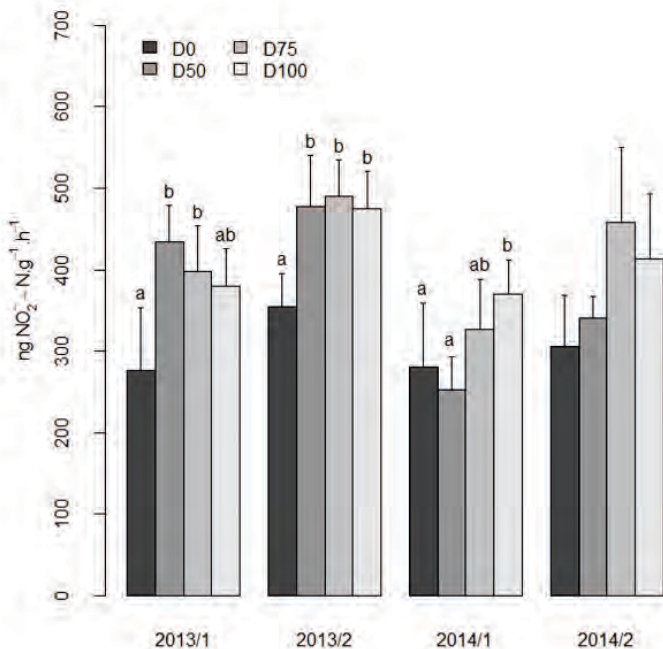
odpadowych spośród których tylko osad pofermentacyjny z biogazowni (Dg) i mączka zwierzęca powodowały wzrost  $\mu$ , co mogło być spowodowane wyższą zawartością N i P w tych materiałach. Trudno wyjaśnić dlaczego odnotowano wzrost  $t_{peakmax}$  w glebie z Nowej Wsi po zastosowaniu osadu pofermentacyjnego z biogazowni po fermentacji wysłodków buraczanych (Bp) oraz obniżenie  $\mu$  w glebie z miejscowości Pastuchów po aplikacji mączki zwierzęcej.



**Rysunek 10** Krzywe wzrostu oddychania pod wpływem dodatku kompostu z odpadów przemysłowych Ra. Dane na osi y pokazują skumulowane zużycie  $O_2$ ,  $\mu$  jest szybkością wzrostu, a  $r$  oznacza oddychanie w czasie zerowym. Kolorowe znaczniki oznaczają wartości  $t_{peakmax}$  w czasie po dodaniu substratu, w którym stężenie  $O_2$  jest maksymalne, dla poszczególnych krzywych. Wartości  $\mu$  były następujące:  $0,121 \text{ h}^{-1}$  (D0),  $0,138 \text{ h}^{-1}$  (D50),  $0,153 \text{ h}^{-1}$  (D75) i  $0,183 \text{ h}^{-1}$  (D100), gdzie D oznacza procentową zawartość N wprowadzoną w postaci EOM.

### Aktywność nityfikacyjna (I etap) (SNA)

Przeprowadzone badania wykazały, że na ogół materiały odpadowe zastosowane w doświadczeniach polowych nie miały wpływu na aktywność nityfikacyjną (I etap). Wyjątkiem był kompost Ag, zastosowany w miejscowości Pusté Jakartice, który powodował wzrost nityfikacji w glebie we wszystkich czterech terminach pobierania próbek (Rys. 11). Aby wyjaśnić uzyskane wyniki, warto przeanalizować zasady pomiaru I etapu aktywności nityfikacyjnej (SNA). W związku z tym, że pomiar odbywa się w optymalnych dla nityfikatorów wartościach pH i po dodaniu substratu, należy podejrzewać, że uzyskana aktywność zależała w dużej mierze od liczby bakterii nityfikacyjnych, ponieważ fizykochemiczne właściwości gleby badanych próbek były porównywalne. Pozytywny wpływ kompostu Ag może być spowodowany podwyższeniem wartości pH gleby przez badany odpad, która jest kluczowym czynnikiem kontrolującym SNA oraz składem kompostu, który zawiera substancje organiczne wolniej ulegające rozkładowi (takie jak: trociny, pomiot kurzy), co



**Rysunek 11** Aktywność nityfikacyjna (I etap) (SNA) w glebie poddanej działaniu kompostu Ag (Pusté Jakartice). Różne litery oznaczają istotne różnice między średnimi (test Tukey'a,  $p < 0,05$ ) w poszczególnych terminach analiz. D0, D50, D75, D100 procentowa dawka N wprowadzonego do gleby wraz z EOM. ANOVA była istotna także w 2014/2 ( $p = 0,048$ ), ale test Tukey'a nie wykazał istotnych różnic między obiektami doświadczalnymi.

prowadzi do przedłużonego oddziaływania odpadu. W związku z tym, że utlenianie amoniaku generuje mało energii, nityfikatory glebowe rosną powoli, co wymaga stosunkowo dłuższego czasu do zwiększenia ich liczebności w środowisku. Oznacza to, że w obiektach, w których działanie EOM było dłuższe, jest większe prawdopodobieństwo uchwycenia wpływu odpadów na SNA. Wcześniejsze doświadczenia wskazują, że jon amonu utleniany jest przez nityfikatory bezpośrednio po wprowadzeniu do gleby, często bez istotnego wpływu na SNA. Biorąc pod uwagę zastosowany kompost Ag, można przypuszczać, że związki azotowe były uwalniane powoli i mineralizowane do jonu amonu, co również mogło przyczynić się do dłuższego oddziaływania tego materiału na SNA.

Wyniki badań uzyskane w doświadczeniu wazonowym wskazują, że wszystkie trzy badane osady pofermentacyjne z biogazowni (Bp, Dg i Sm) oraz mączka zwierzęca wykazały pewne działanie na aktywność nityfikacyjną (SNA). W glebie z Nowej Wsi nawożonej osadem pofermentacyjnym Dg zaobserwowano obniżenie nityfikacji, jednak nie wydaje się prawdopodobne, że materiał ten zawierał inhibitory nityfikacji, ponieważ nie stwierdzono hamującego działania odpadu w innych glebach. Efekt ten mógł być raczej związany z faktem, że gleba z Nowej Wsi charakteryzowała się najwyższą aktywnością nityfikacyjną (SNA) ze wszystkich badanych gleb, co wskazuje na korzystne warunki dla rozwoju nityfikatorów w tym

środowisku. Zastosowanie EOM prawdopodobnie spowodowało zmianę warunków na mniej korzystne dla tych mikroorganizmów, co potwierdzają również wyniki dla innych materiałów odpadowych, na podstawie których zaobserwowano obniżenie SNA po aplikacji EOM, jednak efekt ten nie był istotny. Badania wykazały, że kompost Ag, Ra i Dw nie miały wpływu na aktywność nityfikacyjną (SNA). Efekt pozytywnego oddziaływania na nityfikację stwierdzono tylko po zastosowaniu osadów pofermentacyjnych z biogazowni oraz mączki zwierzęcej (Mb w glebach z Długiej Wsi i Nowej Wsi, Bp i Sm w glebach z Pastuchowa i Nowej Wsi), jednak nie było ono jednoznaczne. Zaobserwowane tendencje mogły być częściowo spowodowane większą dostępnością związków azotu w osadach pofermentacyjnych oraz ich konsystencją, bowiem materiały płynne mają lepszy kontakt z cząstkami gleby, niż odpady stałe. Należy zauważyć, że aktywność nityfikacji oszacowano tylko wiosną, dlatego też potencjalne późniejsze skutki oddziaływania kompostu na SNA nie zostały ocenione w niniejszych badaniach.

Wyniki badań wskazują, że ocena aktywności nityfikacji (SNA) może ujawnić sytuacje, w których zastosowanie EOM powoduje poprawę warunków do wzrostu nityfikatorów po dłuższym okresie oddziaływania na środowisko, co związane jest prawdopodobnie z występowaniem w odpadach trudno degradowalnych związków.

## **WNIOSKI I ZALECENIA**

Przeprowadzone badania miały na celu wyjaśnienie celowości rolniczego zastosowania wybranych typów egzogennej materii organicznej. Poszukiwanie nowych sposobów utylizacji różnego rodzaju odpadów organicznych, na przykład poprzez zastosowanie w rolnictwie, jest uzasadnione, ponieważ wiele państw europejskich (w tym Polska i Czechy) boryka się z problemem odpowiedniego zagospodarowania odpadów. Zaproponowane w projekcie działania przyczyniły się do przybliżenia korzyści płynącej z aplikowania odpadów na pola, zarówno z punktu widzenia rolnictwa, jak i gospodarki odpadami.

Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowanie egzogennej materii organicznej (EOM) do gleb prowadzi do zmian aktywności mikrobiologicznej i enzymatycznej, jak również bioróżnorodności mikroorganizmów. Procesy prowadzone przez mikroorganizmy glebowe charakteryzowały się zróżnicowaną wrażliwością na obecność zaaplikowanych do gleby egzogennych materiałów odpadowych (EOM).

Wyniki wskazują, że zarówno rodzaj, dawka egzogennej materii organicznej (EOM), jak również typ gleby miały istotny wpływ na badane parametry mikrobiologiczne.

Dodanie egzogennej materii organicznej (EOM) spowodowało ilościowe i jakościowe zmiany w składzie archaea utleniających amoniak, nie powodując jednocześnie zakłócenia równowagi biologicznej w glebie. Wykorzystanie wszystkich badanych typów EOM (kompost - Ag; kompost z odpadów przemysłowych - Ra, Dw mączka zwierzęca - Mb; osady pofermentacyjne z biogazowni - DG, Bp, Sm) wydaje się być bezpieczne dla funkcjonowania i różnorodności genetycznej naturalnie bytujących w glebie mikroorganizmów (autochtonicznych).

Badania mikrobiologiczne wykazały, że egzogenne organiczne materiały odpadowe (EOM) stymulowały zbiorowiska mikroorganizmów glebowych, zwiększając w ten sposób ich różnorodność genetyczną i funkcjonalną, ale skutek ten był okresowy. Odnotowany efekt zależał także od typu gleby, terminu analiz i zastosowanej dawki EOM.

Analiza profilu metabolicznego gleby została wyrażona za pomocą wskaźników bioróżnorodności AWCD, R i H, które były czułymi wskaźnikami zmian w aktywności mikrobiologicznej gleby (zwłaszcza zbiorowiska mikrogrzybów i beztlenowców) na skutek zastosowania organicznych odpadów.

Wykazano, że potencjał kataboliczny mikroorganizmów i różnorodność genetyczna w glebie nawożonej EOM były zbliżone do gleby kontrolnej, co jest korzystne ze względu na istnienie równowagi w środowisku glebowym, zapewniającej stabilność zbiorowisk mikroorganizmów po wprowadzeniu do gleby egzogennej materii organicznej.

Na ogół aktywność enzymatyczna (celulazy, fosfatazy kwaśnej i zasadowej) była stymulowana przez najwyższe dawki EOM. Efekt ten zaobserwowano zwłaszcza dla mączki zwierzęcej (Mb). Badania wykazały, że dodanie egzogennej materii organicznej zwiększało aktywność dehydrogenaz (DHA) w glebie. Istotny wzrost aktywności DHA widoczny był w glebie z dodatkiem Ra, Ag i Dg. Nie stwierdzono istotnego wpływu EOM na aktywność ureazy i  $\beta$ -glukozydazy.

Krzywe oddychania okazały się czułym wskaźnikiem zmian w sposobie rozwoju mikroorganizmów glebowych po zastosowaniu EOM. Efekt ten zależał od typu zaaplikowanych materiałów, ich jakości oraz cech gleby. Bardziej widoczny wpływ egzogennej materii organicznej na krzywe oddychania uwidocznił się na glebach charakteryzujących się mniej korzystnymi warunkami dla rozwoju mikroorganizmów (niższa wartość pH, niższa zawartość SOM).

## LITERATURA

- Abdelmagid HM, Tabatabai MA (1987) Nitrate reductase activity of soils. *Soil Biol Biochem* 4:421-427.
- Albiach R, Canet R, Pomares F, Ingelmo F (2001) Organic matter components, aggregate stability and biological activity in a horticultural soil fertilized by different rates of two sewage sludges during ten years. *Bioresource Technol* 77:109-114.
- Alef K, Nannipieri P (1995)  $\beta$ -glucosidase activity. In: Alef K, Nannipieri P (eds) *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, London, pp 350-351.
- Alef K, Nannipieri P (1995) Dehydrogenase activity. In: Alef K, Nannipieri P (eds) *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, London, pp 228-231.
- Bielińska, E. J., Mocek-Płóćiniak (2012) Impact of the tillage system on the soil enzymatic activity. *Arch Environ Prot* 38:75-82.
- Cannel RQ, Hawes JD (1994) Trends in tillage practices in relation to sustainable crop production with special reference to temperate climates. *Soil Till Res* 30:245-282.
- Dick RP, Breakwell DP, Turco RF (1996) Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: Doran JW, Jones AJ (eds) *Methods for assessing soil quality*. Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wi, pp 247-272.
- Dilly O (2005) Microbial energetics in soils. In: Buscot F, Varma A (eds) *Microorganisms in soils: Roles in genesis and functions*. Springer-Verlag, Berlin, pp 123-138.
- Eivazi F, Tabatabai MA (1988) Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biol Biochem* 20:601-606.
- Frąc M, Oszust K, Lipiec J (2012) Community level physiological profiles (CLPP), characterization and microbial activity of soil amended with dairy sewage sludge. *Sensors* 12:3253-3268.
- Hill GT, Mitkowski NA, Aldrich-Wolfe L, Emele LR, Jurkonie DD, Ficke A, Maldonado-Ramirez S, Lynch ST, Nelson EB (2000) Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Appl Soil Ecol* 15:25-36.

- Insam H (2001) Developments in soil microbiology since the mid 1960s. *Geoderma* 100:389-402.
- Insam H, Goberna M (2004) Use of Biolog® for community level physiological profiling (CLPP) of environmental samples. In: Kowalchuk GA, de Bruijn FJ, Head IM, Akkermans AD, van Elsas JD (eds) *Molecular microbial ecology manual*. Kluwer Academic, Dordrecht, pp 853-860.
- Karlen DL, Cambardella CA, Kovar JL, Colvi TS (2013) Soil quality response to long-term tillage and crop rotation practices. *Soil Till Res* 133:54-64.
- Ladd JN, Butler JHA (1972) Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biol Biochem* 4:19-30.
- Li LJ, You MY, Shi HA, Han XZ (2012) Short-term tillage influences microbial properties of a Mollisol in Northeast China. *J Food Agric Environ* 10:1433-1436.
- Lopez-Bellido RJ, Fontan JM, Lopez-Bellido J, Lopez-Bellido L. (2010) Carbon sequestration by tillage, rotation, and nitrogen fertilization in a Mediterranean Vertisol. *Agron J* 102:310-318.
- Mikanová O, Javůrek M, Vach M, Markupová A (2006) The influence of tillage on selected biological parameters. *Plant Soil Environ* 52:271-274.
- Parham JA, Deng SP, Raun WR, Johnson GW (2002) Long-term cattle manure application in soil. I. Effect on soil phosphorus levels, microbial biomass C, and dehydrogenase and phosphatase activities. *Biol Fert Soils* 35:328-337.
- Philippot L, Spor A, Hénault C, Bru D, Bizouard F, Jones C, Sarr A, Maron PA (2013) Loss in microbial diversity affects nitrogen cycling in soil. *The ISME J* 7: 1609-1619.
- Ritz K, Black HIJ, Campbell CD, Harris JA, Wood C (2009) Selecting biological indicators for monitoring soils: A framework for balancing scientific and technical opinion to assist policy development. *Ecol Indic* 9:1212-1221.
- Schinner F, von Mersi W (1990) Xylanase, CM-cellulase and invertase activity in soil: An improved method. *Soil Biol Biochem* 22:511-515.
- Tabatabai MA, Bremner JM (1969) Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol Biochem* 1:301-307.
- Tabatabai MA, Bremner JM (1972) Assay of urease activity in soils. *Soil Biol Biochem* 4:479-487.
- Thalmann A (1968) Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenase Aktivität in Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtschaftliche Forschung* 21:249-258.
- Torsvik V, Øvreås L (2002) Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Curr Opin Microbiol* 5:240-5.





## Rozdział 7

# Reakcja fauny glebowej na stosowanie egzogennej materii organicznej do nawożenia gleb

Ivan Hadrián Tuf, Ondřej Horňák

*Uniwersytet Palackiego w Olomouci, Olomouc, Republika Czeska*

Gleba jest żywym systemem. Oznacza to, że (1) jest kształtowana przez aktywność organizmów glebowych a także, (2) jest przez nie zamieszкана. Chociaż na pierwszy rzut oka, przypomina materiał mineralny, w istocie jest gęsto zasiedlona przez organizmy i zawiera zarówno żywą jak i martwą materię organiczną. Pozbawiona materii organicznej gleba, nie jest już glebą ale regolitem – podłożem glebopodobnym, typowym dla np. Księżyca. Regolit nie posiada wielu ważnych cech: jego żyzność jest niska, nie jest w stanie utrzymać wody oraz jest podatny na erozję wodną i eoliczną.

Gleba powstaje przy udziale żywych organizmów i nieożywionej materii organicznej. Tą materią jest nie tylko ściółka ale też odchody i martwe ciała bezkręgowców glebowych oraz wydzielin grzybów i korzeni roślin ją zasiedlających.

### KLASYFIKACJA ORGANIZMÓW GLEBOWYCH

Chociaż angielska terminologia używa tylko określeń „organizmy glebowe” lub „fauna glebowa”, w Europie Centralnej przyjęła się i jest używana terminologia niemiecka. Określenie „edafon” powstało z greckiego słowa „edaphos”, oznaczającego glebę. Kombinacja słów „edafon glebowy” nie posiada znaczenia, podobnie jak „wodna ryba”. Edafon tworzą organizmy wszystkich Królestw, a zgodnie z ich pochodzeniem dzielone są na dwie podstawowe grupy: (1) fitoedafon (rośliny, grzyby, glony, cyjanofity i prokarioty) oraz (2) zoedafon (zwierzęta i heterotroficzne prokarioty). Bardziej powszechnym jest fitoedafon, który tworzy 75% suchej biomasy edafonu, podczas gdy cała sucha biomasa całkowitego edafonu to 1 – 10% suchej biomasy całej materii organicznej w glebie (włączając martwą materię organiczną). Ponieważ materia organiczna jest ‘niewidzialna’, a organizmy glebowe posiadają niewielkie rozmiary, rola edafonu jest często niedoceniana (Rysunek 1).

Możliwym jest inne niż wg pochodzenia taksonomicznego sklasyfikowanie organizmów glebowych. Podstawowy podział ekologiczny, odzwierciedla sposób pobierania energii – zwierzęta podzielone są na drapieżniki, żerujące na innych zwierzętach, roślinożerców, odżywiających się korzeniami roślin lub glonami oraz saprofagi żerujące na martwej materii organicznej wraz z rozkładającymi ją grzybami i mikroorganizmami.

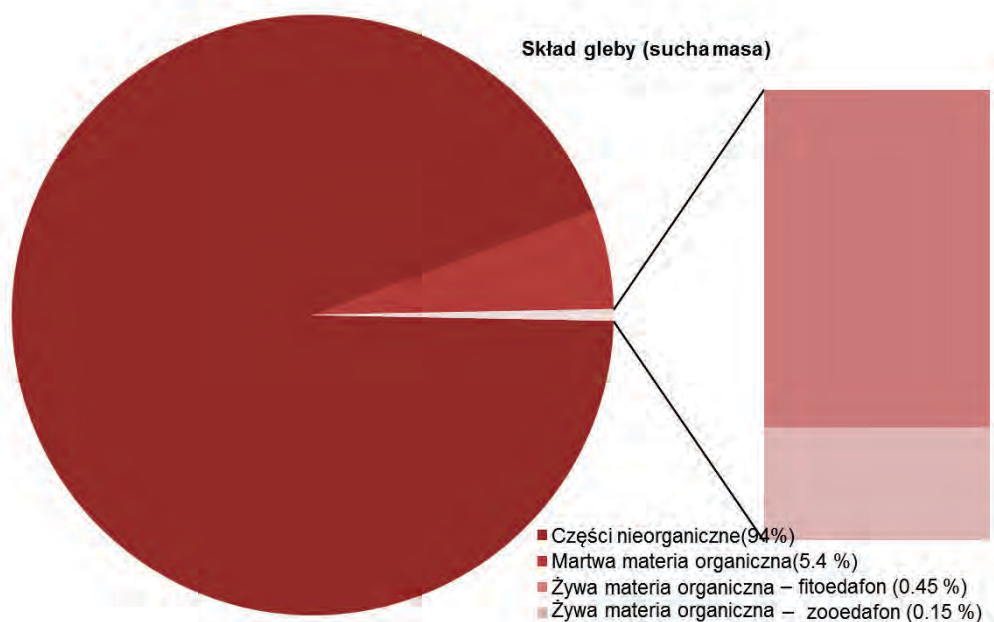
Zwierzęta glebowe mogą być też klasyfikowane ze względu na zasiedlanie danej warstwy gleby. Różnice ekologiczne pomiędzy tymi zwierzętami, wynikają m.in. ze zróżnicowanej wielkości porów glebowych. Organizmy te są różnej wielkości, kształtów, mają zróżnicowaną umiejętność drążenia, widzenia, urozmaiconą pigmentację, itp.:

- Euedafon – zwierzęta zasiedlające najgłębsze warstwy gleby. Są najmniejsze, bezbarwne, ślepe, z bardzo cienkim naskórkiem.

- Hemiedafon – zasiedla wyższe warstwy gleby, typowe dla gleb leśnych.
- Epigeon – nazywane też zwierzętami zasiedlającymi powierzchnię gleby. Żyją w ściółce, miejscach pod kamieniami i powalonymi kłódami. Są dobrze wybarwione, widzą i przeważnie dobrze i szybko poruszają się.

Zoolodzy rozpatrują też podział fauny glebowej ze względu na aspekt czasu życia w glebie:

- Protoedafon – pierwszą część życia spędza w glebie. Typowymi przedstawicielami są owady a dokładnie ich postacie larwalne, np.: Elateridae, Curculionidae, Scarabeidae, Meloidae, Cicadidae – larwy niektórych z nich nazywane są pędrakami lub drutowcami.
- Hemiedafon – zwierzęta zasiedlające glebę ale zdolne przetrwać w innym środowisku, przy zapewnieniu odpowiedniego mikroklimatu – ciemność, wysoka wilgotność, stała temperatura (dziuple w drzewach, pod korą). Termin określający tę grupę jest taki sam jak w poprzednim podziale, ale posiada inne znaczenie.
- Euedafon – zwierzęta zasiedlające wyłącznie glebę przez cały okres życia. Termin określający tę grupę jest taki sam jak w poprzednim podziale, ale posiada inne znaczenie.
- Pseudoedafon – zwierzęta znajdujące w glebie okazjonalnie. Używają jej jako schronienia przed niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi (zwykle zimą). Zazwyczaj są to formy nieaktywne, nie biorące udziału w procesach rozkładu w łańcuchu pokarmowym.
- Tychedafon – zwierzęta, które nie są w stanie przetrwać w glebie i znajdują się w niej przypadkowo, np. larwy owadów wodnych (Odonata, Megaptera), po powodzi.



**Rysunek 1** Skład gleby – sucha masa poszczególnych składników.

Ostatnim typem podziału fauny glebowej, jest podział ze względu na wielkość:

- Mikrofauna – zwierzęta o wielkości poniżej 0,2 mm, np. niewidzialne gołym okiem, należące do Pierwotniaków i Arcellinida.
- Mezofauna - zwierzęta o rozmiarze poniżej 2 mm. Typowi przedstawiciele to skoczogonki (Collembola) i Tardigrada oraz Rotifera.
- Makrofauna – zwierzęta dobrze widzialne gołym okiem – o wielkości do 2 cm. Najważniejszymi przedstawicielami są: krocionogi (Diplopoda), stonogi (Chilopoda), równonogi chrząszcze (Coleoptera), itp.
- Megafauna – większe zwierzęta powyżej 2 cm – kręgowce oraz niektóre dżdżownice.

Chociaż klasyfikacja organizmów ze względu na ich wielkość wydaje się dziwna, niemniej jednak, istnieje związek pomiędzy wielkością a ilością występowania, czyli gęstością populacji (Tabela 1). Mniejsze gatunki występują w większej ilości niż duże. Liczebność megafauny może dochodzić do kilkudziesięciu sztuk na metr kwadratowy, makrofauny do kilkuset a mezofauny do setek tysięcy.

**Tabela 1** Przybliżona liczebność poszczególnych wyższych taksonów fauny glebowej (Rusek, 2000).

<b>Takson</b>	<b>Liczebność (osobniki/m<sup>2</sup>)</b>
<i>mikrofauna</i>	
Flagellata	500 000 000
Arcellinida	100 000 000
Ciliata	1 000 000
<i>mezofauna</i>	
Rotifera	25 000
Nematoda	1 000 000
Acarina	100 000
Collembola	50 000
<i>makrofauna</i>	
Rotifera	10 000
Gastropoda	100
Chilopoda	200
Diplopoda	300
Oniscidea	150
Coleoptera	100
Diptera (larvae)	100
<i>megafauna</i>	
Opisthopora	50

## **ZNACZENIE FAUNY GLEBOWEJ**

Fauna glebowa nie tylko zasiedla glebę i jej istnienie jest powiązane z glebą, ale również wpływa na nią i ją tworzy. Najważniejszą jej funkcją jest rozkład materii organicznej. Pomimo niewielkiej obecności ściółki na glebach rolniczych, jej produkcja w naturalnych ekosystemach Europy Centralnej sięga kilku ton na hektar na rok. Bez jej rozkładu, pierwiastki chemiczne oraz składniki odżywcze byłyby niedostępne dla roślin. W czasie rozkładu, stabilne substancje organiczne są przekształcane do złożonych substancji humusowych, które z kolei są zdolne do wiązania składników odżywczych i jonów a następnie do stopniowego ich uwalniania. W przeciwieństwie do nawozów sztucznych, humus jest zdolny do utrzymywania tych składników i ochrony ich przed wypłukaniem co może prowadzić do eutrofizacji wód powierzchniowych i podziemnych.

Martwa materia organiczna jest rozkładana mechanicznie przez zwierzęta glebowe oraz biochemicznie, przez grzyby i bakterie. W miarę postępu rozdrabniania, zwiększa się powierzchnia dostępna dla grzybów i bakterii. Części roślinne, znajdujące się obok odchodów organizmów rozdrabniających ściółkę, tworzą doskonałe warunki do rozwoju mikroorganizmów. Poprzez rozdrabnianie ściółki i wydalanie odchodów, bezkręgowce glebowe przyspieszają rozkład materii organicznej ale hamują jej mineralizację i w rezultacie wspomagają sekwestrację węgla (Frouz et al., 2015).

Fauna glebowa nie tylko pomaga rozkładać martwą materię organiczną ale również miesza ją z mineralnymi częściami gleby. Produkuje również odchody przechodząc przez różne jej warstwy. Tak zwane anektyczne dżdżownice, tworzące podziemne korytarze i labirynty odgrywają główną rolę w tego typu działaniach. Podczas drążenia wynoszą niewielkie cząstki mineralne gleby na powierzchnię. Z drugiej strony ochraniają ściany swoich korytarzy wzmacniając je swoimi wydzielinami. Zjawisko to można zaobserwować w postaci ciemniejszych przebarwień na ich ścianach. Korytarze te, spełniają ważne funkcje w napowietrzaniu gleby oraz ochronie przed erozją wodną. Jamy dżdżownic i innych glebowych bezkręgowców, zwiększają pojemność wodną gleby. Przy gęstości zasiedlania pomiędzy 50 – 200 sztuk na metr kwadratowy, ta umiejętność odgrywa ogromną rolę.

Jamy dżdżownic oddziałują również korzystnie na poprawę ukorzenienia roślin. Korzenie znajdują przestrzenie i składniki odżywcze niezbędne do rozwoju, co zostało potwierdzone doświadczalnie. Przy pomocy śluzu, który jest w stanie połączyć cząstki gleby, dżdżownice tworzą też agregaty glebowe. Jednak pomimo aktywności fauny glebowej, procesy glebotwórcze przebiegają bardzo powoli. Nawet pomijając erozję, wytworzenie centymetrowej warstwy gleby trwa dziesiątki a nawet setki lat.

## **POBIERANIE PRÓBEK FAUNY GLEBOWEJ**

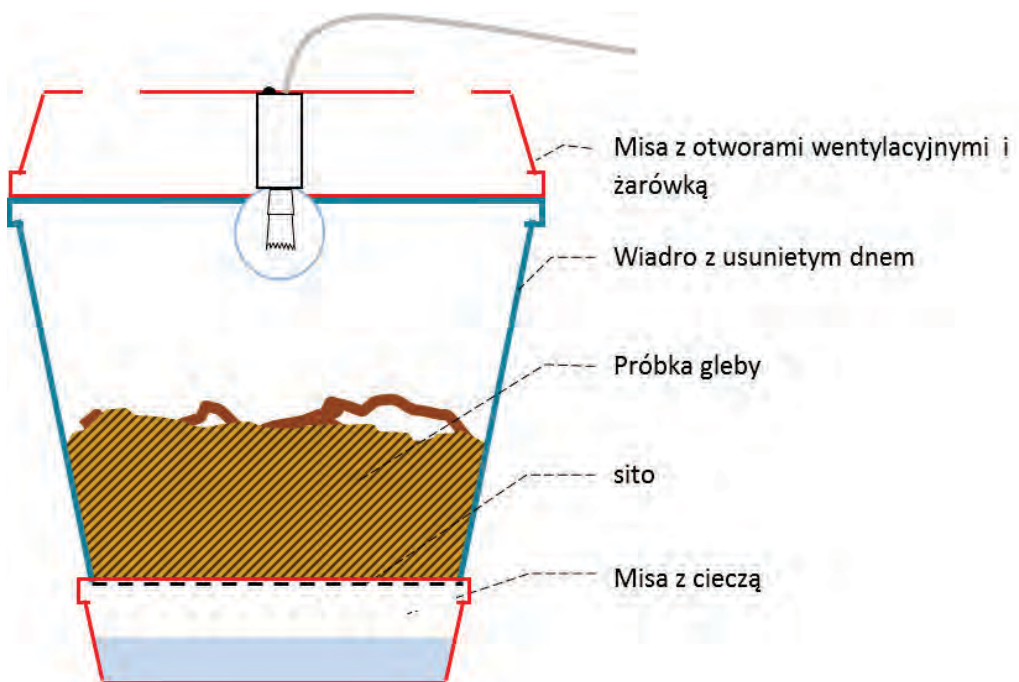
Jak wspomniano wcześniej, jednym z podziałów fauny glebowej jest podział ze względu na warstwę gleby, którą zasiedla. Żyjący na powierzchni gleby epigeon, bytuje w innych warunkach niż euedaficzne organizmy w głębszych warstwach. Sposób badań tych organizmów również uwzględnia te różnice.

Najbardziej rozpowszechnionym sposobem pobierania próbek zwierząt zasiedlających powierzchnię gleby są pułapki Barbera. Zasada ich działania jest bardzo prosta – słoik jest zakopany w glebie w taki sposób aby jego szyjka znajdowała się na równi z powierzchnią gleby. Zwierzęta poruszające się po powierzchni gleby po prostu wpadają do słoika. Ciecz znajdująca się

w słoiku pomaga zatrzymać zwierzęta w środku jak również zapobiega ich rozkładowi; cieczą tą jest zazwyczaj 4% roztwór formaldehydu. Jako pułapki używane są słoiki o pojemności 0,7 l. oraz plastikowe kubeczki o pojemności 0,3 l, umieszczone wewnątrz słoików. Pułapki chronione są daszkami, zainstalowanymi 2 – 4 cm ponad szyjką słoika. Stosuje się je w celu ochrony pułapek przed deszczem oraz szybkim parowaniem. Pułapki instaluje się na polu po siewie a ich zawartość jest sprawdzana w 2 – 4 tygodniowych odstępach. Natomiast zwierzęta zasiedlające niższe warstwy gleby, nie przemieszczają się po jej powierzchni, z tego powodu w celu badań nad euedafonem, konieczne jest zastosowanie innych metod połowu.

Typową metodą jest w takich przypadkach ekstrakcja cieplna próbek gleby. Rozmiar próbki powinien być adekwatny do gęstości występowania (i rozmiaru) danej grupy zwierząt glebowych. Do badań nad makrofauną najbardziej odpowiednimi są próbki z  $\frac{1}{25}$  do  $\frac{1}{16}$  metra kwadratowego oraz głębokości 110 cm. Objętość próbki to 4 do 6,25 l. Z próbek tych zwierzęta są wybierane ręcznie lub samoczynnie (Rysunek 2).

Istnieją też inne metody pobierania próbek fauny glebowej, ale dwa w/w są używane najczęściej i dają najlepsze rezultaty. W związku z tym zostały one wybrane do badań wpływu dodatku EOM'ów do gleby na ją zasiedlające bezkręgowce.



**Rysunek 2** Urządzenie do samoczynnego oddzielenia fauny z gleby (Tuf, 2013).

## MATERIA ORGANICZNA I NAWOŻENIE

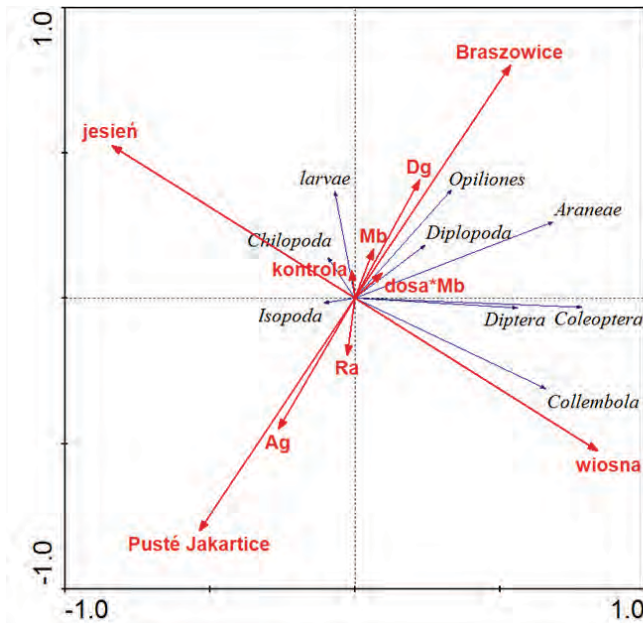
Glebowa materia organiczna jest głównym źródłem składników odżywczych dla roślin w naturalnych ekosystemach i dlatego też jest najlepszym wskaźnikiem stabilności gleby (King et al., 2013). W sztucznych systemach produkcyjnych, plon jest usuwany z pola na potrzeby żywieniowe ludzi, zwierząt oraz jako źródło energii lub na inne cele. Ubytek materii organicznej w glebie jest jednym z głównych problemów rolnictwa. Spadek ilości materii organicznej w glebach rolniczych jest spowodowany erozją lub nadmiernym wysychaniem gleb (co przyspiesza jej mineralizację) (Urban et al., 2003). W rolniczych systemach produkcyjnych, aby zapobiec występowaniu tego zjawiska oraz w celu utrzymania wysokiej produkcji możliwe jest stosowanie nawożenia organicznego. Powszechnie stosowany obornik oraz nawozy zielone podlegają mineralizacji materii organicznej co oznacza, że obornik jest dość szybko przekształcany w składniki odżywcze. W przeciwieństwie do obornika, dodatek kompostów wpływa dodatnio na procesy humifikacji, tj. tworzenie kwasów huminowych, które stopniowo uwalniają składniki odżywcze. Regularne wprowadzanie składników nawozowych i materii organicznej do gleby jest ważne z punktu widzenia produkcji oraz ochrony gleb przed degradacją (Šarapatka et al., 2010). Zbyt obfite nawożenie powoduje z kolei wymywanie składników pokarmowych i eutrofizację wód.

Wpływ nawożenia na faunę glebowa jest badany dość regularnie. Zrównoważone nawożenie wspiera aktywność mikrobiologiczną w glebie i powiązaną z nią aktywność organizmów rozdrabniających materię organiczną oraz aktywność drapieżców zasiedlających glebę (Šarapatka et al., 2002).

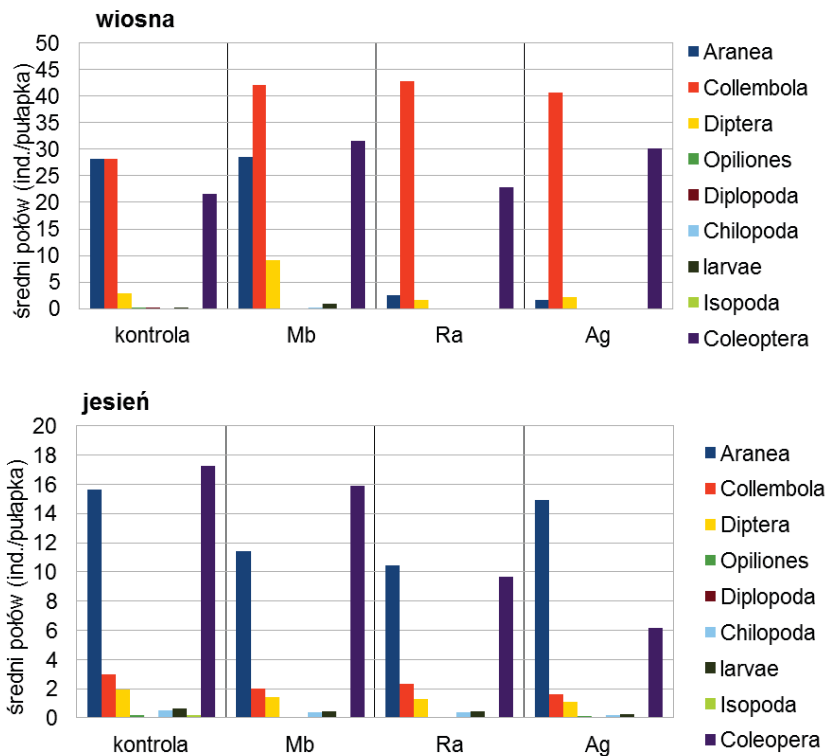
## WYNIKI BADAŃ

Analizy liczebności bezkręgowców przeprowadzono na poletkach doświadczalnych w Braszowicach (PL) i Pustych Jakarticach (CZ) wiosną i jesienią w latach 2013 – 2014, dla oceny wpływu zastosowanego EOM'u oraz jego dawki. Ogólne analizy zmienności gęstości zasiedlenia pozwoliły stworzyć model rozkładu ( $F = 525,45$ ,  $p = 0,002$ ). Najważniejszymi zmiennymi, które powodowały różnice, były pora roku (wiosna, jesień) oraz lokalizacja (Braszowice i Pusté Jakartice). Najwięcej materiału do badań pobrano wiosną na poletkach doświadczalnych w Braszowicach. Najbardziej licznymi grupami były chrząszcze (Coleoptera), pajęczaki (Araneae) i skoczogonki (Collembola). Nawożenie mączką zwierzęcą (Mb) ( $F = 5,40$ ,  $p = 0,002$ ) oraz dawka ( $F = 7,15$ ,  $p = 0,002$ ), były jedynymi istotnymi czynnikami wpływającymi na rozmieszczenie zwierząt glebowych. Zgodnie z diagramem tego modelu (Rysunek 3), oczywistych jest kilka wyników: najdłuższe strzałki reprezentują Araneae, Coleoptera oraz Collembola, tj. grupy najliczniej zebrane podczas poboru wiosennego w Braszowicach. Liczebność larw Diptera wykazuje ten sam model występowania jak Coleoptera. Isopoda zostały zauważone głównie w Pustych Jakarticach a ich aktywność przejawiała się głównie jesienią, podobnie zresztą jak Chilopoda.

Analizy innych kombinacji nawożenia EOM'ami na poszczególnych poletkach potwierdziły też podobne wyniki w Pustych Jakarticach, podczas gdy analizy fauny glebowej w Braszowicach nie wykazały żadnej szczególnej tendencji. Oddzielne analizy dla poszczególnych pór roku potwierdziły wyniki zarówno wiosenne jak i jesienne w Pustych Jakarticach. Bliższa analiza surowych danych może wyjaśnić tę sytuację (Wykres 1).



**Rysunek 3** Diagram interakcji zmiennych środowiskowych oraz liczebności wyższych taksonów bezkręgowców glebowych. Oś x oznacza 52,8% a oś y 4,2% zmienności w liczebności.

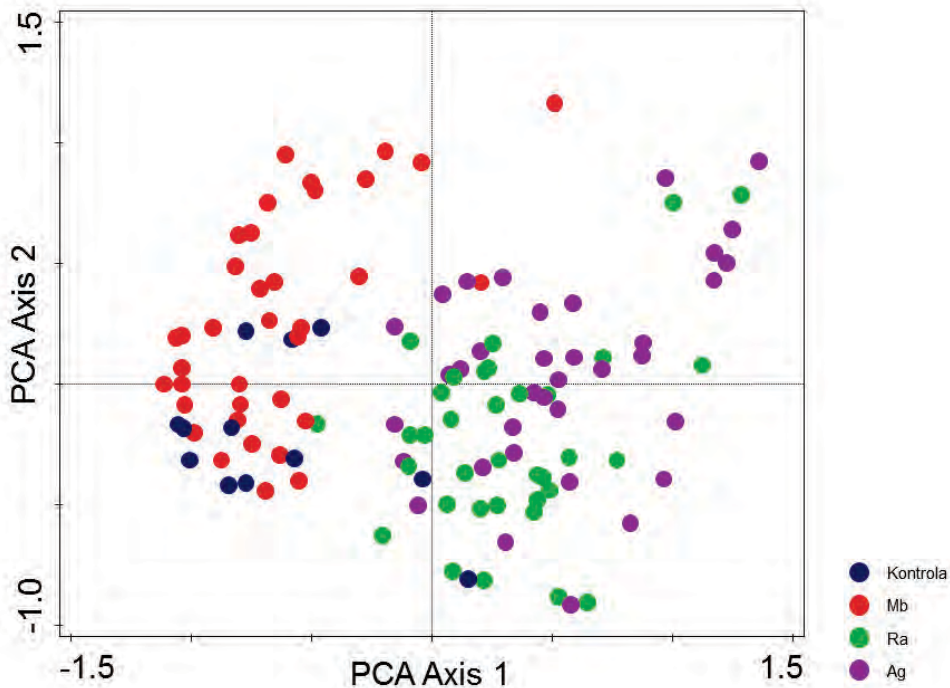


**Wykres 1** Liczebność fauny glebowej w doświadczeniach polowych w różnych kombinacjach nawożenia w Pustych Jakarticach.



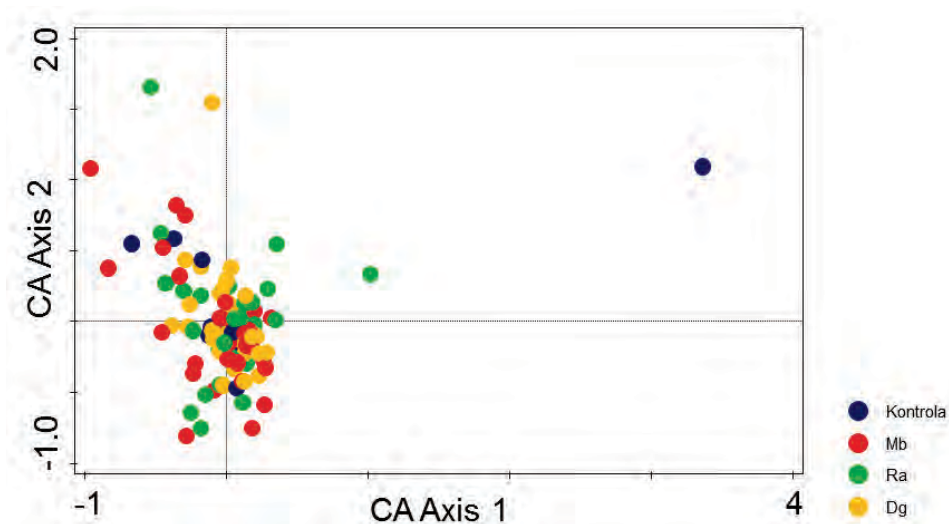
Po nawożeniu EOM'ami, nastąpił wzrost liczebności skoczogonków (Collembola) jako pierwszorzędowych organizmów rozkładających materię organiczną (Artmejeva i Gatilova, 1975; Šarapatka et al., 2002; Debeljak et al., 2007; Leroy et al., 2007.). Dane z wiosny pokazują taki wzrost. Na poletkach na których zastosowano mączkę zwierzęcą zanotowano wysoką liczebność larw muchówek, co należy tłumaczyć zapachem w/w mączki, który jest bardzo atrakcyjny dla much żerujących na padlinie (Sarcophagidae, Calliphoridae) i składających tam jaja. Larwy wykluwające się z jaj są z kolei pokarmem dla chrząszczy (głównie Silphidae), które również są przyciągane przez zapach. Podobny efekt mączki zwierzęcej został też opisany i stwierdzony dla mikroflory, skoczogonków i mechowców, przez Eo et al. (2012).

Wydużony pozytywny wpływ mączki zwierzęcej na liczebność chrząszczy, był zauważalny również w próbkach jesiennych. Długotrwale utrzymujący się efekt jednorazowego nawożenia został też opisany przez Porhajašová et al. (2008) w jej sześcioletnim doświadczeniu. Również Sadej et al. (2012) opisał zwiększoną liczebność chrząszczy na takich obiektach, co tłumaczył niższym pH spowodowanym przez mączkę zwierzęcą oraz jej atrakcyjnością dla Carabidae. Niemniej jednak w doświadczeniach przeprowadzonych w ramach opisywanego projektu, mączka zwierzęca nie miała wpływu na pH gleby.



**Rysunek 4** Diagram występowania fauny glebowej z poszczególnych pułapek zgodnie z typem zastosowanego EOM'u (Pusté Jakartice, wiosna 2013).

Po szczegółowej analizie składu gatunkowego zbiorowisk bezkręgowców glebowych, stwierdzono, że poletka na których stosowano mączkę zwierzęcą były pod tym względem bardzo podobne do poletek kontrolnych. Analizy te przeprowadzono w oparciu o dane liczebności 97 zidentyfikowanych gatunków edafonu (4 gatunki Oniscidea, 5 gatunków Chilopoda, 5 gatunków Diplopoda, 28 gatunków Araneae, 3 gatunki Opiliones i 52 gatunki Carabidae). Podobieństwo próbek fauny glebowej pod względem liczebności i składu gatunkowego, wykazało, że próbki z poletek kontrolnych były najbardziej podobne do próbek z poletek, na których stosowano mączkę zwierzęcą (Rysunek 4). Pozostałe próbki nie wykazywały takich podobieństw. Na podstawie tego modelu wyjaśniono 32% zmienności rozmieszczenia gatunków fauny glebowej. Wyjaśnieniem pozostałych przypadków braku niektórych gatunków na poszczególnych poletkach, może być to, że wraz z EOM'ami Ra i Ag wprowadzono do gleby inne gatunki, co spowodowało, że zasiedlenie tych poletek przez faunę glebową przebiegało wg. innych schematów. W przeciwieństwie do doświadczenia w Pustych Jakarticach, w Braszowicach rodzaj EOM'u nie miał wpływu na faunę glebową (Rysunek 5).



**Rysunek 5** Diagram występowania fauny glebowej z poszczególnych pułapek zgodnie z typem zastosowanego EOM'u (Braszowice, wiosna 2014).

## WNIOSKI

Celem badań było oszacowanie korzyści i ryzyka związanego z dodatkiem egzogennej materii organicznej do gleby. Porównano różne typy EOM'ów oraz wykonano szereg analiz chemicznych, biochemicznych i biologicznych. Powierzchnia porównywanych poletek na których przeprowadzano doświadczenia oraz model ich rozmieszczenia był wynikiem kompromisu pomiędzy uczestnikami projektu i ich wymaganiami dotyczącymi badanych parametrów. Ostateczny kształt poletek doświadczalnych nie był idealny do przeprowadzenia badań nad bezkręgowcami glebowymi, które przemieszczają się zarówno w obrębie jednego poletka jak i pomiędzy nimi. Niemniej jednak do całościowej oceny projektu, doświadczenia były zaplanowane optymalnie.

W doświadczeniu polowym w Braszowicach wykazano, że na polu zasiedlonym przez dużą ilość fauny glebowej, dodatek EOM'ów nie ma na nie istotnego wpływu. Wysokim

liczebnošcím towarzyszy wysoka aktywność zwierząt zasiedlających powierzchnię gleby, nie mająca związku z žádnym konkretnym organicznym dodatkiem do gleby. Niemniej jednak, došwiadczenie polowe przeprowadzone w Pustych Jakarticach, gdzie liczebnošc fauny glebowej nie jest tak wysoka, wykazało wzrost jej ilošci na poletkach gdzie stosowano EOM'y. Odnotowano niespecyficzný wzrost ilošci skoczogonków oraz pajęczaków (drapiežników, žerujících na skoczogonkach). Inným efektem stosowania EOM'ów byl wzrost ilošci larw chrząszczy drapiežnych na poletkach, na kterých stosowano mączkę zwieręcą. Co więcej, mączka zwieręcá miała raczej pozytywný wplyw, gdyż struktura fauny glebowej na poletkach, na kterých ją stosowano byla podobna do struktury na poletkach kontrolnych. Na skład gatunkowy fauny glebowej na innych poletkach wplyw miało zastosowanie kompostów, z kterými wprowadzono do gleby inne gatunki zwierząt. Mączka kostna posiada tež wydłużony efekt działania związany z obecnošcią chrząszczy, kterých liczebnošc byla wyžsza równiež w próbkach pobranych jesienią. Podsumowując, można stwierdzić, že zastosowane EOM'y nie miały negatywnego wplywu na faunę glebową w došwiadczeniach polowych oraz, że dodatek tego typu nawozów nie stanowi zagrożenia dla edafonu. Mączka zwieręcá miała nawet pozytywný wplyw na drapiežne bezkręgowce glebowe.

## LITERATURA

- Artemjeva TI, Gatilova FG (1975) Soil microfauna changes under the influence of various fertilizers. In: Vaněk J (ed) Progress in Soil Zoology. Proceedings of the 5th International Colloquium on Soil Zoology, 1973 September 17-22. Academia, Praha, pp 463-468.
- Debeljak M, Cortet J, Demšar D, Krogh PH, Džeroski S (2007) Hierarchical classification of environmental factors and agricultural practices affecting soil fauna under cropping systems using Bt maize. *Pedobiologia* 51:229-238.
- EO J, Park K, Park B (2012) Short-term effects of organic waste amendments on soil biota: responses of soil food web under eggplant cultivation. *Soil Research* 50:436-441.
- Frouz J (2010) Půda – živý systém. *Vesmír* 89:490-492.
- Frouz J, Roubíčková A, Heděnc P, Tajovský K (2015) Do soil fauna really hasten litter decomposition? A meta-analysis of enclosure studies. *Eur J Soil Biol* 68:18-24.
- King JA, Bradley RI, Harrison R (2005) Current trends of soil organic carbon in English arable soils. *Soil Use Manage* 21:189-195.
- Leroy LMMB, Bommele L, Reheul D, Moens M, De Neve S (2007) The application of vegetable, fruit and garden waste (VFG) compost in addition to cattle slurry in a silage maize monoculture: Effects on soil fauna and yield. *Eur J Soil Biol* 43:91-100.
- Porhajašová J, Petřivalský V, Šustek Z, Urminská J, Ondřišik P, Noskovič J (2008) Long-termed changes in ground beetle (Coleoptera: Carabidae) assemblages in a field treated by organic fertilizers. *Biologia* 63:1184-1195.
- Rusek J (2000) Živá půda. *Živa* 48: 25-27, 73-76, 121-124, 169-172, 217-221, 267-270.
- Sadej W, Kosewska A, Sadej W, Nietupski M (2012) Effects of fertilizer and land-use type on soil properties and ground beetle communities. *B Insectol* 65:239-246.
- Šarapatka B et al. (2010) Agroekologie: východiska pro udržitelné zemědělské hospodaření. Bioinstitut, Olomouc.
- Šarapatka B, Dlapa P, Bedrna Z (2002) Kvalita a degradace půdy. Vydavatelství Univerzity Palackého v Olomouci, Olomouc.
- Tuf IH (2013) Praktika z půdní zoologie. Vydavatelství Univerzity Palackého v Olomouci, Olomouc.
- Urban J, Šarapatka B, et al. (2003) Ekologické zemědělství: učebnice pro školy a praxi (I. Díl: Základy ekologického zemědělství, agroenvironmentální aspekty a pěstování rostlin). Ministerstvo životního prostředí ČR, Praha.

## Rozdział 8

# Ryzyko wzrostu emisji gazów cieplarnianych z gleby w wyniku stosowania egzogennej materii organicznej

Jiří Čuhel<sup>1</sup>, Małgorzata Brzezińska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centralny Instytut Nadzoru i Badań w Rolnictwie, Brno, Republika Czeska

<sup>2</sup>Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, Lublin, Polska

### WSTĘP

Stosowanie egzogennej materii organicznej (Exogenous Organic Matter, EOM) jako dodatku do gleby uprawnej przynosi korzyści rolnictwu, m.in. powoduje wzrost zawartości węgla organicznego, podwyższenie biomasy i aktywności mikroorganizmów, zwiększenie plonu roślin, a także poprawia strukturę i żyzność gleby. Stosowanie EOM może jednak również stanowić pewne zagrożenie dla środowiska, jak zwiększona emisja gazów cieplarnianych do atmosfery. Niniejszy rozdział dostarcza informacji o głównych gazach cieplarnianych oraz mechanizmach i czynnikach decydujących o ich wydzielaniu z gleby po stosowaniu EOM, opisuje i komentuje wyniki badań otrzymanych w eksperymentach realizowanych w ramach projektu czesko-polskiego oraz wskazuje sugestie dotyczące testowania EOM celem ich bezpiecznego, w kontekście emisji gazów cieplarnianych, stosowania.

Gazy cieplarniane są integralnym składnikiem atmosfery Ziemi. Absorbują i emitują promieniowanie podczerwone i silnie regulują temperaturę na Ziemi. Bez obecności gazów cieplarnianych w atmosferze, powierzchnia Ziemi byłaby o ok. 33 °C niższa (Karl i Trenberth, 2003). Naturalnemu efektowi cieplarnianemu zawdzięczamy życie takim, jakie jest, lecz od czasu rewolucji przemysłowej stężenie gazów cieplarnianych w atmosferze stale wzrasta powodując globalne ocieplenie. Obecnie najważniejszymi gazami cieplarnianymi w atmosferze Ziemi są dwutlenek węgla (diltlenek węgla, CO<sub>2</sub>), metan (CH<sub>4</sub>) i podtlenek azotu (tlenek diazotu, N<sub>2</sub>O).

Mimo, że najważniejsze źródła emisji gazów cieplarnianych obejmują spalanie paliw, spalanie biomasy, wysypiska stałych odpadów komunalnych, przemysł chemiczny i przemysł ciężki, to jednak gleby (a zwłaszcza gleby uprawne) są odpowiedzialne za istotną część emisji całkowitej wskutek wielu procesów mikrobiologicznych związanych z przekształceniami składników pokarmowych obecnych w środowisku glebowym. Rolnictwo pełni istotną rolę w emisji gazów cieplarnianych, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> i N<sub>2</sub>O, przyczyniając się w 10-12% do emisji globalnej, a EOM (w tym obornik i inne nawozy zwierzęce czy resztki roślinne) dostarcza istotne źródło wszystkich wymienionych gazów (IPCC, 2007).

Głównym gazem cieplarnianym odpowiedzialnym za globalne ocieplenie jest dwutlenek węgla (CO<sub>2</sub>). CO<sub>2</sub> w atmosferze Ziemi uważany jest za gaz śladowy występujący obecnie w stężeniu ok. 0,04 % obj. Stężenie CO<sub>2</sub> zmienia się sezonowo oraz regionalnie, zwłaszcza blisko gruntu. W porównaniu do okresu poprzedzającego uprzemysłowienie, jego stężenie wzrosło o ok. 35 %. Większość emisji związanej z działalnością człowieka wynika ze spalania paliw kopalnych, wycinania lasów, spalania biomasy, produkcji cementu et al., W całkowitej ilości emitowanych gazów cieplarnianych nie można jednak pominąć udziału rolnictwa i gleb

uprawnych, zwłaszcza w odniesieniu do CO<sub>2</sub>. Wydzielanie CO<sub>2</sub> z gleby ma znaczenie globalne, ponieważ dotyczy wszystkich ekosystemów lądowych, a wielkość tej emisji istotnie przyczynia się do efektu cieplarnianego.

W glebie CO<sub>2</sub> powstaje wskutek rozkładu materii organicznej (również egzogenicznej materii organicznej) prowadzonego przez organizmy glebowe, przede wszystkim mikroorganizmy i ich respirację (oddychanie). Rozkład materii w glebie jest kluczową funkcją ekosystemu, determinującą z dużym stopniem produktywność gleby i jakość roślin. Glebowe organizmy żywiące się martwą materią organiczną (destruenci) rozkładają polimery organiczne na proste związki: CO<sub>2</sub>, wodę i składniki pokarmowe. Kuzyakov (2006) wyodrębniła pięć biogennych źródeł CO<sub>2</sub> z gleby: respirację korzeni, respirację mikroorganizmów heterotroficznych strefy korzeniowej, tzw. *priming effect* (PE) czyli rozkład rodzimej materii organicznej indukowany przez wydzieliny korzeniowe lub przez dodanie resztek roślinnych, oraz tzw. respirację podstawową związaną z metabolizmem oddechowym opartym na mikrobiologicznym rozkładzie glebowej materii organicznej. Określenie *priming effect* dotyczy krótkotrwałych zmian w przekształcaniu natywnej materii organicznej gleby obserwowanych po dodaniu nawozów organicznych lub mineralnych (a także wskutek działania wydzielin korzeniowych). Efekt ten jest okresowy (rzędu dni - tygodni), lecz może powodować uwalnianie relatywnie wysokich ilości węgla i azotu (Kuzyakov i Bol, 2006). Dodatek łatwo dostępnego C organicznego wyzwala aktywność mikrobiologiczną gleby, powodując przyspieszenie metabolizmu komórkowego oraz zwiększenie szybkości respiracji. Należy przy tym podkreślić, że emisja CO<sub>2</sub> z dodanej materii (EOM) jest elementem krótkotrwałego cyklu C i nie jest uwzględniana w całkowitej emisji gazów cieplarnianych, ponieważ roczne emisje mające źródło w EOM prawdopodobnie równoważą ilość CO<sub>2</sub> asymilowaną przez rośliny (Thangarajan et al., 2013).

Metan (CH<sub>4</sub>) jest organicznym gazem śladowym występującym w atmosferze Ziemi w największych ilościach i drugim po CO<sub>2</sub> gazem cieplarnianym, o potencjale cieplarnianym wynoszącym 20-30 w skali 100 lat (co oznacza, że w okresie 100 lat gaz ten pochłania 20 do 30 razy więcej ciepła na jednostkę masy, niż CO<sub>2</sub>). Produkcja CH<sub>4</sub> (metanogeneza) jest procesem mikrobiologicznym całkowicie beztlenowym, wymagającym niskiego potencjału redoks (Eh < -200 mV) (Thangarajan et al., 2013). Ze względu na silną anaerobiozę konieczną do przebiegu metanogenezy, w większości agroekosystemów zastosowanie EOM nie przyczynia się do wydzielania CH<sub>4</sub>, ponieważ gleby uprawne zazwyczaj są prawidłowo przewietrzane. W wielu wypadkach uwalnianie CH<sub>4</sub> z gleby uważa się za mało znaczące, również w glebach wilgotnych (Ball et al., 2006). Emisja CH<sub>4</sub> charakterystyczna jest jednak dla pól ryżowych i mokradeł. Z tego powodu w ramach niniejszego projektu czesko-polskiego nie szacowaliśmy wpływu dodatku EOM na emisję CH<sub>4</sub>.

Następnym, po CO<sub>2</sub> i CH<sub>4</sub> gazem cieplarnianym silnie przyczyniającym się do globalnego ocieplenia jest podtlenek azotu (N<sub>2</sub>O). N<sub>2</sub>O, którego emisja do atmosfery była objęta kontrolą w ramach Protokołu z Kyoto do Ramowej Konwencji Narodów Zjednoczonych w Sprawie Zmian Klimatu, ma potencjał cieplarniany ok. 320 razy wyższy, niż CO<sub>2</sub>, a czas przebywania w atmosferze wynosi ok. 120 lat (Nakicenovic i Swart, 2000). Ponadto, N<sub>2</sub>O bardzo silnie przyczynia się do niszczenia warstwy ozonowej w stratosferze (Crutzen i Ehhalt, 1977; Ravishankara et al., 2009). Wskutek reakcji zachodzących w atmosferze, N<sub>2</sub>O może ponadto wywoływać tzw. smog fotochemiczny oraz kwaśne deszcze. Stężenie atmosferyczne N<sub>2</sub>O wzrosło z 270 ppb przed okresem uprzemysłowienia do 324,2 ppb w roku 2011 (IPCC, 2013), czyli o 20 %.

Gleby są odpowiedzialne za ponad dwie trzecie globalnej emisji N<sub>2</sub>O ze względu na liczne przekształcenia mikrobiologiczne związków azotowych zachodzące w środowisku glebowym (Conrad, 1996; Schimel i Holland, 1998). Gleby uprawne są na całym świecie głównym źródłem N<sub>2</sub>O, są odpowiedzialne za ok. 35% całkowitej emisji rocznej (Kroeze et al., 1999). Ponadto, zgodnie z narodowymi raportami rządowymi (National Inventory Submissions, 2014), na obszarach Czech i Polski w 2012 procentowa emisja N<sub>2</sub>O z gleb uprawnych była nawet większa i wynosiła odpowiednio 63 % i 67 %.

Emisja N<sub>2</sub>O z gleby jest w znacznym stopniu kontrolowana przez dwa przeciwstawne procesy mikrobiologiczne: nityfikację i zwłaszcza przez denityfikację (Firestone et al., 1980; Conrad, 1996). N<sub>2</sub>O jest produktem ubocznym pierwszego etapu nityfikacji, natomiast produktem przejściowym lub końcowym procesu denityfikacji.

Nityfikacja jest obligatoryjnie procesem tlenowym, w którym zredukowane formy azotu (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) są utleniane do azotanów(III) (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) i ostatecznie do azotanów(V) (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).



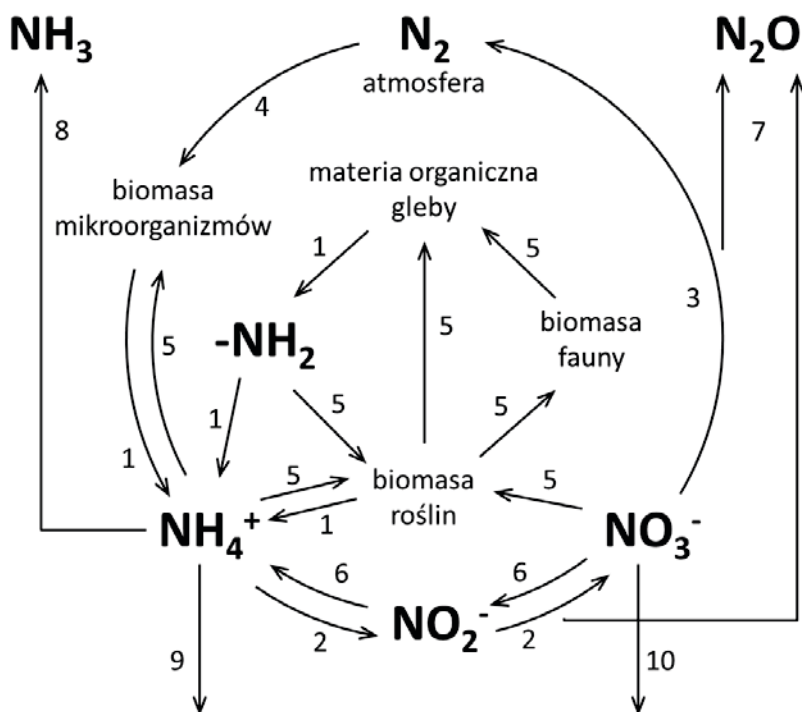
Nityfikacja pełni kluczową rolę w globalnym cyklu N (Rys. 1), ponieważ reprezentuje powiązanie pomiędzy amonifikacją (mineralizacją N) zapewniającą substrat dla nityfikacji (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) oraz denityfikacją wykorzystującą produkt nityfikacji (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Mikroorganizmy nityfikacyjne, bakterie i archaea, są bardzo rozpowszechnione w ekosystemach wodnych i lądowych oraz są bardzo ważne dla przebiegu procesów przekształcania azotu nieorganicznego w agroekosystemach. Nawet jeśli N<sub>2</sub>O nie jest obecny w szlaku nityfikacji, to jednak w określonych warunkach może powstawać jako produkt uboczny wskutek specyficznych przekształceń, tzw. denityfikacji nityfikacyjnej i utleniania hydroksylaminy (Stein, 2011). Przede wszystkim jednak, N<sub>2</sub>O jest produktem denityfikacji, procesu dominującego w aspekcie emisji N<sub>2</sub>O z gleby.

Proces denityfikacji obejmuje szereg reakcji dysymilacyjnej redukcji azotanów(V) (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), poprzez azotany(III) (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) do form gazowych - tlenku azotu (NO), podtlenku azotu (N<sub>2</sub>O) oraz, ostatecznie, azotu cząsteczkowego (N<sub>2</sub>) z udziałem czterech kompleksów enzymatycznych.



Denityfikacja jest ostatnim etapem globalnego cyklu N, w którym N uprzednio związany powraca do atmosfery (Rys. 1). Chociaż organizmy denityfikacyjne oddychają i metabolizują tlenowo w obecności tlenu, to przy niskiej dostępności tlenu, w warunkach niedotlenienia, są w stanie wykorzystywać utlenione formy azotu jako alternatywne akceptory elektronów w łańcuch oddechowym. Denityfikacja zapewnia więc tym mikroorganizmom wzrost i możliwość wytwarzania energii biologicznej także w warunkach beztlenowych. Denityfikacja przeprowadzana jest przez różnorodne mikroorganizmy, takie jak bakterie, archaea i mikroskopijne grzyby, oraz katalizowana jest przez kilka specyficznych enzymów (reduktazy związane z błonami cytoplazmatycznymi lub przestrzenią peryplazmatyczną).

Denityfikacja jest jedynym znanym biologicznym procesem pochłaniania N<sub>2</sub>O (Conrad, 1996); jednak zazwyczaj proces denityfikacji powoduje wyższą produkcję i emisję N<sub>2</sub>O, niż jego pochłanianie ze względu na często niepełny przebieg procesu. Oznacza to, że NO<sub>3</sub><sup>-</sup> nie ulega całkowitej redukcji do N<sub>2</sub>, a w rezultacie wydzielane są dwa produkty denityfikacji: N<sub>2</sub>O i N<sub>2</sub> (Włodarczyk et al., 2004). Szybkość denityfikacji oraz stosunek N<sub>2</sub>O do N<sub>2</sub> regulowane są przez szereg czynników środowiskowych. Tate (1995) wskazuje, że najsilniejszym regulatorem



**Rys. 1** Uproszczony cykl azotu (N) wraz z podstawowymi formami N i przekształceniami (na podstawie: Čuhel, 2004); 1 – mineralizacja N (amoniifikacja), 2 – nityfikacja, 3 – denityfikacja, 4 – wiązanie  $N_2$ , 5 – asymilacja i immobilizacja N, 6 – asymilacja i dysymilacja drogą redukcji  $NO_3^-$  do  $NH_4^+$ , 7 – emisja  $N_2O$ , 8 – uwalnianie  $NH_3$  do atmosfery, 9 – wiązanie  $NH_4^+$  w kompleksie sorpcyjnym gleby, 10 – wyciekanie  $NO_3^-$  z gleby.

szybkości denityfikacji i stechiometrii produktów są: skład i dostępność materii organicznej jako źródła energii (denityfikatory są organizmami heterotroficznymi), dostępność  $NO_3^-$  (substratu denityfikacji), ciśnienie parcjale tlenu (denityfikacja jest procesem beztlenowym, a enzym reduktaza  $N_2O$  jest bardzo wrażliwy na  $O_2$ ), temperatura (podobnie jak inne procesy biochemiczne) oraz pH gleby. Aktualna wartość pH gleby jest główną zmienną determinującą zarówno szybkość procesu denityfikacji, jak również stosunek  $N_2O$  do  $N_2$ . Generalnie, aktywność denityfikacyjna wzrasta wraz ze wzrostem pH gleby (aż do optimum pH), podczas gdy stosunek  $N_2O/N_2$  obniża się wraz ze wzrostem pH.

Opisane procesy mogą podlegać wpływom dodanej materii organicznej EOM, czego efektem może być zwiększona emisja gazów cieplarnianych. Wszystkie dodatki EOM reprezentują potencjalne źródło energii (węgiel organiczny) dla organizmów glebowych, a cały węgiel organiczny zawarty w EOM może być rozłożony do  $CO_2$ . Ponadto, EOM zawiera również organiczne formy azotu, które mogą być – po rozkładzie i mineralizacji – wykorzystane w przebiegu nityfikacji, denityfikacji i innych procesach biogeochemicznych. Mikroorganizmy glebowe pełnią zasadniczą rolę w rozkładzie materii organicznej, krążeniu pierwiastków, immobilizacji składników pokarmowych, a także w innych przekształceniach biogeochemicznych w glebie. Zatem mikroorganizmy (biomasa mikroorganizmów) są istotnym elementem regulującym przekształcenia i obieg materii i energii w ekosystemie. Wzrost emisji  $CO_2$  i  $N_2O$  wskutek rozkładu wprowadzonego do gleby węgla organicznego jest w znacznym stopniu

spowodowany przez stymulację aktywności mikrobiologicznej w odpowiedzi na zmianę zawartości łatwo dostępnego C i N (Perelo i Munch, 2005).

Procesy emisji gazów cieplarnianych podlegają wpływowi szeregu tzw. proksymalnych i dystalnych czynników glebowych. Regulatory proksymalne, takie jak dostępność O<sub>2</sub> i wody, temperatura, pH gleby i materia organiczne, źródło N i C, wpływają bezpośrednio na produkcję gazów cieplarnianych, które z kolei podlegają regulacji przez czynniki dystalne, takie jak zabiegi uprawowe, klimat, typ gleby czy dostępność składników pokarmowych. W odniesieniu do emisji gazów cieplarnianych, stosowanie EOM wpływa głównie na regulatory proksymalne. Na przykład, dodanie pewnych rodzajów EOM może powodować zmianę pH i obniżenie potencjału redoks (wskutek wyczerpania O<sub>2</sub> w efekcie zwiększonej aktywności respiracyjnej), a poprzez to wytworzenie warunków optymalnych do zainicjowania emisji N<sub>2</sub>O dla organizmów denitryfikacyjnych.

Ilość, typ i częstość stosowania dodatku EOM są ważnymi elementami, determinującymi utratę C w postaci CO<sub>2</sub> oraz utratę N w postaci N<sub>2</sub>O. Na przykład, dodatek materii z dominującą zawartością ligniny jest dla większości mikroorganizmów słabym źródłem C, dlatego w wyniku stosowania EOM z wysoką zawartością ligniny emisja CO<sub>2</sub> może być niska. Liczne badania wskazują natomiast na znaczne straty N wskutek denitryfikacji z gleb nawożonych dodatkami EOM takimi jak obornik, kompost, czy resztki roślinne w porównaniu do gleby nienawożonej lub nawożonej mineralnymi nawozami azotowym (Dambreville et al., 2006; Walker i Shannon, 2006). Z drugiej strony, dostępne są również wyniki badań wskazujące na obniżenie (lub brak wpływu) emisję N<sub>2</sub>O i CO<sub>2</sub> z gleb wzbogaconych EOM (Thangarajan et al., 2013).

Dodatki organiczne wykorzystywane w rolnictwie obejmują osady ściekowe, nawozy zwierzęce, komposty, miejskie odpady stałe, resztki poźniwne, mączki mięsno-kostne, substancje humusowe, itd. Ich skład może być bardzo różny, zatem wpływ, jaki wywierają na emisję N<sub>2</sub>O i CO<sub>2</sub> po zastosowaniu może być również bardzo zróżnicowany. Przed zatwierdzeniem każdego rodzaju EOM jako dodatku bezpiecznego przy rutynowym stosowaniu konieczne jest więc sprawdzenie jego wpływu na emisję CO<sub>2</sub> i N<sub>2</sub>O.

## **TESTOWANIE POTENCJALNEGO WPŁYWU WYBRANYCH DODATKÓW EOM NA EMISJĘ GAZÓW CIEPLARNIANYCH**

W trakcie realizacji projektu czesko-polskiego badaliśmy wpływ wybranych dodatków EOM (opisanych w rozdziale 2) na emisję N<sub>2</sub>O i CO<sub>2</sub> z gleby uprawnej. Generalnie, są dwie metody określania wpływu dodatku materii organicznej do gleby na emisję gazów cieplarnianych: (a) stały monitoring prowadzony w warunkach polowych lub w warunkach szklarni (jak w przypadku doświadczenia wazonowego), prowadzony z wykorzystaniem statycznych lub przenośnych komór pozwalających na analizę emitowanych gazów oraz (b) inkubacja próbek glebowych (pobranych w pól eksperymentalnych) prowadzona w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych. Pomiary wykonywane w warunkach polowych dostarczają bezpośredniej oceny wpływu dodatku na badany proces. Ze względu na naturalny, silny wpływ czynników środowiskowych, zwłaszcza temperatury i wilgotności gleby, emisja N<sub>2</sub>O i CO<sub>2</sub> *in situ* jest jednak bardzo zmienna, zarówno w czasie jak i w przestrzeni (Hynšt et al., 2007). Ponadto ten rodzaj pomiarów jest bardzo kosztowny i czasochłonny. Natomiast alternatywna metoda (laboratoryjna) zapewnia kontrolowane i stałe warunki inkubacji i pomiarów. To podejście metodyczne pozwala wyeliminować wpływ silnych czynników fizycznych (temperatury i warunków wodno-powietrznych), a zatem umożliwia porównanie rezultatów otrzymanych dla różnych dodatków



EOM i różnych typów gleb. Ponadto, trudno byłoby odnieść wyniki uzyskane dla gazów cieplarnianych do innych parametrów (chemicznych, fizycznych czy biologicznych), które były mierzone w próbkach glebowych pobranych wiosną i jesienią 2013 i 2014 r. Dlatego podjęliśmy decyzję, by wykorzystać pobrany materiał glebowy oraz oszacować potencjalny wpływ dodatków EOM na emisję gazów prowadząc serie inkubacji próbek glebowych w warunkach laboratoryjnych. Zdolność gleb do produkcji  $N_2O$  określana była tzw. metodą DEA (*denitrifying enzyme activity*, aktywność enzymów denitryfikacyjnych), a potencjalna emisja  $CO_2$  dwoma metodami: respiracji podstawowej (oddychania podstawowego, *basal respiration*, BR) oraz respiracji indukowanej dodatkiem substratu (*substrate induced respiration*, SIR).

Pobrane próbki glebowe zostały zhomogenizowane, przesiane (sito 2 mm) i przechowywane w plastikowych torebkach w zamrażarce, w temperaturze  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ . Próbki przenoszono do lodówki ( $4\text{ }^\circ\text{C}$ ) dla ich rozmrożenia przynajmniej siedem dni przed rozpoczęciem pomiarów DEA, BR lub SIR.

Wskaźnik DEA określa proces denitryfikacji na podstawie inkubacji gleby prowadzonej w warunkach optymalnych dla przebiegu procesu. Reprezentuje potencjalną aktywność enzymów procesu denitryfikacji w glebie w czasie poboru próbek glebowych. Oznaczenie przeprowadzono wykorzystując metodę beztlenowej inkubacji zawiesiny glebowej, zastosowaną w pierwszej fazie oznaczenia zaproponowanego przez Smitha i Tiedje (1979), z niewielką modyfikacją (Šimek i Hopkins, 1999). Zastosowana metoda uwzględnia udział acetyleny ( $C_2H_2$ ), inhibitora reakcji redukcji  $N_2O$  do  $N_2$  (końcowego etapu denitryfikacji). Zastosowanie inhibitora umożliwia oznaczenie obydwu produktów ( $N_2O$  i  $N_2$ ). Zawiesinę glebową przygotowano w 100-ml naczynkach przez zmieszanie 25 g gleby o wilgotności polowej z 25 ml roztworu zawierającego 1 mM glukozy i 1 mM  $KNO_3$ . Naczynka zamknięto korkami gumowymi i kapslami z otworami umożliwiającymi pobór próbek gazu, następnie odpowietrzono oraz przepłukano czterokrotnie argonem. Inkubacje zawiesiny prowadzono na wytrząsarce w temperaturze  $25\text{ }^\circ\text{C}$  z dodatkiem lub bez dodatku  $C_2H_2$  (10 % v/v), odpowiednio dla pomiaru wskaźnika DEA (łączna produkcja  $N_2O$  i  $N_2$ ) lub  $N_2O$ . Po upływie 30 i 60 min, 0,5 ml próbki gazu z gleby pobierano gazoszczelną strzykawką i bezpośrednio oznaczano stężenie  $N_2O$  na chromatografii gazowej wyposażonym w detektor ECD. Produkcję  $N_2$  wyznaczano z różnicy pomiędzy produkcją  $N_2O$  powstałego w trakcie inkubacji z dodanym i bez dodanego  $C_2H_2$ .

Respiracja gleby jest jednym z najstarszych, lecz wciąż najczęściej badanych wskaźnikami aktywności mikrobiologicznej w glebie mierzonym jako szybkość wydzielania  $CO_2$  w próbce glebowej. Wielkość BR definiowana jest jako respiracja określana w glebie bez dodatku substratu organicznego. Reprezentuje miarę całkowitej aktywności mikroorganizmów glebowych oraz dostarcza informacji o zawartości węgla organicznego dostępnego dla procesu mineralizacji. Natomiast SIR jest miarą respiracji gleby w obecności dodanych łatwo dostępnych substratów, takich jak glukoza, aminokwasy, itp. Jest wskaźnikiem określającym biomasę aktywnych mikroorganizmów glebowych.

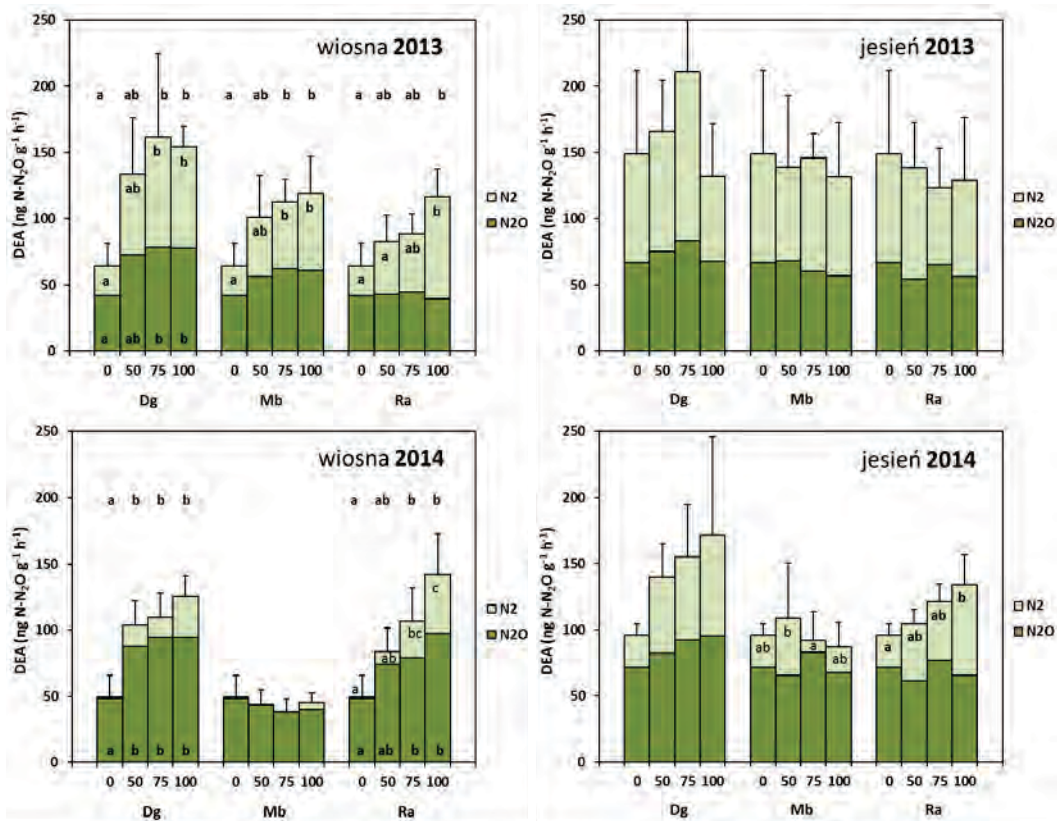
W zastosowanych metodach, próbki gleby o masie 13,5 g (odpow. masie gleby suchej) naważono do 100-ml naczyń Erlenmeyera. W przypadku, gdy wilgotność gleby była niższa niż 60 % lub 40 % (odpowiednio dla pomiaru BR lub SIR) pełnej pojemności wodnej, próbka została dodatkowo nawilżona. Naczynia zamknięto parafilmem, umieszczone w szafie inkubacyjnej i preinkubowano w temperaturze  $22\text{ }^\circ\text{C}$  przez 4 dni. Po zakończeniu preinkubacji, 12,5 g gleby (odpow. masie gleby suchej) umieszczono w 100-ml naczyniach inkubacyjnych. W przypadku pomiaru SIR, przed naważeniem gleby, w naczyniach inkubacyjnych umieszczono 0,125 g

substratu (mieszanina glukozy,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  i  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), następnie zważono glebę i starannie zmieszano ją z substratem. Naczynia zamknięto korkami gumowymi i kapslami z otworami umożliwiającymi pobór próbek gazu oraz umieszczono w szafie inkubacyjnej w temperaturze 22 °C. Po upływie 2,5 i 5 godz. (w przypadku SIR) lub po 4 i 24 godz. (w przypadku BR), 0,5 ml próbki gazu z gleby pobierano gazoszczelną strzykawką i stężenie  $\text{CO}_2$  bezpośrednio oznaczano na chromatografie gazowym wyposażonym w detektor TCD.

## WYNIKI

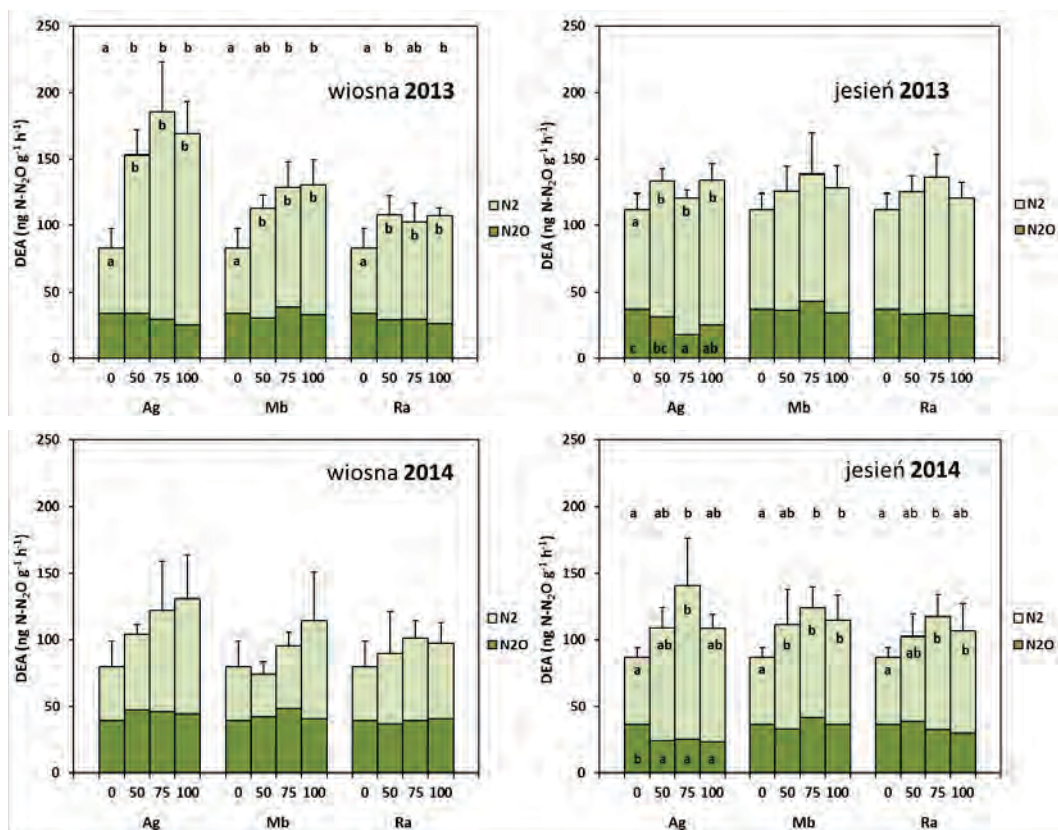
Mikroorganizmy przeprowadzające proces denitryfikacji są heterotroficzne, potrzebują do życia związków organicznych. Wprowadzenie EOM powoduje podwyższenie zawartości substancji organicznych możliwych do wykorzystania przez obecne w glebie organizmy heterotroficzne, również denitryfikatory. W projekcie czesko-polskim testowane były dodatki EOM różniące się składem, zawartością węgla organicznego i wieloma innymi parametrami, mającymi wpływ na zdolność denitryfikatorów do wykorzystania EOM i na szybkość denitryfikacji, a w konsekwencji na emisję  $\text{N}_2\text{O}$  z gleby. Należy zaznaczyć, że wszystkie poletka (warianty) były nawożone taką samą ilością azotu ( $200 \text{ kg N ha}^{-1}$ ). Oznacza to, że wraz ze zwiększającą się ilością dodanego EOM, ilość dodanego  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  relatywnie zmniejszała się. Reguła ta odnosiła się również do doświadczenia wazonowego. Różnica aktywności DEA (produkcja  $\text{N}_2\text{O}$  i  $\text{N}_2$ ) pomiędzy wariantami nie może być więc wyjaśniona przez ilość dodanego N. Dodatek N różnił się formą organiczną/nieorganiczną, a jak wykazano, chemiczna postać nawozu azotowego istotnie zmienia emisję  $\text{N}_2\text{O}$  z gleby (Cayuela et al., 2010).

Badanie aktywności denitryfikacyjnej przez oznaczenie DEA w próbkach glebowych z doświadczenia polowego w Braszowicach w roku 2013 wykazało, że dodatek osadu pofermentacyjnego z biogazowni Dg, mączki zwierzęcej Mb i kompostu z odpadów przemysłowych Ra powodował istotny wzrost szybkości denitryfikacji już po 5 tygodniach od ich zastosowania (Rys. 2, wiosna 2013). Generalnie, wzrost wartości DEA korespondował ze wzrostem dawki EOM. Z drugiej strony, po upływie ok. 24 tygodni od zastosowania EOM (pobór jesienny) już nie obserwowaliśmy żadnych różnic pomiędzy zastosowanymi dawkami, co może wskazywać na to, że niemal cały dodany EOM został wykorzystany przez mikroorganizmy, więc wpływ na DEA był już nieznaczny (Rys. 2, jesień 2013). Taką samą sytuację obserwowano na polu eksperymentalnym w Pusté Jakartice: pozytywny wpływ dodatku EOM na DEA widoczny w okresie wiosennym zanikał w próbkach pobranych jesienią (Rys. 3, wiosna i jesień 2013). Podobna sytuacja miała miejsce w drugim roku eksperymentalnym (2014 r.) w Braszowicach (Rys. 2, wiosna i jesień 2014), z wyjątkiem dodatku mączki zwierzęcej Mb, która nie była zastosowana na polu w Braszowicach, zatem nie można było śledzić efektów aplikacji tego dodatku. Natomiast, nieoczekiwanie, wyniki pomiaru DEA w próbkach pobranych z pola Pusté Jakartice w 2014 r. wykazały, że nie było istotnych różnic pomiędzy dawkami poszczególnych EOM w próbkach pobranych wiosną (Fig. 3, wiosna 2014). Prawdopodobnie wyjaśnieniem może być w tym przypadku zbyt krótki okres pomiędzy aplikacją EOM i wiosennym poborem próbek glebowych (2 tygodnie).



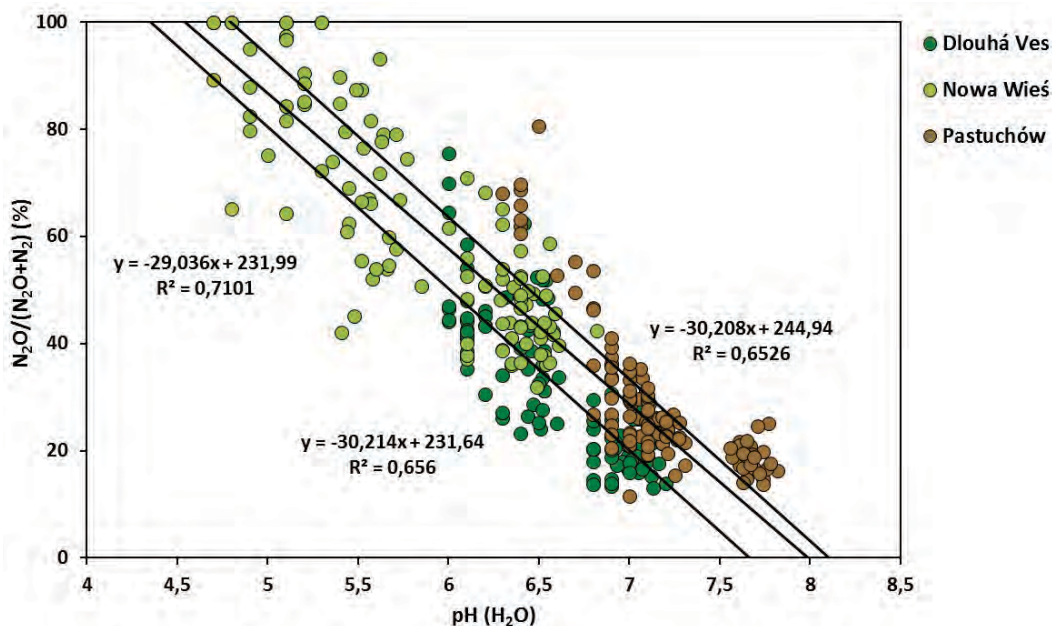
**Rys. 2** Aktywność enzymów denitryfikacyjnych (DEA) przedstawiona jako produkcja N<sub>2</sub>O i N<sub>2</sub> z próbek glebowych pobranych z pola doświadczalnego w **Braszowicach** (PL) wiosną i jesienią 2013 i 2014 r. Dodatki EOM (osad pofermentacyjny z biogazowni Dg, mączka zwierzęca Mb oraz kompost z odpadów przemysłowych Ra) zastosowano w różnych dawkach odpowiadających kontroli (0), 50, 75 i 100% całkowitej ilości dodanego azotu. Różne litery umieszczone w słupkach wskazują na istotność różnic pomiędzy zastosowanymi dawkami, osobno dla produkcji N<sub>2</sub>O i N<sub>2</sub>. Różne litery nad słupkami wskazują na istotne różnice dla wskaźnika DEA.

W przypadku doświadczenia wazonowego, nie zaobserwowaliśmy wielu istotnych statystycznie różnic pomiędzy wartościami DEA mierzonymi w próbkach glebowych pobranych w poszczególnych wariantach doświadczenia (dane nie prezentowane). Wyjątkiem był dodatek mączki zwierzęcej Mb oraz osadu pofermentacyjnego z biogazowni Dg, których wzrastająca dawka powodowała podwyższenie aktywności denitryfikacyjnej (DEA) w próbkach wiosennych oraz jesiennych w glebie z Pastuchowa. Wśród testowanych dodatków EOM, mączka zwierzęca Mb wykazywała najniższy stosunek węgla do azotu (C:N) wynoszący 4,8, jako że materiały po produkcji zwierzęcej z reguły charakteryzują się wysoką zawartością N, ponieważ są materiałem wysoko-białkowym. Stosunek C:N w osadzie pofermentacyjnym z biogazowni Dg również był bardzo niski (5,9). Zatem aplikacja tych dwóch EOM reprezentuje najniższe wśród testowanych dodatków wzbogacenie gleby dodatkowym węglem organicznymi; prawdopodobnie gleba z Pastuchowa była limitowana właśnie przez węgiel organiczny.



**Rys. 3** Aktywność enzymów denitryfikacyjnych (DEA) przedstawiona jako produkcja N<sub>2</sub>O i N<sub>2</sub> z próbek glebowych pobranych z pola doświadczalnego **Pusté Jakartice** (CZ) wiosną i jesienią 2013 i 2014 r. Dodatki EOM (kompost Ag, mączka zwierzęca Mb oraz kompost z odpadów przemysłowych Ra) zastosowano w różnych dawkach odpowiadających kontroli (0), 50, 75 i 100% całkowitej ilości dodanego azotu. Różne litery umieszczone w słupkach wskazują na istotność różnic pomiędzy dawkami, osobno dla produkcji N<sub>2</sub>O i N<sub>2</sub>. Różne litery nad słupkami wskazują na istotność różnic dla wskaźnika DEA.

Ponieważ N<sub>2</sub>O nie jest jedynym produktem denitryfikacji, emisja N<sub>2</sub>O z gleby determinowana jest nie tylko przez całkowitą aktywność denitryfikacyjną (mierzoną tu jako DEA), lecz także przez stosunek dwóch produktów danego procesu, N<sub>2</sub>O i N<sub>2</sub>. Spośród parametrów oznaczanych (zarówno w próbkach pobieranych wiosną jak i jesienią) jedynym parametrem, który może wyjaśnić tendencje obserwowane w przypadku relatywnej produkcji N<sub>2</sub>O (stosunek N<sub>2</sub>O/[N<sub>2</sub>O+N<sub>2</sub>]) w zastosowanych wariantach doświadczalnych jest pH gleby. Przeprowadzona analiza regresji potwierdziła wcześniej obserwowaną (np. Šimek i Hopkins, 1999) silną ujemną korelację pomiędzy stosunkiem N<sub>2</sub>O/(N<sub>2</sub>+N<sub>2</sub>O) i pH (Rys. 4). We wszystkich przeprowadzonych eksperymentach wazonowych (gleby Dlouhá Ves, Nowa Wieś i Pastuchów) wraz ze spadkiem pH N<sub>2</sub>O staje się dominującym produktem denitryfikacji. Zależność ta była prawie identyczna dla trzech gleb badanych w warunkach szklarni (choć naturalne pH tych gleb było różne), a także dla gleb badanych w warunkach polowych (dane nie prezentowane). Otrzymane wyniki potwierdzają uniwersalny charakter przedstawionej zależności (Čuhel i Šimek, 2011) i sugerują decydującą rolę pH środowiska glebowego w procesie emisji N<sub>2</sub>O w glebach wzbogaconych EOM. Ponadto rezultaty te mają znaczenie dla praktyki rolniczej, gdyż wapnowanie gleby (dla podwyższenia pH)



**Rys. 4** Zależność pomiędzy względną produkcją  $N_2O$  ( $N_2O/[N_2O+N_2]$ ) i pH gleby w próbkach glebowych z doświadczenia wazonowego, osobno dla doświadczeń Dlouhá Ves, Nowa Wieś i Pastuchów. Wykres przedstawia dane otrzymane w latach 2013 i 2014 wraz z równaniami regresji liniowej oraz współczynnikami determinacji  $R^2$ . Podobne wyniki otrzymano w doświadczeniach polowych: Pusté Jakartice i Braszowice.

rozważane jest jako potencjalna metoda zapobiegania emisji  $N_2O$  z gleb uprawnych do atmosfery. Wykorzystanie wapnowania do ograniczenia emisji gazów cieplarnianych powinno jednak zostać szerzej zweryfikowane i potwierdzone w przyszłych badaniach.

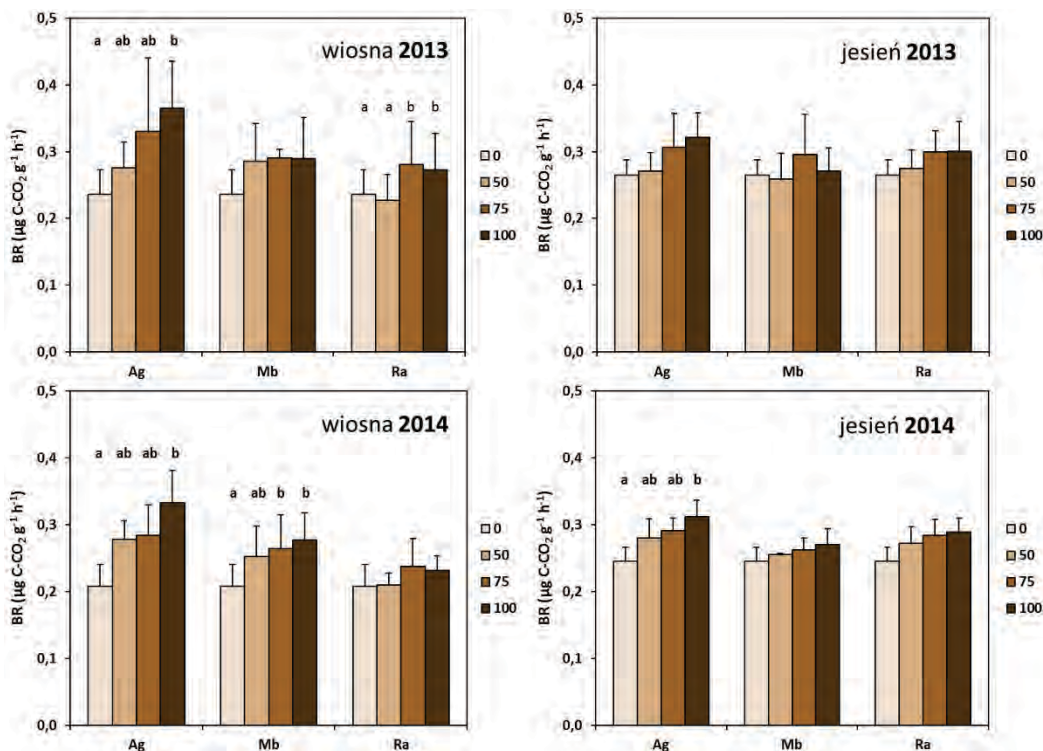
Rozpoznanie relatywnej produkcji  $N_2O$  jest ważne dla zrozumienia powiązania pomiędzy procesem denitryfikacji i innymi właściwościami gleby lub parametrami środowiskowymi. Natomiast całkowita produkcja  $N_2O$  (tu mierzona jako DEA bez dodatku  $C_2H_2$ ) wydaje się być bardziej istotna w odniesieniu do emisji  $N_2O$ . Produkcja  $N_2O$  w próbkach z doświadczenia polowego w Braszowicach zmieniała się istotnie jedynie po dodaniu osadu pofermentacyjnego z biogazowni Dg oraz kompostu z odpadów przemysłowych Ra (Rys. 2). Wymienione dodatki EOM powodowały podwyższenie potencjalnej produkcji  $N_2O$  w próbkach pobranych wiosną (5 tygodni po aplikacji EOM), lecz tendencja ta była tylko okresowa, gdyż w próbkach pobranych jesienią nie zanotowano już różnic w produkcji  $N_2O$  pomiędzy poszczególnymi dawkami (Rys. 2, jesień 2013 i 2014). Ponadto, wyniki z jednego z doświadczeń polowych (Pusté Jakartice) wskazują, że w niektórych przypadkach dodatek EOM (tutaj kompost Ag) powodował nawet obniżenie produkcji  $N_2O$  w próbkach pobranych jesienią (Rys. 3). Pozostałe dodatki EOM stosowane w tym doświadczeniu (Pusté Jakartice) nie wywoływały zmian w produkcji  $N_2O$ . Biorąc pod uwagę doświadczenie wazonowe (dane nie prezentowane) należy stwierdzić, że różne EOM dodane do różnych gleb wpływały odmiennie na produkcję  $N_2O$ . Pewne dodatki EOM powodowały podwyższenie produkcji  $N_2O$  w próbkach pobranych wiosną (choć nie zawsze we wszystkich glebach), zaś inne dodatki - w próbkach pobieranych w okresie jesiennym, itp. Generalnie, nie zaobserwowaliśmy, by któryś z zastosowanych dodatków EOM był wyraźnie większym zagrożeniem w odniesieniu do emisji  $N_2O$ , oraz by któraś z gleb była - w kontekście

emisji N<sub>2</sub>O - bardziej podatna na wpływ EOM. Ponieważ każda gleba jest inna wykazując swój własny charakter określony przez właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne, wskazane jest, by testując dodatki EOM uwzględniać specyfikę badanej gleby.

Respiracja indukowana substratem (SIR) wykazywała podobną do DEA tendencję zmian pod wpływem dodatków EOM. Metoda SIR prawdopodobnie nie jest jednak użytecznym wskaźnikiem do przewidywania emisji CO<sub>2</sub> z gleby. Parametr ten jest raczej miarą biomasy mikroorganizmów glebowych, wykazując bardzo silną korelację z zawartością biomasy oznaczaną metodą fumigacji-ekstrakcji w próbkach pobranych z doświadczeń polowych i wazonowych ( $r = 0,881, p < 0,001$ ).

Respiracja podstawowa gleby (BR) jest parametrem silniej związanym z emisją CO<sub>2</sub>. Nawet jeśli wskaźnik BR jest oznaczany w warunkach laboratoryjnych, to reprezentuje on wydzielanie CO<sub>2</sub> z gleby bez wzbogacenia substratem organicznym. BR obrazuje, jak materia organiczna gleby jest mineralizowana przez mikroorganizmy i naturalnie przekształcana do CO<sub>2</sub>. Jest więc miarą zawartości dostępnego węgla oraz aktywności mikrobiologicznej gleby.

Jak spodziewaliśmy się, stosowanie testowanych EOM na polu doświadczalnym Pusté Jakartice powodowało zmiany wartości BR (Rys. 5). W próbkach pobieranych wiosną 2013 i 2014 r., aktywność BR wzrastała już po 5 (lub 6) tygodniach od aplikacji EOM. Siła wpływu zwiększała się z zastosowaną dawką EOM, nawet jeśli różnice pomiędzy dawkami nie były szczególnie istotne statystycznie. Wpływ ten malał jednak w trakcie sezonu wegetacyjnego,



**Rys. 5** Respiracja podstawowa (BR) w glebie pobranej z pola doświadczalnego Pusté Jakartice (CZ) wiosną i jesienią 2013 i 2014 r. Dodatki EOM (kompost Ag, mączka zwierzęca Mb oraz kompost z odpadów przemysłowych Ra) zastosowano w różnych dawkach odpowiadających kontroli (0), 50, 75 i 100% całkowitej ilości dodanego azotu. Różne litery nad słupkami wskazują na istotność różnic pomiędzy dawkami.

ponieważ w poborach jesiennych nie obserwowaliśmy już istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi dawkami EOM. Jedynie w glebie nawożonej najwyższą dawką kompostu Ag wpływ na BR został utrzymany jesienią 2014 r. Przypuszczalnym wyjaśnieniem może być najwyższy wśród dodatków stosowanych w doświadczeniach polowych stosunek C:N (9,3) charakteryzujący kompost Ag. Aplikacja Ag reprezentuje najwyższy wkład materii organicznej do gleby, więc znaczna zawartość dodatkowej materii organicznej była wciąż dostępna dla respiracji jeszcze po 22 tygodniach od zabiegu. Takie wyjaśnienie zostało potwierdzone w doświadczeniu wazonowym, gdzie kompost z odpadów przemysłowych Dw o najwyższym stosunku C:N (13,8) również powodował najsilniejsze, wśród dodanych EOM, podwyższenie BR.

Nawet jeśli CO<sub>2</sub> jest najsilniejszym gazem cieplarnianym, jego emisja wynikająca ze stosowania EOM nie stanowi szczególnego zagrożenia dla stężenia CO<sub>2</sub> w atmosferze. Węgiel organiczny wprowadzony wraz z dowolnym EOM ma źródło w CO<sub>2</sub> atmosferycznym. CO<sub>2</sub> jest asymilowany poprzez fotosyntezę przez rośliny z wytworzeniem związków organicznych (a następnie przekształcany przez zwierzęta i inne organizmy heterotroficzne), a ostatecznie może służyć jako EOM. Oczywiście, poprzez rozkład EOM, pewna część materii musi być mineralizowana do CO<sub>2</sub>, jednak zgodnie z regułą podstawowego cyklu biogeochemicznego, CO<sub>2</sub> po prostu powraca (jest emitowany) do pierwotnego źródła, czyli atmosfery.

## **WNIOSKI I ZALECENIA**

Należy podkreślić, że pomiary N<sub>2</sub>O i CO<sub>2</sub> wykonywaliśmy tylko dwukrotnie w okresie wegetacyjnym (wiosną i jesienią) po aplikacji EOM. Szacowanie ryzyka wzrostu emisji gazów cieplarnianych na tej podstawie może być jednak przybliżone. Badania szeregu autorów (np. Huang et al., 2004; Mondini et al., 2007) wykazały, że wzrost emisji N<sub>2</sub>O i CO<sub>2</sub> może wystąpić już wcześniej po dodaniu EOM, w ciągu jednego tygodnia czy miesiąca. Zatem dla przyszłego testowania EOM odnośnie ich bezpiecznego stosowania jako dodatku do gleby, zalecamy częstsze monitorowanie emisji gazów cieplarnianych, tzn. bezpośrednio (rzędu dni) po aplikacji EOM oraz w krótszych odstępach czasu. Na podstawie naszego doświadczenia, uzyskanego w trakcie realizacji projektu czesko-polskiego, rekomendujemy również skupić się głównie na N<sub>2</sub>O jako gazie cieplarnianym i wykorzystaniu wskaźnika DEA bez udziału C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> do wyznaczenia potencjalnej emisji N<sub>2</sub>O z gleby. Testowanie każdego rodzaju EOM pod kątem jego wpływu na zwiększenie emisji N<sub>2</sub>O wymaga również uwzględnienia w testach specyfiki konkretnej gleby i sprawdzenia jak dany EOM wpływa na wydzielanie N<sub>2</sub>O z danej gleby.

Jeśli możemy dostarczyć kilku rad dla bezpiecznego stosowania EOM w kontekście ograniczenia emisji gazów cieplarnianych z gleby, to sugerujemy, by EOM był aplikowany w dawce optymalnej, uwzględniającej wszystkie źródła N dostępnego dla roślin. Należy unikać opóźnień pomiędzy podaniem EOM i poborem N przez uprawiane rośliny. Ponadto, dodawana masa EOM powinna być umieszczona starannie w glebie w taki sposób, by była łatwo dostępna dla korzeni roślin.

## LITERATURA

- Ball B, McTaggart I, Scott A (2006) Mitigation of greenhouse gas emissions from soil under silage production by use of organic manures or slow-release fertilizer. *Soil Use Manage* 20:287-295.
- Cayuela ML, Velthof GL, Mondini C, Sinicco T, van Groeningen JW (2010) Nitrous oxide and carbon dioxide emissions during initial decomposition of animal by-products applied as fertilisers to soils. *Geoderma* 157:235-242.
- Conrad R (1996) Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases ( $H_2$ , CO,  $CH_4$ , OCS,  $N_2O$ , and  $N_2$ ). *Microbiol Rev* 60:609-640.
- Crutzen PJ, Ehhalt DH (1977) Effects of nitrogen fertilizers and combustion on the stratospheric ozone layer. *Ambio* 6:112-117.
- Čuhel J (2004) Produkty denitrifikace v pastevní půdě. [Denitrification products in pasture soil; in Czech]. Bachelor thesis, University of South Bohemia in České Budějovice.
- Čuhel J, Šimek M (2011) Proximal and distal control by pH of denitrification rate in a pasture soil. *Agr Ecosyst Environ* 141:230-233.
- Dambreville C, Hallet S, Nguyen C, Morvan T, Germon J-C, Philippot L (2006) Structure and activity of the denitrifying community in a maize-cropped field fertilized with composted pig manure or ammonium nitrate. *FEMS Microbiol Ecol* 56:119-131.
- Firestone MK, Firestone RB, Tiedje JM (1980) Nitrous oxide from soil denitrification: factors controlling its biological production. *Science* 208:749-751.
- Huang Y, You J, Zheng X, Wang Y, Xu X (2004) Nitrous oxide emissions as influenced by amendment of plant residues with different C:N ratios. *Soil Biol Biochem* 36:973-981.
- Hynšt J, Šimek M, Brůček P, Petersen SO (2007) High fluxes but different patterns of nitrous oxide and carbon dioxide emissions from soil in a cattle overwintering area. *Agr Ecosyst Environ* 120:269-279.
- IPCC (2007) Climate change 2007. The physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge University Press, Cambridge.
- IPCC (2013) Climate Change 2013: The physical science basis. Contribution of working Group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge University Press, Cambridge.
- Karl TR, Trenberth KE (2003) Modern global climate change. *Science* 302:1719-23.
- Kroeze C, Mosier A, Bouwman L (1999) Closing the global  $N_2O$  budget: a retrospective analysis 1500-1994. *Global Biogeochem Cy* 13:1-8.
- Kuzyakov Y (2006) Sources of  $CO_2$  efflux from soil and review of partitioning methods. *Soil Biol Biochem* 38:425-448.
- Kuzyakov Y, Bol R (2006) Sources and mechanisms of priming effect induced in two grassland soils amended with slurry and sugar. *Soil Biol Biochem* 38:747-758.
- Mondini C, Cayuela ML, Sinicco T, Cordaro F, Roig A, Sánchez-Monedero MA (2007) Greenhouse gas emissions and carbon sink capacity of amended soils evaluated under laboratory conditions. *Soil Biol Biochem* 39:1366-1374.
- Nakicenovic N, Swart R (eds) (2000) Special report on emissions scenarios: a special report of Working Group III of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge.
- National Inventory Submissions (2014) [http://unfccc.int/national\\_reports/annex\\_i\\_ghg\\_inventories/national\\_inventories\\_submissions/items/8108.php](http://unfccc.int/national_reports/annex_i_ghg_inventories/national_inventories_submissions/items/8108.php). Accessed 24 February 2015.
- Perelo LW, Munch JC (2005) Microbial immobilisation and turnover of  $^{13}C$  labelled substrates in two arable soils under field and laboratory conditions. *Soil Biol Biochem* 37:2263-2272.
- Ravishankara AR, Daniel JS, Portmann RW (2009) Nitrous oxide ( $N_2O$ ): the dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century. *Science* 326:123-125.



- Schimel J, Holland EA (1998) Global gases. In: Sylvia DM, Fuhrmann JJ, Hartel PG, Zuberer DA (ed) Principles and applications of soil microbiology. Prentice Hall, Upper Saddle River, pp 498-516.
- Šimek M, Hopkins DW (1999) Regulation of potential denitrification by soil pH in long-term fertilized arable soil. *Biol Fert Soils* 30:41-47.
- Smith MS, Tiedje JM (1979) Phases of denitrification following oxygen depletion in soil. *Soil Biol Biochem* 11:261-267.
- Stein LY (2011) Surveying N<sub>2</sub>O-producing pathways in bacteria. In: Klotz MG (ed) Research on nitrification and related processes, part 1 – methods in enzymology. Academic Press, Michigan, pp 131-152.
- Tate, RL (1995) *Soil Microbiology*. John Wiley, New York.
- Thangarajan R, Bolan NS, Tian G, Naidu R, Kunhikrishnan A (2013) Role of organic amendment application on greenhouse gas emission from soil. *Sci Total Environ* 465:72-96.
- Walker C, Shannon R (2006) Nitrate and phosphate removal effects of compost amendments in wetland mesocosm. *T ASABE* 49:1773-1778.
- Włodarczyk T, Stępniewski W, Brzezińska M, Stępniewska Z (2004) Nitrate stability in loess soils under anaerobic conditions – laboratory studies. *J Plant Nutr Soil Sci* 167:693-700.

## Rozdział 9

# Ocena wpływu egzogennej materii organicznej na organizmy glebowe za pomocą testów ekotoksykologicznych

**Martin Váňa**

*Centralny Instytut Nadzoru i Badań w Rolnictwie, Brno, Republika Czeska*

### WSTĘP

Podniesienie standardu życia ludności oznacza również zwiększone zapotrzebowanie na energię, surowce i żywność. Prowadzi to do wzrostu ilości odpadów, które często trafiają na składowiska lub do spalarni i zawierają ogromne ilości frakcji organicznej. Odpady organiczne stanowią potencjalny nawóz, który może być ponownie wykorzystany jako dodatek do gleby. Jednak organiczne odpady pochodzące z recyklingu mogą również zawierać substancje potencjalnie toksyczne, których źródłem jest działalność człowieka. Zastosowanie egzogennej materii organicznej (EOM) jako dodatku do gleby traktowane jest jako tania i skuteczna metoda utylizacji odpadów organicznych, może jednak prowadzić do nieodwracalnego uszkodzenia organizmów glebowych i ich funkcjonowania. Gleba jako środowisko życia mikroorganizmów, roślin i zwierząt, posiada wysoką pojemność buforowania zanieczyszczeń, ale też ograniczoną odporność (Hund-Rinke et al., 2002). Niestety, uszkodzenia często następują szybciej, niż odzyskanie poprawy właściwości gleby (Coleman et al., 2004).

Analizy chemiczne są najczęściej stosowanym sposobem oceny toksyczności zanieczyszczeń i odpadów, wymaganej na mocy przepisów, przed zastosowaniem dodatku odpadowego do gleby. Szczegółowe analizy chemiczne są dokładne i wskazane, lecz kosztowne i często niewystarczające. Ponadto nie jest możliwe oszacowanie toksyczności próbki zawierającej różne substancje jedynie na podstawie składu chemicznego. Dlatego wskazane jest wykorzystanie niespecyficznych testów ujawniających potencjalne działania toksyczne. Oznaczenia ekotoksykologiczne okazały się być dobrym narzędziem do tego celu. Ekotoksykologia obejmuje badania wpływu toksycznych substancji chemicznych na organizmy na poziomie populacji, zbiorowiska oraz ekosystemu. Jest stosunkowo nową gałęzią badań interdyscyplinarnych, łączących chemię, toksykologię środowiska, ekologię oraz biologię. Od lat 60. XX wieku traktowana jest jako odrębna dyscyplina. Testy ekotoksykologiczne mają zalety jak i pewne wady. Główną zaletą jest szybkie oszacowanie próbek, relatywnie tanie i dostarczające wielu informacji (Chapman, 1999). Testy biologiczne stosowane do badania odpadów organicznych nie są łatwe do interpretacji, ponieważ jednocześnie działają dwa przeciwne efekty. Z jednej strony, resztki materii organicznej mogą działać stymulująco (synergistycznie) na badane organizmy, zaś z drugiej strony zanieczyszczenia mogą działać hamująco (antagonistycznie) (Krogh et al., 1997; Cooney, 2003; Andre's i Domene, 2005; Domene, 2007). Testy toksyczności zwykle nie dostarczają jednak informacji o tym, które substancje wywołują działania toksyczne. W ostatnich dziesięcioleciach opracowano wiele metod biologicznych. Podstawowymi narzędziami ekotoksykologii są testy wykrywające toksyczność lub wskazujące potencjalnie toksyczne działanie badanych substancji lub mieszanin. Testy te wykorzystują aktywność enzymatyczną, bakterie, rośliny, organizmy wodne i glebowe oraz mchy i porosty. Do oceny toksycznego

działania, np. pestycydów na środowisko, dostępne są także bardziej zaawansowane testy, wykorzystujące kręgowce stałocieplne, zwłaszcza gryzonie lub ptaki. Jednak przeprowadzenie tych testów wymaga spełnienia określonych przepisów. Zaleca się stosowanie biotestów nie tylko na różnych gatunkach, ale też na organizmach testowych o różnej wrażliwości oraz organizmach należących do różnych poziomów troficznych. Dla oceny rzeczywistego zagrożenia środowiskowego szczególnie istotna jest ocena wpływu danego czynnika na rozrodczość, ponieważ w porównaniu do parametrów takich jak śmiertelność osobników pojedynczego gatunku, cechuje ją większa wrażliwość, co zapewnia skuteczniejsze przewidywanie ewentualnych negatywnych skutków. Obecnie istnieje tendencja do miniaturyzacji testów ekotoksykologicznych, ich pełnej weryfikacji i umożliwienia monitorowania negatywnego wpływu substancji na organizmach żywych w warunkach standardowych i powtarzalnych (Dvořák, 2009).

Testy ekotoksykologiczne można dzielić według różnych kryteriów (Hoffman et al., 2003; Dvořák, 2009):

- *Poziom troficzny testowanych organizmów* (producenci, konsumenci, reducenti),
- *Czas ekspozycji* (krótkoterminowe - ostre, długoterminowe - przewlekłe lub chroniczne, subchroniczne),
- *Zestaw badanych organizmów* (jednogatunkowe, wielogatunkowe, na naturalnych populacjach, na kulturach mieszanych),
- *Testowany materiał* (gleba, woda, odcieki, osady, powietrze, itd.),
- *Rodzaj uzyskanych danych* (skutek śmiertelny, efekt subletalny, reprodukcja, wada, działanie teratogenne),
- *Postępowanie z próbką* (bez zabiegu, określone stężenie związków chemicznych, itd.),
- *Poziom badanego układu* (testy standardowe, mikrobiotesty, biomarkery, biopróby, biosensory),
- *Poziom złożoności układu* (od najprostszycych do najbardziej złożonych - enzymy vs. doświadczenia polowe),
- *Specyficzne testy do oceny zagrożenia* (genotoksyczności na bakteriach, roślinach, dzikich zwierzętach, rybach, teratogenności na płazach, toksyczności na embrionach, rozrodczości na rybach, skorupiakach, płazach, ptakach i in.).

Podstawowe wskaźniki ekotoksykologiczne można podzielić na kilka grup (Bezchlebová, 2007):

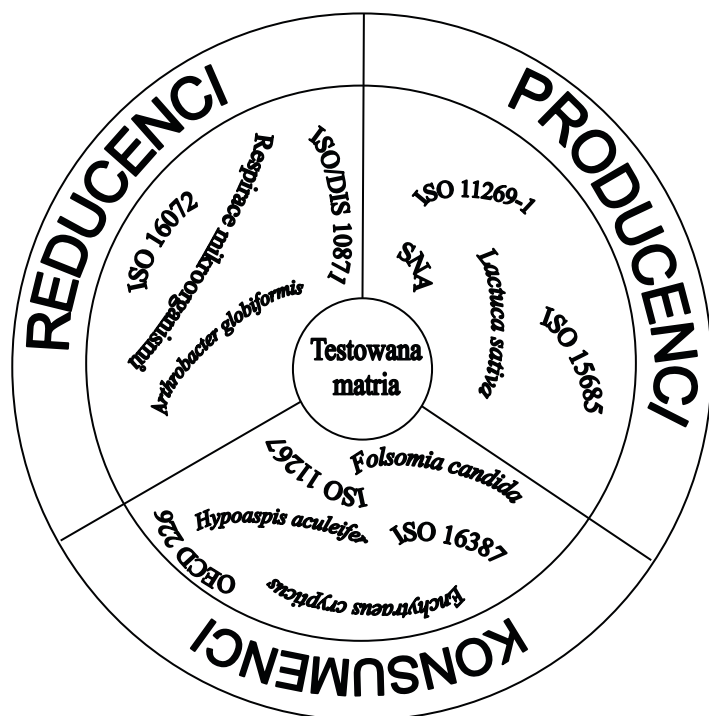
Wpływ letalny

- *śmiertelność*

Wpływ subletalny

- *reprodukcja* – wyrażona liczbą kokonów, niedojrzałych osobników i młodych przeżywających,
- *rozwój* – np. rozwój dżdżownic - biomasa, długość (wywołane przez rozwinięte siodełko, *clitellum*),
- *zachowanie* – w badaniach laboratoryjnych zachowanie jest nienaturalne z powodu niewielkich wymiarów naczyń testowych i in. Dlatego rezultaty pomiaru tego wskaźnika są trudne do oceny,

- *zmiany patologiczne* – skurcz mięśni podłużnych, wydalanie żółtego płynu, pęcherze na siodełku, obrzęki itp.,
- *zmiany fizjologiczne (biomarkery)* – mogą obejmować np. zwiększoną produkcję śluzu wskutek zmiany aktywności acetylocholinoesterazy lub zmian w układzie odpornościowym, zmiany genotoksyczne.

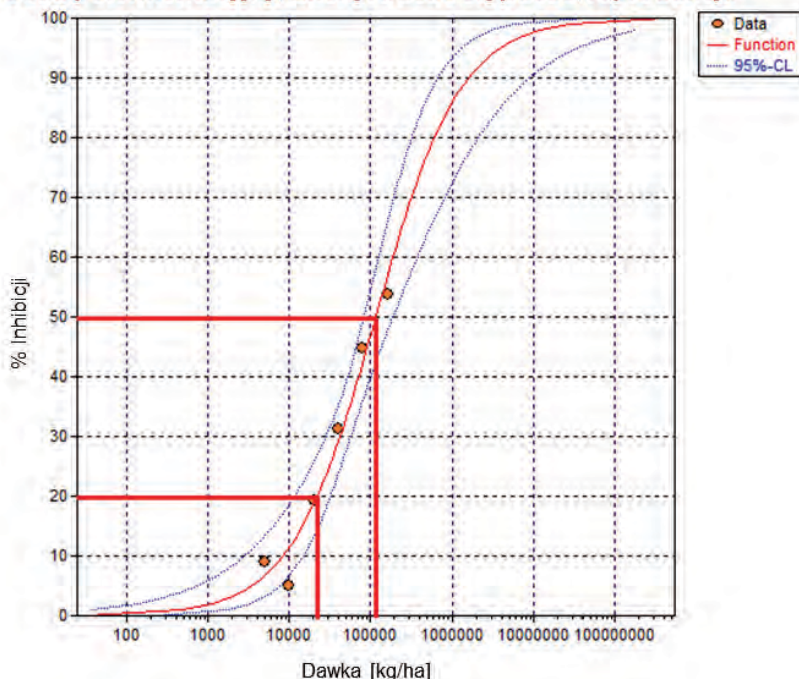


**Rysunek 1** Poziomy troficzny w testach wykorzystywanych do oceny EOM.

Podstawowe parametry ( $LC_x$  – stężenie letalne substancji toksycznej lub  $EC_x$  - stężenie efektywne) oraz ich przedziały ufności wyznaczone są z krzywej dawka-odpowieź. Parametry ekotoksyczności zazwyczaj wyrażane są jako  $LC_{50}$  (ang. *lethal concentration* - stężenie letalne, mediana) lub  $EC_{50}$  (ang. *effective concentration* - stężenie efektywne, mediana),  $NOEC$  (ang. *no-observed effect concentration* - brak obserwowanego wpływu stężenia) oraz  $LOEC$  (ang. *the lowest observed effect concentration* - najniższe stężenie mające wpływ).  $LC_{50}$  jest stężeniem letalnym substancji toksycznej, które powoduje śmierć 50% osobników w badanej populacji. Parametr  $EC_{50}$  stosowany jest w przypadku efektów innych, niż śmierć. Krzywa (Rys. 2) ma zazwyczaj kształt sigmoidalny. Wykorzystywana jest do wyliczenia wskaźników ekotoksykologicznych  $EC_{20}$ ,  $EC_{10}$ ,  $EC_{05}$  opisujących efekty przy niższym odsetku testowanych obiektów.

Stężenie substancji toksycznych w środowisku zazwyczaj jest jednak niższe, niż  $EC_{50}$ , dlatego te wskaźniki są bardziej odpowiednie do szacowania ryzyka ekologicznego. Wykorzystanie pojedynczego indeksu  $EC_{50}$  do porównania ekotoksyczności może prowadzić do

## Osad pofermentacyjny, *Enchytraeus crypticus*, reprodukcja



**Rysunek 2** Krzywa (czerwona linia) zależności reakcji od dawki z zaznaczeniem  $EC_{50}$  i  $EC_{20}$  (granice przedziału ufności - niebieskie linie).

mylnych wniosków. NOEC jest najwyższym stężeniem, które nie powoduje istotnych różnic w porównaniu do kontroli. Podobnie, LOEC odpowiada najniższemu stężeniu, jakie wywołuje istotne zmiany w porównaniu do kontroli. NOEC i LOEC określane są poprzez analizę danych i porównanie próbki względem kontroli w celu wykrycia istotnych różnic poprzez testowanie hipotez (Hoffman et al., 2003).

## ZASADY I ZNACZENIE METOD

Reakcja poszczególnych organizmów na obecność toksycznych substancji może być różna. Wiele czynników wpływa na biodostępność, bioakumulację czy podatność na rozkład szkodliwych substancji. Do wykrywania toksycznych substancji, potencjalnie obecnych w próbce, zalecane jest zastosowanie kombinacji testów ekotoksyczności (zestaw testów), w tym wykorzystanie organizmów należących do różnych poziomów troficznych, różnych wskaźników oraz gatunków o zróżnicowanej wrażliwości (Zwart, 1995). Wszystkie testy przedstawione niżej są standaryzowane, zgodne z ISO lub OECD. Wszystkie bezkręgowce (wazonkowce, skoczogonki i roztocze) przed testami były przechowywane w standardowych warunkach laboratoryjnych.

## Zestaw testów do oceny toksyczności EOM

### Test wazonkowców (EC)

Wazonkowce, glebowe pierścienice z rodzaju *Enchytraeus* są odpowiednie do testów ekotoksyczności. Często bytują w glebach zasiedlonych przez dżdżownice, jednak obecne są również tam, gdzie dżdżownice nie występują. Wazonkowce przyczyniają się do utrzymania żyzności gleby, a ich aktywność życiowa ma wpływ na procesy mineralizacji i rozkładu materii organicznej gleby. *Enchytraeus crypticus* należy do gatunków najczęściej wykorzystywanych w testach laboratoryjnych. *Enchytraeus crypticus* jest niewielkim gatunkiem (do 1 cm), a jego obecność w środowisku nie została jeszcze dobrze udokumentowana (OECD, 2000b). Hodowla laboratoryjna jest łatwa i może być prowadzona na różnych podłożach (gleba, agar, itp.), bez specjalnych wymagań. Reprodukacja *Enchytraeus crypticus* jest wysoka, a okres rozwoju młodych osobników krótki (8 dni w temperaturze 21°C). Czas trwania testu reprodukcji z udziałem *Enchytraeus crypticus* wynosi więc tylko cztery tygodnie, podczas gdy dla dżdżownic jest dłuższy (osiem tygodni). Rozrodczość zwierząt jest istotnym rezultatem, wrażliwym wskaźnikiem służącym do testowania substancji chemicznych lub materiałów o potencjalnie szkodliwym działaniu.

### Test skoczogonków (FC)

Skoczogonki reprezentowane są przez gatunek *Folsomia candida*. Skoczogonki są małymi zwierzętami (0,2 do 10 mm długości) zasiedlającymi glebę. Są liczne i szeroko rozpowszechnione w wielu ekosystemach. Gatunek *Folsomia candida* bytuje w ściółce, glebach leśnych, na terenach rolniczych i w szklarniach (można je znaleźć w wielu obszarach geograficznych). Organizmy te wykazują inną strategię ekologiczną, niż dżdżownice i wazonkowce. Największą liczebność skoczogonków stwierdzono w glebach uprawnych i w warstwie ściółki leśnej, gdzie ich zagęszczenie osiąga 50.000 osobników na m<sup>2</sup>. Niewielkie rozmiary i niskie wymagania w hodowli laboratoryjnej (czas i przestrzeń) sprawiają, że są przydatne do wielu testów ekotoksykologicznych prowadzonych w warunkach laboratoryjnych. Te bezskrzydłe prymitywne stawonogi posiadają tzw. widelki skokowe, co pozwala im "skoczyć" by uciec, np. przed drapieżnikami. Mogą w znacznym stopniu przyczyniać się do procesów rozkładu w kwaśnych stanowiskach, gdzie dżdżownice i dwuparce (Diplopoda) nie występują. Ich powszechna obecność jest jednym z głównych powodów, dla których są wykorzystane jako bioindykatory pozwalające na określenie wpływu różnych zanieczyszczeń na bioróżnorodność gleby (Scott-Fordsmand i Krogh, 2005). W stosowanym teście, dorosłe osobniki skoczogonków poddawane są działaniu przy określonym zakresie stężenia badanej substancji wymieszanej ze sztucznym podłożem. Czas trwania testu wynosi 32 dni. Wynik reprodukcji zwierząt poddanych działaniu badanej substancji porównywany jest z kontrolą (podłoże bez dodatku EOM).

### Test roztoczy (HA)

Roztocze (Acari) to rozpowszechniona na całym świecie i zróżnicowana grupa stawonogów, z liczbą ponad 40.000 gatunków. Ze względu na ich stosunkowo niewielkie rozmiary (kilka mm do kilku cm) zajmują specyficzne nisze ekologiczne, bytują na roślinach i w glebach. Należą do różnych grup troficznych, odżywiają się bakteriami, grzybami, martwą materią organiczną, są również roślinożerne, drapieżne i pasożytnicze (Huguiet, 2015). Niektóre gatunki są znanymi pasożytami, przyczyniają się do problemów w rolnictwie i kłopotów ze zdrowiem ludzi

i zwierząt. Z drugiej strony, są one bardzo przydatne jako bioindykatory zanieczyszczenia, są też ważnym elementem monitoringu statusu biologicznego środowiska. Tylko jeden gatunek, drapieżnik bytujący w glebie, wykorzystywany jest w testach ekotoksykologicznych (*Hypoaspis aculeifer*). Gatunek ten spełnia wiele potrzebnych kryteriów, w tym łatwość hodowli i reprodukcji, powszechność występowania, reprezentatywność ekologiczną (pod względem liczebności i roli w łańcuchu pokarmowym) oraz odporność (Roembke et al., 2009). Czas trwania testu wynosi 14 dni. Wynik reprodukcji zwierząt poddanych działaniu badanej substancji porównywany jest z kontrolą.

#### Test *Arthrobacter* (AG)

Bakterie *Arthrobacter globiformis* należą do rodzaju *Arthrobacter*, bardzo rozpowszechnionego w glebie. W warunkach niekorzystnych *Arthrobacter* wykazuje zdolność powolnego wzrostu w stadium kokoidalnym. Niektóre szczepy *Arthrobacter* były identyfikowane na roślinach oraz w osadzie czynnym z oczyszczalni ścieków. *Arthrobacter globiformis* jest bakterią gram-dodatnią. Wiele testów mikrobiologicznych stosowanych do badania gleby wykorzystuje aktywność enzymatyczną do określenia toksyczności substancji. Zminiaturyzowany test kontaktowy z udziałem tych bakterii oparty jest na hamowaniu aktywności dehydrogenaz (pomiar fluorometryczny). Inhibicja aktywności dehydrogenaz jest silnym argumentem wskazującym na obecność różnych substancji toksycznych.

#### Test pierwszego etapu procesu nityfikacji (SNA)

Nityfikacja jest procesem biologicznego utleniania amoniaku (amoni) do azotanów(III), a następnie do azotanów(V). Przekształcenie formy amonowej do azotanów(III) zazwyczaj jest etapem determinującym szybkość nityfikacji. Proces nityfikacji jest istotnym elementem cyklu azotu w glebie, prowadzonym przez niewielką grupę tlenowych autotroficznych bakterii i archaea. Transformacja formy amonowej do azotanowej przyczynia się do strat azotu wskutek wymywania, ponieważ azotany, obdarzone ładunkiem ujemnym, są znacznie bardziej ruchliwe, niż forma amonowa silnie wiązana w kompleksie sorpcyjnym gleby.

#### Test aktywności respiracyjnej (OECD)

Aktywność metaboliczna większości mikroorganizmów glebowych związana jest z rozkładem materii organicznej. Rozkład tlenowy prowadzi do całkowitego utlenienia substratu do dwutlenku węgla i wody. Tlenowa respiracja gleby charakteryzuje aktywność metaboliczną wszystkich mikroorganizmów glebowych (Malkomes, 1999). Respiracja indukowana substratem oparta jest na pomiarze respiracji gleby w krótkim czasie (np. w ciągu sześciu godzin) po dodaniu łatwo dostępnego substratu (glukozy). Szybkość respiracji wzrasta bezpośrednio po dodaniu substratu, ponieważ mikroorganizmy przestają być ograniczane jego dostępnością. Test ten przeznaczony jest do oceny długotrwałych niekorzystnych skutków działania substancji toksycznej na przekształcanie węgla w powierzchniowych, natlenionych warstwach gleby. Respiracja indukowana substratem mierzona jest na początku inkubacji z testowanym materiałem oraz, ponownie, po upływie miesiąca. W wypadku, gdy wynik wskaże na toksyczność dodatku, pomiar respiracji powtarzany jest w odstępach 14 dni aż do 98 dnia inkubacji.

## Test roślin - sałata (Let)

Rośliny są najważniejszymi pierwotnymi producentami większości ekosystemów lądowych. Pełnią funkcję w ekosystemie jako źródło pożywienia, siedlisko bytowania różnych zwierząt i ważny element zapobiegający erozji. Rośliny pozostają w ścisłym kontakcie z glebą i mogą być wykorzystane jako wskaźnik substancji potencjalnie niebezpiecznych zawartych w odpadach biologicznych (substancje stosowane w rolnictwie). Kiełkowanie nasion, długość korzeni i biomasa są istotnymi rezultatami, wrażliwymi wskaźnikami testowania toksyczności związków chemicznych. Ten test jest niezbędnym elementem każdego zestawu testów ekotoksykologicznych przeznaczonych do oceny substancji chemicznych stosowanych w rolnictwie.

## Zestaw testów z zastosowaniem odcieków do badań polowych i wazonowych

Testy te wykorzystywane są do oceny zagrożenia związanego z wyciekaniem zanieczyszczeń z gleby do wód gruntowych.

### Bakterie luminescencyjne

Mikroorganizmy, zwłaszcza bakterie, są szczególnie atrakcyjne dla badań toksyczności odcieków, ponieważ testy mikrobiologiczne są proste, szybkie, czułe i tanie. Najbardziej znanym testem mikrobiologicznym w szacowaniu toksyczności odcieków jest test z zastosowaniem bakterii luminescencyjnej *Vibrio fischeri*. Bakterie te naturalnie emitują światło w optymalnych warunkach. Jeśli warunki są zakłócone (przez substancje toksyczne), bioluminescencja szybko zanika.

### Zielone glony

Glony bardzo silnie przyczyniają się do produkcji pierwotnej w ekosystemach wodnych. Zakłócenia w poziomie produkcji mogą wpływać na wyższe poziomy troficzne (Geis, 2000). Wzrost jednokomórkowych mikroalg jest testem powszechnie stosowanym w badaniu toksyczności ścieków, odcieków i substancji chemicznych. Jeśli kultury glonów w fazie wzrostu wykładniczego zostaną poddane działaniu (przez kilka pokoleń) odcieków w różnych rozcieńczeniach, to substancje w nich zawarte mogą hamować albo stymulować wzrost glonów. Testy oparte są na pomiarze produkcji chlorofilu metodą fluorometryczną na płytkach mikrostudzienkowych (Ahtiainen, 2002).

### Rzęsa wodna (*Lemna minor*)

Rzęsa wodna jest producentem pierwotnym, szeroko rozpowszechnionym na całym świecie. Jest kwitnącą rośliną wodną, unoszącą się na lub tuż pod powierzchnią wód słodkich. Ponieważ posiada bardzo wysoką zdolność akumulowania zanieczyszczeń, jest wykorzystywana jako organizm modelowy do testowania toksyczności. Jest szczególnie wrażliwa na związki azotu, fosforu i metale toksyczne obecne w zanieczyszczonej wodzie. Rzęsa może być łatwo uprawiana i w warunkach laboratoryjnych wykazuje szybki przyrost biomasy (Drost, 2006).



## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Głównym celem niniejszej pracy było zbadanie toksycznego wpływu EOM (trzy komposty - Ag, Ra i Dw; mączka zwierzęca Mb i trzy osady pofermentacyjne Dg, BP i SM) na bezkręgowce glebowe, mikroorganizmy i rośliny. Wpływ EOM na aktywność mikroorganizmów (oddychanie i nityfikacja) określano w naturalnej glebie o znanych właściwościach. Natomiast wpływ na bezkręgowce glebowe oceniany był z wykorzystaniem sztucznego podłoża, mającego dokładnie określony skład, więc wyniki mogą być porównywane z innymi laboratoriami. Testy z odciekami przeprowadzono na próbkach glebowych z doświadczeń polowych i wazonowych.

### Ekotoksyczność EOM

Tabela 1 przedstawia wyniki analizy chemicznej metali ciężkich w EOM, limity wynikające z ograniczeń prawnych oraz ilość metali ciężkich potencjalnie obecnych w dawce zalecanej dla gleby (rd). Dopuszczalne limity metali ciężkich były nieznacznie przekroczone w przypadku As (Mb), Zn (Ag) i Cd (BP).

Reakcja mikroorganizmów na wprowadzenie dodatków była identyczna - nie stwierdzono wpływu przy zastosowaniu dawki zalecanej lub dawek wyższych (Tabela 2). Wartości LOEC stwierdzono tylko dla testu z udziałem *Arthrobacter* dla Ag, Dw, Dg i Sm. Wszystkie te wartości odpowiadały jednak najwyższemu zastosowanemu dawkom, które były czterokrotnie wyższe od dawki zalecanej. Wartość LOEC dla SNA stwierdzono przy najwyższym dodatku Mb. Wszystkie testy z udziałem bakterii wykazały, że badane materiały nie były toksyczne.

Spośród EOM dodanych do gleby, Ra, Dg i Dw wywierały pozytywny wpływ na aktywność nityfikacyjną. Podwyższenie nityfikacji mogło wynikać z obecności nityfikatorów w zastosowanych dodatkach EOM. Bezpośredni pozytywny wpływ badanych materiałów na pierwszy etap procesu nityfikacji obserwowano w przypadku Ra i Dg.

Bezkręgowce reagowały inaczej, niż mikroorganizmy na analizowane materiały. Testowanie ekotoksyczności z zastosowaniem skoczogonków (*Folsomia candida*) i wazonkowców (*Enchytraeus crypticus*) wskazuje na podział dodatków na dwie grupy: (i) kompost Ag, komposty z odpadów przemysłowych Dw i Ra oraz osad pofermentacyjny z biogazowni Dg; (ii) osady pofermentacyjne z biogazowni Bp i Sm oraz mączka zwierzęca Mb. W przypadku pierwszej grupy, przeprowadzone oznaczenia nie wykazały żadnego wpływu badanych EOM na rozrodczość, nawet w najwyższych dawkach. Jedynym wyjątkiem był kompost z odpadów przemysłowych Ra, w przypadku którego wartości EC20 i LOEC wynosiły odpowiednio 94,5 t/ha i 100 t/ha. Należy zaznaczyć, że największe testowane dawki były czterokrotnie wyższe, niż dawka zalecana przez producentów. Natomiast dodatki EOM drugiej grupy wykazywały pewien wpływ, lecz tylko przy wyższych dawkach. Co ciekawe, kształt krzywych zależności pomiędzy dawką i relatywną inhibicją (wyrażoną w procentach) oraz stosunkiem LOEC/NOEC był podobny dla testów z udziałem skoczogonków i wazonkowców, z nieco niższymi wartościami w przypadku skoczogonków. W przypadku testu z udziałem skoczogonków, wpływ osadu Bp wyrażony wartością EC50 wynosił 111 t/ha. Pozostałe dodatki EOM drugiej grupy wpływały na testowane organizmy przy podwójnych dawkach lub dawkach wyższych, niż rekomendowane. Negatywny wpływ osadów pofermentacyjnych (Sm, Bp) może mieć związek z wyższą zawartością azotu (obecnością amonu) oraz niestabilnością odpadów. Większa wrażliwość skoczogonków może być związana z różnym sposobem wchłaniania. Oprócz drożdży, skoczogonki wykorzystują EOM jako dodatkowe źródło żywności, w związku z tym ekspozycja na EOM może obejmować zarówno kontakt przez powłoki zewnętrzne jak i drogą konsumpcji (Domene, 2007).

**Tabela 1** Analiza chemiczna zawartości metali ciężkich w EOM.

	Wartość graniczna (mg/kg) CZ / PL		Mb	Ra	Ag	Dg	Bp	Dw	Sm	
	dm > 13 %	dm < 13 %								
As	20	dm < 13 %	dm	rd	dm	rd	dm	dm	dm	rd
Cd	2 / 20	20	35,35	69,29	14,93	86,52	0,72	2,15	n.d.	n.d.
Cu	150 / 1000	2 / 20	0,05	0,10	0,37	2,14	3,12	2,4	7,37	10,33
Mo	20	250 / 1000	10,54	20,66	99,26	575,21	97,86	68,66	210,92	291,26
Ni	50 / 300	20	0,77	1,51	4,10	23,76	2,18	5,54	17,02	14,05
Pb	100 / 750	50 / 300	2,17	4,25	13,91	80,61	24,12	16,48	50,63	152,74
Zn	600 / 2500	100 / 750	0,69	1,35	5,65	32,74	7,04	8,59	26,39	424,90
Cr	100 / 500	1200 / 2500	106,06	207,88	804,50	4662,08	323,17	208,89	641,71	3334,60
		100 / 500	4,53	8,88	14,63	84,78	11,16	5,33	16,37	416,56

zawartość metali ciężkich, mg/kg suchej masy (dm)

zawartość metali ciężkich, g/najwyższa zalecana dawka (rd)

**Tabela 2** Wartości EC<sub>20</sub> i EC<sub>50</sub> w zestawie testów dla poszczególnych EOM.

		<b>Mb</b> (rd 2 t/ha)	<b>Ra</b> (rd 25 t/ha)	<b>Ag</b> (rd 10 t/ha)	<b>Dg</b> (rd 24 t/ha)	<b>Bp</b> (rd 128 t/ha)	<b>Dw</b> (rd 15 t/ha)	<b>Sm</b> (rd 52 t/ha)
<b>OECD</b>		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>SNA</b>	EC <sub>20</sub>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	EC <sub>50</sub>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>AG</b>	EC <sub>20</sub>	n.d.	15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	EC <sub>50</sub>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>EC</b>	EC <sub>20</sub>	2,9	n.d.	n.d.	n.d.	176	n.d.	106
	EC <sub>50</sub>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	335	n.d.	185
<b>FC</b>	EC <sub>20</sub>	4,1	94	n.d.	n.d.	81	n.d.	96
	EC <sub>50</sub>	7,2	n.d.	n.d.	n.d.	111	n.d.	129
<b>HA</b>	EC <sub>20</sub>	3,4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	EC <sub>50</sub>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>Let</b>	EC <sub>20</sub>	n.d.	n.d.	38	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	EC <sub>50</sub>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

rd – dawka rekomendowana

n.d- nie stwierdzono

Testowane EOM nie miały negatywnego wpływu na rozmnażanie roztoczy z wyjątkiem dodatku mączki Mb. Wartość EC<sub>20</sub> (3,4 t/ha) była 1,5 razy wyższa, niż dawka zalecana. Dane te są zgodne z wynikami badań z zastosowaniem innych bezkręgowców i potwierdzają niższą czułość testu z udziałem roztoczy przy podobnych dodatkach (Owojori, 2013).

Dodanie testowanych EOM do sztucznego podłoża nie miało negatywnego wpływu (wyrażonego wskaźnikami EC<sub>20</sub> i EC<sub>50</sub>) w teście wykorzystującym wzrost elongacyjny korzeni sałaty (root elongation). Niemniej jednak LOEC stwierdzono w przypadku Bp, Dg, Mb i Ag. Ponieważ LOEC dla Bp i Dg były wyższe lub bliskie zalecanej dawce, istnieje niewielkie ryzyko dla środowiska przy zachowaniu zaleceń stosowania do gleby. W przypadku Mb i Ag doświadczenia wykazały potencjalne zagrożenie, ponieważ wartości LOEC były niższe, niż zalecana dawka. Efekt ten mógł być spowodowany przez skład Ag - ewentualną obecność niestabilizowanej materii organicznej i podwyższony poziom metali ciężkich (Zn). Kokkora (2007) przypisuje taki wpływ nadmiernej lub niezrównoważonej dostawie składników pokarmowych. Ponieważ zalecana dawka Mb została obliczona w odniesieniu do zawartości N, aplikowane ilości P i K były podwyższone. Wyróżniający się wpływ dodatku Mb można tłumaczyć brakiem równowagi tych składników pokarmowych.

Nie jest w pełni jasne, dlaczego materiały zawierające potencjalnie niebezpieczne składniki (Ag, Dw, Ra) nie wykazały prawie żadnej toksyczności w zastosowanych testach, zwłaszcza w porównaniu z osadami pofermentacyjnymi z biogazowni pochodzącymi z surowców roślinnych. Materiały takie jak kompost z odpadów przemysłowych mogą zawierać metale ciężkie i zanieczyszczenia organiczne ze względu na ich pochodzenie (osady ściekowe itp.). Analizy chemiczne nie ujawniły jednak podwyższonych zawartości takich substancji. Dlatego naszych wyników prawdopodobnie nie można wyjaśnić hamowaniem procesów biologicznych przez zanieczyszczenia. Istotna różnica pomiędzy obiema grupami polega na tym, że kompostowanie prowadzi do wytworzenia stosunkowo stabilnej materii organicznej. Może to

oznaczać, że czas trwania testów był, w porównaniu do osadów pofermentacyjnych, zbyt krótki dla materiałów kompostowanych, aby można było zaobserwować jakiś efekt. Obserwowany wpływ osadów pofermentacyjnych można tłumaczyć faktem, że część azotu dostarczonego z surowcem została przekształcona w formę amonową, która może wpływać na reakcję testowych organizmów (Domène, 2007; Lukehurst, 2010). Drugim wyjaśnieniem może być stężenie mikro- i makroelementów w osadzie pofermentacyjnym, a także nieprawidłowo wybrana dawka.

Generalnie, surowiec do fermentacji może zawierać nawozy zwierzęce, plony upraw rolnych, pozostałości przetwórstwa rolno-spożywczego, resztki jedzenia, frakcję organiczną odpadów z gospodarstw domowych, organiczne frakcje odpadów przemysłowych i produkty uboczne, osady ściekowe, stałe odpady komunalne, itp. oraz może zawierać niewielkie ilości mikroelementów i metali ciężkich, a także trwałe związki organiczne, które nie podlegają biodegradacji. Większość metali ciężkich w nawozach pochodzących z hodowli zwierząt wprowadzana jest na etapie żywienia zwierząt. Gdy osad pofermentacyjny stosowany jest na pole jako bio-nawóz, większość z tych mikroelementów zostaje w pełni wykorzystana, gdyż są one niezbędne dla wzrostu roślin i rozwoju drobnoustrojów. Niektóre metale ciężkie i trwałe zanieczyszczenia mogą jednak być problematyczne. Z tego powodu zawartość zanieczyszczeń w surowcu, a także w osadzie pofermentacyjnym musi być starannie monitorowana (Lukehurst, 2010).

### **Ekotoksyczność odcieków glebowych**

Do określenia wpływu substancji znajdujących się w odciekach z gleby w doświadczeniu polowym i wazonowym wykorzystano glony, rzęsę wodną i bakterie luminescencyjne. Testy z rzęsą wodną i bakteriami luminescencyjnymi nie ujawniły żadnego toksycznego działania odcieków. Natomiast testy z wykorzystaniem zielonych alg wykazały różnice pomiędzy próbkami pobieranymi w terminie wiosennym i jesiennym w doświadczeniu wazonowym. W okresie wiosennym obserwowano negatywny wpływ wszystkich testowanych dodatków EOM oraz we wszystkich glebach. Jednak w próbkach pobranych jesienią wpływu tego już nie stwierdzono. Przypuszczamy, że przyczyną tej zmiany może być rozkład EOM przez mikroorganizmy i pobór powstałych produktów przez rośliny. W przypadku doświadczeń polowych, wyniki testów z odciekami przeprowadzone dla różnych EOM, pól doświadczalnych i terminów analiz nie wykazywały istotnych różnic.

Przyczynami różnic pomiędzy wynikami z doświadczeń wazonowych i polowych mogą być:

- kontrolowane / niekontrolowane warunki pogodowe w doświadczeniu wazonowym/polowym;
- różne gleby w obu eksperymentach.

Ponieważ negatywny wpływ EOM na wzrost glonów stwierdzono tylko w terminie wiosennym i tylko w glebach eksperymentu wazonowego, testowane materiały nie mogą być sklasyfikowane jako toksyczne. Jednak dodatkowe testy wykonane z innymi materiałami mogłyby wykazać, że wzrost glonów jest hamowany przez nadmiar substancji pokarmowych lub inne związki obecne w EOM.

## WNIOSKI I ZALECENIA

W ramach projektu czesko-polskiego oceniane były różne dodatki EOM na podstawie zestawu testów ekotoksykologicznych obejmujących różne poziomy troficzne. Badania w warunkach laboratoryjnych zazwyczaj reprezentują najgorszy scenariusz, w którym oddziaływania na organizmy są bardziej surowe, niż w warunkach polowych. Mimo, że badania nie wykazały żadnego negatywnego wpływu przy zalecanych dawkach, wskazane jest sprawdzanie tego typu dodatków, ponieważ przy dawkach zbliżonych do zalecanych można było zaobserwować pewne reakcje. Zestaw metod do testowania odcieków nie ujawnił żadnego negatywnego wpływu w przypadku doświadczeń polowych i wazonowych dla stosowanych EOM. Niemniej jednak wskazane jest testowanie innych typów EOM, które potencjalnie mogą zawierać pewne zanieczyszczenia wymywane do wód gruntowych lub wód powierzchniowych, a więc stanowić zagrożenie dla środowiska. Podsumowując, dla przyszłych badań i zatwierdzenia innych EOM dla ich bezpiecznego stosowania do gleby zalecamy uwzględnienie metod ekotoksykologicznych, ponieważ są one bardzo istotne dla integralnej oceny badanych materiałów.

## LITERATURA

- Ahtiainen J (2002) Microbial tests and measurements in the assessment of harmful substances and pollution. Finnish Environment Institute, Helsinki.
- Andrés P, Domene X (2005) Ecotoxicological and fertilizing effects of dewatered, composted and dry sewage sludge on soil mesofauna: a TME experiment. *Ecotoxicology* 14:545–557.
- Bezchlebová, J (2007) Ecotoxicology of soil invertebrates earthworms, enchytraeids, collembolans. Dissertation, Masaryk University Brno.
- Coleman DC, Crossley DA, Henrix PF (2004) Fundamentals of soil ecology. Second edition, Elsevier Inc.
- Cooney JD (2003) Freshwater tests. Fundamentals of aquatic toxicology. Taylor & Francis, New York.
- Domene X, Alcaniz JM, Andrés P (2007) Ecotoxicological assessment of organic wastes using the soil collembolan *Folsomia candida*. *Appl Soil Ecol* 35:461-472.
- Drost W, Matuje M, Backhaus T (2007) Heavy metal toxicity to *Lemna minor*: studies on the time dependence of growth inhibition and the recovery after exposure. *Chemosphere* 67:36-43.
- Dvořák V (2009) Comparison of ecotoxicological and microbiological tests in the evaluation of soil bioremediation. Dissertation. Czech university of life science Prague.
- Hoffman DJ, Rattner BA, Burton GA, Cairns J (2003) Handbook of ecotoxicology. Lewis Publishers, New York.
- Huguiet P, Manier N, Owjori OJ, Bauda P, Pandard P, Römbke J (2015) The use of soil mites in ecotoxicology: a review. *Ecotoxicology* 24:1-18.
- Hund-Rinke K, Kördel W, Hennecke, D, Achazi R, Warnecke D, Wilke BM, Winkel B, Heiden S (2002) Bioassays for the ecotoxicological and genotoxicological assessment of contaminated soils (results of a round-robin test): Part II: Assessment of the habitat function of soils - Tests with soil microflora and fauna. *Journal of Soil and Sediments* 2: 83-90.
- Chapman PM (1999) Does the precautionary principle have a role in ecological risk assessment? *Hum Ecol Risk Asses* 5:885-888.
- Kokkora MI (2007) Biowaste and vegetable waste compost application to Agriculture. Dissertation, Cranfield University.
- Krogh PH, Holmstrup M, Jensen J, Petersen SO (1997) Ecotoxicological assessment of sewage sludge in agricultural soil. Working Report no. 69. Danish Environmental Protection Agency, Copenhagen.

- Lukehurst C, Frost P, Al Seadi T (2010) Utilisation of digestate from biogas plants as biofertiliser, <http://www.ieabiogas.net>, Accessed 26 February 2015.
- Malkomes HP (1999) The lucerne meal-induced encrease of microbial activities in soil as an indicator of ecotoxic effect of pesticides. *Agricol Res* 52:323-336.
- Moser H, Römbke J (2009) Ecotoxicological characterization of waste: Results and experiences of an international ring test. Springer, New York.
- Neumann-Hensel H, Melbye K (2006) Optimisation of the solid-contact test with *Arthrobacter globiformis*. *Journal of Soils and Sediments*, 6/4:201-207.
- OECD (2000B) Enchytraeidae reproduction test. OECD guidelines for the testing of chemicals No.220.
- Owojori OJ, Waszak K, Roembke J (2013) Avoidance and reproduction tests with the predatory mite *Hypoaspis aculeifer*: effects of different chemical substances. *Environ Toxicol Chem* 33:230-237.
- Römbke J, Jänsch S, Meier M, Scheffczyk A, Liebig M (2009) General recommendations for soil ecotoxicological tests suitable for the environmental risk assessment of genetically modified plants. *Integr Environ Assess Manag* 6:287-300.
- Walker CH, Sibly RM, Hopkin SP, Peakall DB (2006) Principles of ecotoxicology. Third Edition, CRC Press.
- Zwart D (1995) Monitoring water quality in the future. Vol. 3: Biomonitoring. Ministry of Housing, Zoetermeer, Netherlands.

Niniejsza publikacja została opracowana jako wskaźnik realizacji projektu „Zagrożenia oraz korzyści wynikające z wprowadzania do gleb egzogennej materii organicznej” (CZ.3.22/1.2.00/12.03445) zrealizowanego w ramach Programu Operacyjnego Współpracy Transgranicznej Republika Czeska – Rzeczpospolita Polska 2007-2013, współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego (EFRR).

## **Badania egzogennej materii organicznej w celu bezpiecznego stosowania do gleby**

Redakcja

Stanislav Malý, Grzegorz Siebielec

Okładka: Jiří Čuhel

Rok wydania: 2015

Wydanie: Pierwsze

Liczba stron: 141

Nakład: 150 egzemplarzy

Druk: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský  
*Centralny Instytut Nadzoru i Badań w Rolnictwie*  
Hroznová 2  
656 06 Brno  
Republika Czeska