

W roku 2024 podjęto badania , których celem była ocena:

Zmian struktury i różnorodności taksonomicznej społeczności mikroorganizmów w glebach z dodatkiem odpowiednio biowęgla i trzech kompostów przygotowanych na bazie substratów lignocelulozowych z dodatkami (biowęgla, słoma zbóż, zużyte podłoże po produkcji pieczarek, obornik kurzy) w doświadczeniach polowych. W badaniach wykorzystano metody metagenomiczne, sekwencjonowanie nowej generacji NGS (Illumina).

Tab. 1. Wpływ kompostów na α -diversity mikroorganizmów prokariotycznych (<u>bakterie i archeony</u>) w glebie test LSD								
LP	Warianty doświadczenia	Obserwacje	CHAO-1		SHANON		SIMPSONA	
1	Kontrola	2120,0 a	2142,89	a	7,17298	a	0,99868	a
2	BIOWĘGIEL	1637,0 a	1644,93	a	6,96169	a	0,998412	a
3	Kompost 1	1920,33 a	1934,41	a	7,07545	a	0,998494	a
4	Kompost 2	2159,67 a	2179,1	a	7,16192	a	0,998548	a
5	Kompost 3	2117,33 a	2140,71	a	7,14709	a	0,998555	a
NIR $_{\alpha \leq 0,05}$		571,553	591,842		0,23809		NIR= 0,000331708	

Tab. 2. Wpływ kompostów na α -diversity mikroorganizmów eukariotycznych (<u>głównie grzybów</u>) w glebie test LSD								
Lp.	Warianty doświadczenia	Obserwacje	CHAO-1		SHANON		SIMPSONA	
1	Kontrola	2194,33 a	2378,92	a	6,02385	a	0,986492	a
2	BIOWĘGIEL	1757,67 a	1913,57	a	5,28037	a	0,965608	a
3	Kompost 1	1785,0 a	1981,06	a	5,45796	a	0,977028	a
4	Kompost 2	1824,33 a	2018,61	a	5,67491	a	0,981013	a
5	Kompost 3	1854,67 a	2001,57	a	5,59556	a	0,978283	a
NIR $_{\alpha \leq 0,05}$		931,966	1028,12		0,773042		0,0297837	

Pomimo, iż analiza bogactwa taksonów procaryota i eukariota w glebie wykazana współczynnikami α -różnorodności i potwierdzona analizą statystyczną nie wykazała różnic istotnych pomiędzy wariantami doświadczalnymi (tab.1), to szczegółowe badania metagenomiczne wykazały istotne zmiany w relatywnym występowaniu taksonów w randze różnych jednostek systematycznych pomiędzy wariantami doświadczenia (tab.2). Grzyby z typu Ascomycota zmniejszyły swoje występowanie w glebie z kompostem 1 w porównaniu z Biowęgla i kompostem 2, natomiast dodatek biowęgla zmniejszył w podłożu występowanie Mortierellomycota w porównaniu z kontrolą i badanymi trzema kompostami. W przypadku grzybów mikoryzowych Glomeromycota dodatek biowęgla i kompostu 2 oraz 3 zmniejszył ich występowanie w glebie. Natomiast nie stwierdzono różnic w występowaniu Basidiomycota, Mucoromycota i Rozellomycota między glebami wariantów doświadczalnych (tab.3).

Tab.3. Wpływ kompostów na występowanie <u>dominujących typów eukaryota w glebie</u> (relatywne występowanie $\geq 0,1$ % przynajmniej w 1 powtórzeniu wariantów doświadczalnych))(n = 3 per each soil sample, $\alpha \leq 0,05$, t-lsd).						
Typ	Kontrola	Biowęgiel	Komp. 1	Komp.2	Komp.3	NIR Test LSD

	1	2	3	4	5	
Unidentified	53,603 a	55,937 a	53,737 a	51,530 a	53,610 a	7,4437
Ascomycota*	21,920 ab	27,7867 b	18,880 a	27,780 b	26,317 ab	8,7784
Mortierellomycota*	8,567 b	3,360 a	8,367 b	7,46667 b	7,01333 b	3,1790
Basidiomycota	3,610 a	1,727 a	6,850 a	3,220 a	2,153 a	6,6906
Mucoromycota	0,483 a	0,270 a	0,190 a	0,553 a	1,240 a	1,0899
Glomeromycota*	0,397 b	0,097 a	0,335 ab	0,143 a	0,227 ab	0,2412
Rozellomycota	0,117 a	0,090 a	0,047 a	0,113 a	0,030 a	0,1342
No blast hit	3,77333	2,02	3,73667	2,88667	3,49333	3,0804
Unassigned						

W przypadku typów prokariota wykazano istotne zmniejszenie przedstawicieli Verrucomicrobiota w glebach z dodatkiem biowęgla i trzech kompostów w porównaniu z kontrolą, natomiast dodatek kompost 2 zmniejszył występowanie Proteobacteria i zwiększenie Actinobacteriota w porównaniu z kontrolą. Natomiast kompost 2 i 3 zmniejszył występowanie Nitrospirota w stosunku do kontroli (tab.4). Trzeba zaznaczyć, że pod każdym typem prokariota, czy eukariota kryją sie określone taksony, które odpowiedzialne są za odpowiednie procesy fizjologiczne i biochemiczne w glebie, dlatego zmiany w ich występowaniu kształtuje znacząco właściwości nie tylko biologiczne, jak również chemiczne i fizyczne gleby.

Tab. 4. Wpływ kompostów na występowanie w glebie <u>dominujących typów prokaryota</u> (relatywne występowanie $\geq 0,5$ % przynajmniej w 1 powtórzeniu wariantu doświadczalnego), (n = 3 dla każdego wariantu doświadczalnego, $\alpha \leq 0,05$, t-LSD).						
Typ	Kontrola	Biowęgiel	Komp. 1	Komp.2	Komp.3	NIR Test LSD
	1	2	3	4	5	
Proteobacteria*	24,607 b	23,467 ab	23,253 ab	21,387 a	22,683 ab	2,87722
Actinobacteriota*	21,870 a	26,723 ab	26,803 ab	29,560 b	26,160 ab	6,22936
Acidobacteriota	19,787 a	18,703 a	17,937 a	17,517a	19,433 a	3,01252
Chloroflexi*	8,502 ab	9,301 ab	8,052 a	9,741 b	8,688 ab	1,46528
Gemmatimonadota	5,255 a	5,917 a	6,062 a	6,442 a	5,712 a	1,75242
Verrucomicrobiota*	3,622 b	2,677 a	2,699 a	2,197 a	2,826 a	0,738019
Myxococcota	3,136 a	2,763 a	2,819 a	2,501 a	2,957 a	0,703259
Planctomycetota*	3,199 c	2,265 a	2,585 ab	2,767 bc	2,622 ab	0,48942
Bacteroidota	2,297 a	2,023 a	2,604 a	1,513 a	2,396 a	1,19121
Firmicutes	0,921 a	0,978 a	0,964 a	1,244 a	1,299 a	0,452361
Latescibacterota	0,769 a	0,5932 a	0,543 a	0,633 a	0,657 a	0,356159
Methylomirabilota	1,351 a	1,150 a	1,010 a	1,163 a	1,003 a	0,469598
Nitrospirota*	0,840 b	0,680 ab	0,677 ab	0,570 a	0,587 a	0,19196
Patescibacteria*	0,953 b	0,343 a	0,530 a	0,353 a	0,623 ab	0,335687

Tabela 5 i 6 przedstawiają dominujące rodzaje mikroorganizmów w glebach wszystkich wariantów doświadczenia. Wykazano, że występowanie grzybów z rodzaju Penicillium,

Trichoderma, Fusarium, Mortierella zależało od dodanego do gleby kompostu lub biowęgla. Penicillium sp. zwiększało swoją występowanie w glebie z kompostem 2 i 3 w porównaniu do kompostu 1 i kontroli, Natomiast stwierdzono zmniejszenie występowania Trichoderma sp. w glebie z trzema kompostami w porównaniu z kontrolą i biowęgłem. Kompost 2 i 3 zwiększyły występowanie Fusarium sp. w porównaniu do podłoża z dodatkiem biowęgla, który to ograniczył występowanie Mortierella sp. w porównaniu z kontrolą (tab. 5).

Tab. 5. Wpływ dodatku kompostów na relatywne występowanie dominujących rodzajów grzybów (GENUS-FUNGI $\geq$ 1,0%), LSD,							
		Kontrola	Biowęgiel	Komp.1.	Komp.2	Komp.3	NIR
	Exophiala	1,58a	1,81a	1,14a	1,26a	1,057a	1,11702
	Penicillium *	1,3733a	2,906ab	1,3733a	4,007b	3,730b	1,80474
	Talaromyces	0,0967a	1,503a	0,0 a	0,137a	0,02a	1,88078
	Blumeria	6,117a	12,393a	6,71a	9,473a	11,403a	10,7609
	Pseudogymnoascus	0,153 a	0,06 a	0,103 a	0,437 a	0,113 a	0,483552
	Chloridium	0,407a	0,257a	0,283a	0,527a	0,543a	0,504871
	Trichoderma *	2,037 b	1,37 ab	0,76 a	1,18 a	1,193 a	0,748412
	Fusarium *	0,82 ab	0,25 a	0,763 ab	1,35 b	0,903 b	0,623438
	Mortierella *	7,15 b	2,987 a	6,053 ab	6,707 b	5,873ab	3,13436

Dodatek kompostów i biowęgla nie wpłynęły na występowanie diazotroficznych Bradyrhizobium sp., podobnie promieniowców z rodzaju Nocardioidees, Streptomyces, oraz na Bryobacter, ale występowanie Mycobacterium było porównywalne do siebie na wszystkich wariantach z biowęgłem i trzema kompostami, natomiast kompost 2 zwiększył ich występowanie w podłożu w porównaniu do kontroli, podobnie jak Nakamurella w podłożu z kompostem 1 (tab. 6).

Tab. 6. Wpływ dodatku biowęgla i kompostów na relatywne występowanie dominujących gatunków bakterii ($\geq$ 1,0 %)							
Nr.		Kontr	Biowęgi	Kompost 1	Kompost 2	Kompost 3	NIR
2.	Bryobacter	1,127 a	0,963 a	1,117 a	1,063 a	1,170 a	0,49264
4.	RB41 *	3,103 b	2,560 ab	2,363 a	2,130 a	2,310 a	0,67080
12.	Mycobacterium *	0,727 a	0,893 ab	1,003 ab	1,093 b	0,840 ab	0,34684
13.	Nakamurella *	0,393 a	0,523 ab	0,737 b	0,46 ab	0,457 ab	0,32107
14.	Pseudarthrobacter	1,527 a	2,217 a	2,427 a	2,447 a	2,407 a	1,04546
15.	Nocardioidees	1,063 a	1,527 a	1,8 a	1,757 a	1,403 a	0,82199
16.	Streptomyces	0,807 a	1,123 a	0,963 a	1,217 a	0,963 a	0,42980
18.	Gaiella	1,41a	1,603 a	1,66 a	1,88 a	1,937 a	0,79102
25.	Gemmatimonas	1,553 a	1,847 a	1,88 a	2,227 a	1,853 a	0,86840
27.	Rokubacteriales *	1,233 b	1,000 ab	0,903ab	0,997 ab	0,860 a	0,34805
29.	Bradyrhizobium	0,850 a	0,797 a	0,850 a	0,723 a	0,797 a	0,29165

Zmiany w strukturze społeczności mikroorganizmów prokariotycznych (bakterii) i eukariotycznych (grzybów) w glebie przy zastosowaniu zróżnicowanego nawożenia mineralnego (O, NPK, NP, NK, PK) w wariantach nawozowych bez/z dodatkiem obornika w 100 letnich doświadczeniach polowych. W badaniach wykorzystano metodę sekwencjonowania nowej generacji NGS (Illumina).

Tab. 1.Wpływ nawożenia na α -różnorodność mikroorganizmów w glebie (TEST LSD)					
		prokariotycznych (bakterie i archeony)		eukariotycznych (głównie grzybów)	
Lp.	NAWOŻENIE	Test CHAO-1			
1	Kontrola	1768,75	bc	1979,72	b
2	NPK	1663,81	bc	2840,75	def
3	NP	1292,17	ab	2208,85	ab
4	NK	938,655	a	1455,08	a
5	PK	1509,75	abc	2579,45	de
6	<i>Kontr-Obornik</i>	2091,96	b	2493,93	bc
7	<i>NPK+OB</i>	1831,41	bc	2987,70	f
8	<i>NP+OB</i>	1495,61	abc	2717,18	def
9	<i>NK + OB</i>	1833,86	bc	2908,54	ef
10	<i>PK+OB</i>	1513,61	abc	2921,63	ef
NIR $_{\alpha < 0.05}$ =608,304				NIR $_{\alpha < 0.05}$ =357,067	

Zastosowane nawożenie mineralne z lub bez obornika kształtowało istotnie statystycznie różnorodność mikroorganizmów prokariotycznych i eukariotycznych w glebach (tab.1.). Stwierdzono istotne różnice w bogactwie taksonów prokariota i eukariota między kombinacją NK, a glebą nawożoną obornikiem. Natomiast pozostałe kombinacje doświadczalne wykazywały podobne bogactwo taksonów prokariota. Natomiast w przypadku eukariota największą różnorodność charakteryzowały się gleby przy pełnym nawożeniu mineralnym (NPK) i nawożeniu mineralnym z obornikiem. Podobnie gleba bez nawożenia-K, z obornikiem-Ob., oraz przy nawożeniu NK i NP. wykazywała podobne bogactwo taksonów eukariota.

Występowanie grzybów z rodzaju *Fusicola* (Ascomycot) było dodatnio skorelowane z zawartością C, N, S, P, C/N (współczynniki korelacji wynosiły odpowiednio 0.76; 0.64; 0.68; 0.80; 0.71) w glebie, natomiast *Lectera* sp. z C, P, C/N (współczynniki korelacji wynosiły odpowiednio 0.81, 0.76, 0.90). Relatywnie największe występowanie *Lectera* sp. stwierdzono w glebie przy pełnym nawożeniu mineralnym NPK, oraz we wszystkich wariantach doświadczalnych gdzie zastosowano zróżnicowane nawożenie mineralne i obornik. Saprob *Fusicola* sp. podobnie jak *Lectera* sp. intensywnie kolonizowały gleby gdzie zastosowano zróżnicowane nawożenie mineralne i obornik, oraz w glebie przy nawożeniu mineralnym NP i PK. Negatywne powiązania, czyli wraz ze zwiększeniem wartości pH, C, N (współczynniki korelacji= -0.64; -0.92; -0.9) zaobserwowano zmniejszenie występowania grzybów *Sporothrix* sp. Promieniowce *Streptomyces* sp. najliczniej występowały w glebie nawożonej obornikiem, oraz w wariantcie doświadczalnym gdzie zastosowano nawożenie mineralne NK i obornik. Analiza korelacji wykazała pozytywnie relacje pomiędzy *Streptomyces* sp. w glebie, a zawartością węgla organicznego (Corg) i indeksem C/N, podobnie gatunki z rodzaju g_67-14 z rzędu Solirubrobacterales z C (0.74); N (0.66); S (0.64); C/N (0.65). Wyniki tych badań są przygotowane do opublikowania.

Zmiany w składzie i różnorodności taksonomicznej mikroorganizmów przekładają się na metabolizm gleby, a przez to na jej żyzność i plonowanie roślin. Stąd, wynika potrzeba prowadzenia dalszych badań interdyscyplinarnych dla wyznaczenia odpowiednich wskaźników mikrobiologicznych z pomocą których będzie można monitorować zdrowie gleb lub tzw. „zmęczenie gleb uprawnych”.

Zmiany struktury i różnorodności taksonomicznej społeczności mikroorganizmów, w tym drobnoustrojów celulolitycznych w glebach z dodatkiem odpowiednio biowęgla i kompostów przygotowanych na bazie substratów lignocelulozowych z dodatkami (biowęgla, słoma zbóż, zużyte podłoże po produkcji pieczarek, obornik kurzy) w doświadczeniach wegetacyjnych. W badaniach wykorzystano klasyczne metody mikrobiologii (hodowle in vitro w pożywkach selektywnych dla mikroorganizmów celulolitycznych oraz sekwencjonowanie nowej generacji NGS (Illumina).

Tab. 1. Wpływ badanych dodatków na liczebność hodowalnych tlenowych i względnie beztlenowych mikroorganizmów celulolitycznych w glebie (hodowla w pożywce Park'a z celulozą) (test LSD)	
Warianty doświadczenia	jtk x 1000/1g suchej masy gleby
Kontrola	114,4 a
Biochar	72,4 a
Komp 1	308,5 a
Komp 3	139,78 a
NIR $\alpha \leq 0,05 = 253,938$	

Tab. 2. Wpływ kompostów na α -diversity mikroorganizmów <u>prokariotycznych</u> (bakterie i archeony) w hodowlach z gleby na pożywce dla celulolitycznych <u>test LSD</u>					
LP	Warianty doświadczenia	Obserwacje	CHAO-1	SHANON	SIMPSONA
1	Kontrola	405,667 a	426,676 a	3,94301 a	0,947008 a
2	BIOWĘGIEL	440,000 a	465,787 a	4,06968 a	0,954238 a
3	Kompost 1	433,667 a	438,556 a	4,20108 a	0,961561 a
5	Kompost 3	505,333 a	510,667 a	4,30329 a	0,964048 a
NIR $\alpha \leq 0,05$		106,051	119,880	0,612162	0,0385726

Tab. 3. Wpływ kompostów na α -diversity mikroorganizmów <u>eukariotycznych</u> (głównie grzybów) z gleby w hodowlach w pożywce dla celulolitycznych <u>test LSD</u>				
Warianty doświadczenia	Obserwacje	CHAO-1	SHANON	SIMPSONA
Kontrola	474,667a	562,196 a	3,29900 a	0,898308 a
BIOWĘGIEL	539,000a	624,373 a	3,58968 a	0,935859 a
Kompost 1	490,000a	560,749 a	3,19413 a	0,876247 a
Kompost 3	592,667a	680,124 a	3,91372 a	0,951664 a
NIR $\alpha \leq 0,05$	146,26	169,843	0,833894	0,139185

W roku 2024 podjęto badania dotyczące, między innymi oceny różnorodności taksonomicznej tlenowych i względnie beztlenowych mikroorganizmów celulolitycznych w glebie z dodatkiem odpowiednio biowęgla i dwóch kompostów, kompost nr 1-przygotowany z obornika kurzego, słomy żytniej / owsianej, oraz zużytego podłoża po produkcji pieczarek i kompost nr 3-zawierający te same substraty odpadowe oraz biowęgla. Badania *in vitro* prowadzone w mikrobiologicznej pożywce selektywnej z dodatkiem jedyne go źródła węgla i energii jakim była bibuła filtracyjna (Fp) wykazały, że biowęgla, oraz badane komposty nie zmieniły najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL) hodowalnych *in vitro* tlenowych i względnie beztlenowych mikroorganizmów celulolitycznych w glebie (tab. 1), wykazano jedynie nie istotne statystycznie zwiększenie liczebności mikroorganizmów w glebie z kompostem 1 w porównaniu z wariantem kontrolnym i pozostałymi wariantami doświadczenia (tab.1).

Wyniki te potwierdziła analiza metagenomiczna NGS (tab.2, 3). Nie wykazano istotnej różnicy w bogactwie gatunkowym bakterii i grzybów w glebie pomiędzy wariantem kontrolnym, a trzema wariantami doświadczenia (gleba z dodatkiem biowęgla i badanych dwóch kompostów), co potwierdziły współczynniki α -różnorodności (Chao-1, Shanona i Simpsona).

Natomiast szczegółowa analiza metagenomiczna wykazała istotne statystyczne różnice między wariantami doświadczenia w zmianie relatywnego występowania niektórych taksonów bakterii i grzybów celulolitycznych w glebie. Stwierdzono zmniejszenie relatywnego występowania przedstawicieli typu Proteobacteria, oraz zwiększenie Bacteroidota (w tym *Bdellovibrio* sp.) w podłożu z dodatkiem kompostu nr 2 w porównaniu z kontrolą (gleba bez dodatku kompostu i biowęgla) i pozostałymi wariantami doświadczenia. W każdym wariantie doświadczenia dominowały grzyby Ascomycota. W glebie z kompostem nr 2 dominowały gatunki bakterii wykazujących zdolność do syntezy celulaz z rodzaju *Devosia*, natomiast w podłożu z dodatkiem biowęgla gatunki celulolityczne z rodzaju *Hydrogenispora*, *Sporomusa* i *Variovorax*. Analiza korelacji wykazała pozytywne powiązania dla *Hydrogenispora* sp. i *Variovorax* sp., a zawartością w glebie węgla organicznego, oraz indeksami C/N, C/S, C/P.