

PRÓBA KOMPOSTOWANIA ODPADÓW PIERZA Z ZASTOSOWANIEM
INOKULUM GRZYBOWEGO.
II. DYNAMIKA ROZWOJU DROBNOUSTROJÓW

T. Kornilłowicz-Kowalska, J. Bohacz

Akademia Rolnicza, Katedra Mikrobiologii Rolniczej, Pracownia Mikologiczna
ul. Leszczyńskiego 7, 20- 069 Lublin

Streszczenie. Celem przeprowadzonych badań wstępnych, dotyczących przetwarzania odpadów pierza z korą sosnową (metodą kompostowania) była ocena skuteczności oddziaływania inokulum grzyba keratynolitycznego i ligninolitycznego na dynamikę rozwoju drobnoustrojów uczestniczących w tych przemianach.

Badania prowadzono w warunkach laboratoryjnych. Zakres badań obejmował oznaczanie ogólnej liczebności bakterii i grzybów oraz liczebności grzybów keratynolitycznych i celulo-
litycznych po 1, 3, 5 i 7 miesiącach kompostowania.

Wykazano, że zastosowane inokulum wywierało słabe działanie stymulujące na rozwój mikro-
organizmów w materiale kompostowanym, uwidocznione jedynie w początkowej fazie przemian
i w odniesieniu do niektórych zespołów drobnoustrojów. Obserwowany intensywniejszy rozwój
bakterii i grzybów w obiekcie nie szczepionym niż szczepionym, świadczył o większej
efektywności działania rodzimych zespołów drobnoustrojów. Najlepiej dostosowane spośród
badanych grup drobnoustrojów, były grzyby keratynolityczne. Wskazywało na to kształtowanie się
liczebności tych drobnoustrojów sprzężone z rozkładem piór.

Rozwój drobnoustrojów w badanych kompostach keratynowo – korowych polegał na sukcesji
zróżnicowanych taksonomicznie i fizjologicznie zespołów obejmujących bakterie, grzyby keratyno-
lityczne i grzyby ubikwistyczne.

Słowa kluczowe: pióra, kora, kompostowanie, inokulacja, drobnoustroje.

WSTĘP

W przeciwieństwie do bakterii keratynolitycznych rozkładających keratynę piór
głównie do substancji peptydowych i aminokwasów [2,12] metabolizm tego białka
w hodowlach grzybów keratynolitycznych prowadzi do uwalniania mineralnych

połączeń azotu i siarki [3,4]. Fakt ten ma decydujące znaczenie dla kierunku wykorzystania obu tych grup drobnoustrojów w procesie bioutylizacji odpadów pierza. Fermentacyjny charakter metabolizmu białek keratynowych w hodowlach bakterii keratynolitycznych sprawił, że znalazły już one zastosowanie w pozyskiwaniu preparatów żywieniowych dla drobiu [12]. W przypadku grzybów bardziej racjonalne wydaje się wykorzystanie ich do produkcji kompostów. Wskazują na to rozpoznawcze badania własne [6]. Z badań własnych wynika, że dobrym komponentem w procesie grzybowej transformacji odpadów pierza jest kora sosnowa gdyż hamuje ona ulatnianie amoniaku nie osłabiając przy tym aktywności keratynolitycznej tych drobnoustrojów. W związku z tym podjęto próbę zbadania efektywności przetwarzania piór brojlerów z korą sosnową stosując jako inokulum szczep grzyba keratynolitycznego i ligninolitycznego. Zakres tych badań obejmował określenie aktywności biochemicznej oraz właściwości chemicznych w kombinacjach szczepionych i kontrolnej, co zostało opisane w pierwszej części pracy [7], zbadanie dynamiki rozwoju bakterii i grzybów zasiedlających kompostowane materiały, będące przedmiotem niniejszej (drugiej części) pracy, oraz ocenę stanu fitosanitarnego otrzymanego produktu, która została przedstawiona w trzeciej części [8].

MATERIAŁ I METODY

Materiałem użytym do kompostowania były pióra brojlerów zawierające ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$): C org. – 458,0; N og. – 122,8; oraz rozdrobniona (0,5-1,0 cm) kora sosnowa odpowiednio: 478,7 i 8,4. Jako inokulum zastosowano keratynolityczny szczep grzyba *Arthroderma quadrifidum* i ligninolityczny szczep *Geotrichum* sp. Obydwa szczepy pochodziły z kolekcji własnej grzybów wyodrębnionych z gleby (czarna ziemia).

Doświadczenie założono w warunkach laboratoryjnych stosując następujące kombinacje:

- I. Kora sosnowa + pióra (kontrola),
- II. Kora sosnowa + pióra + inokulum *Arthroderma quadrifidum*,
- III. Kora sosnowa + pióra + inokulum *Arthroderma quadrifidum* i *Geotrichum* sp.

Masa przetwarzanego materiału wynosiła 1280 g w tym ok. 94% stanowiła kora i ok. 6% pióra, stosunek C/N = 35:1. Materiał wzbogacano fosforanami i solami magnezu przyśpieszającymi rozkład piór przez grzyby w ilości $1,5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$ oraz $0,25 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ [5].

Po dokładnym wymieszaniu rozdrobnionych materiałów kompostowanych, nawilżano je do 70% całkowitej pojemności wodnej. Inokulum grzybów *Arthroderma quadrifidum* i *Geotrichum* sp. otrzymywano przez splukanie 5 skosów agarowych

(dla każdego szczepu) i wprowadzano w trakcie nawilżania materiału zwanego dalej umownie kompostem. Po ponownym wymieszaniu składników umieszczano je w plastikowych pojemnikach z perforowanym dnem i wstawiano do większych pojemników wypełnionych styropianem stanowiącym materiał izolacyjny. Kompostowanie prowadzono przez 7 miesięcy w dwóch powtórzeniach dla każdej kombinacji mierząc temperaturę w trakcie trwania doświadczenia. Okresowo próby mieszano i dowilżano w miarę potrzeby.

Analizy mikrobiologiczne prowadzono po 1, 3, 5 i 7 miesiącach. Obejmowały one oznaczenie płytkową metodą rozcieńczeń:

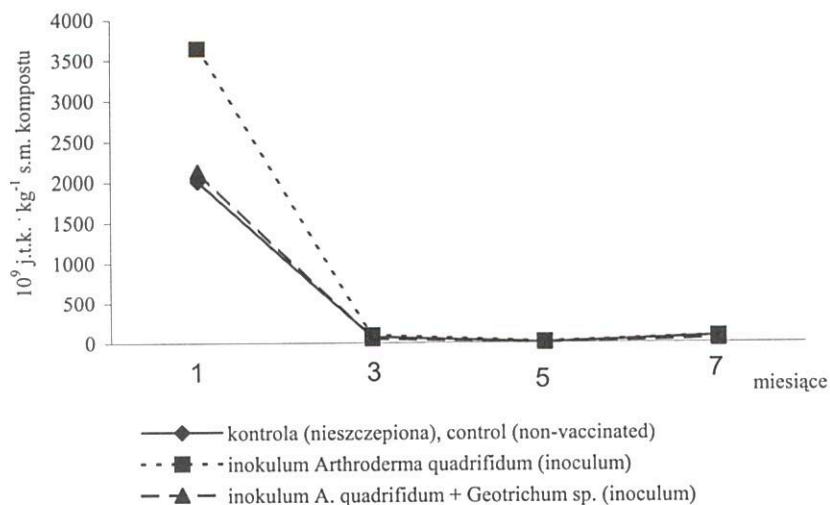
- ogólnej liczebności bakterii na podłożu z solami mineralnymi i asparaginą ($\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$): NH_4NO_3 – 1,0; KNO_3 – 1,0; K_2HPO_4 – 1,0; KCl – 0,5; MgSO_4 – 0,5; FeSO_4 , CaSO_4 , NaCl – ślady, asparagina – 1,0, agar – 20,0
- ogólnej liczebności grzybów na podłożu Martina
- liczebności grzybów keratynolitycznych na podłożu Sabourauda z aktidionem
- liczebności grzybów celulolitycznych na podłożu Winogradzkiego o pH 5,5 z bibułą Whatman 1 jako jedynym źródłem C i energii [14].

Liczebność wszystkich badanych grup drobnoustrojów podawano jako średnią z 6 powtórzeń (po 3 dla każdej kombinacji) i wyrażano w jednostkach tworzących kolonie (j.t.k.) w przeliczeniu na kg s.m. kompostu.

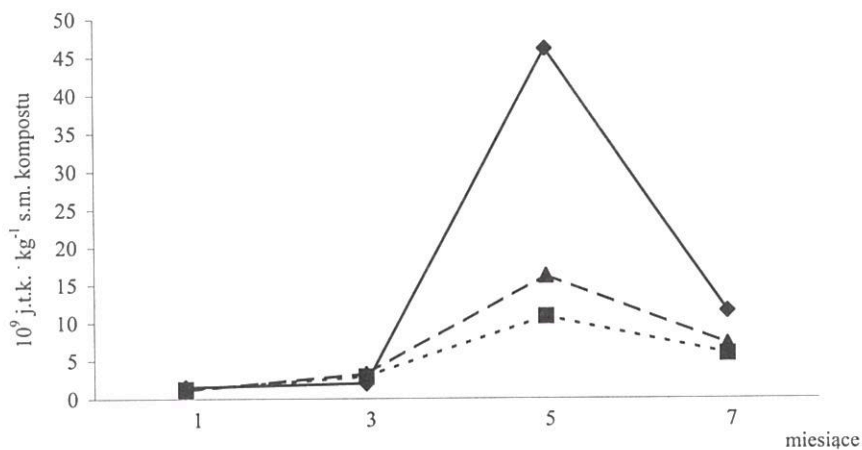
WYNIKI

Z danych przedstawionych na Rys. 1 wynika, że ogólna liczebność bakterii, we wszystkich badanych kombinacjach, była największa w pierwszym miesiącu kompostowania, po czym spadała osiągając najniższy poziom po pięciu miesiącach trwania doświadczenia. Wpływ zastosowanego inokulum zaznaczył się tylko w pierwszym miesiącu kompostowania piór i wyrażał się stymulacją liczebności bakterii w kompoście szczepionym *Arthroderma quadrifidum*. Efektu tego nie stwierdzono w kombinacji szczepionej *Arthroderma quadrifidum* + *Geotrichum sp.*

Kształtowanie się ogólnej liczebności grzybów miało odwrotny przebieg w stosunku do zmian liczebności bakterii (Rys. 1 i 2). Maksimum rozwoju tych drobnoustrojów wystąpiło w piątym a minimum w pierwszym miesiącu przetwarzania piór. Zastosowane szczepionki, grzyba keratynolitycznego i grzyba keratynolitycznego + ligninolityczny, początkowo nie wpływały (1 - 3 miesiąc) a później wywierały niewielkie działanie hamujące na wzrost grzybów w przetwarzanej masie (Rys. 2).



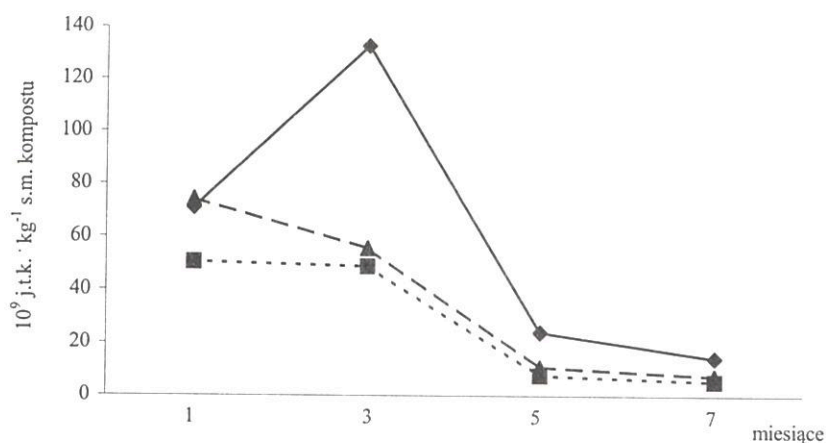
Rys. 1. Zmiany ogólnej liczebności bakterii w badanych kombinacjach kompostowych.
Fig. 1. Changes in the total bacteria amount in the compost compositions studied.



Rys. 2. Zmiany ogólnej liczebności grzybów w badanych kombinacjach kompostowych.
 objaśnienia jak na Rys.1.
Fig. 2. Changes in the total fungi amount in the compost combinations studied.
 Explanations as in Fig.1.

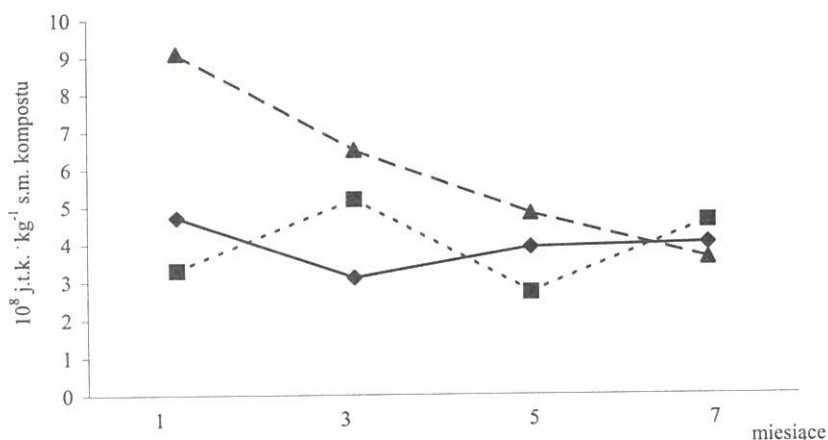
Dynamika rozwoju grzybów keratynolitycznych miała odmienny przebieg w układzie kontrolnym i szczepionym (Rys. 3). W kombinacji kontrolnej (I) obserwowano wzrost liczebności tej grupy grzybów w trzecim miesiącu kompostowania a następnie jej spadek. W kombinacjach wzbogaconych inokulum *Arthroderma quadrifidum* (II i III), najwyższe liczebności grzybów keratynolitycznych występowały we wstępnej fazie kompostowania piór (pierwszy miesiąc), po czym liczba tych grzybów ulegała obniżeniu. Ponadto wprowadzenie obu szczepionek grzybowych przyczyniało się do osłabienia rozwoju grzybów keratynolitycznych, co wyrażało się mniejszą liczbą tych grzybów w porównaniu z obiektem nie szczepionym (Rys. 3).

Liczebność grzybów celulolitycznych w badanych kombinacjach doświadczalnych kształtowała się na niższym poziomie niż liczebność grzybów keratynolitycznych (Rys. 3, 4). Również okresowe wahania ilości tych drobnoustrojów były słabsze. Silniejszy rozwój grzybów celulolitycznych wystąpił jedynie w pierwszym miesiącu przetwarzania użytych odpadów keratynowych i ligninocelulozowych, po ich zaszczerpieniu inokulum *Arthroderma quadrifidum* + *Geotrichum sp.* (Rys. 4).



Rys. 3. Zmiany liczebności grzybów keratynolitycznych w badanych kombinacjach kompostowych. Objasnienia jak na Rys. 1.

Fig. 3. Changes in the keratinolytic fungi amount in the compost combinations studied. Explanations as in Fig. 1.



Rys. 4. Liczebność grzybów celulozowych w badanych kombinacjach kompostowych.

Objaśnienia jak na Rys.1.

Fig. 4. Amount of cellulolytic fungi in compost combinations studied. Explanations as in Fig.1.

DYSKUSJA

Wbrew wcześniejszym oczekiwaniom, stymulujący wpływ zastosowanego inokulum grzybowego zaznaczył się tylko w pierwszym miesiącu kompostowania piór. Odznaczało się to stosunkowo niewysokim wzrostem liczebności bakterii w kombinacji szczepionej *Arthroderma quadrifidum* oraz liczebności grzybów celulozowych po wprowadzeniu hodowli *Arthroderma quadrifidum*+*Geotrichum sp.* Efekt ten przypuszczalnie był wywołany słabym rozwojem w początkowym okresie kompostowania rodzimych zespołów drobnoustrojów. Umożliwiłoby to zasiedlanie przetwarzanych odpadów keratynowych i ligninocelulozowych przez drobnoustroje szczepionki, przede wszystkim *Arthroderma quadrifidum* [8].

Obserwowana w początkowym okresie bioutylizacji badanych odpadów, stymulacja rozwoju bakterii w obiekcie szczepionym *Arthroderma quadrifidum*, mogła być wywołana dopływem prostych źródeł węgla organicznego oraz azotu pochodzących z rozkładu piór przez ten organizm. Korespondowała ona, bowiem z silniejszym w porównaniu z obiektem nie szczepionym wydzielaniem CO₂, ubytkiem substancji organicznej oraz słabą akumulacją N-amonowego, świadcząca o intensywniejszym wbudowywaniu azotu w komórki drobnoustrojów [7]. Lepszy wzrost grzybów celulozowych we wstępnej fazie kompostowania piór i kory z dodatkiem *Arthroderma quadrifidum* + *Geotrichum sp.* był również sprzężony

z intensywniejszym, niż w kontroli ubytkiem substancji organicznej. Jednak wytłumaczenie tego zjawiska nastęca większe trudności ze względu na brak aktywności ligninolitycznej w tej kombinacji [7]. Być może korzystniejsze w omawianym obiekcie warunki dla rozwoju grzybów celulolitycznych wynikały z degradacji przez *Geotrichum* substancji tłuszczowych tworzących w korze właściwej warstwę bezpośrednio graniczącą z warstwą celulozową [11]. Szczep *Geotrichum* obok uzdolnień ligninolitycznych [9,10] cechuje się bowiem bardzo wysoką aktywnością lipolityczną (dane nie publikowane). Rozkład tłuszczu zawartych w korze prowadziłby do odsłonięcia włókien celulozy umożliwiając atak grzybów celulolitycznych.

Obserwowany szybki zanik (po 1 miesiącu), stymulującego oddziaływania inokulum, świadczy o jego słabych uzdolnieniach do współzawodnictwa z rodzimymi populacjami drobnoustrojów, zasiedlającymi przetwarzane odpady. Podobną do obserwowanej w niniejszej pracy, efektywność działania drobnoustrojów inokulum i autochtonicznych, wykazał wcześniej Stuczyński [13] w badaniach kompostów sporządzonych z trawy i kory drzew iglastych. Według cytowanego autora wyższa liczebność drobnoustrojów w kompostach nie szczepionych niż szczepionych mogła być wynikiem antagonizmu między tymi zbiorowiskami drobnoustrojów. Na lepsze dostosowanie rodzimych zespołów drobnoustrojów w porównaniu z drobnoustrojami inokulum zwrócili uwagę Gostkowska i in.[1] w doświadczeniach nad kompostowaniem odpadów tytoniowych.

W świetle wyników badań własnych wydaje się, że grupą drobnoustrojów najbardziej przystosowaną (spośród badanych) do wzrostu w kompostach sporządzonych z odpadów ligninocelulozowych i keratynowych są grzyby keratynolityczne. Silnemu wzrostowi liczebności tych grzybów towarzyszył bowiem rozkład piór z uwalnianiem dużych ilości mineralnych form azotu i siarki [7]. Efekt ten szczególnie wyraźnie zaznaczył się w obiekcie nie szczepionym i był związany z rozwojem *Keratinomyces* pochodzących z piór [7].

Badania przeprowadzone w niniejszej pracy wskazują ponadto na sukcesję w kompostowanym materiale zróżnicowanych taksonomicznie i fizjologicznie zespołów drobnoustrojów. We wstępnej fazie kompostowania, trwającej jeden miesiąc, dominowały populacje bakterii, prawdopodobnie wykorzystujące prostsze połączenia węgla organicznego i azotu. Wysoki spadek liczby bakterii, uwidoczony w trzecim miesiącu trwania doświadczenia był spowodowany przede wszystkim silnym zakwaszeniem podłoża [7]. Efekt ten sprzężony był z nasileniem rozwoju grzybów keratynolitycznych przeprowadzających keratynolizę i mineralizację białek keratynowych piór. Następstwem działalności tych grzybów była obserwowana w piątym

miesiącu badań silna stymulacja tzw. ogólnej liczebności grzybów, obejmująca wiele gatunków grzybów ubikwistycznych [8], asymilujących łatwiej przyswajalne niż keratyna połączenia organiczne.

Uwidoczniony w siódmym miesiącu trwania doświadczenia spadek liczebności wszystkich badanych zespołów drobnoustrojów połączony z zahamowaniem ich aktywności metabolicznej [7] wskazuje na stabilizację substancji organicznej a tym samym wzrost dojrzałości otrzymanego produktu.

WNIOSKI

1. Zastosowanie inokulum grzyba keratynolitycznego i ligninolitycznego wywierało słaby wpływ aktywizujący na rozwój drobnoustrojów zasiedlających przetwarzane odpady keratynowe (pióra) i lignocelulozowe (kora sosnowa).
2. Największą aktywność w badanych kompostach wykazywały rodzime zespoły drobnoustrojów w szczególności grzyby keratynolityczne.
3. Przeprowadzone badania wskazują przede wszystkim na rozkład piór przez drobnoustroje zasiedlające komposty keratynowo – korowe.
4. Rozwój drobnoustrojów w kompostowanej masie miał charakter sukcesji taksonomicznie i fizjologicznie zróżnicowanych zespołów.

PIŚMIENNICTWO

1. **Gostkowska K., Szwed A., Wyczółkowski A.:** Próba kompostowania odpadów tytoniowych. I. Wpływ stosowania różnego rodzaju inokulum na rozwój mikroflory kompostu. *Annales UMCS E, LI*, 191-199, 1996.
2. **Hussein M. M., Swelin M.:** Bioconversion of chicken feather into soluble nitrogenous product. *Microbe – 86. Int. Congr. Microbiol., 14 Meet.:* 85, 1987.
3. **Kornilowicz T.:** Methods for determining keratinolytic activity of saprophytic fungi. *Acta Mycol.*, 29, 169-178, 1994.
4. **Kornilowicz-Kowalska T.:** Studies on the decomposition of keratin wastes by saprotrophic microfungi. I. Criteria for evaluating keratinolytic activity. *Acta Mycol.*, 32, 51-79, 1997.
5. **Kornilowicz-Kowalska T.:** Optymalizacja warunków rozkładu odpadów pierza w hodowlach grzybów. *Acta Agrophysica*, 73, 2002.
6. **Kornilowicz-Kowalska T., Bohacz J.:** Ocena skuteczności dwóch różnych sposobów ograniczania strat azotu podczas mikrobiologicznego rozkładu odpadów pierza. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 477, 381-388, 2001.
7. **Kornilowicz-Kowalska T., Bohacz J.:** Próba kompostowania odpadów pierza z zastosowaniem szczepionki mikrobiologicznej. Przemiany chemiczne i biochemiczne. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 477, 389-396, 2001.

8. **Kornilłowicz-Kowalska T., Bohacz J.:** Próba kompostowania odpadów pierza z zastosowaniem inokulum grzybowego. III. Ocena stanu fitosanitarnego. *Acta Agrophysica*, 73, 175-187, 2002.
9. **Kornilłowicz-Kowalska T., Iglík H.:** Nowy szczep *Geotrichum sp.* rozkładający pochodne antracykliny. Mat. 35 Symp. Mikrobiol. Pt. Drobnoustroje środowiska glebowego – aspekty fizjologiczne, biochemiczne, genetyczne. Toruń – Bachotek, 39, 2000.
10. **Malarczyk E., Kornilłowicz T., Leonowicz A.:** Decolorization of some industrial wastes by soil fungus *Geotrichum sp.* 7 International Conf. On Biotechnol. In the Pulp and Paper Industry. Vancouver Canada, vol C, 219-222, 1998.
11. **Prosiński S.:** Chemia drewna. PWR i L Warszawa, 1969.
12. **Shih J. C. H.:** Recent development in poultry waste digestion and feather utilization – A. review. *Poultry Science*, 72, 1617-1620, 1993.
13. **Stuczyński T.:** Wpływ stosowania różnego rodzaju inokulum na przebieg procesu kompostowania i jakość uzyskanego produktu. *Pam. Puł.*, 100, 217-225, 1992.
14. **Winogradski S.:** Mikrobiologia gleby. Zagadnienia i metody. PWR i L, Warszawa 1953.

AN ATTEMPT TO COMPOST FEATHER WASTE WITH THE APPLICATION OF FUNGI INOCULUM

T. Kornilłowicz-Kowalska, J. Bohacz

Department of Agricultural Microbiology, Mycological Laboratory, Academy of Agriculture
ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Summary. The aim of the present preliminary study on processing feather waste with pine bark by means of the composting method was to evaluate the efficiency of keratinolytic and ligninolytic fungi inoculum on the growth dynamics of microorganisms taking part in these transformations.

The studies were carried out in laboratory conditions. The scope of studies included the determination of the total number of bacteria and fungi and amount of keratinolytic and cellulolytic fungi after 1, 3, 5 and 7 months of composting.

It was shown that the application of inoculum exerted a weak stimulatory influence on the development of microorganisms in compost material which was only visible at the initial phase of transformation and in relation to some sets of microorganisms. A more intense development of fungi and bacteria was observed in the non-vaccinated objects than in the vaccinated objects. It proved to have a higher efficiency of native sets of microorganisms. Keratinolytic fungi were the best adapted group among the groups of microorganisms studied.

The above was observed in a number of these microorganisms related to feather decomposition.

Development of microorganisms in the keratin-bark composts studied depended on a succession of taxonomically and physiologically differentiated sets: bacteria, keratinolytic fungi and ubiquitous fungi.

Key words: feathers, pine, composting, inoculation, microorganisms.