



**Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach
Zakład Mikrobiologii, Pracownia Rizosfery**

Kierownik Projektu: Dr hab. Lidia Sas Paszt, prof. IO

Sprawozdanie z realizacji zadania w 2015 roku

Dobre praktyki w ekologicznych uprawach roślin sadowniczych - selekcja mikroorganizmów dla poprawy jakości i zdrowotności gleby w ekologicznych uprawach sadowniczych.

Wykonawcy: dr hab. Lidia Sas Paszt, prof. IO, dr Anna Lisek, dr Beata Sumorok, prof. dr hab. Zygmunt Grzyb, mgr inż. Edyta Derkowska, mgr Sławomir Głuszek, mgr Paweł Trzeciński, mgr inż. Krzysztof Weszczak, mgr Michał Przybył, mgr inż. Mateusz Frąc, Maria Dzikowska, Anna Polit.

Dobre praktyki w ekologicznych uprawach roślin sadowniczych - selekcja mikroorganizmów dla poprawy jakości i zdrowotności gleby w ekologicznych uprawach sadowniczych.

WSTĘP

Celem projektu było opracowanie innowacyjnych technologii dla zwiększenia wzrostu i plonowania roślin sadowniczych oraz poprawy jakości gleb z zastosowaniem bioproduktów i pożytecznych mikroorganizmów glebowych zgromadzonych w SYMBIO BANKu Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach. Badania prowadzono w Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach w roku 2015. Zgromadzone zasoby pożytecznych mikroorganizmów posłużyły do selekcji najbardziej wartościowych szczepów bakterii ryzosferowych i grzybów mikoryzowych. Opracowano konsorcja pożytecznych mikroorganizmów dla zwiększenia wzrostu i plonowania roślin truskawki, jabłoni i wiśni, poprawy jakości gleb oraz wzrostu i plonowania roślin sadowniczych w uprawach ekologicznych. Badania nad wpływem mikrobiologicznych technologii nawożenia roślin obejmowały zarówno doświadczenia w szklarniowe jak i w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach.

Opracowano innowacyjne inokula bakteryjno-mikoryzowe, które jako element składowy bionawozów i biostymulatorów wykazały dużą skuteczność w stymulacji wzrostu i plonowania roślin oraz poprawie jakości gleb uprawnych i zdegradowanych. Innowacyjne bioprodukty mikrobiologiczne mają uznanie w kraju i zagranicą. Bioprodukty wzbogacone mikrobiologicznie są komercjalizowane i wdrażane jako produkty handlowe na rynek krajowy. Istnieje popyt w Polsce na tego typu biopreparaty, które są w wielu przypadkach konkurencyjne, ekonomicznie opłacalne oraz bardziej skuteczne i bezpieczne w stosunku do istniejących na rynku nawozów.

Dzięki uzyskanym wynikom badań projektu skala degradacji gleb w Polsce, a także w innych krajach europejskich zmniejszy się dzięki zastosowaniu pro-ekologicznych mikrobiologicznych technologii uprawy i nawożenia gleb. Bionawozy poprawiają naturalny potencjał biologiczny gleb, w tym ich zasobność w składniki mineralne i materię organiczną. Dużo naszych gleb (89%) jest niskiej jakości. Uzyskane wyniki badań wskazują na możliwość rekultywacji gleb o niskiej żyzności i produktywności. W ostatnich 30 latach zawartość próchnicy w glebie spadła aż o 40% (Bieńkowski i Jankowiak 2006). Średnia zawartość węgla organicznego w glebach uprawnych Polski to około 1,25 %. Według norm Komisji Europejskiej, zawartość materii organicznej poniżej 1,7 % poprzedza pustynnienie obszarów, co powoduje konieczność rekultywacji gleb (Jones i in. 2004, 2005; Panagos i in. 2008, 2012). Udział gleb bardzo kwaśnych i kwaśnych, na których odczyn jest czynnikiem ograniczającym dobór roślin uprawnych i wielkość plonów, wynosi około 58% powierzchni gruntów ornych. Udział gleb o odczynie obojętnym i zasadowym, nie wymagających wapnowania, nie przekracza 18 %. To sprawia, że Polska jest jedynym krajem w Europie, w którym zakwaszenie użytków rolnych ma tak duże rozmiary. Realizowane w tym zakresie badania wnoszą nowe informacje dotyczące optymalizacji oraz zwiększenia zawartości materii organicznej w glebach uprawnych z wykorzystaniem bionawozów i pożytecznych mikroorganizmów glebowych. Aplikacja bionawozów o dużej zawartości materii organicznej zwiększa aktywność biologiczną gleb, pojemność wodną i sorpcyjną oraz poprawia wymianę gazową pomiędzy atmosferą a glebą. Wprowadzenie do praktyki ogrodniczej i rolniczej organicznych bioproduktów wzbogaconych mikrobiologicznie przyczyni się do ograniczenia stosowania nawozów mineralnych a poprzez to do zmniejszenia kosztów produkcji roślin. Realizacja zadań projektu przyczyni się do poprawy żyzności gleb, plonowania roślin i jakości plonów oraz ochrony wód i środowiska glebowego poprzez redukcję

chemicznych środków produkcji. Zastosowanie pożytecznej mikroflory glebowej przyczyni się do lepszego zarządzania i wykorzystania naturalnych komponentów biosfery gleby.

LITERATURA

- Bieńkowski J., Jankowiak J. 2006. Zawartość węgla organicznego w glebie i jego zmiany pod wpływem różnych systemów produkcji. *Fragm. Agronom.* Puławy. 28: 216-225.
- Jones R.J.A., Hiederer R., Rusco E., Montanarella L. 2005. Estimating organic carbon in the soils of Europe for policy support. *European Journal of Soil Science*, 56 (5): 655-671.
- Jones R.J.A., Hiederer, R., Rusco, E., Loveland, P.J. and Montanarella, L. 2004. The map of organic carbon in topsoils in Europe, Version 1.2, September 2003: Explanation of Special Publication Ispra. No.72 (S.P.I.04.72). European Soil Bureau Research Report No.17, EUR 21209 EN, 26pp. and 1 map in ISO B1 format. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- Panagos P., Van Liedekerke M., Jones A., Montanarella L. 2012. European Soil Data Centre: Response to European policy support and public data requirements. (2012) *Land Use Policy*, 29 (2), pp. 329-338. doi:10.1016/j.landusepol.2011.07.003
- Panagos P., Van Liedekerke, M., Montanarella, L., Jones, R.J.A. 2008. Soil organic carbon content indicators and web mapping applications, *Environmental Modelling & Software*. 23(9): 1207-1209.

Podzadanie nr 1. Selekcja szczepów mikroorganizmów najbardziej korzystnych dla wzrostu i rozwoju roślin oraz przygotowanie inokulów mikrobiologicznych do aplikacji.

WSTĘP

Identyfikacja i charakterystyka pożytecznych mikroorganizmów umożliwiła poznanie różnorodności biologicznej i skuteczności działania tych symbiontów roślin. Bakterie ryzosferowe i grzyby mikoryzowe są naturalnymi komponentami biosfery gleby, stymulującymi wzrost i plonowanie roślin uprawnych. W Instytucie Ogrodnictwa powstał pierwszy w Polsce bank symbiotycznych grzybów mikoryzowych oraz pożytecznych bakterii wyizolowanych z ryzosfery roślin sadowniczych, rosnących w warunkach glebowo-klimatycznych Polski. W zasobach SYMBIO BANKu zgromadzono i zidentyfikowano zarodniki 30 gatunków grzybów AGM z rodzaju *Glomus*, *Acaulospora*, *Ambispora*, *Claroideoglomus*, *Entrophospora*, *Funneliformis*, *Gigaspora*, *Rhizophagus* i *Scutellospora*. Do dalszych identyfikacji zgromadzono 53 tys. zarodników grzybów AGM: z ryzosfery jabłoni 10,5 tys., truskawki 18 tys., wiśni 1,5 tys., gruszy 14 tys., poziomki 9 tys. Jest w nim 1400 szczepów bakterii i grzybów strzępkowych: *Pseudomonas fluorescens* (300), produkujące siderofory (500), rozpuszczające związki fosforu (200), rozkładające celulozę (40), wytwarzające formy przetrwalnikowe (110), wiążące azot atmosferyczny (100), promieniowce (100), izolaty grzybów mikroskopowych (50), w tym: *Trichoderma* sp. (30). Spośród 1400 szczepów bakterii zidentyfikowano 150 szczepów do rodzaju lub gatunku oraz scharakteryzowano 800 szczepów. Gatunki symbiotycznych grzybów mikoryzowych (AMF - Arbuscular Mycorrhizal Fungi, po polsku - AGM - Arbuskularne Grzyby Mikoryzowe) i szczepy pożytecznych bakterii (PGPR - Plant Growth Promoting Rhizobacteria) są identyfikowane, charakteryzowane i przechowywane w glicerolu (-80°C). Badania wykazały dużą skuteczność pożytecznych mikroorganizmów w stymulacji wzrostu wegetatywnego i plonowania roślin truskawki, jabłoni i wiśni. Niektóre szczepy bakterii mają działanie ochronne przeciwko patogenom *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* i *Verticillium dahliae* a także takie, które przyspieszają rozkład biomasy.

CEL

Celem podzadania nr 1 była selekcja gatunków i szczepów mikroorganizmów najbardziej korzystnych dla wzrostu i rozwoju roślin oraz przygotowanie inokulów mikrobiologicznych do aplikacji. W ramach podzadania zostały zidentyfikowane, scharakteryzowane i oznaczone ilościowo szczepy i gatunki mikroorganizmów w stanowiskach reprezentujących różne gleby w uprawach roślin rolniczych i ogrodniczych, w tym gleby zmęczone. Pożyteczne mikroorganizmy pozyskiwano także z gleb o dobrym statusie zdrowotnym, żyzności i wysokim potencjale biologicznym oraz z gleb zdegradowanych.

METODYKA BADAŃ

Identyfikację biochemiczną bakterii i grzybów mikroskopowych przeprowadzono na podstawie metabolizmu związków węgla przy użyciu systemu identyfikacji mikroorganizmów BIOLOG. Opracowane w ramach podzadania inokula bakteryjno-mikoryzowe oraz bioprodukty wzbogacone mikrobiologicznie będą opatentowane i wdrożone do praktyki ogrodniczej i rolniczej. Dostarczone przez Pracownię Rizosfery pojedyncze szczepy mikroorganizmów zgromadzone w SYMBIO BANKu Instytutu Ogrodnictwa oraz nowe mikroorganizmy pozyskane w ramach projektu, po scharakteryzowaniu i zidentyfikowaniu włączono w skład niżej wymienionych konsorcjów mikrobiologicznych. Opracowano skład inokulów mikrobiologicznych, m.in. konsorcja mikroorganizmów o odpowiednim składzie i przeżywalności pożytecznych mikroorganizmów do zastosowań specjalnych oraz do ich łączenia z biostymulatorami i bionawozami.

WYNIKI

Zidentyfikowano i wyselekcjonowano gatunki i szczepy pożytecznych mikroorganizmów, w tym wyizolowano i zidentyfikowano 23 szczepów bakterii i grzybów strzępkowych oraz opracowano konsorcja mikroorganizmów do zastosowań specjalnych:

Konsorcjum przeciwko patogenom glebowym. Skład: bakterie wytwarzające metabolity toksyczne dla grzybów i enzymy chitynolityczne, promieniowce N45PO, N45BD, *Bacillus* i inne gram+ pałeczki Sp27d, AF74AA, gram- pałeczki 60.3AA *Lysobacter* sp. **Aplikacja:** płyn pohodowlany, odseparowane komórki mikroorganizmów w biodegradowalnych nośnikach (słoma, płatki owsiane).

Konsorcjum do rozkładu materii organicznej i zwiększenia dostępności jonów składników mineralnych. Skład: mikroorganizmy produkujące enzymy degradujące celulozę i inne związki: promieniowce 7G2, TACT11, TACT10, TACT8A, TACT7A, grzyby *Trichoderma* WT8, gram-pałeczki 60.3AA *Lysobacter* sp. **Aplikacja-** jak konsorcjum FCM.

Konsorcjum dla stymulacji rozwoju korzeni i procesów zachodzących w rizosferze. Skład: szczepy bakterii i grzybów syntetyzujące auxyny i inne hormony: gram- pałeczki: *Rahnella aquatilis* Pi3A, x31E, x31N, *Pantoea* sp./*Erwinia* sp. Pi22B, N52AD, *Pseudomonas* sp. Ps54GF, grzyby strzępkowe *Trichoderma* sp. Tr43, Tr52. **Aplikacja:** w płynie pohodowlanym z prekursorem syntezy IAA (l-tryptofan), liofilizowane komórki mikroorganizmów, mikroorganizmy w nośnikach.

Identyfikacja bakterii:

Identyfikację szczepów bakterii przeprowadzono dla 16 izolatów pozyskanych z gleby rizosferowej roślin sadowniczych takich jak jabłoń, truskawka i wiśnia (Tabela 1). Izolaty bakterii wstępnie scharakteryzowano na podstawie cech morfologicznych i właściwości biochemicznych jako należące do trzech grup: z rodzaju *Pseudomonas*, bakterii wiążących azot oraz bakterii wytwarzających enzymy chitynolityczne. Identyfikację na podstawie cech fenotypowych

przeprowadzono przy użyciu systemu BIOLOG służącego do identyfikacji i charakterystyki mikroorganizmów.

Po 48 godzinach wzrostu kolonii bakteryjnych na podłożu BUG (Biolog Inc.) pobrano pojedyncze kolonie i zawieszono w płynie inokulacyjnym IF-A (bakterie gram -) lub IF-B (bakterie gram +). Zawiesinę bakteryjną przygotowano przy użyciu mętnościomierza tak, aby mętność roztworów była w przedziale 90-98 %. Tak przygotowanymi zawiesinami zainokulowano płytki typu GENIII (Biolog Inc), które inkubowano przez 48 godzin w temperaturze 33°C. Wyniki wzrostu kolonii bakteryjnych na płytkach odczytywano codziennie przy użyciu czytnika ELx 808 (BioteK). Wzorzec biochemiczny bakterii został zinterpretowany przy użyciu oprogramowania Microlog3 (wersja 5.2.01), wyposażonego w bazę danych dla płytek GENIII (wersja 2.7.1).

Tab. 1. Izolaty bakterii w oparciu o porównanie profili fenotypowych (porównanie do bazy danych GENIII wersja 2.7.1).

Izolat bakterii	Podobieństwo do profili fenotypowych	Identyfikacja
Ps78AA	56.7 %	<i>Pseudomonas chlororaphis ss aurantiaca</i>
Ps78AB	56.3 %	<i>Pseudomonas chlororaphis ss aurantiaca</i>
Ps78AC	54.9 %	<i>Pseudomonas chlororaphis ss aurantiaca</i>
Ps79AA	57.1 %	<i>Pseudomonas chlororaphis ss aurantiaca</i>
Ps80AA	54.1 %	<i>Pseudomonas chlororaphis ss aurantiaca</i>
Ps80AB	53.7 %	<i>Pseudomonas chlororaphis ss aurantiaca</i>
N81AA	-	<i>Burkholderia sp</i>
N81AB	63 %	<i>Burkholderia terricola</i>
N81AC	65 %	<i>Burkholderia terricola</i>
N82AA	61 %	<i>Burkholderia terricola</i>
Pi77AA	98.9 %	<i>Pantoea agglomerans</i>
N81AB2	94.5 %	<i>Pantoea agglomerans</i>
N81AD	97.8 %	<i>Pantoea agglomerans</i>
CH78AH	57.5 %	<i>Paenibacillus nematophilus</i>
CH78Ai	-	<i>Mitsuaria sp</i>
CH78AJ	97.8 %	<i>Rhodococcus erythropolis</i>

Microlog 3 (5.2)

Main Setup Read File Viewer Unrestricted Log-In

Read Information Read Setup

Project HLS

Plate Number 1

Plate Type GEN III

Protocol A

Strain Type

Incubation Hours 48

cultivation temperature 33

incubation time 48

Incubation temperature 33

Incubation time 48

Strain number CH78AJ

Notes T - 34 pH - 7.1

Pos/Neg

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

View Details

Print Preview

Print

Species ID: Rhodococcus erythropolis

	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.576	0.713	3.860	GP-Rad	Rhodococcus erythropolis
2	0.008	0.004	6.958	GP-Rad	Rhodococcus ruber
3	0.007	0.004	7.061	GP-Rad	Rhodococcus globulus
4	0.007	0.003	7.078	GP-Rad	Rhodococcus pyridinarius

Microlog 3 (5.2)

Main Setup Read File Viewer Unrestricted Log-In

Read Information Read Setup

Project HLS

Plate Number 1

Plate Type GEN III

Protocol A

Strain Type

Incubation Hours 48

cultivation temperature 33

incubation time 48

Incubation temperature 33

Incubation time 48

Strain number PU78AC

Notes T - 34 pH - 7.1

Pos/Neg

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Click well to see substrate

H10 Aztreonam

View Details

Print Preview

Print

Species ID: Pseudomonas chlororaphis ss aurantiaca

	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.549	0.549	6.620	GN-NEr	Pseudomonas chlororaphis ss aurantiaca
2	0.045	0.045	9.249	GN-NEr	Pseudomonas marginalis
3	0.044	0.044	9.392	GN-NEr	Pseudomonas fluorescens
4	0.036	0.036	9.315	GN-NEr	Pseudomonas cingula

Analiza cech fenotypowych badanych bakterii rizosferowych.

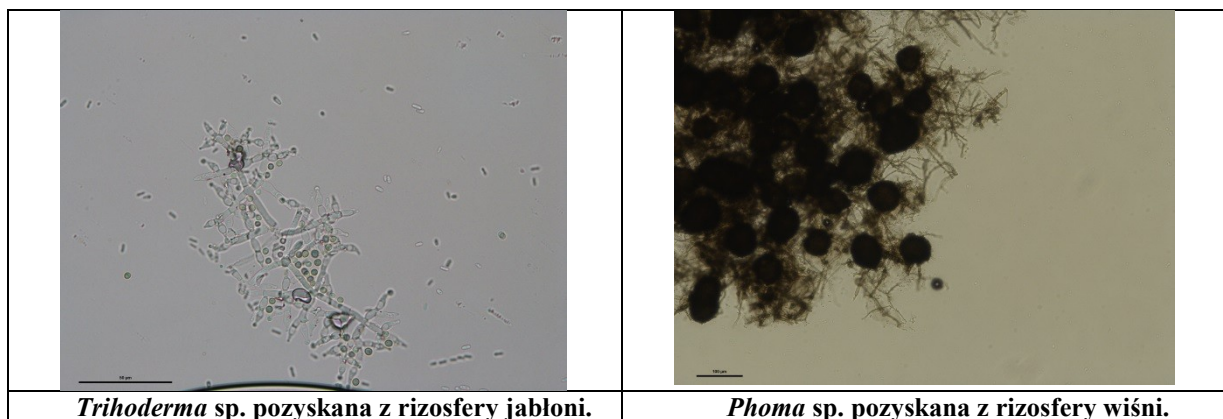
Identyfikacja grzybów mikroskopowych

Testy identyfikacji przeprowadzono dla siedmiu izolatów grzybów pozyskanych z rizosfery roślin sadowniczych kultywowanych na pożywce Rose Bengal Chloramphenicol Agar (Tabela 2).

W celu identyfikacji, na podstawie utleniania związków węgla, grzyby były trzykrotnie pasażowane na pożywkę o składzie: ekstrakt słodowy 20 g; agar 18 g; woda dejonizowana 1000 g. Identyfikacje przeprowadzono według zaleceń producenta (Biolog Inc). Grzyby kultywowano na szalkach do momentu uformowania przetrwalników. Z hodowli pobierano zarodniki wraz z grzybnią i zawieszano ją w płynie IF-FF (Biolog Inc) tak, aby mętność cieczy wynosiła ok 75%. Następnie tak przygotowaną zawiesinę zaszczipiano płytki typu GEN II FF (Biolog Inc). Zainokulowane płytki inkubowano w temperaturze 26°C przez 7 dni. Wyniki odczytywano codziennie przy użyciu czytnika do płytek tritacyjnych ELx 808 (Biotek). Profil metaboliczny grzybów był interpretowany z zastosowaniem oprogramowania (wersja 5.2.01), wyposażonego w bazę danych dla płytek GEN II FF.

Tab. 2. Izolaty grzybów mikroskopowych w oparciu o metabolizm związków węgla (porównanie do bazy danych GENIIFF).

Izolat	Podobieństwo do profili fenotypowych	Identyfikacja
VL1	54 %	<i>Lecanicillium lucanii</i>
VL2	47 %	<i>Lecanicillium lucanii</i>
WTHAC	100 %	<i>Hypocrea lixii</i>
T31A	100 %	<i>Trichoderma sp.</i>



PODSUMOWANIE

Wyizolowano, zidentyfikowano i scharakteryzowano szczepy pożytecznych bakterii rizosferowych i grzybów strzępkowych. Opracowane konsorcja bakteryjno-grzybowe wykazały dużą skuteczność w stymulacji wzrostu i plonowania roślin sadowniczych oraz efektywne działanie ochronne przeciwko patogenom glebowym. W celu potwierdzenia skuteczności biopreparatów doświadczenia szklarniowe i polowe nad ich skutecznością będą kontynuowane w następnych sezonach wegetacyjnych. Najbardziej skuteczne konsorcja pożytecznych mikroorganizmów i biopreparaty mikrobiologiczne będą wykorzystane w praktyce ogrodniczej do stymulacji wzrostu i plonowania roślin.

Podzadanie nr 2. Przygotowanie i prowadzenie doświadczeń oraz aplikacja inokulów w warunkach polowych i szklarniowych.

WSTĘP

Prawidłowa lokalizacja doświadczeń jak również właściwy wybór gatunków i odmian stanowią bardzo ważny element w prowadzeniu badań, szczególnie z zakresu rolnictwa ekologicznego. Dobór właściwego materiału nasadzeniowego pochodzącego z kwalifikowanych szkółek/mateczników jest niezwykle istotny. Niemale znaczenie ma również forma stosowania mikroorganizmów, zarówno do gleby jak i bezpośrednio na rośliny. W Pracowni Rizosfery prowadzono badania nad przeżywalnością populacji bakterii *Pseudomonas fluorescens* po ich mechanicznej aplikacji w doświadczeniach polowych oraz nad przeżywalnością bakterii rizosferowych *Pseudomonas fluorescens* i *Rahnella aquatilis* w nośnikach z biodegradowalnych polimerów. Uzyskane wyniki umożliwiły opracowanie bezpiecznych metod stosowania konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów i bioproduktów mikrobiologicznych, zapewniających wysoką przeżywalność pożytecznych mikroorganizmów w trakcie i po ich aplikacji.

CEL BADAŃ

Celem badań było przygotowanie i prowadzenie doświadczeń polowych i szklarniowych oraz określenie najbardziej efektywnych metod aplikacji inokulów mikrobiologicznych i bioproduktów w ekologicznych uprawach roślin sadowniczych.

METODYKA BADAŃ

Wazonowe doświadczenia szklarniowe prowadzono w cylindrach wzrostowych o wymiarach 39 cm wysokości i 20 cm średnicy. W wazonach wzrostowych posadzono rośliny truskawki odmiany Elkat i Honeoye, jabłoni odmiany Topaz a także wiśni odmiany Sabina. W doświadczeniach szklarniowych i polowych zastosowano bioprodukty takie jak Humus Active+Aktywit PM, BF Quality i Vinassa na stałych nośnikach organicznych oraz formułacje płynne konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów. Kombinacjami kontrolnymi były: rośliny nawożone NPK (Kontrolne NPK), rośliny nawożone obornikiem oraz nawozami oraz nawozami Florovit Eko (Inco 1) i Florovit Natura (Inco 2). Warunki doświadczenia w cylindrach wzrostowych stanowiły: fotoperiod 16/8 h, natężenie oświetlenia $70\mu\text{m}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$, temperatura 25/20°C, wilgotność powietrza ok. 50%.

W doświadczeniach polowych nowo opracowane konsorcja mikrobiologiczne aplikowano poprzez mieszanie ich z glebą wzdłuż rzędów roślin już wcześniej posadzonych a w nowo zakładanych obiektach badawczych przed ich sadzeniem. Aplikacje płynnych bioproduktów wykonywano nalistnie (2-3 krotnie) za pomocą opryskiwaczy, w odstępach 2 tygodniowych od momentu rozpoczęcia wegetacji roślin. W prowadzonych doświadczeniach wykonywano zabiegi pielęgnacyjne zgodne z zasadami rolnictwa ekologicznego. Nawozy Inco 1 i Inco 2 nie zakwalifikowane do stosowania w rolnictwie ekologicznym, zastosowano jako kombinacje kontrolne dla porównania z innymi środkami ekologicznymi. Zawierały one 50% substancji organicznej i były wyprodukowane specjalnie na potrzeby projektu.

WYNIKI

Z przeprowadzonego doświadczenia szklarniowego wynika, iż łączna aplikacja Humusu Active i Aktywitu PM oraz zastosowanie obornika korzystnie wpłynęło na świeżą i suchą masę liści roślin truskawki odmiany Elkat i Honeoye. Jednakże, w porównaniu do kontroli różnice te nie były istotnie statystycznie (Tabela 1).

Tabela 1. Wpływ biostymulatorów na świeżą i suchą masę liści roślin truskawki 'Elkat' i 'Honeoye', w porównaniu do kontroli NPK (Szkłarnia IO, 2015).

Traktowanie	Świeża masa liści [g/roślinę]		Sucha masa liści [g/roślinę]	
	'Elkat'	'Honeoye'	'Elkat'	'Honeoye'
Kontrola NPK	13,1 a	7,4 a	4,5 a	2,2 a
Obornik	16,9 a	9,5 a	5,0 a	2,6 a
Humus Active+Aktywit PM	16,5 a	9,6 a	4,6 a	2,8 a
BF Quality	13,1 a	7,4 a	4,0 a	2,1 a
Vinassa	10,9 a	8,6 a	2,9 a	2,5 a

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

Wyniki przeprowadzonego doświadczenia wskazują na korzystny wpływ aplikacji Humus Active i Aktywitu PM na liczbę i pole powierzchni liści roślin truskawki. Zastosowanie biopreparatu Vinassa wpłynęło na bardziej intensywną barwę liści (Tabela 2).

Tabela 2. Wpływ biostymulatorów na liczbę liści, pole powierzchni i intensywność zielonej barwy liści roślin truskawki 'Elkat' i 'Honeoye' w porównaniu do kontroli NPK (Szkłarnia IO, 2015).

Traktowanie	Liczba liści [szt./roślinę]		Pole powierzchni liści [cm ² /roślinę]		Intensywność zielonej barwy liści	
	'Elkat'	'Honeoye'	'Elkat'	'Honeoye'	'Elkat'	'Honeoye'
Kontrola NPK	10,9 a-c	5,5 ab	904,06 a	743,76 a	42,7 a-c	47,3 a-c
Obornik	13,4 c	8,1 a-c	1076,36 a	953,65 a	40,8 a	47,3 a-c
Humus Active+Aktywit PM	14,0 c	6,8 a-c	1407,80 a	899,95 a	42,5 a-c	45,6 a-c
BF Quality	11,4 bc	4,6 a	1064,31 a	740,45 a	41,0 ab	49,9 bc
Vinassa	8,4 a-c	5,6 ab	959,22 a	771,00 a	46,2 a-c	50,2 c

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

W porównaniu do kontroli NPK, zastosowanie w doświadczeniu szklarniowym Humusu Active i Aktywitu PM miało korzystny wpływ na liczbę owoców truskawki, natomiast aplikacja biostymulatora BF Quality wpłynęła na zwiększenie świeżej masy owoców (Tabela 3).

Tabela 3. Wpływ biostymulatorów na liczbę owoców i świeżą masę owoców roślin truskawki 'Elkat' i 'Honeoye' w porównaniu do kontroli NPK (Szkłarnia IO, 2015).

Traktowanie	Liczba owoców [szt./roślinę]		Świeża masa owoców [g/roślinę]	
	'Elkat'	'Honeoye'	'Elkat'	'Honeoye'
Kontrola NPK	4,3 ab	6,2 bc	3,9 ab	4,8 a-c
Obornik	3,1 a	7,2 c	2,9 a	8,1 d
Humus Active+Aktywit PM	4,3 ab	7,8 c	3,9 a	5,8 b-d
BF Quality	4,8 ab	7,2 c	5,3 a-d	8,0 d
Vinassa	3,9 a	6,1 bc	4,8 a-c	7,3 cd

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

Łączna aplikacja Humusu Active i Aktywitu PM wpłynęła korzystnie na liczbę rozłogów i ich długość, natomiast zastosowanie obornika wpłynęło korzystnie na świeżą masę rozłogów roślin truskawki odmiany Elkat i Honeoye (Tabela 4).

Tabela 4. Wpływ biostymulatorów na liczbę, świeżą masę i długość rozlogów roślin truskawki 'Elkat' i 'Honeoye', w porównaniu do kontroli NPK (Szklarnia IO, 2015).

Traktowanie	Liczba rozlogów [szt./roślinę]		Świeża masa rozlogów [g/roślinę]		Długość rozlogów [cm/roślinę]	
	'Elkat'	'Honeoye'	'Elkat'	'Honeoye'	'Elkat'	'Honeoye'
Kontrola NPK	1,3 a	1,5 ab	1,64ab	1,40 ab	54,4 ab	55,6 ab
Obornik	2,7 cd	1,5 ab	5,88 b	1,74 a	112,4 bc	62,0 a-c
Humus Active+Aktywit PM	3,3 d	1,5 ab	3,06 ab	0,74 a	125,0 c	28,2 a
BF Quality	2,0 a-c	2,3 b-d	2,42ab	3,50 ab	98,2 bc	111,4 bc
Vinassa	1,7 a-c	2,3 b-d	2,12 ab	1,60 ab	82,2 a-c	61,6 a-c

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

Aplikacja biostymulatora Humus Active + Aktywitu PM wpłynęła na zwiększenie pola powierzchni korzeni w porównaniu do roślin kontrolnych, jednakże różnice te nie były istotne statystycznie (Tabela 5).

Tabela 5. Wpływ biostymulatorów na świeżą i suchą masę korzeni roślin truskawki 'Elkat' i 'Honeoye', w porównaniu do kontroli NPK (Szklarnia IO, 2015).

Traktowanie	Świeża masa korzeni [g/roślinę]		Masa korzeni po wysuszeniu [g/roślinę]		Pole powierzchni korzeni [cm ² /roślinę]		Średnica korzeni [mm/roślinę]	
	'Elkat'	'Honeoye'	'Elkat'	'Honeoye'	'Elkat'	'Honeoye'	'Elkat'	'Honeoye'
Kontrola NPK	4,03 c	1,28 a	1,91 c	0,55 a	97,78 ab	60,80 a	0,49 c	0,42 a-c
Obornik	2,63 a-c	1,62 a	1,15 a-c	0,70 a	94,95 ab	69,52 a	0,37 a-c	0,42 a-c
Humus Active+Aktywit PM	3,51 bc	1,33 a	1,65 bc	0,51 a	138,78 b	58,70 a	0,46 bc	0,32 a
BF Quality	2,26 a-c	1,12 a	1,13 a-c	0,55 a	98,46 ab	69,77 a	0,42 a-c	0,31 a
Vinassa	2,06 ab	0,90 a	0,93 ab	0,45 a	82,60 a	57,53 a	0,40 a-c	0,33 ab

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

W doświadczeniu szklarniowym łączna aplikacja Humusu Active i Aktywitu PM korzystnie wpłynęła na objętość, długość oraz liczbę wierzchołków korzeni roślin truskawki odmiany Elkat. Zależności tej nie stwierdzono u odmiany Honeoye (Tabela 6).

Tabela 6. Wpływ biostymulatorów na objętość, długość i liczbę wierzchołków korzeni roślin truskawki 'Elkat' i 'Honeoye', w porównaniu do kontroli NPK (Szklarnia IO, 2015).

Traktowanie	Objętość korzeni [cm ³ /roślinę]		Długość korzeni [cm/roślinę]		Liczba wierzchołków korzeni [szt./roślinę]	
	'Elkat'	'Honeoye'	'Elkat'	'Honeoye'	'Elkat'	'Honeoye'
Kontrola NPK	1,20 cd	0,66 ab	641,45 a	481,74 a	1727,37 ab	1543,25 a
Obornik	0,87 a-d	0,72 ab	829,46 ab	541,46 a	2935,73 a-c	1767,02 a-c
Humus Active+Aktywit PM	1,27 d	0,49 a	1251,46 b	583,27 a	3510,43 c	2847,69 a-c
BF Quality	1,03 b-d	0,54 a	752,31 ab	710,23 ab	2061,41 a-c	3388,57 bc
Vinassa	0,83 a-c	0,49 a	695,31 ab	554,58 a	2394,33 a-c	2823,87 a-c

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.



Szklarniowe doświadczenie wazonowe w cylindrach wzrostowych na roślinach truskawki (Szklarnia IO, 2015).

Wyniki przeprowadzonego doświadczenia nad wpływem biostymulatorów na wzrost drzew jabłoni odmiany Topaz w warunkach szklarniowych wskazują, iż aplikacja biostymulatora BF Quality korzystnie wpłynęła na zwiększenie świeżej masy nadziemnej części drzew jabłoni, jak również na świeżą i suchą masę korzeni. W porównaniu do kontroli i pozostałych kombinacji doświadczalnych, aplikacja BF Quality wpłynęła na nieznaczne zwiększenie wzrostu wegetatywnego drzew jabłoni odmiany Topaz (Tabela 7).

Tabela 7. Wpływ biostymulatorów na cechy wzrostu części nadziemnej, korzeni oraz intensywność zielonej barwy liści drzew jabłoni 'Topaz' (Szklarnia IO, 2015).

Kombinacja	Świeża masa części nadziemnej [g/roślinę]	Świeża masa korzeni [g/roślinę]	Sucha masa korzeni [g/roślinę]	Intensywność zielonej barwy liści
Kontrola NPK	89,5 a	112,7 a	60,4 a	42,4 a
Obornik	77,5 a	108,2 a	54,1 a	43,3 a
Humus	80,0 a	133,9 a	62,8 a	41,5 a
Active+Aktywit PM				
BF Quality	92,7 ab	147,5 ab	64,6 ab	43,5 a
Vinassa	84,8 a	108,0 a	59,3 a	41,9 a

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodnie wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.



Drzewko jabłoni 'Topaz'
nawożone NPK
(Szkłarnia IO, 2015).

Drzewko jabłoni 'Topaz'
traktowane BF Quality
(Szkłarnia IO, 2015).

W porównaniu do kontroli NPK, zastosowanie biostymulatorów i obornika wpłynęło na zwiększenie długości, pola powierzchni, objętości i liczby wierzchołków korzeni drzew jabłoni odmiany Topaz (Tabela 8).

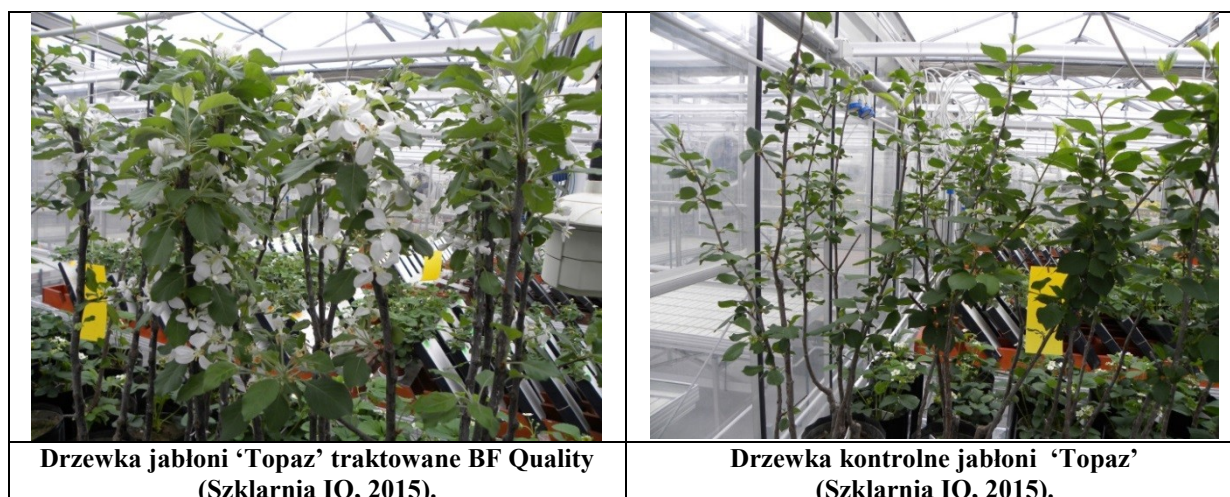
Tabela 8. Wpływ biostymulatorów na cechy wzrostu korzeni drzew jabłoni 'Topaz' (Szkłarnia IO, 2015).

Kombinacja	Długość korzeni [cm/roślinę]	Pole powierzchni korzeni [cm ² /roślinę]	Średnica korzeni [mm/roślinę]	Objętość korzeni [cm ³ /roślinę]	Liczba wierzchołków korzeni [szt./roślinę]
Kontrola NPK	582,62 a	458,48 a	2,61 a	29,60 a	2349 a
Obornik	1317,58 b	733,33 b	2,86 a	44,35 b	4485 b
Humus Active+Aktywit PM	1201,96 b	706,38 b	1,92 a	33,87 ab	4501 b
BF Quality	1461,04 b	761,68 b	1,89 a	34,55 ab	4113 b
Vinassa	1572,99 c	721,47 b	1,55 a	27,67 a	4467 b

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.



Drzewka jabłoni 'Topaz' traktowane BF Quality
(Szkłarnia IO, 2015).

Drzewka kontrolne jabłoni 'Topaz'
(Szkłarnia IO, 2015).

Aplikacja biostymulatora Humus Active + Aktywitu PM wpłynęła na zwiększenie świeżej i suchej masy korzeni oraz nadziemnej części roślin wiśni odmiany Sabina, w porównaniu do drzew kontrolnych (Tabela 9). W porównaniu do kontroli NPK i pozostałych kombinacji doświadczalnych, aplikacja obornika wpłynęła na zwiększenie intensywności zielonej barwy liści

(Tabela 9) oraz długości, pola powierzchni i liczby wierzchołków korzeni drzew wiśni odmiany Sabina (Tabela 10).

Tabela 9. Wpływ biostymulatorów na cechy wzrostu części nadziemnej, korzeni oraz intensywność zielonej barwy liści drzew wiśni 'Sabina' (Szkłarnia IO, 2015).

Kombinacja	Świeża masa części nadziemnej [g/roślinę]	Świeża masa korzeni [g/roślinę]	Sucha masa korzeni [g/roślinę]	Intensywność zielonej barwy liści
Kontrola NPK	56,5 a	98,5 a	44,1 ab	45,0 a
Obornik	51,5 a	73,3 a	38,3 ab	47,1 a
Humus Active+Aktywit PM	60,2 ab	107,5 ab	50,0 b	44,3 a
BF Quality	47,5 a	94,8 a	42,5 ab	45,8 a
Vinassa	46,2 a	67,1 a	37,26 a	44,2 a

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

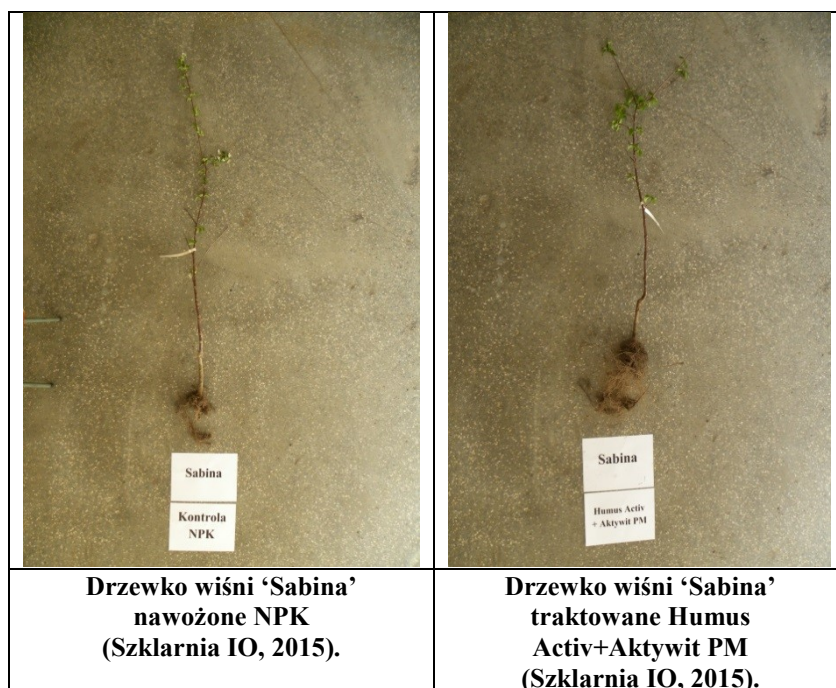


Tabela 10. Wpływ biostymulatorów na cechy wzrostu korzeni drzewek wiśni odmiany Sabina (Szkłarnia IO, 2015).

Kombinacja	Długość korzeni [cm/roślinę]	Pole powierzchni korzeni [cm ² /roślinę]	Średnica korzeni [mm/roślinę]	Objętość korzeni [cm ³ /roślinę]	Liczba wierzchołków korzeni [szt./roślinę]
Kontrola NPK	1444,83 ab	631,02 a	1,37 a	21,95 a	4205 a
Obornik	1705,05 b	741,91 a	1,40 a	25,92 a	4867 a
Humus Active+Aktywit PM	1393,22 ab	692,09 a	1,62 a	29,18 a	3867 a
BF Quality	915,60 a	473,40 a	1,65 a	19,68 a	3291 a
Vinassa	1139,48 ab	507,41 a	1,46 a	18,27 a	3508 a

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.



Doświadczenie wazonowe w szklarni na drzewkach wiśni odmiany Sabina (Szkłarnia IO, 2015r).

W porównaniu do kontroli NPK i obornika, aplikacja biostymulatorów i nawozów organicznych w połączeniu z bakteriami PGPR wpłynęła na poprawę plonowania drzewek jabłoni rosnących w kontenerach. Największy wpływ na średnią długość pędów miał nawóz Inco 2 zastosowany łącznie z bakteriami PGPR, jako kombinacja kontrolna. Wzbogacenie zastosowanych biostymulatorów i nawozów organicznych o pożyteczne bakterie PGPR wpłynęło na zwiększenie plonowania drzew jabłoni (Tabela 11).

Tabela 11. Wpływ bionawozów i pożytecznych mikroorganizmów na plon owoców i wzrost wegetatywny drzew jabłoni 'Topaz' rosnących w kontenerach (IO, Skierniewice, 2015).

Traktowanie	Plon owoców kg/drzewo	Liczba pędów szt./drzewo	Średnia długość pędu [cm]
Kontrola NPK	0,639 b	4.27 a	33.29 a
Kontrola NPK + Bakterie PGPR	0,559 ab	3.66 a	36.80 a
Obornik	0,577 ab	4.22 a	32.66 a
Obornik + Bakterie PGPR	0,541 ab	3.19 a	36.86 a
Substrat mikoryzowy	0,722 b	2.54 a	55.09 a
Substrat mikoryzowy + Bakterie PGPR	1,299 d	3.75 a	35.86 a
Humus UP	1,120 cd	3.29 a	46.07 a
Humus UP + Bakterie PGPR	1,796 e	3.77 a	35.92 a
Humus Active + Aktywit PM	0,827 bc	3.29 a	38.21 a
Humus Active + Aktywit PM + Bakterie PGPR	1,366 de	3.09 a	42.69 a
BF Quality	0,526 ab	3.19 a	52.49 a
BF Quality + Bakterie PGPR	0,786 b	2.45 a	48.30 a
BF Amin	0,542 ab	3.27 a	41.03 a
BF Amin + Bakterie PGPR	0,773 b	2.92 a	45.90 a
Drożdże	0,388 a	2.69 a	54.94 a
Drożdże + Bakterie PGPR	1,222 cd	3.23 a	44.89 a
Vinassa	0,479 ab	2.59 a	50.42 a
Vinassa + Bakterie PGPR	1,281 cd	4.22 a	31.71 a
Inco 2	0,629 b	2.41 a	54.98 a
Inco 2 + Bakterie PGPR	1,132 cd	2.05 a	60.68 a
Inco 1	0,746 b	4.12 a	37.24 a
Inco 1 + Bakterie PGPR	0,947 c	2.68 a	45.55 a

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

Zastosowanie pożytecznych bakterii PGPR z obornikiem korzystnie wpłynęło na liczbę owoców, natomiast aplikacja Vinassy oraz łączna aplikacja Vinassy i bakterii PGPR zwiększyły plon i wielkość owoców jabłoni odmiany Topaz (Tabela 12).

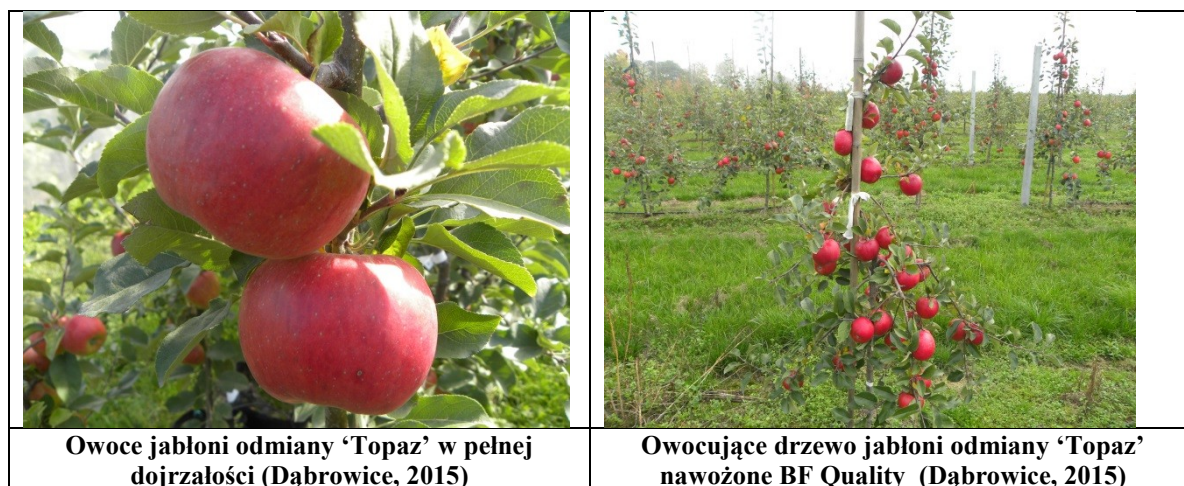
Tabela 12. Wpływ bionawozów i mikroorganizmów na plon, liczbę owoców oraz wielkość owoców jabłoni ‘Topaz’ w porównaniu z kontrolą NPK – wybrane kombinacje – Sad Doświadczalny – Dąbrowice 2015.

Kombinacje	Liczba owoców szt./drzewo	Plon owoców kg/drzewo	Średnia wielkość owoców [g/owoc]
Kontrola NPK	27,7 ab	4,68 b	190,9 ab
Kontrola NPK + Bakterie PGPR	27,0 ab	4,52 b	205,7 b
Obornik	24,3 a	4,24 b	177,2 a
Obornik + Bakterie PGPR	32,2 b	5,19 c	173,2 a
Substrat mikoryzowy	21,9 a	3,10 a	180,9 ab
Substrat mikoryzowy + Bakterie PGPR	31,1 b	4,81 bc	177,4 a
Vinassa	29,8 b	5,27 c	202,5 b
Vinassa + Bakterie PGPR	29,3 b	5,53 c	200,9 b

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

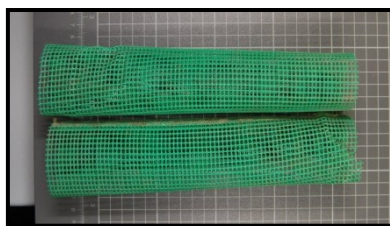
Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.



Metoda siatek korzeniowych (The ingrowth-core method) umożliwiła zbadanie wpływu różnych bioproduktów na wzrost korzeni dwóch odmian truskawki ‘Elsanta’ i ‘Elkat’ w warunkach polowych. Najsilniejszą stymulację rozwoju systemu korzeniowego zaobserwowano po aplikacji preparatów: Micosat F, Humus UP, Humus Active + Aktywit PM oraz po zastosowaniu obornika. Najsłabiej rozwinięty system korzeniowy miały rośliny nawożone standardowo NPK.



					
Siatki korzeniowe w doświadczeniu polowym na roślinach truskawki (Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2015).					
					
Obrazy korzeni roślin truskawki odmiany 'Elsanta'(z lewej) i 'Elkat' (z prawej) analizowane z zastosowaniem skanera korzeniowego.					

PODSUMOWANIE

Uzyskane wyniki doświadczeń szklarniowych i polowych wskazują, że aplikacja biostymulatorów – Micosat F, Humus UP, Humus Active + Aktywit PM, BF Quality i Vinassa oraz obornika korzystnie wpływają na wzrost części nadziemnej i systemu korzeniowego roślin truskawki odmian Elkat i Honeoye oraz drzewek jabłoni odmiany Topaz i wiśni odmiany Sabina.

Podzadanie nr 3. Określenie wpływu nowych konsorcjów mikrobiologicznych i bioproduktów na mikrobiologię gleby.

WSTĘP

Aktywność pożytecznej mikroflory w ryzosferze jest nie tylko jednym z czynników warunkujących prawidłowy wzrost roślin, ale także ważnym potencjalnym źródłem ich odporności na choroby infekcyjne. Dzięki bakteriom ryzosferowym i grzybom mikoryzowym zwiększa się powierzchnia chłonna korzeni roślin oraz efektywność pobierania przez rośliny składników mineralnych, głównie fosforu, potasu, magnezu i innych makroelementów oraz mikroelementów. Grzyby mikoryzowe i bakterie ryzosferowe są także stosowane na glebach zdegradowanych jako naturalne biofiltry, neutralizujące i akumulujące chemiczne zanieczyszczenia gleb. Jednym z głównych czynników zapewniających optymalne przemiany substancji organicznej w glebach jest odpowiednia wielkość populacji i aktywność pożytecznych mikroorganizmów. Ubożenie i postępująca degradacja gleb rolniczych i ogrodniczych oraz choroby replantacji stwarzają potrzebę opracowania mikrobiologicznych technologii uprawy i nawożenia roślin opartych na naturalnych bioproduktach organicznych wzbogaconych mikrobiologicznie (bakterie, grzyby mikoryzowe i grzyby strzępkowe) w celu zwiększenia w ryzosferze bioróżnorodności i populacji pożytecznych mikroorganizmów oraz ich antagonistycznego oddziaływania na mikroorganizmy szkodliwe.

CEL BADAŃ

Celem badań była ocena przydatności konsorcjów mikrobiologicznych i bioproduktów w uprawach ekologicznych poprzez monitoring stabilności komponentów mikrobiologicznych w biopreparatach oraz w korzeniach i w glebie ryzosferowej, po różnym okresie czasu od ich zastosowania. W celu określenia trwałości mikrobiologicznych komponentów bioproduktów

wykonano monitoring stabilności mikrobiologicznej w tych produktach przed- i po ich aplikacji przy użyciu zintegrowanych metod klasycznych, biochemicznych i molekularnych. Do tego celu niezbędne były techniki biologii molekularnej oparte na analizie DNA mikroorganizmów. Umożliwiają one identyfikację mikroorganizmów wchodzących w skład konsorcjów mikrobiologicznych i biopreparatów w glebie po aplikacji bioproduktów. Techniki molekularne umożliwiają określenie wzorów DNA (fingerprint) oraz sekwencji DNA szczepów bakterii i grzybów mikroskopowych, na podstawie których można porównać tożsamość szczepów mikroorganizmów zawartych w bioproduktach i pozyskanych z gleby/korzeni po ich zastosowaniu.

METODYKA BADAŃ

W ramach tego podzadania badano wpływ biostymulatorów, kompostu i inokulów bakteryjno-mikoryzowych na zwiększenie zawartości próchnicy w glebie i rozwój poszczególnych mikroorganizmów żyjących w glebie. Identyfikację biochemiczną bakterii i grzybów mikroskopowych przeprowadzono na podstawie metabolizmu związków węgla przy użyciu systemu identyfikacji mikroorganizmów BIOLOG. Ogólną liczbę bakterii oszacowano metodą kolejnych rozcieńczeń, wysiewanych po 100 µl zawiesiny na szalki Petriego zawierające podłoże Tryptone Soy Agar 20% (TSA), (Vieira i Nahas, 2005) a ogólną liczbę grzybów strzępkowych wysiewając po 100 µl zawiesiny na szalki Petriego zawierające podłoże Rose Bengal Chloramphenicol Agar (Chang i in., 2007). Identyfikacja grzybów mikoryzowych odbywała się poprzez założenie kultur pułapkowych z roślinami *Plantago lanceolata*. Z założonych kultur, po 6 miesiącach hodowli, pobrano po 200g gleby a następnie izolowano i identyfikowano zarodniki. Identyfikację zarodników wykonano na podstawie ich wielkości, rozmiaru, kształtu, koloru i grubości warstw ścian zarodników według klucza Schüßlera i Walkera (2010). W okresie od VI do IX 2015 r. oceniano również stopień asocjacji mikoryzowej w korzeniach badanych gatunków roślin sadowniczych. Próby korzeni (po 10 g z każdego powtórzenia dla każdego gatunku, z każdej odmiany oraz traktowania) pobrano z rizosfery roślin truskawki (VI-VII 2015r.), wiśni (VII - VIII 2015 r.) oraz jabłoni (VIII - IX 2015 r.). Następnie próby wybarwiono wg metody opracowanej w Pracowni Rizosfery (Derkowska i in. 2013, 2015) i poddano analizie mikroskopowej wg metody Trouvelot (1986), program MYCOCALC: <http://www2.dijon.inra.fr/mychintec/Mycocalc-prg/download.html>. Określono stopień frekwencji mikoryzowej, intensywność mikoryzową oraz obfitość arbuskul. Wykonano również dokumentację fotograficzną zaobserwowanych struktur mikoryzowych w korzeniach. Identyfikację molekularną bakterii prowadzono przy użyciu technik rep-PCR (repetitive sequences-PCR, polimorfizm DNA sekwencji powtarzalnych, (Ishii i Sadowsky, 2009), ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis, czyli analiza restrykcyjna amplifikowanych fragmentów DNA (Aquilanti i in., 2004) oraz analizy sekwencji DNA genu rybosomalnego 16S rRNA. Identyfikację molekularną grzybów mikroskopowych prowadzono w oparciu o analizę sekwencji DNA regionu ITS genu rybosomalnego. Identyfikację molekularną arbuskularnych grzybów mikoryzowych prowadzono z użyciem techniki zagnieżdżonego PCR ze starterami amplifikującymi region LSU rDNA i specyficznymi dla rodzajów *Glomus*, *Acaulospora* i *Scutellospora*.

WYNIKI

Wyniki doświadczenia przeprowadzonego w warunkach polowych na roślinach truskawki odmiany Elsanta wskazują na korzystne działanie konsorcjów bakteryjnych i zastosowanych bioproduktów na populację mikroorganizmów zasiedlających glebę rizosferową. Aplikacja konsorcjów bakteryjnych: PGPR A (PGPR – Plant Growth Promoting Rhizobacteria), PGPR B i PGPR C oraz bioproduktów takich jak Vinassa, Rhizocell oraz kompostu spowodowały zmniejszenie ogólnej liczebności bakterii w rizosferze (Tabela 1). Zastosowanie konsorcjum PGPR C wraz z Vinassą spowodowało zwiększenie ogólnej liczebności bakterii zasiedlających rizosferę, w tym pożytecznych bakterii wytwarzających przetrwalniki, diazotrofów, promieniowców oraz grzybów mikroskopowych. Łączna aplikacja kompostu, mikoryzy i konsorcjum PGPR C wpłynęła na zwiększenie liczebności pożytecznych bakterii wytwarzających formy przetrwalnikowe, promieniowców oraz grzybów mikroskopowych. Nawożenie mineralne NPK oraz organiczne

preparatem Vinassa i kompostem zwiększyło liczebność pożytecznych grzybów mikroskopowych w rizosferze roślin objętych projektem (Tabela 1).

Tabela 1. Wpływ bioproduktów na liczebność grup mikroorganizmów w rizosferze roślin truskawki odmiany Elsanta (Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2015).

Traktowanie	Ogólna liczebność bakterii [jtk x 10 ⁵ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność bakterii wytwarzających formy przetrwalnikowe [jtk x 10 ⁴ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność fluorescencyjnych bakterii z rodzaju <i>Pseudomonas</i> [jtk x 10 ³ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność diazotrofów [jtk x 10 ⁵ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność promieniowców [jtk x 10 ⁴ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność grzybów mikroskopowych [jtk x 10 ³ x g ⁻¹]
Kontrola (bez nawożenia)	65.6 de	28.6 ab	21.7 b	48.2 g	38.4 c-e	58.3 ab
Kontrola NPK	55.5 bc	29.6 ab	99.9 e	31.1 ef	52.9 fg	121.8 de
Substrat mikoryzowy	28.2 a	44 b-e	0.5 a	14.9 a-c	20.5 a	53.9 a
PGPR A	29.5 a	53.2 d-f	1.1 a	15.2 a-c	21.8 ab	71.6 a-c
PGPR B	44.4 ab	65 fg	0.6 a	3.7 a	58.3 gh	53.4 a
PGPR C (A+B)	34.4 a	51.8 c-f	7.2 a	29.1 d-f	19.7 a	89.2 c
Substrat mikoryzowy + PGPR C	70.9 cd	60.9 e-g	1.2 a	35.8 ef	69 h	128.1 e
Kompost + PGPR C	78 de	71.4 g	1 a	40.9 fg	83 i	79.2 a-c
Vinassa + PGPR C	132 f	107.8 h	3.7 a	86.9 h	60.4 gh	97.3 cd
Kompost	56.2 bc	33.8 a-c	36 c	26.8 c-e	45.9 ef	98.1 cd
Vinassa	40 ab	28.6 ab	47.6 d	11.8 ab	33.8 b-d	84.5 bc
Humus UP	92.2 e	65.3 fg	0.7 a	18.8 b-d	66.8 h	84.9 bc
Humus UP + PGPR C	41 ab	24.2 a	0.6 a	13.2 ab	42.8 d-f	76.5 a-c
Rhizocell	40.7 ab	41.5 a-d	0.7 a	10.2 ab	28.6 a-c	59.8 ab

jtk – jednostki tworzące kolonie.

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

Wyniki doświadczeń polowych na roślinach jabłoni odmiany Topaz wskazują na korzystny wpływ konsorcjów bakteryjnych i bioproduktów takich jak Vinassa i kompost na populację mikroorganizmów zasiedlających glebę rizosferową. Łączne zastosowanie preparatu Vinassa z konsorcjum bakteryjnym PGPR C zwiększyło ogólną liczebność bakterii w rizosferze (Tabela 2). Łączna aplikacja konsorcjum PGPR C oraz Vinassy zwiększyła również populację fluorescencyjnych bakterii z rodzaju *Pseudomonas* oraz ogólną liczebność diazotrofów, w porównaniu do standardowego nawożenia NPK.

Tabela 2. Wpływ bioproduktów na liczebność grup mikroorganizmów wyizolowanych z rizosfery jabłoni odmiany Topaz (Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2015).

Traktowanie	Ogólna liczebność bakterii [jtk x 10 ⁵ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność bakterii wytwarzających formy przetrwalnikowe [jtk x 10 ⁴ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność fluorescencyjnych bakterii z rodzaju <i>Pseudomonas</i> [jtk x 10 ³ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność diazotrofów [jtk x 10 ⁵ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność promieniowców [jtk x 10 ⁴ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność grzybów mikroskopowych [jtk x 10 ³ x g ⁻¹]
Kontrola NPK	69.1 a	102.3 b	2.5 a	18.9 a	46.3 ab	50 ab
Substrat mikoryzowy	98.7 ab	50.1 a	28.8 a	17.7 a	68 bc	87.1 c
PGPR C	126.4 b	86.1 b	119.3 c	41.8 ab	257.2 e	39.1 a
Substrat mikoryzowy + PGPR C	118.4 b	41.8 a	139.0 cd	53.4 ab	114 d	61.3 b
Kompost +	73.3 a	44.0 a	76.3 b	49.7 ab	90.4 cd	83.9 c

PGPR C						
Vinassa + PGPR C	171.5 c	94.7 b	171.5 d	99.9 b	234.8 e	52.2 ab
Vinassa	69.9 a	50.9 a	33.3 a	33.1 a	32.4 ab	54.6 ab
Kompost	54.9 a	61.8 a	19.4 a	20.8 a	17.9 a	89.6 c

jtk – jednostki tworzące kolonie.

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10). Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$. Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

W porównaniu do kontroli i pozostałych kombinacji doświadczalnych łączna aplikacja Vinassy i Konsorcjum PGPR C wpłynęła na istotne zwiększenie ogólnej liczebności bakterii i liczebności diazotrofów w ryzosferze wiśni (Tabela 3). Aplikacja Vinassy zwiększyła populację bakterii wytwarzających formy przetrwalnikowe, a zastosowanie mikoryzy istotnie zwiększyło wielkość populacji bakterii fluorescencyjnych z grupy *Pseudomonas*.

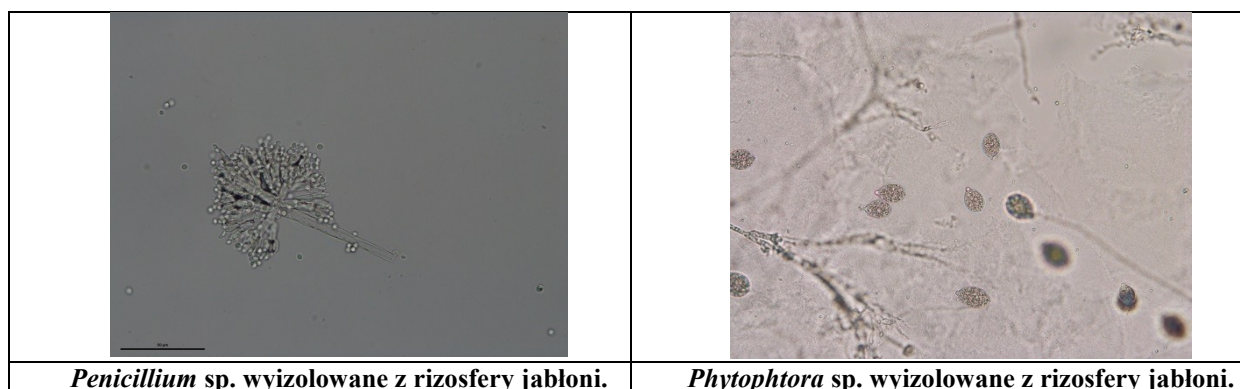
Tabela 3. Porównanie liczebności analizowanych grup mikroorganizmów wyizolowanych z ryzosfery wiśni odmiany Debreceni Bőtermo (Dąbrowice, 2015).

	Ogólna liczebność bakterii [jtk x 10 ⁵ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność bakterii wytwarzających formy przetrwalnikowe [jtk x 10 ⁴ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność fluorescencyjnych bakterii z rodzaju <i>Pseudomonas</i> [jtk x 10 ³ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność diazotrofów [jtk x 10 ⁵ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność promieniowców [jtk x 10 ⁴ x g ⁻¹]	Ogólna liczebność grzybów mikroskopowych [jtk x 10 ³ x g ⁻¹]
Kontrola NPK	123.7 c	50.7 a	22.3 a	38 ab	54.7 d	59.5 c
Substrat mikoryzowy	91.8 bc	49 a	720.3 b	54.1 b	38 bc	51.2 bc
PGPR C	86.1 b	51.3 a	64.6 a	107.9 c	18.5 a	52.5 bc
Substrat mikoryzowy + PGPR C	39.6 a	40.3 a	22.7 a	16.4 a	31.5 ab	39.6 ab
Kompost + PGPR C	45.2 a	52.8 a	49.5 a	40.5 ab	37.6 bc	40.5 ab
Vinassa + PGPR C	276.4 d	112.7 b	18.3 a	178.5 d	45.8 cd	40.2 ab
Vinassa	113.1 bc	194.1 c	12.5 a	49.7 b	36.5 bc	37.2 a

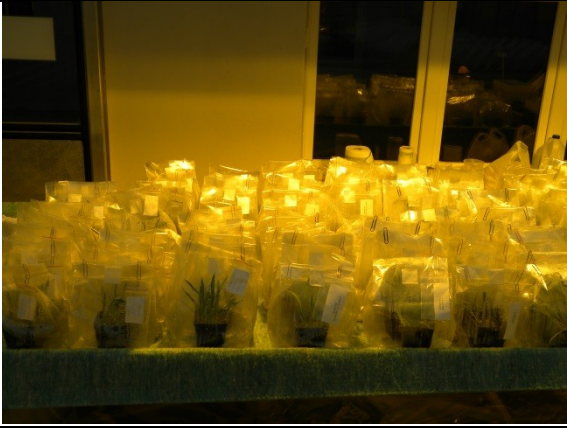
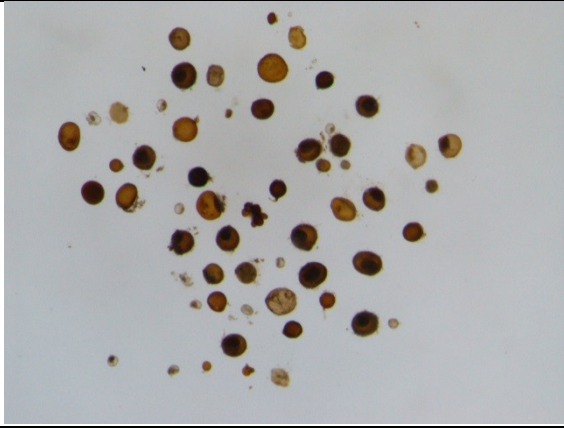
jtk – jednostki tworzące kolonie.

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$. Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.



Wpływ bioproduktów mikrobiologicznych na występowanie gatunków arbuskularnych grzybów mikoryzowych (AGM – Arbuskularne Grzyby Mikoryzowe) i formowanie zarodników w ryzosferze truskawki, jabłoni i wiśni.

	
Kultury pułapkowe AGM rośliny <i>Plantago lanceolata</i> (Szkłarnia, 2015).	Zarodniki grzybów AGM wyizolowane z gleby ryzosferowej (Kultury pułapkowe, Szkłarnia IO, 2015).

W doświadczeniach szklarniowych i polowych wykazano korzystne działanie konsorcjów mikrobiologicznych oraz bioproduktów mikrobiologicznych na występowanie gatunków grzybów mikoryzowych oraz formowanie zarodników w ryzosferze roślin truskawki odmiany Elsanta i Elkat. Łączna aplikacja substratu mikoryzowego i konsorcjum mikrobiologicznego PGPR C zwiększyła liczbę zarodników arbuskularnych grzybów mikoryzowych (AGM - Arbuskularne Grzyby Mikoryzowe, nazwa angielska: AMF – Arbuscular Micorrhizal Fungi) w ryzosferze roślin truskawki odmiany Elkat. Zastosowanie konsorcjów mikrobiologicznych PGPR A, B i C oraz konsorcjum bakteryjnego miało korzystny wpływ na obecność zarodników w ryzosferze truskawki, w porównaniu do roślin kontrolnych (Tabela 4). W ryzosferze roślin kontrolnych truskawki odmiany Elkat i Elsanta odnotowano jeden gatunek grzyba AGM – *Claroideoglomus claroideum*. W ryzosferze roślin truskawki odmiany Elkat nawożonych NPK i traktowanych kompostem stwierdzono gatunek *Funneliformis mosseae*, natomiast u odmiany Elsanta zidentyfikowano – *Claroideoglomus claroideum*. W pozostałych kombinacjach w ryzosferze odmiany Elkat i Elsanta zidentyfikowano dwa gatunki grzybów mikoryzowych *Claroideoglomus claroideum* i *Funneliformis mosseae* (Tabela 4).

Tabela 4. Wpływ bioproduktów na liczbę zarodników i gatunków grzybów mikoryzowych (AGM) w ryzosferze truskawki odmiany Elkat i Elsanta (Doświadczenie wazonowe, Dąbrowice 2015).

Traktowanie	Liczba spor w 100 g gleby		Gatunek AGM	
	ELKAT	ELSANTA	ELKAT	ELSANTA
Kontrola (bez nawożenia)	19 ab	14 ab	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>
Kontrola NPK	9 a	8 a	<i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>
Kompost	27 bc	23 b	<i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>
PGPR A	33 cd	26 b	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>
PGPR B	31 cd	33 cd	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>
PGPR C	30 c	28 bc	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>

Vinassa	25 b	31 cd	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>
Rhizocell	30 c	23 b	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>
Konsorcjum bakteryjne	30 c	29 bc	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>
Substrat mikoryzowy	37 e	35 d	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>
Substrat mikoryzowy + PGPR C	38 e	36 d	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>
Inco 2 + NPK	23 b	26 b	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>
Vinassa + PGPR C	26 b	29 bc	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>
Kompost + PGPR C	29 bc	35 d	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis mosseae</i>

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.



Wyniki przeprowadzonych badań polowych wskazują na pozytywne działanie zastosowanych bioproduktów na liczbę zarodników w ryzosferze drzew jabłoni odmian Topaz i Ariwa. Łączna aplikacja biopreparatów Humus Active i Aktywitu PM wpłynęła na zwiększenie liczby zarodników w ryzosferze jabłoni badanych odmian w odniesieniu do kontroli (Tabela 5). Nawożenie standardowe NPK w największym stopniu ograniczało formowanie zarodników grzybów AGM w ryzosferze jabłoni, co wskazuje na niekorzystny wpływ nawożenia mineralnego na występowanie grzybów mikoryzowych. W ryzosferze kontrolnych drzew jabłoni Topaz i Ariwa (Kontrola – bez nawożenia, Nawożenie NPK i obornik) odnotowano jeden gatunek grzyba AGM – *Rhizophagus fasciculatus*. Natomiast w ryzosferze jabłoni odmian Topaz i Ariwa rosnących w pozostałych

kombinacjach odnotowano dwa gatunki AGM - *Rhizophagus fasciculatus* i *Scutellospora dipurpurescens* (Tabela 5).

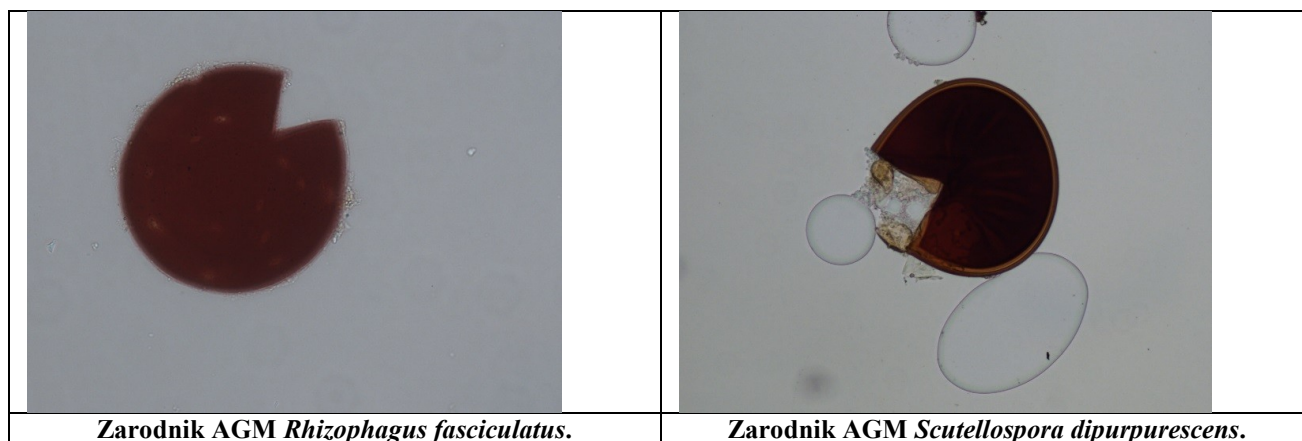
Tabela 5. Wpływ biopreparatów na liczbę spor i występowanie gatunków AGM w ryzosferze jabłoni odmian Topaz i Ariwa (Doświadczenie polowe, Dąbrowice, 2015).

Traktowanie	Liczba spor w 100 g gleby		Gatunek AGM	
	TOPAZ	ARIWA	TOPAZ	ARIWA
Kontrola (bez nawożenia)	12 a	14 a	<i>Rhizophagus fasciculatus</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i>
Kontrola NPK	7 a	5 a	<i>Rhizophagus fasciculatus</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i>
Obornik	11 a	8 a	<i>Rhizophagus fasciculatus</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i>
Micosat F	28 bc	25 bc	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>
Humus UP	21 abc	20 abc	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>
Humus Active + Aktywit PM	31 c	30 c	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>
BF Quality	13 a	10 a	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>
BF Amin	21 abc	23 abc	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>
Tytanit	8 a	9 a	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>
Vinassa	13 a	15 ab	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>
Inco 2	17 ab	12 a	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>
Inco 1	16 ab	14 ab	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i> <i>Scutellospora dipurpurescens</i>

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.



Zastosowanie biopreparatów Micosat F oraz Vinassa w polowej uprawie wiśni odmian Sabina i Debreceni Bötermo korzystnie wpłynęło na liczbę zarodników w ryzosferze badanych odmian. W strefie korzeni roślin kontrolnych stwierdzono istotnie mniejszą liczbę zarodników w odniesieniu do pozostałych traktowań (Tabela 6). W kombinacjach kontrolnych (kontrola – bez nawożenia, Nawożenie NPK, obornik) w ryzosferze odmian wiśni Sabina i Debreceni Bötermo stwierdzono obecność jednego gatunku AGM - *Claroideoglomus claroideum*. W ryzosferze odmian wiśni Sabina i Debreceni Bötermo rosnących w pozostałych kombinacjach doświadczalnych odnotowano występowanie dwóch gatunków grzybów AGM - *Claroideoglomus claroideum* i *Funneliformis caledonium* (Tabela 6).

Tabela 6. Wpływ biopreparatów na liczbę spor i występowanie gatunków AGM w ryzosferze wiśni odmian Sabina i Debreceni Bötermo (2015).

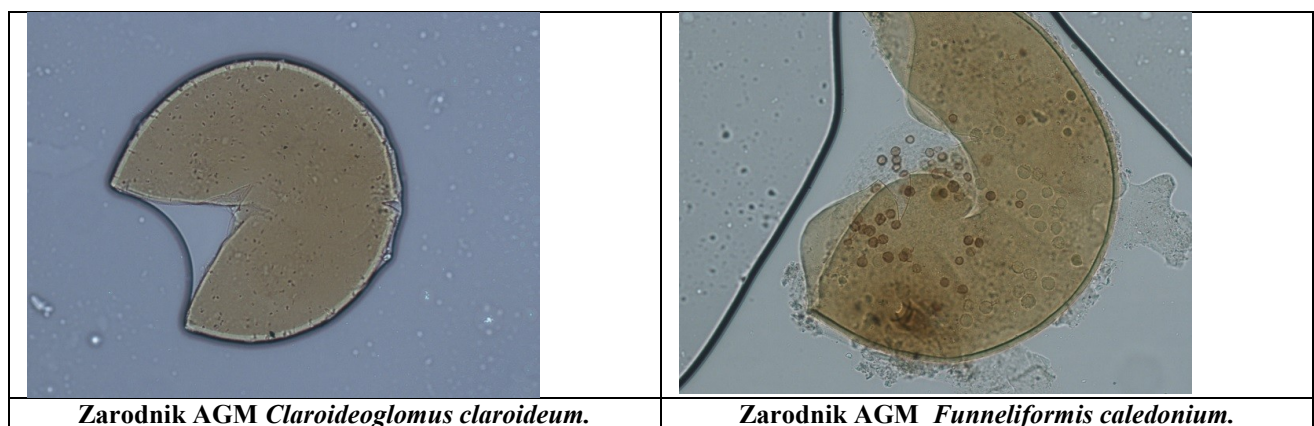
Traktowanie	Liczba spor w 100 g gleby		Gatunek AGM	
	SABINA	DEBRECENI BÖTERMO	SABINA	DEBRECENI BÖTERMO
Kontrola (bez nawożenia)	12 a	10 a	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>
Kontrola NPK	6 a	7 a	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>
Obornik	16 a	15 a	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>
Micosat F	32 b	34 b	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis caledonium</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis caledonium</i>
Humus UP	12 a	13 a	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis caledonium</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis caledonium</i>
Humus Active + Aktywit PM	20 ab	24 ab	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis caledonium</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis caledonium</i>
BF Quality	12 a	10 a	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis caledonium</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis caledonium</i>
BF Amin	14 a	13 a	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis caledonium</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis caledonium</i>
Tytanit	18 ab	20 ab	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>
Vinassa	35 b	32 b	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis caledonium</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Funneliformis caledonium</i>
Inco 2	10 a	11 a	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>

			<i>Funneliformis caledonium</i>	<i>Funneliformis caledonium</i>
			<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>
Inco 1	15 a	16 a	<i>Funneliformis caledonium</i>	<i>Funneliformis caledonium</i>

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodnie wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.



Wpływ konsorcjów mikrobiologicznych i biopreparatów na stopień frekwencji mikoryzowej (F%) oraz intensywności mikoryzowej (M%) w korzeniach truskawki, jabłoni i wiśni.

Uzyskane wyniki doświadczenia wskazują na pozytywne działanie konsorcjów mikrobiologicznych oraz bioproduktów na stopień asocjacji mikoryzowej w korzeniach roślin truskawki odmian Elsanta i Elkat. Łączna aplikacja substratu mikoryzowego oraz konsorcjum mikrobiologicznego PGPR C w największym stopniu wpłynęła na zwiększenie zasiedlania korzeni roślin truskawki badanych odmian przez grzyby AGM. Należy również zauważyć, iż zastosowanie konsorcjów mikrobiologicznych PGPR A, B i C oraz konsorcjum bakteryjnego miało korzystny wpływ na obecność grzybów mikoryzowych w korzeniach roślin truskawki, w porównaniu do roślin kontrolnych. Nawożenie standardowe NKP miało negatywny wpływ na stopień frekwencji mikoryzowej w korzeniach roślin truskawki (Tabela 7).

Tabela 7. Wpływ konsorcjów mikrobiologicznych i biopreparatów na stopień frekwencji mikoryzowej (F%) oraz intensywności mikoryzowej (M%) w korzeniach truskawki odmian Elkat i Elsanta (Doświadczenie polowe, Dąbrowice, 2015).

Traktowanie	F%		M%	
	ELKAT	ELSANTA	ELKAT	ELSANTA
Kontrola (bez nawożenia)	18.89 ab	15.56 ab	0.19 ab	0.16 ab
Kontrola NPK	10.0 a	8.89 a	0.10 a	0.09 a
Kompost	26.67 bc	23.33 b	0.27 b	0.23 b
PGPR A	34.44 cd	25.56 b	0.34 bc	0.26 b
PGPR B	32.22 cd	34.44 cd	0.32 bc	0.34 bc
PGPR C	30.0 c	28.89 bc	0.30 bc	0.29 b
Vinassa	25.56 b	30.0 c	0.26 b	0.30 bc
Rhizocell	30.0 c	23.33 b	0.30 bc	0.23 b
Konsorcjum bakteryjne	31.11 c	28.89 bc	0.31 bc	0.29 b
Substrat mikoryzowy	36.67 de	34.44 cd	0.37 cd	0.34 bc
Substrat mikoryzowy + PGPR C	37.78 de	36.67 d	0.38 d	0.37 cd
Inco 2 + NPK	23.33 b	25.56 b	0.23 b	0.26 b
Vinassa + PGPR C	25.56 b	28.89 bc	0.26 b	0.29 b
Kompost + PGPR C	28.89 bc	34.44 cd	0.29 b	0.34 bc

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10). Grupy jednorodnie wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$. Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

Wyniki doświadczenia potwierdzają korzystny wpływ aplikacji pożytecznych mikroorganizmów glebowych na występowanie grzybów AGM oraz formowanie struktur grzybów mikoryzowych (wezykule, arbuskule, grzybnia i spory) w korzeniach badanych roślin truskawki odmian Elkat, Elsanta i Honeoye. Z obserwacji mikroskopowych wynika, iż po aplikacji substratu mikoryzowego oraz konsorcjum bakteryjno-mikoryzowego, korzenie roślin truskawki badanych odmian były częściej zasiedlane przez arbuskularne grzyby mikoryzowe niż korzenie roślin kontrolnych. Na uwagę zasługuje również fakt, iż zastosowanie konsorcjum bakteryjno-mikoryzowego zwiększyło stopień asocjacji mikoryzowej w korzeniach, jednak różnice te nie były istotne statystycznie (Tabela 8).

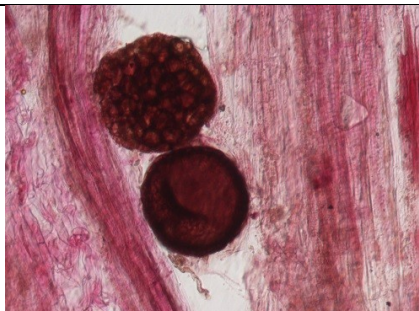
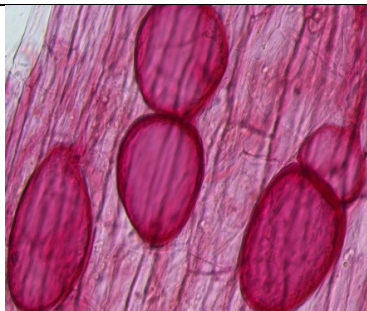
Tabela 8. Wpływ konsorcjów mikrobiologicznych i biopreparatów na stopień frekwencji mikoryzowej (F%) oraz intensywności mikoryzowej (M%) w korzeniach truskawki odmian Elkat, Elsanta i Honeoye (Doświadczenie polowe, Dąbrowice, 2015).

Traktowanie	F%			M%		
	ELKAT	ELSANTA	HONEOYE	ELKAT	ELSANTA	HONEOYE
Kontrola NPK	8.89 ab	7.78 a	7.78 a	0.09 a	0.08 a	0.08 a
Drożdże sproszkowane	10.0 ab	15.55 abc	13.33 ab	0.10 a	0.16 a	0.13 a
Drożdże płynne	7.78 a	11.11 ab	10.0 ab	0.08 a	0.11 a	0.10 a
Substrat mikoryzowy	25.55 c	33.33 d	31.11 cd	0.26 ab	0.33 b	0.31 b
Konsorcjum bakteryjno-mikoryzowe	20.0 bc	23.33 bc	23.34 bc	0.20 ab	0.23 ab	0.23 ab
Konsorcjum + substrat mikoryzowy	16.67 abc	21.11 bc	22.12 bc	0.17 ab	0.21 ab	0.22 ab
Drożdże + konsorcjum bakteryjno-mikoryzowe	7.78 a	11.11 ab	13.33 ab	0.08 a	0.11 a	0.13 a
Drożdże płynne + konsorcjum bakteryjno-mikoryzowe	11.11 ab	8.89 a	15.56 abc	0.11 a	0.09 a	0.16 ab
Inco 1 + NPK	10.0 ab	16.67 abc	16.67 abc	0.10 a	0.17 ab	0.17 ab
Inco 1 + konsorcjum	10.0 ab	15.55 abc	15.55 abc	0.10 a	0.16 ab	0.16 ab
Inco 2 + NPK	14.44 ab	15.56 abc	8.89 a	0.14 a	0.16 ab	0.09 a
Inco 2 + konsorcjum	8.89 a	13.33 ab	10.0 ab	0.09 a	0.13 a	0.10 a

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

		
Zarodniki w korzeniach truskawki odm. Honeoye po aplikacji substratu mikoryzowego (Dąbrowice, 2015).	Wezykule w korzeniach truskawki odm. Elsanta po aplikacji substratu mikoryzowego i konsorcjum PGPR C (Dąbrowice, 2015).	Grzybnia w korzeniach truskawki odm. Elkat po aplikacji konsorcjum bakteryjno-mikoryzowego (Dąbrowice, 2015).

Wyniki przeprowadzonych badań polowych wskazują na pozytywne działanie zastosowanych bioproduktów na stopień asocjacji mikoryzowej oraz formowanie struktur grzybów mikoryzowych w korzeniach drzew jabłoni odmian Topaz i Ariwa. W porównaniu do kontroli, łączna aplikacja biopreparatów Humus Active i Aktywitu PM oraz Micosatu F w największym stopniu wpłynęły na zwiększenie stopnia frekwencji mikoryzowej w korzeniach jabłoni badanych odmian. Nawożenie

standardowe NPK miało negatywny wpływ na zasiedlanie korzeni jabłoni przez grzyby mikoryzowe (Tabela 9).

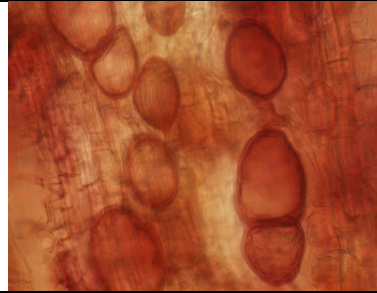
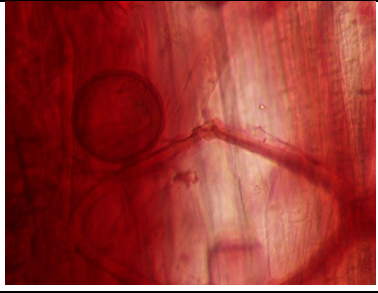
Tabela 9. Wpływ biopreparatów na stopień frekwencji mikoryzowej (F%) oraz intensywności mikoryzowej (M%) w korzeniach jabłoni odmian Topaz i Ariwa (Doświadczenie polowe, Dąbrowice, 2015).

Traktowanie	F%		M%	
	TOPAZ	ARIWA	TOPAZ	ARIWA
Kontrola (bez nawożenia)	12.22 a	13.33 a	0.12 a	0.13 a
Kontrola NPK	10.0 a	8.89 a	0.10 a	0.09 a
Obornik	11.11 a	10.0 a	0.11 a	0.10 a
Micosat F	27.78 bc	26.67 bc	0.28 ab	0.27 ab
Humus UP	21.11 abc	20.0 abc	0.21 ab	0.20 ab
Humus Active + Aktywit PM	31.11 c	30.0 c	0.31 b	0.30 b
BF Quality	12.22 a	11.11 a	0.12 a	0.11 a
BF Amin	21.11 abc	23.33 abc	0.21 ab	0.23 ab
Tytanit	13.33 a	12.22 a	0.13 a	0.12 a
Vinassa	14.45 a	15.56 ab	0.15 a	0.16 a
Inco 2	15.56 ab	13.33 a	0.16 a	0.13 a
Inco 1	15.56 ab	13.33 a	0.16 a	0.13 a

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

		
Wezykule w korzeniach jabłoni odm. Topaz po zastosowaniu biopreparatu Humus Active + Aktywit PM (Dąbrowice, 2015).	Wezykula i grzybnia mikoryzowa w korzeniach jabłoni odm. Ariwa po zastosowaniu biopreparatu Micosat F (Dąbrowice, 2015).	Spora w korzeniach jabłoni odm. Topaz po zastosowaniu biopreparatu Humus Active + Aktywit PM (Dąbrowice, 2015).

Zastosowanie biopreparatów Micosat F oraz Vinassa w polowej uprawie wiśni odmian Sabina i Debreceni Bötermo korzystnie wpłynęło na stopień asocjacji mikoryzowej w korzeniach badanych odmian. Korzenie roślin kontrolnych charakteryzowały się istotnie mniejszym stopniem zasiedlania przez grzyby AGM (Tabela 10).

Tabela 10. Wpływ biopreparatów na stopień frekwencji mikoryzowej (F%) oraz intensywności mikoryzowej (M%) w korzeniach wiśni odmian Sabina i Debreceni Bötermo (Doświadczenie polowe, Dąbrowice, 2015).

Traktowanie	F%		M%	
	SABINA	DEBRECENI BÖTERMO	SABINA	DEBRECENI BÖTERMO
Kontrola	10.0 a	11.11 a	0.10 a	0.11 a
Kontrola NPK	7.78 a	8.89 a	0.08 a	0.09 a
Obornik	15.56 a	14.45 a	0.16 a	0.15 a
Micosat F	30.0 b	31.11 b	0.30 b	0.31 b
Humus UP	13.33 a	14.44 a	0.13 a	0.14 a
Humus Active + Aktywit PM	20.0 ab	23.33 ab	0.20 ab	0.23 ab
BF Quality	10.0 a	8.89 a	0.10 a	0.09 a
BF Amin	13.33 a	12.22 a	0.13 a	0.12 a
Tytanit	15.56 ab	17.78 ab	0.15 ab	0.18 ab
Vinassa	30.0 b	30.0 b	0.30 b	0.30 b
Inco 2	12.22 a	13.33 a	0.12 a	0.13 a
Inco 1	13.33 a	14.44 a	0.13 a	0.14 a

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10). Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$. Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

Wyniki obserwacji mikroskopowych potwierdzają korzystny wpływ biopreparatu Micosat F na stopień frekwencji mikoryzowej oraz formowanie struktur grzybów mikoryzowych w korzeniach wiśni odmian Sabina i Debreceni Bötermo. (Tabela 11).

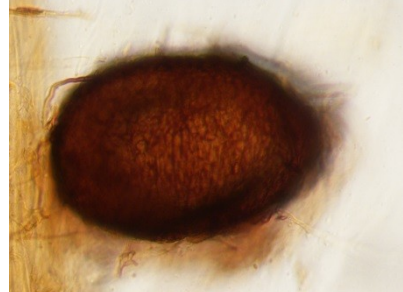
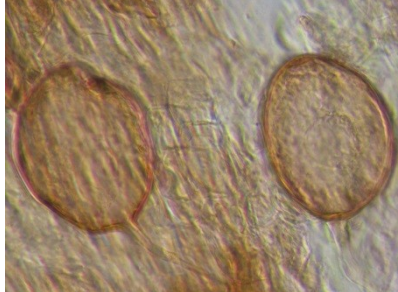
Tabela 11. Wpływ biopreparatów na stopień frekwencji mikoryzowej (F%) oraz intensywności mikoryzowej (M%) w korzeniach wiśni odmian Sabina i Debreceni Bötermo (Doświadczenie polowe, Dąbrowice, 2015).

Traktowanie	F%		M%	
	SABINA	DEBRECENI BÖTERMO	SABINA	DEBRECENI BÖTERMO
Kontrolna – bez nawożenia	15.56 ab	20.0 ab	0.16 a	0.20 ab
Nawożenie NPK	8.89 a	10.0 a	0.09 a	0.10 a
Obornik	26.67 bc	22.11 b	0.27 ab	0.22 ab
Micosat F	33.33 d	31.11cd	0.33 b	0.31 b
Humus Active + Aktywit PM	28.89 c	27.78 c	0.29 ab	0.28 ab
Inco 1	28.89 c	26.67 bc	0.29 ab	0.27 ab

Wyniki analizy opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

		
Spora w korzeniach wiśni odm. Debreceni Bötermo po zastosowaniu biopreparatu Micosat F (Dąbrowice, 2015).	Wezykule w korzeniach wiśni odm. Sabina po zastosowaniu biopreparatu Micosat F (Dąbrowice, 2015).	Grzybnia w korzeniach wiśni odm. Debreceni Bötermo po aplikacji biopreparatu Humus Active+Aktywit PM (Dąbrowice, 2015).

Wyniki identyfikacji pożytecznych mikroorganizmów z zastosowaniem technik molekularnych

Identyfikacja mikroorganizmów z użyciem technik molekularnych

Identyfikacja bakterii

Identyfikację szczepów bakterii przeprowadzono dla 16 izolatów pozyskanych z rizosfery roślin sadowniczych takich jak jabłoni, truskawka i wiśnia. Izolaty bakterii wstępnie scharakteryzowano na podstawie cech morfologicznych i właściwości biochemicznych jako należące do trzech grup: z rodzaju *Pseudomonas*, bakterii wiążących azot oraz bakterii chitynolitycznych. DNA izolowano z kolonii bakteryjnych przy użyciu zestawu komercyjnego GeneMatrix Bacterial & Yeast Genomic DNA Purification Kit (EURx) do izolacji DNA z bakterii i drożdży. Koncentrację DNA zmierzono spektrofotometrycznie przy długości fali 260 nm. Do analiz sporządzono rozcieńczenia 10ng/μl DNA. W celu identyfikacji szczepów bakterii zastosowano technikę ARDRA, rep-PCR oraz sekwencjonowanie genu 16S rRNA. Łącznie przeprowadzono reakcje PCR z użyciem 4 par starterów (Tabela 12).

Tab. 12. Startery zastosowane do identyfikacji izolatów bakterii.

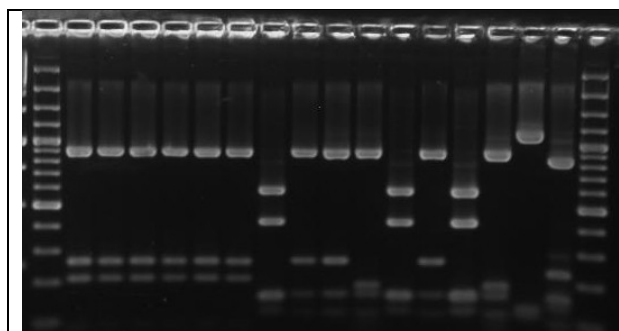
Lp.	Gen/region	Startery	Źródło
1.	16S rRNA	27f /1492r	Lane 1991
2.	Sekwencje powtarzalne	ERIC1R / ERIC2	Louws i in. 1994
3.	Sekwencje powtarzalne	BOXA1R	Louws i in. 1994
4.	Sekwencje powtarzalne	REP1R-I / REP2-I	Louws i in. 1994

Identyfikacja izolatów bakterii z użyciem techniki ARDRA

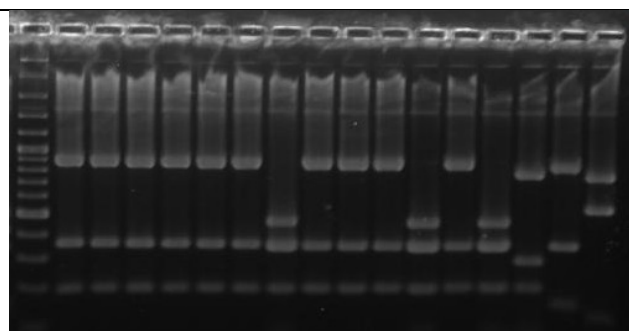
Przy zastosowaniu techniki ARDRA amplifikowano gen 16S rRNA (Lane 1991), a uzyskany produkt PCR trawiono czterema enzymami restrykcyjnymi: *Hae*III, *Rsa*I, *Taq*I oraz *Mbo*I. W zależności od zastosowanego enzymu, dla pojedynczych izolatów bakterii uzyskano od 2 do 4 fragmentów DNA o wielkości od 150 do 1050 pz (Fot. 1, 2). Zastosowanie enzymu *Mbo*I umożliwiło uzyskanie największego zróżnicowania izolatów bakterii i podział ich na 7 grup (Tabela 13). Najmniejsze zróżnicowanie izolatów bakterii uzyskano przy zastosowaniu enzymu *Taq*I (5 grup).

Tab. 13. Wzory RFLP glebowych izolatów bakterii uzyskane w wyniku analizy restrykcyjnej genu 16S rRNA.

Enzym	Wzór RFLP	Liczba uzyskanych fragmentów DNA	Izolat
<i>Hae</i> III	A	3	Ps70AA, Ps80AB, Ps80AA, Ps78AA, Ps78AB, Ps78AC
	B	3	Pi77AA, N81AB2, N81AD
	C	4	N81AC, N81AB, N81AA, N82AA
	D	4	CH78Ai
	E	3	CH78AJ
	F	4	CH78AH
<i>Rsa</i> I	G	3	Ps70AA, Ps80AB, Ps80AA, Ps78AA, Ps78AB, Ps78AC
	H	3	Pi77AA, N81AB2, N81AD
	I	3	N81AC, N81AB, N81AA, N82AA
	J	3	CH78Ai
	K	3	CH78AJ
	L	4	CH78AH
<i>Taq</i> I	M	3	Ps70AA, Ps80AB, Ps80AA, Ps78AA, Ps78AB, Ps78AC, N81AC, N81AB, N81AA, N82AA
	N	3	Pi77AA, N81AB2, N81AD
	O	3	CH78Ai
	P	3	CH78AJ
	R	2	CH78AH
<i>Mbo</i> I	S	3	Ps70AA, Ps80AB, Ps80AA, Ps78AA, Ps78AB, Ps78AC
	T	4	Pi77AA, N81AB2, N81AD
	U	4	N81AC, N81AB, N82AA
	W	4	N81AA
	X	4	CH78Ai
	Y	2	CH78AJ
	Z	4	CH78AH



Fot. 1. Analiza restrykcyjna genu 16S rRNA bakterii z użyciem enzymu *Mbo*I.



Fot. 2. Analiza restrykcyjna genu 16S rRNA bakterii z użyciem enzymu *Taq*I.

Identyfikacja izolatów bakterii w oparciu o sekwencje genu 16S rRNA

W wyniku amplifikacji genu 16S rRNA uzyskano produkt wielkości 1490pz. Otrzymane sekwencje wykazały 95-100% podobieństwo do sekwencji w bazie NCBI (National Center for Biotechnology Information, NIH, Bethesda, MD 20894, USA, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, Tabela 14).

Tab. 14. Izolaty bakterii zidentyfikowane w oparciu o porównanie sekwencji genu 16S rRNA z danymi NCBI (% największego podobieństwa do sekwencji w bazie danych NCBI).

Izolat bakterii	Podobieństwo do sekwencji w bazie NCBI (%)	Identyfikacja
Ps78AA	99	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
Ps78AB	99	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
Ps78AC	99	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
Ps79AA	99	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
Ps80AA	100	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
Ps80AB	99	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
N81AA	99	<i>Burkholderia graminis</i>
N81AB	99	<i>Burkholderia terricola</i>
N81AC	99	<i>Burkholderia terricola</i>
N82AA	99	<i>Burkholderia terricola</i>
Pi77AA	96	<i>Curtobacterium plantarum/Pantoea agglomerans</i>
N81AB2	99	<i>Curtobacterium plantarum/Pantoea agglomerans</i>
N81AD	99	<i>Curtobacterium plantarum/Pantoea agglomerans</i>
CH78AH	95	<i>Paenibacillus chitinolyticus</i>
CH78Ai	99	<i>Mitsuaria chitosanitabida</i>
CH78AJ	99	<i>Rhodococcus sp.</i>

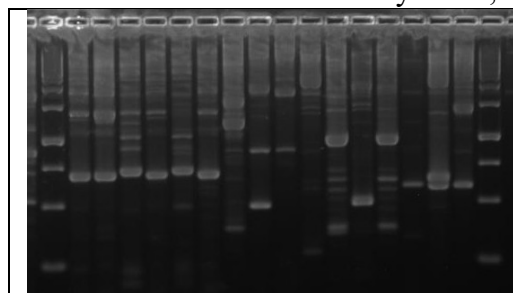
Wyniki uzyskane techniką ARDRA oraz sekwencje genu 16S rRNA pozwoliły zidentyfikować testowane izolaty bakterii w glebie i określić ich przynależność do 6 gatunków należących do 6 rodzajów bakterii (Tabela 15).

Tab. 15. Rodzaje i gatunki izolatów bakterii glebowych zidentyfikowanych na podstawie techniki ARDRA oraz sekwencji genu 16S rRNA.

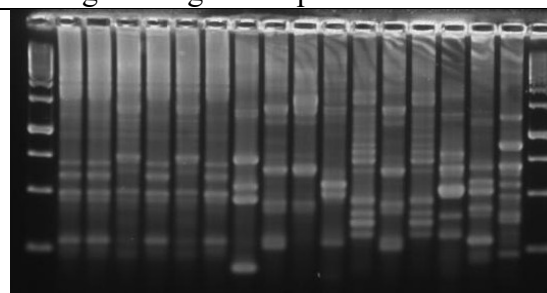
Grupa	Izolaty	Rodzaj/gatunek
I	Ps78AA, Ps78AB, Ps78AC, Ps79AA, Ps80AA, Ps80AB	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
II	Pi77AA, N81AB2, N81AD	<i>Curtobacterium plantarum</i>
III	N81AB, N81AC, N82AA	<i>Burkholderia terricola</i>
IV	N81AA	<i>Burkholderia graminis</i>
V	CH78Ai	<i>Mitsuaria chitosanitabida</i>
VI	CH78AJ	<i>Rhodococcus sp.</i>
VII	CH78AH	<i>Paenibacillus chitinolyticus</i>

Identyfikacja bakterii z użyciem techniki rep-PCR

W celu identyfikacji szczepów bakterii zastosowano technikę rep-PCR, w której przeprowadzono amplifikację powtarzalnych fragmentów DNA w genomie bakterii w reakcjach ze starterami ERIC1R/ERIC2, REP1R-I/ REP2-I oraz BOXA1R (Louws i in., 1994). Najbardziej zróżnicowane profile DNA obserwowano przy użyciu starterów REP1R-I i REP2-I, w reakcjach z którymi uzyskano 13 wzorów DNA (Fot. 3). Mniejszą liczbę wzorów DNA (11) otrzymano w reakcjach ze starterami ERIC1R i ERIC2 oraz BOXA1R (Fot. 4). W wyniku przeprowadzonych analiz nie zróżnicowano trzech izolatów bakterii *Pseudomonas* (Ps78AA, Ps78AC, Ps79AA) oraz dwóch izolatów bakterii wiążących azot (N81AB2, N81AD). Wynik ten wskazuje, że izolaty, u których stwierdzono takie same wzory DNA, mogą należeć do tego samego szczepu bakterii.



Fot. 3. Zróżnicowanie izolatów bakterii glebowych uzyskane techniką rep-PCR ze starterami REP.



Fot. 4. Zróżnicowanie izolatów bakterii glebowych uzyskane techniką rep-PCR ze starterem BOX.

Identyfikacja grzybów mikroskopowych

Do testów przeznaczono siedem izolatów grzybów pozyskanych z rizosfery roślin sadowniczych i kultywowanych na pożywce Rose Bengal Chloramphenicol Agar. DNA izolowano z grzybni przy użyciu zestawu komercyjnego GeneMatrix Plant & Fungi DNA Purification Kit (EURx) do izolacji DNA z roślin i grzybów. DNA oczyszczono przy użyciu zestawu Anty Inhibitor Kit (A&A Biotechnology, Poland). Koncentrację DNA zmierzono spektrofotometrycznie przy długości fali 260nm. Do analiz sporządzono rozcieńczenia 10ng/μl DNA. Identyfikację izolatów grzybów mikroskopowych przeprowadzono na podstawie analizy sekwencji regionu ITS rDNA (internal transcribed spacer rDNA) grzybów (Schoch i in. 2012).

W wyniku amplifikacji regionu ITS rDNA ze starterami ITS4/ITS6 (Zelaya-Molina i in. 2011) w reakcji PCR uzyskano produkty wielkości od 500 pz do 600 pz, które przeznaczono do sekwencjonowania. Uzyskane sekwencje wykazały 99-100% podobieństwa do sekwencji w bazie NCBI (Tab. 16). Uzyskane wyniki pozwoliły zidentyfikować testowane izolaty grzybów mikroskopowych i określić ich przynależność do 5 rodzajów grzybów (Tabela 16).

Tab. 16. Izolaty grzybów mikroskopowych zidentyfikowane w oparciu o porównanie sekwencji regionu ITS rDNA z danymi NCBI (% największego podobieństwa do sekwencji w bazie danych NCBI).

Izolat	Podobieństwo do sekwencji w bazie NCBI (%)	Identyfikacja
PHBD	99	<i>Gibberella avenacea</i>
VL1	100	<i>Lecanicillium lucanii</i>
VL2	99	<i>Lecanicillium lucanii</i>
Phyto AB	99	<i>Plectosphaerella</i> sp.
WTHIAC	99	<i>Trichoderma</i> sp.
WT2	99	<i>Phoma</i> sp.
T31A	99	<i>Trichoderma</i> sp.

Identyfikacja arbuskularnych grzybów mikoryzowych

Do testów przeznaczono próby bioproduktów opartych na biowęgłu i substracie bakteryjno-mikoryzowym, przechowywane przez 12 miesięcy w warunkach szklarniowych, oraz próby gleby pobrane z rizosfery drzew jabłoni traktowanych bioproduktami. DNA z prób izolowano przy użyciu zestawu komercyjnego GeneMATRIX Soil DNA Purification Kit (EURx). Wyekstrahowany DNA oczyszczono przy użyciu zestawu Anty Inhibitor Kit (A&A Biotechnology, Poland). Koncentrację DNA zmierzono spektrofotometrycznie przy długości fali 260nm. Do analiz sporządzono rozcieńczenia 10 ng/μl DNA.

Identyfikację molekularną arbuskularnych grzybów mikoryzowych prowadzono z użyciem techniki zagnieżdżonego PCR ze starterami amplifikującymi region LSU rDNA i specyficznymi dla rodzajów *Glomus*, *Acaulospora* i *Scutellospora* (Golotte i in., 2004). Zastosowanie starterów amplifikujących fragmenty regionu LSU rDNA w reakcji zagnieżdżonego PCR pozwoliło uzyskać fragmenty DNA specyficzne dla grzybów AGM z rodzajów *Glomus*, *Acaulospora* i *Scutellospora* w bioproduktach przechowywanych 12 miesięcy w warunkach szklarniowych oraz w próbkach gleby rizosferowej jabłoni traktowanych bioproduktami (Tabela 17). Grzybem najczęściej występującym w rizosferze był *Glomus mosseae*. Obecność tego gatunku stwierdzono we wszystkich testowanych próbkach gleby. Ponadto, w próbkach gleby stwierdzono obecność grzybów z grup *Glomus* 2, *Glomus* 3 i *Glomus* 5 oraz *Acaulospora* 2, *Acaulospora* 3 i *Scutellospora* 2. W bioproduktach stwierdzono obecność grzybów *Glomus mosseae* oraz grzybów z grup *Glomus* 2 i *Scutellospora* 2.

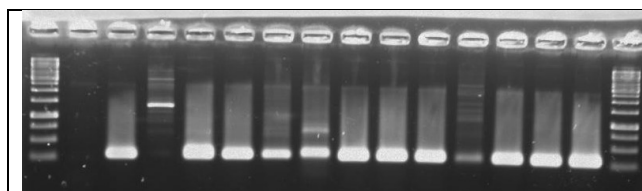
Najwięcej produktów reakcji charakterystycznych dla grzybów mikoryzowych (7) stwierdzono w glebie kontrolnej. Cztery specyficzne dla AGM fragmenty DNA stwierdzono w glebie traktowanej mikroorganizmami, Inco z NPK oraz biowęgłem z nawozem organicznym. Tylko 2 produkty stwierdzono w glebie traktowanej czystym biowęgłem. W próbie biowęgla wzbogaconego mleczkiem drożdżowym uzyskano 3 specyficzne fragmenty DNA, natomiast 2 fragmenty uzyskano w biowęgłu wzbogaconym bioproduktem Humus UP i w substracie mikoryzowo-bakteryjnym. Obecności grzybów AGM nie stwierdzono w czystym biowęgłu oraz w biowęgłu z dodatkiem Vinassy (Tabela 18).

Tab. 17. Obecność grzybów AGM z rodzajów *Glomus*, *Acaulospora* i *Scutellospora* w bioproduktach przechowywanych 12 miesięcy.

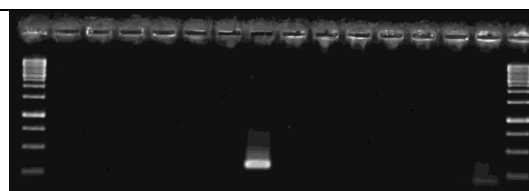
Startery	Wielkość fragmentu DNA	Bioprodukty				
		Biowęgiel	Biowęgiel + Vinassa	Biowęgiel + Humus Up	Biowęgiel + mleczko drożdżowe	Substrat mikoryzowo-bakteryjny
FLR4/ <i>G. mosseae</i>	290	-	-	+	+	+
FLR4/ <i>Glomus</i> 2	300	-	-	-	+	-
FLR4/ <i>Glomus</i> 3	300	-	-	-	-	-
FLR4/ <i>Glomus</i> 4	290	-	-	-	-	-
FLR4/ <i>Glomus</i> 5	290	-	-	-	-	-
FLR4/ <i>Acaulosporaceae</i> 1	280	-	-	-	-	-
FLR4/ <i>Acaulospora</i> 2	280	-	-	-	-	-
FLR4/ <i>Acaulospora</i> 3	270	-	-	-	-	-
FLR4/ <i>Scutellospora</i> 1	270	-	-	-	-	-
FLR4/ <i>Scutellospora</i> 2	260	-	-	+	+	+

Tab. 18. Obecność grzybów AGM z rodzajów *Glomus*, *Acaulospora* i *Scutellospora* w rizosferze drzew jabłoni traktowanych bioproduktami.

Startery	Wielkość fragmentu DNA	Traktowania bioproduktami							
		Kontrola (gleba z rzędu sąsiadującego z doświadczeniem)	Kontrola (gleba nietraktowana na bioproduktami)	Mikroorganizmy 300 g/drzewo	Inco 2	Mikroorganizmy + nawóz organiczny	Biowęgiel	Biowęgiel + mikroorganizmy	Biowęgiel + nawóz organiczny
FLR4/ <i>G. mosseae</i>	290	+	+	+	+	+	+	+	+
FLR4/ <i>Glomus</i> 2	300	-	+	-	+	-	-	+	-
FLR4/ <i>Glomus</i> 3	300	-	+	+		+			+
FLR4/ <i>Glomus</i> 4	290	-	-	-	-	-	-	-	-
FLR4/ <i>Glomus</i> 5	290	-	+	-	-	-	-	-	-
FLR4/ <i>Acaulosporaceae</i> 1	280	-	-	-	-	-	-	-	-
FLR4/ <i>Acaulospora</i> 2	280	+	+	+	+	+	-	-	+
FLR4/ <i>Acaulospora</i> 3	270	-	+	-	-	-	-	-	-
FLR4/ <i>Scutellospora</i> 1	270	-	-	-	-	-	-	-	-
FLR4/ <i>Scutellospora</i> 2	260	+	+	+	+	-	-	+	+



Fot. 5. Identyfikacja grzybów AGM z użyciem starterów specyficznych do gatunku *Glomus mosseae*.



Fot. 6. Identyfikacja grzybów AGM z użyciem starterów specyficznych do grupy *Glomus* 5.

PODSUMOWANIE

Na podstawie uzyskanych wyników, stwierdzono korzystny wpływ zastosowanych konsorcjów mikrobiologicznych oraz biopreparatów na obecność grzybów AGM, liczbę zarodników w rizosferze i stopień asocjacji mikoryzowej w korzeniach badanych odmian truskawki, jabłoni i wiśni. W rizosferze wyżej wymienionych gatunków roślin stwierdzono obecność 5 gatunków AGM: *Claroideoglomus claroideum*, *Funneliformis mosseae*, *Funneliformis*

caledonium, *Rhizophagus fasciculatus* i *Scutellospora dipurpurescens*, co świadczy o zwiększeniu bioróżnorodności grzybów AGM w ryzosferze roślin sadowniczych po aplikacji bioproduktów.

Przeprowadzone testy z użyciem technik molekularnych umożliwiły identyfikację rodzaju lub gatunku szczepów bakterii i grzybów w ryzosferze roślin sadowniczych. Technika ARDRA oraz sekwencjonowanie genu 16S rRNA umożliwiły identyfikację rodzaju lub gatunku bakterii, natomiast technika rep-PCR umożliwiła odróżnienie szczepów bakterii w obrębie gatunku. Przeprowadzone testy umożliwiły wykrycie i identyfikację arbuskularnych grzybów mikoryzowych w bioproduktach lub w próbach gleby ryzosferowej jabłoni po aplikacji bioproduktów mikrobiologicznych. Uzyskane wyniki znajdą zastosowanie w identyfikacji izolatów mikroorganizmów zasiedlających strefę ryzosferową korzeni drzew owocowych i innych gatunków roślin uprawnych. Umożliwi to efektywną selekcję najbardziej wartościowych i ważnych gospodarczo szczepów bakterii korzystnie oddziałujących na rośliny. Ponadto, uzyskane wyniki będą wykorzystane do charakterystyki molekularnej pożytecznych dla roślin mikroorganizmów, zdeponowanych w SYMBIO BANKu Instytutu Ogródnictwa w Skierniewicach.

Identyfikacja pożytecznych mikroorganizmów oraz poznanie współzależności mikroorganizmy-gleba-rośliny sadownicze przyczyni się do wdrożenia do praktyki sadowniczej nowych, przyjaznych dla środowiska biopreparatów mikrobiologicznych, ograniczenia stosowania chemicznych środków produkcji, a w konsekwencji do ochrony środowiska naturalnego i zdrowia człowieka.

LITERATURA

Chang E.H., Chung R.S., Tsai Y.H., 2007. Effect of different application rates of organic fertilizer on soil enzyme activity and microbial population. *Soil Science and Plant Nutrition* 53:132-140.

Derkowska E., Sas Paszt L., Dyki B., Sumorok B., 2015. Assessment of mycorrhizal frequency in the roots of fruit plants using different dyes. *Adv. in Microbiol.*, 5 (1), 54-64.

Derkowska E., Sas Paszt L., Sumorok B., Dyki B., 2013. Colonization of apple and blackcurrant roots by arbuscular mycorrhizal fungi following mycorrhization and the use of organic mulches. *Folia Horticulturae*, 25/2: 117 – 122.

Schüßler A., Walker C. 2010. The *Glomeromycota*: a species list with new families and new genera. Schüßler A, Walker C, Gloucester, Published in libraries at Royal Botanic Garden Edinburgh, Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University; freely available online at www.amf-phylogeny.com

Trouvelot A., Kough J.L., Gianinazzi-Pearson V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. (eds), *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. Inra, Paris, 217-221.

Vieira F.C.S., Nahas E., 2005. Comparison of microbial numbers in soils by using various culture media and temperatures. *Microbiol. Res.*, 160: 197-202.

Podzadanie nr 4. Określanie wpływu nowych bionawozów na wzrost i plonowanie roślin truskawki, jabłoni i wiśni.

WSTĘP

Bakterie ryzosferowe wspomagają rozwój grzybów mikoryzowych, stymulują wzrost i plonowanie wielu gatunków roślin. Badania licznych autorów wskazują, że mikroorganizmy żyjące w naturalnej symbiozie z roślinami uwalniały składniki niezbędne dla prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin. Biostymulatory zawierające związki humusowe oraz bionawozy wzbogacone mikrobiologicznie zwiększają zawartość próchnicy w glebie i aktywność biologiczną ryzosfery, stymulują wzrost i rozwój roślin uprawnych oraz mają działanie ochronne przed patogenami glebowymi i chorobami roślin uprawnych. Dzięki temu rośliny rozwijają się i lepiej rosną, co przekłada się na lepsze plonowanie i jakość produkowanych plonów.

CEL BADAŃ

Celem przeprowadzonych badań w podzadaniu nr 4 było określanie wpływu nowych bionawozów na wzrost i plonowanie roślin truskawki oraz drzew jabłoni i wiśni w warunkach sadu.

METODYKA BADAŃ

Badania wzrostu wegetatywnego roślin jabłoni i wiśni polegały na ocenie siły wzrostu drzew na podstawie pomiarów długości pędów jednorocznych oraz przyrostu pola przekroju poprzecznego pnia (PPPP), a także ocenie intensywności owocowania. Natomiast badania wzrostu wegetatywnego i plonowania roślin truskawki polegały na analizie biomasy części nadziemnej rośliny na podstawie pomiarów liczby i długości pędów, liczby liści, świeżej i suchej masy części nadziemnej roślin, liczby rozłogów oraz liczby i masy owoców. Analizę cech wzrostu systemu korzeniowego roślin wykonano z zastosowaniem zestawu obrazującego Delta-T (Delta-T Devices Ltd, Wielka Brytania). Po zeskanowaniu systemu korzeniowego określono długość, średnicę, pole powierzchni, objętość i liczbę wierzchołków korzeni. Stan odżywienia roślin w składniki mineralne określono na podstawie zawartości makro- i mikro- elementów w części nadziemnej oraz w korzeniach roślin. Plonowanie roślin w przeliczeniu na ha sadu oceniono na podstawie wielkości plonowania drzew (kg/drzewo), masy jednego owocu oraz masy 100 owoców. Ocenę plonowania i wielkości owoców truskawki w polowym doświadczeniu wazonowym określono na podstawie wielkości plonu handlowego (wszystkie owoce klasy Ekstra i I klasy), średniej masy 100 owoców, udziału owoców porażonych przez szarą pleśń w ogólnej liczbie owoców (w %). Ocenę plonowania roślin wykonano trzykrotnie w czasie zbioru owoców.

WYNIKI

Rośliny truskawki odmiany Elsanta rosnące w polowym doświadczeniu wazonowym uformowały największą liczbę rozłogów po aplikacji substratu mikoryzowego i standardowego nawożenia NPK, a najmniejszą rośliny kontrolne i traktowane preparatem Rhizocell. Największą liczbę rozłogów uformowały rośliny mikoryzowane i nawożone NPK zaś największą masę rozłogów miały rośliny nawożone NPK i traktowane preparatem Humus UP + PGPR C. Rośliny nawożone NPK i mikoryzowane miały największą długość rozłogów, liczbę i masę sadzonek rozłogowych (Tabela 1). Wyniki te wskazują na stymulację formowania rozłogów i zwiększenie ich wzrostu wegetatywnego pod wpływem nawożenia NPK i mikoryzacji roślin.

Tabela 1. Wpływ mikroorganizmów i biostymulatorów na formowanie rozłogów i sadzonek rozłogowych przez rośliny truskawki odmiany Elsanta rosnące w doświadczeniu wazonowym (Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2015).

Kombinacje	Liczba rozłogów [szt./ 3 rośliny]	Masa rozłogów [g/ 3 rośliny]	Długość rozłogów [cm/ 3 rośliny]	Liczba sadzonek rozłogowych [szt./ 3 rośliny]	Masa sadzonek rozłogowych [g/ 3 rośliny]
Kontrola (bez nawożenia)	7,3 ab	22,3 a	251,7 a	9,3 a	11,7 a
Kontrola NPK	13,3 bc	91,3 c	630,0 c	22,0 b	66,7 b
Substrat mikoryzowy	15,7 c	73,3 b	660,3 c	22,7 b	46,7 b
Bakterie PGPR A	8,0 a	36,7 ab	362,0 b	12,0 ab	21,7 ab
Bakterie PGPR B	8,3 ab	30,0 ab	334,3ab	11,3 ab	16,7 a
Bakterie PGPR C (A+B)	7,7 ab	38,3 ab	348,0 ab	11,3 ab	25,0 ab
Substrat mikoryzowy + PGPR C	10,3 b	48,3 ab	458,7 bc	13,3 ab	30,0 b
Obornik + PGPR C	9,0 ab	38,3 ab	436,7 bc	12,3 ab	21,7 ab
Vinassa + PGPR C	12,7 b	48,3 ab	391,3 b	13,3 ab	31,7 b
Obornik	6,0 a	30,0 ab	215,0 a	10,0 a	20,0 ab
Vinassa	8,0 ab	45,0 ab	313,0 ab	13,3 ab	31,7 b
Humus UP	11,7 b	50,0 ab	461,3 bc	15,0 b	31,7 b
Humus UP + PGPR C	11,7 b	75,0 bc	460,0 bc	19,0 b	55,0 b
Rhizocell	7,3 ab	33,3 ab	302,0 ab	9,7 a	18,3 ab

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

Najwyższym plonowaniem i największą liczbą owoców charakteryzowały się rośliny truskawki traktowane obornikiem w połączeniu z bakteriami PGPR C. Największą masę owoców i masę 1 owocu wydały rośliny traktowane Vinassą w połączeniu z bakteriami PGPR C (Tabela 2).

Tabela 2. Wpływ mikroorganizmów i biostymulatorów na plon i wielkość owoców roślin truskawki odmiany Elsanta rosnących w doświadczeniu wazonowym (Sad Doświadczalny Dąbrowice, 2015).

Kombinacje	Plon ogólny [g/3 rośliny]	Masa 1 owocu [g]	Liczba owoców [szt./3 rośliny]	Masa 100 owoców [g]
Kontrola (bez nawożenia)	2430 b	9,87 a	246,2 b	987 a
Kontrola NPK	1410 a	11,24 b	125,4 a	1124 ab
Substrat mikoryzowy	1910 ab	10,54 ab	181,2 ab	1054 ab
Bakterie PGPR A	1725 ab	10,87 ab	158,7 ab	1087 ab
Bakterie PGPR B	1985 ab	11,24 b	176,6 ab	1124 ab
Bakterie PGPR C (A+B)	1630 ab	9,74 a	167,3 ab	974 a
Substrat mikoryzowy + PGPR C	1845 ab	9,29 a	198,6 ab	929 a
Obornik + PGPR C	2730 b	11,57 b	235,9 b	1157 ab
Vinassa + PGPR C	1435 a	12,01 b	119,5 a	1201 b
Obornik	1230 a	11,01 ab	111,7 a	1101 ab
Vinassa	1180 a	10,83 ab	108,9 a	1083 ab
Humus UP	1650 ab	9,87 a	167,2 ab	987 a
Humus UP + PGPR C	1160 a	9,24 a	125,5 a	924 a
Rhizocell	1865 ab	9,65 a	193,3 ab	965 a

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

Rośliny truskawki odmiany Elsanta rosnące na poletku doświadczalnym w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach wydały najwyższy plon oraz największą liczbę owoców pod wpływem aplikacji Humusu Active + Aktywit PM, Humus UP i nawożenia obornikiem. Najniższy plon uzyskano z roślin mikoryzowanych i nawożonych standardowo NPK (Tabela 3).

Tabela 3. Wpływ mikroorganizmów i bionawozów na wielkość plonu i liczbę owoców roślin truskawki 'Elsanta' (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny, Dąbrowice 2015).

Kombinacje	Plon owoców [kg/20 roślin]	Plon na 1 roślinę [g]	Liczba owoców [szt./20 roślin]
Kontrola	10,376 ab	0,518 ab	943,5 ab
Kontrola NPK	9,685 a	0,484 a	905,0 a
Obornik	12,652 b	0,632 b	1053,0 b
Substrat mikoryzowy	9,552 a	0,477 a	923,5 ab
Humus UP	12,840 b	0,642 b	1012,2 b
Humus Active+Aktywit PM	14,651 c	0,732 b	1045,5 b
BF Quality	10,685 ab	0,534 ab	962,2 ab
BF Amin	10,092 ab	0,504 ab	982,0 ab
Drożdże sypkie	10,947 ab	0,547 ab	952,2 ab
Vinassa	10,103 ab	0,505 ab	854,0 a
Inco 2	10,967 ab	0,548 ab	963,7 ab
Inco 1	9,186 a	0,459 a	853,2 a

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

Aplikacja preparatu Humus UP oraz Humusu Active+Aktywit PM w największym stopniu wpłynęły na zwiększenie liczby i masy owoców truskawki (Tabela 4).

Tabela 4. Wpływ mikroorganizmów i bionawozów na wielkość plonu i liczbę owoców roślin truskawki ‘Elsanta’ (Sad Doświadczalny, Dąbrowice 2015).

Kombinacje	Liczba owoców na roślinę [szt./20 roślin]	Masa 1 owocu [g/20 roślin]	Masa 100 owoców [g/20 roślin]
Kontrola	47,2 ab	10,9 a	1068,6 a
Kontrola NPK	43,5 a	10,7 a	1025,8 a
Obornik	50,5 b	12,0 b	1105,5 ab
Substrat mikoryzowy	47,7 ab	10,3 a	1010,6 a
Humus UP	50,6 b	12,6 b	1222,6 b
Humus Active + Aktywit PM	52,7 b	12,8 b	1201,2 b
BF Quality	48,5 ab	11,7 ab	1087,2 a
BF Amin	48,1 ab	10,8 a	1002,6 a
Drożdże sypkie	47,5 ab	11,5 ab	1097,7 a
Vinassa	45,7 ab	11,8 ab	1080,7 a
Inco 2	48,8 ab	11,7 ab	1151,5 ab
Inco 1	42,2 a	10,5 a	1077,5 a

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

Rośliny truskawki traktowane nawozami organicznymi Inco 1 i Inco 2 (nawozy kontrolne dla porównania z innymi środkami ekologicznymi) uformowały najwięcej rozłogów oraz sadzonek rozłogowych. Najślabszy wpływ na formowanie i wzrost wegetatywny rozłogów miał Humus UP i nawożenie NPK (Tabela 5).

Tabela 5. Wpływ mikroorganizmów i bionawozów na liczbę i długość rozłogów oraz liczbę sadzonek roślin truskawki ‘Elsanta’ w porównaniu do kontroli (Dąbrowice 2015).

Kombinacje	Liczba rozłogów na 1 roślinę [szt.]	Długość rozłogów na 1 roślinę [cm]	Liczba sadzonek rozłogowych na 1 roślinę [szt.]
Kontrola	12,9 ab	649,3 ab	23,6 b
Kontrola NPK	10,2 a	510,0 a	19,6 ab
Obornik	12,8 ab	661,9 ab	21,7 ab
Substrat mikoryzowy	11,6 ab	523,6 a	19,3 ab
Humus UP	10,5 a	536,3 a	16,6 a
Humus Active + Aktywit PM	14,3 ab	756,3 ab	25,1
BF Quality	13,9 ab	682,5 ab	22,5 ab
BF Amin	14,5 ab	762,4 ab	27,9 bc
Drożdże sypkie	16,5 ab	865,8 b	28,0 bc
Vinassa	14,1 ab	698,1 ab	25,8 bc
Inco 2	18,3 b	857,6 b	30,4 c
Inco 1	18,1 b	742,0 ab	29,5 c

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$. Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

Aplikacja nawozów Inco 1 i Inco 2 (nawozy kontrolne dla porównania z innymi środkami ekologicznymi) oraz drożdży sypkich w największym stopniu zwiększyła masę rozłogów i sadzonek rozłogowych (Tabela 6).

Tabela 6. Wpływ bionawozów na masę rozłogów i sadzonek rozłogowych i uformowanych przez rośliny truskawki ‘Elsanta’ (Sad Doświadczalny, Dąbrowice 2015).

Kombinacje	Masa sadzonek rozłogowych na 1 roślinę [g]	Masa rozłogów na 1 roślinę [g]	Średnia masa sadzonki rozłogowej [g]
Kontrola	219,1 ab	274,1 ab	9,2 a
Kontrola NPK	191,2 ab	237,5 ab	9,7 a
Obornik	220,7 ab	278,6 ab	10,1 ab
Substrat mikoryzowy	185,3 ab	232,6 ab	9,5 a
Humus UP	144,6 a	189,5 a	8,7 a
Humus Active + Aktywit PM	262,3 b	326,8 b	10,4 ab

BF Quality	237,2 ab	289,5 ab	10,5 ab
BF Amin	284,8 b	347,7 b	10,1 ab
Drożdże sypkie	<u>330,1 b</u>	<u>402,5 c</u>	<u>11,7 b</u>
Vinassa	243,1 b	301,0 b	9,3 a
Inco 2	<u>341,8 b</u>	<u>416,6 c</u>	<u>11,2 ab</u>
Inco 1	<u>307,0 b</u>	<u>376,0 bc</u>	10,3 ab

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

	
Rośliny truskawki odmiany 'Elsanta' rosnące w cylindrach wzrostowych (Doświadczenie wazonowe, Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2015 r.).	Rośliny truskawki odmiany 'Elsanta' rosnące w cylindrach wzrostowych (Doświadczenie wazonowe, Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2015r.).

Zastosowane bioprodukty modyfikowały siłę wzrostu wegetatywnego drzew wiśni w doświadczeniu wazonowym. Największy przyrost średnicy pnia odnotowano u drzew mikoryzowanych i nawożonych NPK. Mikoryzacja roślin wpłynęła na znaczące zwiększenie liczby i plonu owoców. Nawożenie obornikiem z dodatkiem bakterii PGPR zwiększyło plonowanie, w porównaniu do kontroli i pozostałych kombinacji. Średnia masa owoców była na zbliżonym poziomie, najmniejsze owoce zebrano z roślin kontrolnych nawożonych NPK (Tabela 7).

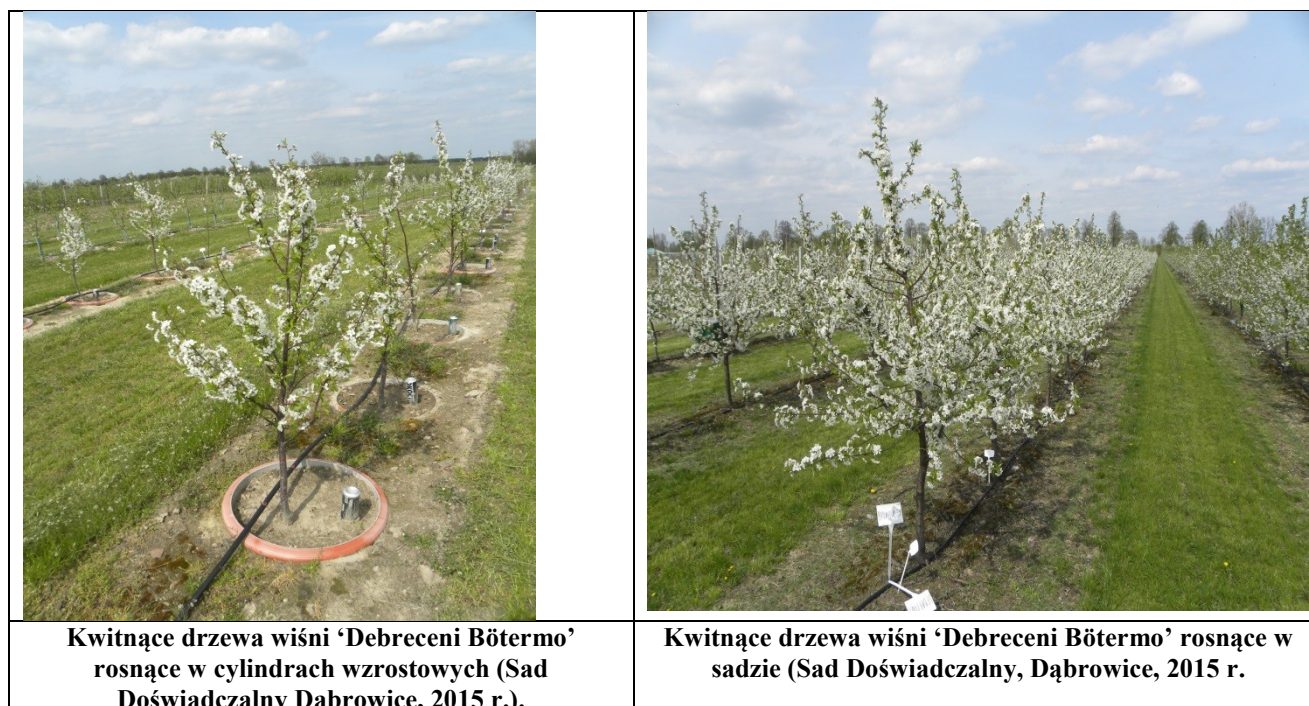
Tabela 7. Wpływ mikroorganizmów i bionawozów na przyrost średnicy pnia, plon owoców, liczbę oraz masę 1 owocu wiśni 'Debreceni Bôtermo' rosnących w cylindrach wzrostowych (Sad Doświadczalny, Dąbrowice 2015).

	Przyrost średnicy pnia [mm/drzewo]	Plon owoców [g/drzewo]	Liczba owoców [szt./drzewo]	Mas 1 owocu [g]
Kontrola NPK	3,7 b	424,4 ab	80,1 ab	5,3 a
Substrat mikoryzowy	<u>3,9 b</u>	<u>952,2 b</u>	<u>150,5 b</u>	6,3 ab
Bakterie PGPR C	2,5 a	366,0 a	57,4 a	<u>6,4 b</u>
Substrat mikoryzowy + Bakterie PGPR C	3,2 ab	394,7 a	65,9 a	6,0 ab
Obornik + Bakterie PGPR C	3,3 ab	<u>849,6 b</u>	139,0 b	6,1 ab
Vinassa + Bakterie PGPR C	2,7 a	387,5 a	66,4 a	5,8 a
Vinassa	2,4 a	356,6 a	61,5 a	5,8 a
Obornik	2,9 a	370,0 a	63,5 a	5,8 a

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.



Największym plonowaniem charakteryzowały się drzewa jabłoni rosnące w cylindrach wzrostowych po aplikacji obornika w połączeniu z bakteriami PGPR oraz nawożone standardowo NPK (Tabela 8).

Tabela 8. Wpływ mikroorganizmów i bionawozów na przyrost średnicy pnia, plon owoców, liczbę oraz masę 1 owocu jabłoni ‘Topaz’ rosnących w cylindrach wzrostowych (Sad Doświadczalny, Dąbrowice 2015).

	Przyrost średnicy pnia [mm/drzewo]	Plon owoców [kg/drzewo]	Liczba owoców [szt./drzewo]	Mas 1 owocu [g]
Kontrola NPK	3,8 a	3,495 c	22,1 b	158,8 b
Substrat mikoryzowy	3,9 a	2,277 b	17,2 ab	133,9 ab
Bakterie PGPR C	3,9 a	0,851 a	7,3 a	121,3 a
Substrat mikoryzowy + Bakterie PGPR C	4,0 a	1,923 ab	14,5 ab	137,3 ab
Obornik + Bakterie PGPR C	4,1 a	3,440 c	21,1 b	163,8 b
Vinassa + Bakterie PGPR C	4,0 a	2,522 b	15,7 ab	168,1 b
Vinassa	3,9 a	0,943 a	8,1 a	117,7 a
Obornik	3,7 a	1,233 ab	9,3 a	137,4 ab

Wyniki analizy opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (Statistica 10).

Grupy jednorodne wyznaczono przy użyciu testu Tukey-a (HSD) przy $\alpha=0.05$.

Wyniki nie różniące się istotnie między sobą oznaczono tymi samymi literami.

PODSUMOWANIE

Biostymulatory i konsorcja pożytecznych mikroorganizmów wykazały korzystny wpływ na wzrost wegetatywny i plonowanie roślin truskawki, wiśni i jabłoni w doświadczeniach polowych. Z powodu długotrwałego stresu suszy w sezonie wegetacji 2015 r. reakcja roślin na zastosowane bionawożenie była zróżnicowana, pomimo zastosowanego nawadniania roślin. Bardzo mała ilość opadów atmosferycznych oraz bardzo wysokie temperatury mogły wpłynąć na reakcję roślin w warunkach nasilonego i długotrwałego stresu suszy. Doświadczenia w tym zakresie będą kontynuowane w kolejnych latach, co umożliwi dalszą obserwację roślin i uzyskanie pełnych wyników badań. Pozwoli to na wdrożenie mikrobiologicznych technologii, w tym bionawożenia roślin, w ekologicznych uprawach roślin sadowniczych. Aplikacja biostymulatorów i nawozów organicznych zwiększa przeżywalność, wielkość populacji i skuteczność korzystnego

oddziaływania pożytecznych mikroorganizmów w uprawach roślin. Mikrobiologiczne technologie uprawy roślin sadowniczych wpłyną na poprawę wzrostu i plonowania roślin oraz redukcję nawożenia NPK i stosowania chemicznych środków produkcji roślin.

Podzadanie 5. Opracowanie wyników oraz zaleceń nawozowych.

WSTĘP

Wyniki badań projektu będą ważne dla konsumentów, którzy dzięki niższym kosztom produkcji oraz wyższej jakości produktów rolnych i ogrodnich będą mieli dostęp do tańszych produktów. Powinno to zwiększyć wielkość ich spożycia, podnieść poziom życia i poprawić zdrowotność społeczeństwa. Powszechne stosowanie tego typu bioproduktów w praktyce ogrodniczej i rolniczej, powinno przyczynić się do poprawy dochodowości gospodarstw ogrodnich i rolniczych.

CEL

Głównym celem projektu było opracowanie nowych bioproduktów oraz technologii ich aplikacji dla poprawy żyzności gleb ogrodnich i rolniczych. Większość uzyskanych w ramach projektu wyników zostanie wykorzystana w praktyce. Pro-środowiskowe cele projektu są zgodne z priorytetami Komisji Europejskiej w zakresie ograniczenia stosowania chemicznych środków produkcji i ochrony środowiska naturalnego.

METODYKA BADAŃ

Wyniki badań opracowano statystycznie, zgodnie z celem i metodyką badań opisaną w każdym z czterech podzadań. Projekt obejmował badania nad rozwojem nowych metod aplikacji opracowywanych bioproduktów, co przyczyniło się do określenia dawek i terminów stosowania tych produktów w uprawach sadowniczych. Metody te dostosowano do gatunku uprawianych roślin oraz warunków ich wzrostu. Opracowano zalecenia nawozowe (odpowiednie dawki nawozów oraz terminy i częstotliwość ich stosowania) dla badanych gatunków roślin sadowniczych.

WYNIKI

Opracowano następujące zalecenia dla nowo opracowanych bioproduktów:

KONSORCJUM PRZECIWKO PATOGENOM GLEBOWYM

Opis produktu

Skład konsorcjum przeciwko *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum* i *Botrytis cinerea*: *Serratia plymuthica*, szczep x61AF, x61AB, *Pseudomonas* sp, szczep K50WA, *Lysobacter* sp, szczep 60.3AA, bakterie wytwarzające metabolity toksyczne dla grzybów i enzymy chitynolityczne, promieniowce N45PO, N45BD, AF45DO, *Bacillus* i inne gram+ pałeczki Sp27d, AF74AA, *Paenibacillus* sp, szczep AF74AA, szczep Sp17DA, AFG1AA, gęstość min. 10^9 jtk/ml oraz szczepy grzybów *Trichoderma* WT11AC, Tr43, Tr52 o wielkości populacji ok. 10^6 jtk/ml.

Sposób działania: bakterie wytwarzają toksyczne m.in. dla grzybów z rodzaju *Verticillium* i *Fusarium* metabolity ograniczając ich wzrost. Grzyby *Trichoderma* pasożytują na m.in. na *Botrytis cinerea* ograniczając ich występowanie.

Sposób stosowania ochronnych konsorcjów mikroorganizmów w uprawach roślin:

Konsorcja pożytecznych mikroorganizmów stosuje się doglebowo (przeciwko *Fusarium* i *Verticillium*) lub dolistnie (przeciwko *Botrytis cinerea*) w postaci 2%-10% wodnego roztworu, 2–3 krotnie w ciągu sezonu wegetacyjnego, w odstępach 2–3 tygodniowych, począwszy od początku wegetacji. Dawka preparatu zależy od rodzaju uprawianych roślin i waha się od 200 do 1000 litrów na hektar w ciągu sezonu. Zaleca się, aby traktowanie pożytecznymi mikroorganizmami było połączone z nawożeniem, najlepiej z zastosowaniem obornika lub innego nawozu organicznego. Preparat zastosowany doglebowo ogranicza występowanie patogenów i zwiększa aktywność mikrobiologiczną gleby.

Korzyści stosowania konsorcjów mikroorganizmów do ochrony roślin

Stosowanie konsorcjów mikroorganizmów do ochrony roślin powoduje ograniczenie występowania patogenów glebowych, stymulację rozwoju pożytecznych mikroorganizmów oraz lepsze pobieranie składników odżywczych z gleby przez rośliny, co pozwala na eliminację stosowania chemicznych środków ochrony roślin. Ponadto, zwiększenie odporności na stresy abiotyczne, w szczególności na suszę, poprawia plonowanie przy uprawie roślin bez nawadniania. Owoce i warzywa traktowane pożytecznymi mikroorganizmami o działaniu ochronnym w połączeniu z nawozami organicznymi i naturalnymi biostymulatorami są pozbawione pozostałości chemicznych środków produkcji, mają lepsze wartości odżywcze i wyższą jakość, a przez to mają większą wartość rynkową.

KONSORCJUM BAKTERYJNO-MIKORYZOWE - konsorcjum dla stymulacji rozwoju korzeni i procesów zachodzących w rizosferze

Opis produktu:

Skład: konsorcjum bakteryjno-mikoryzowe zawiera grzyby mikoryzowe z gatunku *Claroideoglomus claroideum*, *Gigaspora margarita*, *Septoglomus constrictum*, *Funneliformis mosseae*, *Scutellospora dipurpurea*, *Glomus macrocarpum*, *Funneliformis caledonius*, *Rhizophagus fasciculatus* oraz szczepy bakterii rizosferowych i grzybów syntetyzujące auksyny i inne hormony: gram- pałeczki: *Rahnella aquatilis* Pi3A, x31E, x31N, *Pantoea* sp./*Erwinia* sp. Pi21B, *Pseudomonas* sp. Ps54GF, grzyby strzępkowe *Trichoderma* sp. Tr43, Tr52.

Sposób stosowania konsorcjum dla stymulacji rozwoju korzeni i procesów zachodzących w rizosferze w uprawach roślin:

Konsorcjum stosuje się doglebowo lub dolistnie w postaci 2%-10% wodnego roztworu, 2–3 krotnie w ciągu sezonu wegetacyjnego, w odstępach 2–3 tygodniowych, począwszy od początku wegetacji. Dawka preparatu zależy od rodzaju uprawianych roślin i waha się od 200 do 1000 litrów na hektar w ciągu sezonu. Zaleca się, aby traktowanie pożytecznymi mikroorganizmami było połączone z nawożeniem, najlepiej z zastosowaniem obornika lub innego nawozu organicznego.

Korzyści ze stosowania

Zastosowane w substracie grzyby mikoryzowe charakteryzuje korzystne oddziaływanie na rośliny. *Claroideoglomus claroideum* – zwiększa odporność roślin na stres wodny, powoduje wzrost ukorzeniania. *Gigaspora margarita* – zwiększa powierzchnię chłonną korzeni i dostępność fosforu, azotu, potasu, żelaza, manganu i innych mikroelementów dla roślin. *Septoglomus constrictum* – stymuluje wzrost rośliny oraz jej odporność na patogeny. *Funneliformis mosseae* – zwiększa wchłanianie fosforu i mikroelementów, w tym żelaza, wzmacnia naturalne mechanizmy obronne rośliny. *Scutellospora dipurpurea* – stymuluje wzrost i plonowanie wielu gatunków roślin. *Glomus macrocarpum* – korzystnie wpływa na rozwój korzeni, zwiększa dostępność fosforu, azotu, potasu, żelaza, manganu i innych mikroelementów. *Funneliformis caledonius* – zwiększa wchłanianie fosforu i mikroelementów, w tym żelaza, wzmacnia naturalne mechanizmy obronne rośliny. *Rhizophagus fasciculatus* – zwiększa odporność roślin na stres wodny, powoduje wzrost ukorzeniania. Zastosowane w substracie bakterie charakteryzuje korzystne oddziaływanie na rośliny. Ps54GF *Pseudomonas* sp. – występują w miejscach bogatych w sole mineralne, kwasy organiczne oraz cukry. Ich rolą jest stymulacja wzrostu i rozwoju roślin, synteza sideroforów oraz rozpuszczanie związków fosforu. Piowerdyna wydzielana do podłoża w warunkach niedoboru żelaza bierze udział w wiązaniu i transporcie żelaza do komórek. *P. fluorescens* wykazuje również aktywność fungistatyczną, co wpływa na poprawę zdrowotności roślin. Pi3A *Rahnella aquatilis* – ich rolą jest stymulacja wzrostu i rozwoju roślin, synteza sideroforów i kwasu indoliloctowego, rozpuszczanie związków fosforu.

PGPR - konsorcjum do rozkładu materii organicznej i zwiększenia dostępności jonów składników mineralnych

Opis produktu

Skład: Produkt zawiera konsorcjum pożytecznych bakterii rizosferowych i grzybów mikoryzowych. Jego skuteczność jest związana z synergistycznym oddziaływaniem tych mikroorganizmów na pobieranie substancji odżywczych z gleby przez rośliny. Samo konsorcjum nie zawiera natomiast znaczących ilości substancji odżywczych. Jego skład jest następujący:

- a) Zarodniki i strzępki należące do pięciu gatunków arbuskularnych grzybów mikoryzowych z rodzaju *Glomus* oraz fragmenty skolonizowanych przez nie korzeni;
- b) Bakterie *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, i *Streptomyces* spp. w stężeniu 10^6 komórek $\times g^{-1}$, mikroorganizmy produkujące enzymy degradujące celulozę i inne związki: promieniowce 7G2, TACT11, TACT10, TACT8A, TACT7A, grzyby *Trichoderma* WT8, gram- pałeczki 60.3AA *Lysobacter* sp.

Sposób stosowania

Najlepszy efekt stosowania tego preparatu osiągnięto, gdy korzenie roślin dokładnie nim pokryto. Metoda aplikacji w warunkach polowych powinna być dostosowana do rośliny uprawnej. W przypadku upraw jednorocznych bionawóz może być rozsiany na powierzchni gleby, oddzielnie albo łącznie z wysiewem nasion. Preparat może być także aplikowany w bruzdy, wzdłuż rzędów roślin. Może być także zastosowany do zaprawy nasion w sposób następujący:

- a) Otoczkowanie suchych nasion poprzez mieszanie ich z bionawozem. W metodzie tej problemem jest słaba przyczepność bionawozu, co może być przyczyną słabej efektywności jego stosowania.
- b) Zaprawianie nasion na mokro - bionawóz może być mieszany ze zwilżonymi nasionami lub stosowany w zawieszynie wodnej. W tym drugim przypadku nasiona mogą być pozostawione w zawieszynie przez noc.

Bionawóz stosuje się w postaci zwilżalnego proszku o wielkości ziaren 10-40 μm . Dodatek 25% roztworu melasy lub wywaru po produkcji drożdży (Vinassa) lub 1% sproszkowanego mleka do zawiesziny wodnej na kilka godzin przed traktowaniem nasion zwiększa efektywność inokulacji. W zależności od metody aplikacji dawki bionawozu będą się różniły. Zazwyczaj stosuje się od 50 do 100 kg/ha.

Bionawóz może być stosowany 2-3 krotnie podczas sezonu, w odstępach 2 – tygodniowych, począwszy od początku aktywnego wzrostu wegetacyjnego. Stosowanie bionawozu powinno być połączone z nawożeniem tradycyjnym, najlepiej przy użyciu obornika lub innego nawozu organicznego, przy czym dawka nawozu powinna być zmniejszona o połowę, w porównaniu z tradycyjną uprawą.

Korzyści ze stosowania PGPR

Bionawóz zawierający żywe mikroorganizmy pozwala na obniżenie dawki nawozów tradycyjnych, zarówno mineralnych jak i organicznych (obornik) dzięki zwiększeniu wydajności pobierania składników mineralnych z gleby przez rośliny. Ponadto, bionawóz stymuluje rozwój systemu korzeniowego i zwiększa jego objętość/zasięg oddziaływania, co jest dodatkowym korzystnym efektem, w szczególności w przypadku nienawadnianych upraw. Dzięki temu, że można go aplikować na różne sposoby, można do tego wykorzystać istniejący w gospodarstwie sprzęt. Dawka bionawozu może być dostosowana do wymagań roślin uprawnych oraz warunków glebowo-klimatycznych, co zwiększa skuteczność inokulacji.

PODSUMOWANIE

Rozwój i zastosowanie w praktyce stymulatorów wzrostu roślin zawierających żywe mikroorganizmy („bionawozy”) znajduje coraz większe zastosowanie z powodu stwierdzonego szkodliwego oddziaływania na środowisko, nadmiernego lub niewłaściwego stosowania nawozów mineralnych. Jest to także wynikiem zwiększonej wiedzy o oddziaływaniu pomiędzy roślinami i mikroorganizmami glebowymi występującymi w rizosferze, a także intensywnych prac mających na celu izolację i selekcję szczepów mikroorganizmów stymulujących wzrost roślin. Rozwój tego typu nowych bioproduktów mających zastosowanie w uprawie roślin spowodował potrzebę ustalenia właściwego dla nich nazewnictwa, które jednoznacznie określałoby ich skład i zastosowanie. Termin „bionawóz” oznacza nawóz biologiczny, przy czym „biologiczny” zawiera w składzie żywe mikroorganizmy. Zgodnie z tą definicją, „bionawóz” jest to produkt zawierający jeden lub więcej gatunków/szczepów mikroorganizmów, które wpływają korzystnie na wzrost i plonowanie roślin poprzez zwiększenie dostępności składników odżywczych w glebie lub przez poprawę zdolności roślin do pobierania składników odżywczych z gleby. Termin „bionawóz”

stosowany jest do komercyjnego produktu, który zawiera żywe, pożyteczne mikroorganizmy z nośnikiem zwiększającym aktywność zastosowanych mikroorganizmów.

Mikroorganizmy przydatne do produkcji bionawozów należą do szeregu rodzajów grzybów i bakterii. Spośród bakterii, do produkcji bionawozów najczęściej wykorzystywane są bakterie wiążące azot z rodzaju *Rhizobium*, tworzące brodawki na korzeniach roślin. Ponadto, w bionawozach wspomagających pobieranie azotu używane są bakterie brodawkowe z rodzajów *Sinorhizobium* i *Bradyrhizobium* i kilkanaście gatunków niewytwarzających brodawek (np. *Azospirillum* i *Azotobacter*). Z kolei grzyby mikoryzowe z rodzaju *Glomus* wspomagają odżywanie roślin fosforem. W szczególności aktywne są w tym procesie grzyby z gatunku *Glomus intraradices*, które są często stosowane w komercyjnych bionawozach. Kilkanaście gatunków grzybów i bakterii wspomaga także pobieranie potasu z gleby. Stwierdzono, że rośliny traktowane bionawozami sprawniej pobierają substancje odżywcze z gleby dzięki zwiększonej objętości i poprawie struktury systemu korzeniowego. Poza zwiększaniem dostępności i wspomagania pobierania substancji odżywczych z gleby przez rośliny, bionawozy mogą także zwiększyć tolerancję roślin zarówno na stresy biotyczne (choroby powodowane przez patogeny odglebowe) jak i abiotyczne, t.j. susza czy zasolenie gleby. Jakość bionawozów musi być zagwarantowana aby uzyskać powtarzalny, korzystny efekt ich stosowania.

Biologiczna ochrona roślin staje się sukcesywnie alternatywą dla metod chemicznych. Obecnie stosowanie biologicznych ŚOR jest niewielkie, z uwagi na postęp w produkcji chemicznych środków ochrony roślin, a także zależność efektywności środków biologicznych od warunków środowiska, gatunku czy odmiany rośliny uprawnej, niewielką dostępnością i ograniczonym wyborem biopreparatów, wąskim spektrum ich działania oraz ich ograniczoną skutecznością. Rosnące zainteresowanie biologicznymi metodami ochrony roślin związane jest z ich bezpieczeństwem dla środowiska naturalnego oraz pojawiającą się odpornością szkodników i organizmów chorobotwórczych na środki chemiczne. W ochronie biologicznej wykorzystuje się główne organizmy lub antagonistyczne w stosunku do patogenów. Nadpasożytnictwo polega na pasożytowaniu mikroorganizmów na patogenach roślin, np. grzyby *Trichoderma* sp. pasożytujące na *Rhizoctonia*, *Coniothyrium*, stosowane do zwalczania grzyba *Sclerotinia sclerotiorum* lub grzyb *Beauveria bassiana* stosowany do zwalczania owadów. Mechanizmy oddziaływań antagonistycznych drobnoustrojów na patogeny roślinne są różnorodne, m.in.: konkurencja o składniki pokarmowe lub miejsce, tworzenie biofilmu utrudniającego zasiedlanie powierzchni roślin, antybioza, czyli hamowanie wzrostu patogenów przez wydzielane do otoczenia substancje biobójcze, mikoliza – enzymatyczne rozpuszczanie ściany komórkowej grzybów przez bakterie z rodzajów *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* lub niektóre grzyby. Dobór pojedynczego szczepu o szerokim spektrum działania wobec fitopatogenów jest utrudniony, dlatego opracowano mieszanki zawierające kilka scharakteryzowanych, nie konkurujących ze sobą szczepów, o działaniu antybiotycznym lub wspomagającym wzrost roślin. Stosowanie mikroorganizmów w postaci konsorcjów na szereg zalet, m.in.: poszerza spektrum ich aktywności i antagonistycznego oddziaływania przeciwko patogenom oraz zwiększa efektywność ochrony roślin. Składniki konsorcjum działają przez różne mechanizmy, takie jak antagonizm, pasożytnictwo oraz indukcja odporności rośliny gospodarza. Zastosowanie mikroorganizmów antagonistycznych takich jak grzyby, bakterie i drożdże jest bardzo obiecujące oraz zdobywa coraz większą popularność ponieważ pozwala na uzyskanie plonów o wyższej jakości, w porównaniu do produkowanych metodami konwencjonalnymi.

PODSUMOWANIE KOŃCOWE

W praktyce sadowniczej można zauważyć tendencję zwiększonego zainteresowania ekologicznymi metodami produkcji owoców. Istnieje ku temu wiele powodów, wśród których wymienić można: obawy konsumentów o pozostałości szkodliwych substancji w owocach, obecne trendy w ustawodawstwie i zmniejszanie ilości dopuszczonych do użytku pestycydów, pojawianie się nowych odpornych ras szkodników oraz niszczenie pożytecznej fauny, w tym owadów zapylających oraz wzrost świadomości o wpływie konsumpcji owoców na zdrowie.

Uzyskane wyniki wskazują, iż stosowanie biostymulatorów, naturalnych nawozów oraz środków poprawiających właściwości gleby wzbogaconych mikrobiologicznie jest szansą na poprawę wielkości i jakości plonowania roślin sadowniczych oraz jakości gleb uprawnych i zdegradowanych. Są to preparaty pochodzenia nieorganicznego lub organicznego przyjazne dla ludzi i środowiska. Biostymulatory, nawozy organiczne i środki poprawiające właściwości gleby produkowane są na bazie naturalnych ekstraktów z roślin lądowych i wodnych oraz kompostów. Biopreparaty zawierające pożyteczne mikroorganizmy glebowe mogą być stosowane do nawożenia roślin oraz zwalczania chorób i szkodników. Uzyskane wyniki znajdują zastosowanie w identyfikacji izolatów mikroorganizmów zasiedlających strefę ryzosferową korzeni drzew owocowych i innych gatunków roślin uprawnych. Umożliwi to efektywną selekcję najbardziej wartościowych i ważnych gospodarczo szczepów bakterii i grzybów korzystnie oddziałujących na rośliny. Identyfikacja pożytecznych mikroorganizmów oraz poznanie współzależności mikroorganizmy-gleba-rośliny sadownicze przyczyni się do wdrożenia do praktyki sadowniczej nowych, przyjaznych dla środowiska biopreparatów mikrobiologicznych, ograniczenia stosowania chemicznych środków produkcji, a w konsekwencji do ochrony środowiska naturalnego i zdrowia człowieka.

W celu optymalizacji ekologicznych metod produkcji owoców, koniecznym jest:

- opracowanie bioproduktów do żywienia i ochrony roślin z wykorzystaniem korzystnych interakcji pomiędzy roślinami a mikroorganizmami glebowymi.
- optymalizacja zabiegów agrotechnicznych, które mogą zwiększyć produkcję i dochód z ekologicznej produkcji sadowniczej.
- opracowanie nowych maszyn do aplikacji bioproduktów, które mogłyby zwiększyć skuteczność stosowanych środków w rolnictwie ekologicznym.

ZALECENIA DLA PRAKTYKI

- Wyniki przeprowadzonych doświadczeń szklarniowych i polowych wskazują na dużą skuteczność stosowania konsorcjów mikrobiologicznych i bioproduktów mikrobiologicznych w stymulacji wzrostu wegetatywnego i plonowania roślin truskawki, jabłoni i wiśni w sezonie wegetacji 2015 r.
- Wykazano korzystny wpływ zastosowanych konsorcjów mikrobiologicznych oraz biopreparatów na zwiększenie obecności i bioróżnorodności bakterii ryzosferowych oraz grzybów mikoryzowych, (liczbę zarodników AGM w ryzosferze i stopień asocjacji mikoryzowej w korzeniach) w ryzosferze badanych odmian truskawki, jabłoni i wiśni.
- Aplikacja biostymulatorów i nawozów organicznych zwiększa przeżywalność, wielkość populacji i skuteczność korzystnego oddziaływania pożytecznych mikroorganizmów w ekologicznej uprawie roślin sadowniczych.
- Uzyskane wyniki badań są bardzo interesujące dla praktyki sadowniczej, gdyż stosowanie bioproduktów wzbogaconych mikrobiologicznie jest skuteczną i ekonomicznie opłacalną alternatywą w stosunku do nawożenia NPK.
- W celu potwierdzenia skuteczności biopreparatów mikrobiologicznych doświadczenia szklarniowe i polowe nad ich skutecznością powinny być kontynuowane w następnych sezonach wegetacyjnych.
- Wdrożenie mikrobiologicznych technologii, w tym bionawożenia roślin, w ekologicznych uprawach roślin sadowniczych wpłynie na zwiększenie wielkości i jakości produkowanych plonów oraz poprawę jakości gleb uprawnych i zdegradowanych.

DZIAŁALNOŚĆ UPOWSZECHNIENIOWA

1. Sas Paszt L., Trzciński P., Lisek A., Sumorok B., Derkowska E., Głuszek S., Przybył M., Frąc M. 2015. Pożyteczne mikroorganizmy szansą na poprawę jakości plonowania roślin uprawnych. III Kongres Nauk Rolniczych „Nauka – Praktyce”. Badania naukowe w procesie kształtowania polskiej wizji Wspólnej Polityki Rolnej i Wspólnej Polityki Rybackiej. 10.09.2015 Warszawa: 47, **prezentacja**.
2. Sas Paszt L., Frąc M., Derkowska E., Głuszek S., Trzciński P. 2015. Effect of biochar on plant growth and development in strawberry, peach, apple and nectarine. Final meeting EU-COST ACTION „BIOCHAR” 76. Symposium des ans e.V. „Understanding biochar mechanisms for practical implementation”. 28th-30th September 2015 Hochschule Geisenheim University. 28-30.09.2015 r. Germany, **prezentacja**.
3. Frąc M., Sas Paszt L. 2015. The effect of biochar on plant growth and development in strawberry, peach and apple. Final meeting EU-COST ACTION „BIOCHAR” 76. Symposium des ans e.V. „Understanding biochar mechanisms for practical implementation”. 28th-30th September 2015 Hochschule Geisenheim University. 28-30.09.2015 r. Germany:102-103 **materiały konferencyjne**.
4. Sas Paszt L. 2015. Opracowanie modelu ograniczenia strat żywności produkowanej metodami naturalnymi. XVII Dni Ogrodnika. Targi Międzynarodowe. 12-13.09.2015 Gołuchów. Głos Wielkopolski pt. ”XVII Dni Ogrodnika” str. 26.
5. Sas Paszt L., Weszczak K., Przybył M., Frąc M., Głuszek S., Derkowska E., Lisek A., Sumorok B., Trzciński P. 2015. Opracowanie modelu ograniczenia strat żywności produkowanej metodami naturalnymi. XVII Dni Ogrodnika. Targi Międzynarodowe. 12-13.09.2015 Gołuchów, **poster**.
6. Sas Paszt L., Głuszek S., Trzciński P., Lisek A., Sumorok B., Derkowska E., Malusa E., Przybył M., Frąc M., Weszczak K., Grzyb Z.S. 2015. Innowacyjne technologie w sadownictwie – ekologicznej produkcji owoców, osiągnięcia projektu EkoTechProdukt. XVII Dni Ogrodnika. Targi Międzynarodowe. 12-13.09.2015 Gołuchów, **prezentacja**.
7. Sas Paszt L. 2015. Pożyteczne mikroorganizmy szansą na poprawę jakości plonów i żywności gleby. XII Rolniczy Festiwal Nauki "Gleba – Środowisko - Człowiek". 15-16.10.2015 r. Brwinów – Warszawa, **prezentacja**.