

**Lidia Sas-Paszt**  
**Paweł Trzcíński**  
**Anna Lisek**  
**Edyta Derkowska**  
**Beata Sumorok**  
**Sławomir Głuszek**  
**Mateusz Frąć**  
**Michał Przybył**  
**Krzysztof Weszczak**

**Metody polepszania jakości gleb  
zdegradowanych w uprawie  
roślin sadowniczych**

**Skierniewice 2019**

Autorzy opracowania:

**Dr hab. Lidia Sas-Paszt, prof. nadz. IO**, Zakład Mikrobiologii, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

**Mgr Paweł Trzciniński**, Zakład Mikrobiologii, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

**Dr Anna Lisek**, Zakład Mikrobiologii, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

**Mgr inż. Edyta Derkowska**, Zakład Mikrobiologii, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

**Dr Beata Sumorok**, Zakład Mikrobiologii, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

**Mgr Sławomir Głuszek**, Zakład Mikrobiologii, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

**Mgr inż. Mateusz Frąc**, Zakład Mikrobiologii, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

**Mgr Michał Przybył**, Zakład Mikrobiologii, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

**Mgr inż. Krzysztof Weszczak**, Zakład Mikrobiologii, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

**Praca została wykonana w ramach zadania 3.2:**

**„Rozwój zrównoważonego nawożenia roślin ogrodniczych i zapobieganie degradacji gleby i skażenia wód gruntowych”**

**Podzadania 5. „Ocena wpływu środków biologicznych (bioprodukty wzbogacone mikrobiologicznie, pożyteczne bakterie ryzosferowe, grzyby mykoryzowe) na poprawę jakości gleb oraz wzrostu i plonowania roślin sadowniczych”**

**Programu Wieloletniego**

**„Działania na rzecz poprawy konkurencyjności i innowacyjności sektora ogrodniczego z uwzględnieniem jakości i bezpieczeństwa żywności oraz ochrony środowiska naturalnego” finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi**

## SPIS TREŚCI

|  |    |
|--|----|
| 1. Wstęp.....  | 4  |
| 2. Pożyteczne mikroorganizmy szansą na poprawę jakości plonów i żyzności gleby.....              | 5  |
| 3. Rola materii organicznej i pożytecznych mikroorganizmów w życiu roślin.....                   | 7  |
| 4. Rola procesów zachodzących w ryzosferze we wzroście i plonowaniu roślin sadowniczych .....    | 8  |
| 5. Zastosowanie pożytecznych mikroorganizmów w uprawie roślin sadowniczych.....                  | 9  |
| 6. Bionawozy i ich rola w odżywianiu roślin.....   | 11 |
| 7. Bionawozy wzbogacone mikrobiologicznie.....   | 12 |
| 8. Zastosowanie biopreparatów wzbogaconych mikrobiologicznie w uprawach roślin sadowniczych..... | 13 |
| 9. Metody aplikacji biopreparatów w uprawach polowych.....                                       | 15 |
| 10. Cel badań.....   | 15 |
| 11. Metodyka badań.....  | 15 |
| 12. Wnioski – sezon wegetacyjny 2015.....  | 18 |
| 13. Wnioski – sezon wegetacyjny 2016.....  | 19 |
| 14. Wnioski – sezon wegetacyjny 2017.....  | 20 |
| 15. Wnioski – sezon wegetacyjny 2018.....  | 21 |
| 16. Wnioski – sezon wegetacyjny 2019.....  | 23 |
| 17. Zalecenia dla praktyki.....  | 23 |
| 18. Wnioski podsumowujące.....   | 24 |
| 19. Przegląd wyników z przeprowadzonych doświadczeń w 2015 r.....                                | 24 |
| 20. Przegląd wyników z przeprowadzonych doświadczeń w 2016 r.....                                | 29 |
| 21. Przegląd wyników z przeprowadzonych doświadczeń w 2017 r.....                                | 35 |
| 22. Przegląd wyników z przeprowadzonych doświadczeń w 2018 r.....                                | 42 |
| 23. Przegląd wyników z przeprowadzonych doświadczeń w 2019 r.....                                | 52 |
| 24. Literatura.....  | 55 |

## WSTĘP

Degradacja gleb uprawnych w Polsce jest procesem postępującym i obejmuje coraz większą powierzchnię użytków rolnych. Zjawiska te są skutkiem niewłaściwej gospodarki rolnej w ubiegłych latach, kiedy stawiano szczególny nacisk na stosowanie nawozów sztucznych, zaniedbując zupełnie wzbogacanie gleb w materię organiczną oraz jej wapnowanie. Doprowadziło to nie tylko do zakwaszenia gleb i zmniejszenia ilości próchnicy ale także do zachwiania równowagi biologicznej w glebie (Wrzaszcz i in. 2014). Stwierdzono, że łączny udział gleb bardzo kwaśnych i kwaśnych w Polsce wynosi 44% (Piwowar 2015). 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. Ponad 30% gruntów ornych to gleby klas V i VI, a w przypadku użytków zielonych udział ten jest jeszcze większy (Krasowicz i Kuś 2010). W ostatnich 30 latach zawartość próchnicy w glebie spadła aż o 40% (Bieńkowski, Jankowiak 2006). Średnia zawartość węgla organicznego w glebach uprawnych Polski stanowi 1,25 %. Według norm Komisji Europejskiej, zawartość materii organicznej poniżej 1,7 % poprzedza pustynnienie obszarów (Jones i in. 2005; Panagos i in. 2012). Wysoki stopień zdegradowania i zakwaszenia gleb w uprawach sadowniczych Polsce powoduje konieczność stosowania nawozów organicznych przyjaznych dla środowiska, możliwych do zastosowania w ekologicznym lub integrowanym systemie uprawy. Aplikacja nawozów organicznych do zdegradowanych gleb umożliwi roślinom lepsze pobieranie składników pokarmowych z gleby, a tym samym poprawia kondycję roślin, ich stan zdrowotny i plonowanie.

Z tych powodów bardzo ważne jest opracowanie nowych, przyjaznych środowisku technologii, które poprawią żyzność gleb oraz odbudują ich potencjał biologiczny. Konieczne jest zwiększenie zawartości materii organicznej w glebach uprawnych oraz poprawa ich potencjału biologicznego, który bezpośrednio wpływa na produktywność roślin. Zastosowanie materii organicznej w formie biowęgla oraz innych związków pochodzących z kompostowania produktów ubocznych z przetwórstwa rolnego w połączeniu z pożytecznymi mikroorganizmami glebowymi zgromadzonymi w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach pozwoli na długotrwałą poprawę jakości gleb rolnych i zwiększenie ich produktywności.

W tym kontekście bardzo ważne są badania nad optymalizacją oraz zwiększeniem zawartości materii organicznej i próchnicy w glebach uprawnych z wykorzystaniem **koloidów próchnicznych w postaci kwasów humusowych, lignin, celulozy (pochodzących z węgla brunatnego) w połączeniu z pożytecznymi mikroorganizmami glebowymi**. Wzrost zawartości próchnicy zwiększy przede wszystkim **aktywność biologiczną gleb, pojemność wodną, pojemność sorpcyjną, zmniejszy gęstość oraz poprawi 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**. ProBioEmy natomiast wspomogą rozkład i mineralizację nowo opracowanego bionawozu i kompostu. Projekt przyczyni się do poprawy żyzności gleb, wzrostu i plonowania roślin, jakości plonów, ochrony wód i środowiska glebowego poprzez redukcję chemicznych środków produkcji. Zastosowanie węgla brunatnego jako ulepszcza glebowego i pożytecznej mikroflory glebowej

przyczyni się do lepszego zarządzania i wykorzystania naturalnych komponentów gleby i zasobów węgla brunatnego.

## **POŻYTECZNE MIKROORGANIZMY SZANSĄ NA POPRAWĘ JAKOŚCI PLONÓW I ŻYZNOŚCI GLEBY**

W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie produkcją i konsumpcją żywności ekologicznej, co jest wyrazem wzrostu świadomości konsumentów w kontekście ochrony środowiska naturalnego i zdrowia człowieka. Badania nad rozwojem przyjaznych dla środowiska metod uprawy roślin sadowniczych i rolniczych obejmują wiele aspektów takich jak: hodowla nowych odmian o podwyższonej odporności na niekorzystne czynniki środowiska, optymalizacja metod nawadniania i nawożenia, wykorzystanie płodozmianu w celu ograniczenia występowania patogenów glebowych, ściółkowanie gleb oraz stosowanie nawozów pochodzenia naturalnego z aplikacją pożytecznych mikroorganizmów glebowych dla zwiększenia wzrostu i odporności roślin na choroby i szkodniki oraz żyzności gleb uprawnych.

Jednym z bardzo ważnych celów współczesnego rolnictwa, zwłaszcza ekologicznego jest utrzymanie gleb w wysokiej kulturze, między innymi poprzez dobór odpowiednich metod nawożenia gleby. W integrowanej i konwencjonalnej produkcji warzyw i owoców powszechnie stosuje się mineralne nawozy azotowe. W sadach ekologicznych dla poprawy dostępności azotu dla roślin konieczne jest zastosowanie naturalnych nawozów oraz środków poprawiających właściwości gleby. **Skuteczną alternatywą dla nawożenia mineralnego mogą być naturalne bionawozy czy stymulatory wzrostu i rozwoju roślin nazywane biostymulatorami. Biostymulatory to preparaty pochodzenia organicznego (roślinnego lub zwierzęcego), przyjazne dla ludzi i środowiska. Produkowane są one na bazie naturalnych ekstraktów roślinnych i pożytecznych mikroorganizmów (bakterie, grzyby mikroskopowe i grzyby mykoryzowe). Na rynku europejskim dostępne są nawozy organiczne i środki poprawiające właściwości gleby produkowane na bazie naturalnych ekstraktów roślinnych, produktów pochodzenia zwierzęcego oraz kompostów. Biopreparaty te obejmują pożyteczne mikroorganizmy glebowe wyizolowane z innych warunków klimatyczno-glebowych niż Polska, a zastosowanie ich do zwalczania chorób i szkodników w polskich warunkach łączy się często ich niewielką skutecznością. Obecnie w Polsce liczba oferowanych nawozów pochodzenia naturalnego wzbogaconych o pożyteczne mikroorganizmy, odpowiednich dla ekologicznej uprawy roślin ogrodniczych i rolniczych jest niewielka. Jednakże zainteresowanie rynku bioproduktami mikrobiologicznymi dynamicznie wzrasta, co stwarza potrzebę wdrożenia do praktyki rolniczej nowych bioproduktów mikrobiologicznych.**

**W Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach opracowano i wdrożono do praktyki ogrodniczej i rolniczej mikrobiologiczne technologie uprawy roślin ogrodniczych i rolniczych oraz poprawy jakości gleb. Zaproponowane innowacyjne technologie są przełomowe w kraju i w skali międzynarodowej. Nowe technologie obejmują opracowanie naturalnych bioproduktów wzbogaconych mikrobiologicznie, takich jak bionawozy i ulepszacze glebowe, komposty oraz opracowanie metod ich stosowania w zróżnicowanych warunkach uprawy polowej lub szklarniowej różnych gatunków roślin ogrodniczych i rolniczych. Opracowane technologie znajdują zastosowanie przede wszystkim na glebach zakwaszonych, o dużej intensywności upraw roślin ogrodniczych,**

**gdzie brak jest możliwości przeprowadzenia powszechnie zalecanego zmianowania, w sytuacji wystąpienia choroby replantacyjnej, a także na glebach przygotowywanych pod nowe uprawy.**

W Instytucie Ogrodnictwa powstał pierwszy w Polsce i największy w Europie bank symbiotycznych mikroorganizmów: grzybów mykoryzowych, grzybów strzępkowych, drożdży oraz pożytecznych bakterii glebowych, wyizolowanych z ryzosfery roślin ogrodniczych, rosnących w różnych warunkach glebowo-klimatycznych Polski. Wykazano dużą skuteczność pożytecznych mikroorganizmów zgromadzonych w zasobach SYMBIO BANK-u w stymulacji wzrostu wegetatywnego i plonowania roślin truskawki, jabłoni oraz innych gatunków roślin ogrodniczych. Niektóre szczepy bakterii wykazują działanie ochronne przeciwko patogenom, t.j. *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* i *Verticillium dahliae*. Najbardziej efektywne szczepy i gatunki mikroorganizmów są komponentami nowo opracowanych preparatów biologicznych: biostymulatorów, bionawozów, kompostów i inokulów bakteryjno-mykoryzowych. Wykazano negatywny wpływ stosowania chemicznych środków produkcji roślin, w tym syntetycznych nawozów NPK, na występowanie i aktywność pożytecznych mikroorganizmów glebowych w ryzosferze roślin uprawnych.

W zasobach SYMBIO BANK-u zgromadzono liczne szczepy grzybów należące do 30 gatunków grzybów AMF oraz 1500 szczepów bakterii i grzybów strzępkowych. Głównymi mechanizmami działania pożytecznych mikroorganizmów są: synteza sideroforów (500 szczepów) i wytwarzanie form przetrwalnikowych (300 szczepów), rozpuszczanie związków fosforu (300 szczepów), rozkład celulozy (40 szczepów), wiązanie azotu atmosferycznego (200 szczepów) oraz o działaniu antagonistycznym przeciwko patogenom (200).

Mikroorganizmy o działaniu synergistycznym mają wysoką efektywność działania, gdy są aplikowane z kwasami humusowymi, biostymulatorami i nawozami naturalnymi. Konsorcja pożytecznych mikroorganizmów zwiększają w ryzosferze roślin dostępność składników mineralnych (N, P, K, Mg, Fe, Mn, Zn, B, Cu), indukują odporność na biotyczne i abiotyczne stresy środowiskowe. Nawozy mineralne wzbogacone mikrobiologicznie (mocznik, Superfosdar, Polifoska) są bardziej skuteczne w stymulacji wzrostu i plonowania roślin niż same nawozy mineralne. Zastosowanie biopreparatów mikrobiologicznych wpływa na poprawę wzrostu roślin i wartości odżywczej plonów poprzez zwiększenie zawartości prozdrowotnych substancji biologicznie czynnych. Biopreparaty na bazie mikroorganizmów z SYMBIOBANK-u Instytutu Ogrodnictwa są wdrażane do praktyki ogrodniczej w Polsce. Zastosowanie w praktyce symbiotycznych mikroorganizmów mających największy wpływ na dostępność i pobieranie składników odżywczych oraz na wzrost odporności roślin na stresy biotyczne i abiotyczne przyczyni się do rozwoju ekologicznych i zrównoważonych metod uprawy roślin ogrodniczych i rolniczych.

Badania przeprowadzone w Zakładzie Mikrobiologii umożliwiły identyfikację, charakterystykę i selekcję najbardziej wartościowych szczepów i gatunków pożytecznych mikroorganizmów, które posłużyły do opracowania konsorcjów mikrobiologicznych do zastosowań specjalnych. Wynikiem tych badań jest rozwój mikrobiologicznych technologii poprawy jakości gleb uprawnych i zdegradowanych w warunkach glebowo-klimatycznych Polski. Powszechne wykorzystanie systemu identyfikacji i selekcji symbiotycznych mikroorganizmów umożliwi dalszy rozwój nowoczesnych, bezpiecznych oraz przyjaznych dla środowiska i zdrowia człowieka ekologicznych metod uprawy roślin, z zastosowaniem

najbardziej wartościowych mikroorganizmów glebowych. Pierwsza w Polsce produkcja rodzimych mikroorganizmów i bioproduktów mikrobiologicznych spowoduje ich powszechną dostępność na rynku dla ekologicznych producentów warzyw i owoców, a także dla innych firm sektora rolno-spożywczego w Polsce. Nowo opracowane konsorcja mikroorganizmów i mikrobiologiczne technologie uprawy roślin przyczynią się do zwiększenia wielkości i jakości plonowania roślin uprawnych, w tym roślin sadowniczych i warzywnych oraz do poprawy żyzności gleb uprawnych i zdegradowanych.

Zaproponowane innowacyjne biopreparaty mikrobiologiczne mają uznanie w kraju i zagranicą. Nowo opracowane konsorcja mikrobiologiczne będą komercjalizowane i wdrażane do technologii uprawy roślin jako produkty handlowe z przeznaczeniem na rynek krajowy i rynki zagraniczne. W Polsce i na świecie corocznie wzrasta popyt na tego typu biopreparaty, które są w wielu przypadkach konkurencyjne, bezpieczne, ekonomicznie opłacalne oraz bardziej skuteczne, w porównaniu do istniejących na rynku nawozów mineralnych i innych chemicznych środków produkcji roślin (pestycydy, herbicydy).

**Konsorcja pożytecznych mikroorganizmów są jednym z najnowszych rozwiązań mających na celu zwiększenie jakości, bezpieczeństwa i efektywności produkcji roślinnej, zarówno ogrodniczej jak i rolniczej.** W skład takich konsorcjów wchodzi bakterie, drożdże, grzyby strzępkowe i mykoryzowe. Pożyteczne mikroorganizmy wykazują pozytywne działanie gdy są aplikowane na odpowiednich nośnikach. Wysoką efektywność działania uzyskuje się po ich połączeniu z innymi synergistycznymi mikroorganizmami, a także z materią organiczną, kwasami humusowymi, biowęglem, biostymulatorami i nawozami naturalnymi. Konsorcja pożytecznych mikroorganizmów zwiększają dostępność w ryzosferze związków mineralnych dla roślin, indukują odporność na biotyczne i abiotyczne stresy środowiskowe, a także działają antagonistycznie przeciwko patogenom i szkodnikom w uprawach roślin. Zastosowanie skutecznych konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów zwiększa wzrost i plonowanie roślin oraz zawartość substancji biologicznie czynnych, dzięki czemu wzrasta ich wartość odżywcza i zawartość substancji prozdrowotnych. Pożyteczne mikroorganizmy wpływają bezpośrednio na wzrost roślin poprzez syntezę regulatorów wzrostu. Badania prowadzone na świecie mają na celu opracowanie konsorcjów dostosowanych optymalnie do wymagań pokarmowych różnych gatunków roślin i warunków ich uprawy. Odpowiedni dobór mikroorganizmów jako komponentów biostymulatorów i bionawozów pozwala na eliminację lub redukcję stosowania chemicznych środków produkcji, zarówno nawozów jak i środków ochrony roślin w uprawach roślin warzywnych i sadowniczych.

## **ROLA MATERII ORGANICZNEJ I POŻYTECZNYCH MIKROORGANIZMÓW W ŻYCIU ROŚLIN**

Zwiększenie zawartości materii organicznej w glebie pozwala na przywrócenie dominacji pożytecznej mikroflory glebowej, zwiększa stabilność mechaniczną i zdolności sorpcyjne gleby, poprawia pobieranie składników odżywczych przez rośliny, łagodzi również skutki anomalii pogodowych, np. niskich lub wysokich temperatur, czy wymywania składników mineralnych w głąb profilu glebowego na skutek ulewnych deszczy. Ponadto, zwiększanie zawartości materii organicznej w glebie redukuje negatywne dla roślin skutki innych niekorzystnych zjawisk, m.in. zasolenia lub alkalizacji gleb. Badania różnych autorów wskazują, że mikroorganizmy żyjące w naturalnej symbiozie z roślinami uwalniają składniki

niezbędne dla prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin, zwierząt i ludzi. W tym kontekście, we wszystkich zbiorowiskach ważne są właściwe proporcje, rozwój i aktywność mikrobiologicznych komponentów ryzosfery, obejmującej nie tylko glebę otaczającą korzeń, ale także organizmy symbiotyczne t.j. bakterie ryzosferowe, grzyby mykoryzowe, grzyby saprotroficzne czy saprofityczne, drapieżne pierwotniaki i nicienie. 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. Zubożenie gleb rolniczych i ogrodniczych oraz choroby replantacji stwarzają potrzebę wykorzystania bioproduktów i pożytecznych mikroorganizmów (bakterii, grzybów mykoryzowych i grzybów strzępkowych) oraz zwiększenia jej bioróżnorodności w celu antagonistycznego oddziaływania na mikroorganizmy szkodliwe. Mikroorganizmy symbiotyczne mogą także wytwarzać biologicznie aktywne związki (witaminy, regulatory wzrostu, antybiotyki, siderofory, substancje odżywcze dla roślin), poprawiające jakość i produktywność gleb uprawnych oraz wzrost i plonowanie roślin. W intensywnej produkcji ogrodniczej i rolnej w celu uzyskania wysokich plonów powszechnie stosowane jest wysokie nawożenie mineralne, z aplikacją środków ochrony roślin. Powoduje to utratę potencjału biologicznego i erozję gleb, co prowadzi do pogorszenia jakości i żyzności gleb uprawnych. Alternatywą dla takiej produkcji jest stosowanie obornika, słomy i innych resztek pozbiornych roślin, biowęgla oraz naturalnych bionawozów, biostymulatorów i kompostów wzbogaconych mikrobiologicznie. Dotyczy to zwłaszcza pól użytkowanych rolniczo, przygotowywanych pod nowe nasadzenia oraz gleb o dużej intensywności upraw ogrodniczych, gdzie nie ma możliwości przeprowadzenia powszechnie zalecanego zmianowania.

## **ROLA PROCESÓW ZACHODZĄCYCH W RYZOSFERZE WE WZROŚCIE I PLONOWANIU ROŚLIN SADOWNICZYCH**

Dla prawidłowego rozwoju roślin we wszystkich zbiorowiskach naturalnych, jak również w sadach i uprawach roślin jagodowych, ważny jest prawidłowy rozwój systemu korzeniowego oraz aktywność procesów zachodzących w ryzosferze, włączając korzystne działanie symbiotycznych grzybów mikoryzowych i bakterii ryzosferowych [Sas i in. 1999]. Arbuskularne grzyby mikoryzowe są ważnym komponentem ryzosfery roślin sadowniczych. Grzybnia mikoryzowa zwiększa powierzchnię chłonną korzeni i dostępność fosforu [Lovato i in. 1995], natomiast bakterie ryzosferowe (PGPR – Plant Growth Promoting Rhizobacteria) i symbiotyczne grzyby mikoryzowe wspomagają wzrost i rozwój roślin [Malusà i in. 2006]. Bakterie ryzosferowe często działają synergistycznie z grzybami mikoryzowymi jako bioprotektanty przeciwko patogenom roślinnym lub produkują związki stymulujące wzrost roślin, m.in. witaminy i hormony roślinne [Azcón-Aguilar i in. 2002].

Korzenie roślin sadowniczych, ich wydzieliny oraz obumierające tkanki, tworzą w ryzosferze środowisko życia dla wielu grup mikroorganizmów. Są to bakterie i grzyby ryzosferowe oraz inne mikroorganizmy glebowe. Liczne spośród tych mikroorganizmów, np. pożyteczne grzyby i bakterie, tworzą symbiozy z roślinami, niektóre z nich są groźnymi patogenami roślin uprawnych. Pożyteczne mikroorganizmy zasiedlające korzenie oddziałują w różny sposób na poprawę zdrowotności roślin: jedne utrudniają kolonizację korzeni przez patogeny, inne zaś stanowią dla nich konkurencję pokarmową. Wydzielają także do gleby antybiotyki i inne substancje hamujące rozwój patogenów glebowych [Khan i Lee 2013; Li Y



i in. 2013]. Zaobserwowano, że niektóre niepatogeniczne bakterie ryzosferowe indukują nabytą odporność systemiczną, podobną do indukowanej przez mikroorganizmy patogeniczne (SAR – ang. *Systemic Acquired Resistance*) [Van Loon i Bakker 2006]. Rozwój i zachowanie mikroorganizmów są regulowane poprzez wydzielane do gleby przez korzenie różnych substancji organicznych, które stanowią dla nich głównie źródło energii.

Żyjące w glebie mikroorganizmy odpowiadają także za występowanie takich zjawisk niekorzystnych dla rozwoju roślin, jak **choroba replantacyjna roślin**. Wrażliwość ta zależy też od rodzaju mikroorganizmów i ich mechanizmów działania [Mazzola i Manici 2012]. Wykazano, iż drzewa rosnące przed posadzeniem nowego sadu mają wpływ na skład gatunkowy i liczebność bakterii w ryzosferze nowych nasadzeń drzew, natomiast na skład populacji grzybów większy wpływ mają nowo posadzone drzewa. Inokulacja korzeni jabłoni grzybem mikoryzowym *Glomus fasciculatum* na „glebie zmęczonej” wpłynęła na poprawę wzrostu drzew i ograniczenie populacji grzybów pasożytniczych (*Micromycetes*) oraz na zwiększenie populacji bakterii diazotroficznych [Čatská 1994].

Arbuskularne **grzyby mikoryzowe** występują powszechnie w korzeniach drzew i krzewów uprawnych np.: jabłoni, gruszy, wiśni, maliny, jeżyny oraz winorośli i tworzą wewnątrz komórek korzeni arbuskule, czyli miejsca wymiany składników pokarmowych [Głuszek i in. 2008]. Mikoryzy arbuskularne wykształcają się w korzeniach drobnych, szczególnie w przypadku deficytu wody. Niektóre gatunki roślin sadowniczych z rodziny wrzosowatych, np. borówka wysoka, borówka średnia, borówka czarna, borówka brusznica, żurawina, tworzą mikoryzę erykoidalną, w której strzępki grzyba mikoryzowego wnikają zarówno w przestwory międzykomórkowe jak i do wnętrza komórek korzeni, tworząc struktury w formie zwojów [Read 1996].

Grzyby mikoryzowe mają bardzo korzystny wpływ na właściwości adaptacyjne, wzrost i plonowanie roślin sadowniczych i innych gatunków roślin uprawnych. Grzyby te zwiększają efektywność pobierania z gleby składników mineralnych, a także chronią korzenie roślin uprawnych przed patogenami i szkodnikami [Cavagnaro i in. 2015; Leifheit i in. 2015].

Bardzo korzystny wpływ na wzrost i rozwój roślin mają też inne grzyby glebowe, m.in. gatunki z rodzaju *Trichoderma* [Martínez-Medina i in. 2014]. Stanowią one konkurencję dla patogenów glebowych o składniki pokarmowe dostępne w glebie, ale także niektóre z nich wydzielają do gleby substancje o działaniu grzybobójczym lub wykazują mikopasożytnictwo [Qiu i in. 2012]. Grzyby te mają również korzystny wpływ na wzrost i plonowanie roślin oraz na kiełkowanie nasion [Smolińska i in. 2014]. Wykazano m.in., iż siewki jabłoni rosnące na glebie zakażonej *Phytophthora cactorum*, których korzenie inokulowano grzybem z rodzaju *Trichoderma* lub *Gliocladium*, miały zwiększoną masę oraz mniejsze uszkodzenia korzeni w porównaniu z roślinami kontrolnymi. Podobnie inokulacja korzeni truskawki grzybami *Trichoderma* ograniczając infekcję przez grzyby patogeniczne, spowodowała zwiększenie jej plonowania.

## ZASTOSOWANIE POŻYTECZNYCH MIKROORGANIZMÓW W UPRAWIE ROŚLIN SADOWNICZYCH

Symbiotyczne mikroorganizmy glebowe t.j. grzyby mikoryzowe i bakterie ryzosferowe stymulują wzrost i plonowanie roślin uprawnych. Arbuskularne grzyby mikoryzowe (AGM, nazwa angielska Arbuscular Mycorrhizal Fungi - AMF) są ważnymi komponentami

biologicznymi korzeni i rizosfery roślin. Grzybnia mikoryzowa zwiększa powierzchnię chłonną korzeni i dostępność składników mineralnych dla roślin. Bakterie rizosferowe z grupy PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) wspomagają wzrost i rozwój roślin, a także poprawiają stan zdrowotny roślin. Wśród tych mikroorganizmów wyróżniamy: mikroorganizmy **rizoplanowe** (żyjące na powierzchni korzenia) i **endofityczne** (żyjące wewnątrz korzenia). Pożyteczne mikroorganizmy zasiedlające korzenie, oddziałują w różny sposób: jedne utrudniają kolonizację korzeni przez organizmy patogeniczne, inne zaś stanowią konkurencję pokarmową lub wydzielają do gleby antybiotyki i inne substancje hamujące rozwój patogenów glebowych. Zaobserwowano, że niektóre niepatogeniczne bakterie rizosferowe mają zdolność indukowania nabytej odporności systemicznej (IR – ang. *Induced Resistance*). Pożyteczne mikroorganizmy glebowe, m.in. *Pseudomonas fluorescens*, *Penicillium steckii*, *Paecilomyces marquandii* i *Bacillus subtilis* stanowią system obrony roślin przed patogenami. Ich mechanizmy działania są bardzo różne.

Z powodu korzystnych oddziaływań pożytecznych mikroorganizmów na wzrost i plonowanie roślin są one komponentami preparatów biologicznych, w tym biostymulatorów. Zwiększenie efektywności pobierania i przyswajania składników mineralnych z biopreparatów przyczynia się do ograniczenia stosowania nawozów mineralnych i innych chemicznych środków produkcji roślin. Ponadto, zanieczyszczenia gleby związane są w strefie rizosfery i w tej części ulegają biodegradacji przy udziale mikroorganizmów glebowych.

Zwiększenie zawartości materii organicznej w glebie oraz przywrócenie dominacji pożytecznej mikroflory glebowej, może zwiększyć stabilność mechaniczną gleby i przyczyni się do poprawy zdolności sorpcyjnych gleby i pobierania składników odżywczych przez rośliny, złagodzi również skutki anomalii pogodowych, np. niskich lub wysokich temperatur, czy wymywania składników pokarmowych na skutek ulewnych deszczy. Badania różnych autorów wskazują, że mikroorganizmy żyjące w naturalnej symbiozie z roślinami uwalniały składniki niezbędne dla prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin, zwierząt i ludzi. W tym kontekście, we wszystkich zbiorowiskach ważne są właściwe proporcje, rozwój i aktywność komponentów rizosfery, obejmującej nie tylko glebę otaczającą korzeń, ale także organizmy symbiotyczne t.j. bakterie rizosferowe, grzyby mikoryzowe, grzyby saprotroficzne, drapieżne pierwotniaki i nicienie. Aktywność pożytecznej mikroflory w rizosferze jest nie tylko jednym z czynników warunkujących prawidłowy wzrost roślin, ale także ważnym potencjalnym źródłem ich odporności na choroby infekcyjne. Zubożenie gleb rolniczych i ogrodniczych oraz choroby replantacji stwarzają potrzebę wykorzystania bioproduktów i pożytecznych mikroorganizmów (bakterii, grzybów mikoryzowych i grzybów strzępkowych) oraz zwiększenia ich bioróżnorodności w celu antagonistycznego oddziaływania na mikroorganizmy szkodliwe. Mikroorganizmy te mogą także wytwarzać biologicznie aktywne związki (witaminy, regulatory wzrostu, antybiotyki, siderofory, substancje odżywcze dla roślin), poprawiające jakość gleb uprawnych oraz wzrost i plonowanie roślin. W intensywnej produkcji ogrodniczej i rolniczej w celu uzyskania wysokich plonów powszechnie stosowane jest wysokie nawożenie mineralne, z aplikacją środków ochrony roślin. Powoduje to utratę potencjału biologicznego i erozję gleb, co prowadzi do pogorszenia jakości i żyzności gleb uprawnych. Alternatywą dla takiej produkcji jest stosowanie obornika, wprowadzanie słomy do gleby oraz naturalnych bioproduktów t.j. bionawozów, biostymulatorów, kompostów wzbogaconych mikrobiologicznie. Dotyczy to zwłaszcza pól użytkowanych rolniczo,

przygotowywanych pod nowe nasadzenia oraz w rejonach o dużej intensywności upraw sadowniczych, gdzie brak jest możliwości przeprowadzenia powszechnie zalecanego zmianowania.

W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie produkcją i konsumpcją żywności ekologicznej, co jest wyrazem wzrostu świadomości konsumentów w kontekście ochrony środowiska naturalnego i zdrowia człowieka. Badania nad rozwojem przyjaznych dla środowiska metod uprawy roślin sadowniczych i rolniczych obejmują wiele aspektów takich jak: hodowla nowych odmian o podwyższonej odporności na niekorzystne czynniki środowiska, optymalizacja metod nawadniania i nawożenia, wykorzystanie płodozmianu w celu ograniczenia występowania patogenów glebowych, ściółkowanie gleb oraz stosowanie biostymulatorów i nawozów pochodzenia naturalnego z aplikacją pożytecznych mikroorganizmów glebowych. Metody te zwiększają życie mikrobiologiczne gleb, a także odporność roślin na choroby i szkodniki, co przyczyni się do poprawy jakości gleb oraz zwiększenia wielkości i jakości plonowania roślin uprawnych.

## **BIONAWOZY I ICH ROLA W ODŻYWIANIU ROŚLIN**

Bionawozy zawierają substancje organiczne oraz jeden lub kilka biologicznie aktywnych związków organicznych (aminokwasy, witaminy, enzymy, hormony roślinne), jak również makro i mikroelementy stymulujące wzrost i rozwój roślin. Dostarczają one roślinom niezbędnych substancji, które są naturalnie syntetyzowane w wielu skomplikowanych procesach biochemicznych, powodując oszczędności energii, która może być wykorzystana do innych przemian w roślinie. Dużą grupę związków stanowią bioregulatory pochodzenia syntetycznego będące przedmiotem badań wielu autorów (Raigón i in. 2010, Lester i Saftner 2011).

W konwencjonalnej produkcji roślinnej powszechnie stosuje się nawozy mineralne, często w nieefektywnych dawkach, przekraczających zapotrzebowanie roślin w dany składnik, co w konsekwencji często prowadzi do degradacji gleb oraz ich skażenia.

W ostatnich latach podejmuje się działania związane ze strategią zrównoważonego rozwoju rolnictwa, w tym rolnictwa ekologicznego, którego celem jest uzyskiwanie wysokiej jakości plonów, przy zachowaniu równowagi biologicznej ekosystemów. Efektem rozwoju rolnictwa ekologicznego jest pojawienie się na rynku biopreparatów, w tym bionawozów, stymulatorów wzrostu i rozwoju roślin pochodzenia organicznego (roślinnego lub zwierzęcego), produkowanych między innymi na bazie naturalnych ekstraktów z roślin lądowych i wodnych oraz pożytecznych mikroorganizmów. Wykorzystywane są one w nawożeniu i w ochronie roślin, ponieważ zawierają żywe mikroorganizmy pasożytnicze, drapieżne lub antagonistyczne w stosunku do patogenów roślinnych.

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 zawierający 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 mineralnych z gleby.

Termin „bionawóz” stosowany jest dla komercyjnego produktu, który zawiera pożyteczne mikroorganizmy z nośnikiem zwiększającym przeżywalność i aktywność zastosowanych mikroorganizmów. Mikroorganizmy przydatne do produkcji bionawozów należą do szeregu rodzajów grzybów i bakterii.

Dotychczasowe badania nad wpływem biopreparatów na wzrost i plonowanie roślin sadowniczych prowadzono głównie na drzewach owocowych i roślinach jagodowych. Określono ich wpływ na procesy bio-fizyko-chemiczne zachodzące w roślinach i w ryzosferze. Coraz powszechniej stosowane są w praktyce rolniczej środki pochodzenia naturalnego, m.in. przekompostowane lub w inny sposób przetworzone odpady roślinne i/lub zwierzęce. Stosowane są także biopreparaty do zwalczania chorób i szkodników, jak biopestycydy, ekstrakty z tkanek roślin i grzybów, będące biopreparatami zawierającymi żywe mikroorganizmy pasożytnicze, drapieżne lub antagonistyczne w stosunku do patogenów roślinnych (Termorshuizen i in. 2004; Smolińska i in. 2014, Sas Paszt 2011, Sas Paszt i in. 2015, 2016).

### **BIONAWOZY WZBOGACONE MIKROBIOLOGICZNIE**

Odrębną grupę środków stanowią bionawozy wyprodukowane z wykorzystaniem żywych mikroorganizmów, nie tylko dostarczające składniki pokarmowe do gleby ale również pozwalające na udostępnienie nieaktywnych form pierwiastków roślinom. Ponadto, zabezpieczają one system korzeniowy przed infekcjami (van Loon i Bakker 2006). W tej grupie związków znajdują się preparaty, których mechanizm działania można porównać do działania fungicydalnego, w tym preparaty wytwarzane ze specjalnie wyselekcjonowanych bakterii i enzymów. Środki te działają najskuteczniej, jeśli są aplikowane podczas sadzenia roślin i na początku uprawy. Stymulują one wzrost i rozwój systemu korzeniowego, który jest zdrowy, silny, o kilkakrotnie większej objętości niż w uprawach konwencjonalnych (El-Hasan i in. 2009). Dzięki lepszemu przyswajaniu składników pokarmowych oraz ochronie przed patogenami glebowymi, rośliny rozwijają się i rosną lepiej, co zapewnia ich lepsze plonowanie. Preparaty o działaniu fungicydalnym są zalecane głównie dla upraw roślin sadowniczych, warzywnych i na plantacje szkółkarskie (Whipps 2001). Bionawozy o właściwościach nawozowo-ochronnych oparte są głównie na bazie substancji organicznej i olejów parafinowych, a ich stosowanie jest ograniczone do wczesnych faz rozwojowych określonych gatunków drzew owocowych i roślin jagodowych. Stosowane są również preparaty oparte na wyciągach roślinnych, np. z czosnku, drzewa herbacianego, wrotycza, skrzypu polnego, pokrzywy. Dodanie biopreparatów mikrobiologicznych do roztworów olejowych lub wyciągów roślinnych umożliwia obniżenie ich koncentracji, a tym samym stosowanie ich we wczesnych fazach rozwojowych drzew i krzewów owocowych. Wobec tego w zabiegach ochrony roślin wykorzystywana jest mniejsza ilość preparatów oraz ograniczona zostanie liczba ich aplikacji, co również wiąże się ze zmniejszeniem pracochłonności. Łączna aplikacja bionawozów czy substancji ochronnych z mikroorganizmami przyczyni się do opracowania innowacyjnych metod stosowania tych biopreparatów w biologicznej ochronie roślin (Bashan i in. 2014).

Przeprowadzone w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach badania na zgromadzonych zasobach pożytecznych mikroorganizmów pozwoliły na wyselekcjonowanie najbardziej wartościowych szczepów bakterii ryzosferowych, grzybów

mykoryzowych i grzybów strzępkowych. Opracowano konsorcja pożytecznych mikroorganizmów dla zwiększenia wzrostu i plonowania roślin truskawki, jabłoni i wiśni oraz roślin warzywnych w uprawach ekologicznych. Badania nad wpływem mikrobiologicznych technologii nawożenia i ochrony roślin obejmowały zarówno doświadczenia szklarniowe jak i w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach oraz u prywatnych producentów warzyw i owoców. Opracowano innowacyjne inokula bakteryjno-mykoryzowe, które jako element składowy bionawozów i biostymulatorów wykazały dużą skuteczność w stymulacji wzrostu i plonowania roślin oraz poprawie jakości gleb uprawnych i zdegradowanych. **Wykorzystanie mikroorganizmów oraz substratów organicznych do stymulacji wzrostu i odżywiania roślin.**

Badania procesów zachodzących w ryzosferze roślin mają istotne znaczenie i obejmują doświadczenia nad określeniem roli naturalnych komponentów biosfery gleby (bakterii i grzybów mykoryzowych) w odżywianiu roślin, ich wzroście i plonowaniu. W tym celu izolowane, identyfikowane i aplikowane są szczepy grzybów mykoryzowych i bakterii o najlepszych właściwościach uprawowych, m.in.:

- stymulujących wzrost i plonowanie roślin,
- wspomagających pobieranie związków mineralnych i wody przez rośliny,
- zwiększających odporność roślin na stresy środowiskowe, m.in. o działaniu antagonistycznym w stosunku do patogenów glebowych (tzw. biopestycydy).

Wobec korzystnych oddziaływań pożytecznych mikroorganizmów na wzrost i plonowanie roślin, mykoryzacja jest w coraz większym stopniu praktycznie stosowana w nowoczesnej uprawie roślin. Zwiększenie efektywności pobierania i przyswajania składników odżywczych z biostymulatorów wzbogaconych mikrobiologicznie przyczyni się do ograniczenia stosowania nawozów mineralnych i innych chemicznych środków produkcji roślin. Ponadto, zanieczyszczenia gleby związane są w strefie ryzosfery i w tej części ulegają rizodegradacji przy udziale mikroorganizmów glebowych (Das i in. 2014).

Poznanie bio-fizyko-chemicznych procesów zachodzących w ryzosferze oraz roli symbiotycznych mikroorganizmów, mających największy wpływ na dostępność i pobieranie składników odżywczych przyczyniło się do rozwoju ekologicznych metod uprawy roślin ogrodniczych (Sas Paszt i Głuszek 2007, Sas Paszt 2011, Sas Paszt i Grzyb 2013). W celu lepszego zrozumienia mechanizmu działania pożytecznych mikroorganizmów niezbędna jest ich identyfikacja oraz ocena efektywności ich działania w uprawach roślin. Identyfikację mikroorganizmów oraz ocenę aktywności mikrobiologicznej gleby prowadzi się w celu określenia bioróżnorodności mikroorganizmów glebowych oraz wpływu warunków środowiska i oddziaływania człowieka poprzez zabiegi agrotechniczne na przeżywalność i wielkość ich populacji w glebie.

## **ZASTOSOWANIE BIOPREPARATÓW WZBOGACONYCH MIKROBIOLOGICZNIE W UPRAWACH ROŚLIN SADOWNICZYCH**

Bionawozy zawierają substancję organiczną oraz jeden lub kilka biologicznie aktywnych związków organicznych (aminokwasy, witaminy, enzymy, hormony roślinne), jak również makro i mikroelementy stymulujące wzrost i rozwój roślin. Dostarczają one roślinom niezbędnych substancji, które są naturalnie syntetyzowane w wielu skomplikowanych

procesach biochemicznych powodując oszczędności energii, która może być wykorzystana do innych przemian w roślinie.

Badania własne Zakładu Mikrobiologii Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach wykazały, iż aplikacja biostymulatorów, nawozów organicznych i konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów wpłynęła korzystnie zwiększenie liczebności pożytecznych grup mikroorganizmów w glebie rizosferowej oraz na zwiększenie wzrostu i plonowania roślin truskawki i drzew jabłoni. W glebie rizosferowej roślin sadowniczych zidentyfikowano izolaty bakterii sporujących, które posłużyły do opracowania nowych konsorcjów mikrobiologicznych i bioproduktów przeznaczonych do upraw roślin sadowniczych. Uzyskane wyniki będą wykorzystane do charakterystyki molekularnej pożytecznych dla roślin mikroorganizmów, zdeponowanych w Symbio Banku Zakładu Mikrobiologii Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach.

Łączna aplikacja biowęgla z nawozem organicznym Florovit NPK wpłynęła na istotne zwiększenie wzrostu wegetatywnego drzew jabłoni, t.j. średnicy pnia, wysokości i wielkości drzew. Największy plon ogólny oraz liczbę owoców uzyskano z drzew jabłoni traktowanych biowęgłem w połączeniu z opracowanym w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Ogrodnictwa konsorcjum bakteryjno-mikoryzowym, był on większy o 46% od plonu uzyskanego z roślin kontrolnych. Aplikacja biowęgla wzbogaconego o pożyteczne mikroorganizmy glebowe wpłynęła na istotne zwiększenie świeżej i suchej masy korzeni oraz długości, pola powierzchni i objętości korzeni jabłoni odmiany Ariwa. Zastosowanie biopreparatu Humus Active + Aktywit PM wpłynęło na zwiększenie zasiedlania korzeni jabłoni odmiany Topaz przez arbuskularne grzyby mikoryzowe (AGM). W korzeniach roślin kontrolnych odnotowano najniższy stopień asocjacji mikoryzowej.

Biostymulatory wzbogacone mikrobiologicznie wykazały korzystny wpływ na wzrost wegetatywny i plonowanie roślin truskawki w doświadczeniach polowych. Uzyskane wyniki doświadczeń wskazują na pozytywne działanie bioproduktów na stopień asocjacji mikoryzowej w korzeniach roślin truskawki odmian Elsanta i Elkat. Nawożenie standardowe NKP miało negatywny wpływ na stopień frekwencji mikoryzowej w korzeniach roślin truskawki. Najwyższe zawartości makroelementów i mikroelementów odnotowano w próbkach liści roślin truskawki odmiany Elsanta traktowanych biopreparatami BF Quality, Micosat, Humus UP, Florovit Eco, Vinassa oraz obornikiem.

Najwyższe zawartości makroelementów i mikroelementów odnotowano w próbkach gleby rizosferowej roślin truskawki odmiany Elsanta traktowanych biopreparatami Humus UP, Humus Active + Aktywit PM i Vinassa. W glebie rizosferowej truskawki odmiany Elkat odnotowano najwyższe zawartości makroelementów i mikroelementów po aplikacji obornika, Florovit Eco, Micosat, BF Quality i Vinassa.

Zastosowanie kompostu, Humus Up oraz kompostu z opracowanym w Pracowni Rizosfery Instytutu Ogrodnictwa konsorcjum bakterii PGPR miało największy wpływ na zwiększenie ogólnej populacji pożytecznych bakterii, t.j. bakterii wytwarzających formy przetrwalnikowe, bakterii z grupy *Pseudomonas fluorescens*, diazotrofów i promieniowców. Łączna aplikacja biowęgla i Florovitu NPK zwiększyła ogólną liczbę grzybów mikroskopowych w glebie rizosferowej drzew jabłoni odmiany Ariwa.

Badania własne Zakładu Mikrobiologii oraz dane z literatury światowej wskazują, iż stosowanie biopreparatów wzbogaconych mikrobiologicznie w uprawach roślin ogrodniczych

zwiększa jakość i wielkość plonowania roślin oraz poprawia żyzność gleb uprawnych i zdegradowanych. Badania w tym zakresie przyczynią się do opracowania mikrobiologicznych technologii nawożenia i ochrony roślin sadowniczych.

## **METODY APLIKACJI BIOPREPARATÓW W UPRAWACH POŁOWYCH**

Właściwe sposoby aplikacji środków ochrony roślin i bionawozów w produkcji roślin jest jednym z kluczowych elementów skuteczności ich działania. Wymogi ochrony środowiska naturalnego i zdrowia człowieka sprawiają, iż wielu producentów rolnych przekształca swoje gospodarstwa w kierunku produkcji ekologicznej. Prowadzi to do coraz szerszego stosowania biostymulatorów, bionawozów, naturalnych środków ochrony roślin i ulepszaczy glebowych. Nowe rodzaje preparatów wymagają jednak opracowania nowych technik ich aplikacji w warunkach produkcji towarowej. Stąd tak ważnym jest rozwój nowych metod aplikacji biopreparatów, m.in. zapewnienie odpowiednich parametrów ich stosowania, tak by nie zmniejszyć przeżywalności i wielkości populacji oraz efektywności działania pożytecznych mikroorganizmów obecnych w biopreparatach (bakterie, grzyby mykoryzowe). Nowe preparaty pochodzenia organicznego stosowane w rolnictwie ekologicznym w znacznym stopniu różnią się właściwościami fizycznymi od syntetycznych środków produkcji, używanych w rolnictwie konwencjonalnym. Poważny problem techniczny stanowi precyzyjne aplikowanie preparatów z grupy substratów organicznych. Nowoczesne opryskiwacze i rozsiewacze nawozów z automatyką regulacji parametrów roboczych (komputery pokładowe) umożliwiają odpowiednią aplikację preparatów w produkcji ekologicznej. W celu ulepszenia rozwiązań technicznych dostosowywane są parametry pracy rozrzutników obornika oraz aplikatorów preparatów doglebowych (Hołownicki 2006).

W Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Ogródnictwa opracowywano nowe bionawozy i biostymulatory oraz środki ochrony roślin wzbogacone mikrobiologicznie poprzez włączenie rodzimych, pożytecznych mikroorganizmów glebowych do produktów pochodzenia naturalnego. Zarodniki symbiotycznych grzybów mykoryzowych i pożyteczne bakterie ryzosferowe wyizolowane z ryzosfery roślin warzywnych, z ekologicznych sadów i plantacji roślin jagodowych oraz z dziko rosnących roślin sadowniczych, (m.in. na terenie Bieszczadzkiego Parku Narodowego, okolicach Białowieży) przechowywane są w SYMBIO BANK-u, w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$ . Dzięki temu bioprodukty wzbogacone mikrobiologicznie są bardziej skuteczne w stymulacji wzrostu i plonowania roślin, a także w ochronie roślin przed patogenami i szkodliwymi nicieniami glebowymi.

## **CEL BADAŃ**

Celem podzadania 5 było opracowanie i optymalizacja mikrobiologicznych metod oceny stanu degradacji gleb w uprawach roślin sadowniczych.

## **METODYKA BADAŃ**

Doświadczenia przeprowadzono na roślinach truskawki odmian Elsanta oraz jabłoni odmian Ariwa i Topaz w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach.

W doświadczeniach połowych zastosowano produkty:

- Substrat bakteryjno-mykoryzowy
- Humus UP
- Humus Active + Aktywit PM

- BF Amin
- Tytanit
- BF Quality
- Vinassa
- Florovit Eco i Florovit Natura
- Konsorcja pożytecznych mikroorganizmów
- Biowęgiel.

Kombinacjami kontrolnymi były:

- Rośliny nie nawożone (Kontrolne)
- Rośliny nawożone NPK (Kontrolne NPK)
- Rośliny nawożone obornikiem.

Nawozy mieszano z glebą, a płynne biostymulatory aplikowano dolistnie, 3 krotnie, w odstępach 4 tygodniowych. Formulacje płynnych konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów zastosowano doglebowo, 3 krotnie w ciągu sezonu wegetacyjnego, w odstępach 4 tygodniowych.

### **POMIARY I OBSERWACJE**

- Plonowanie roślin truskawki i jabłoni – poprzez określenie: plonu ogólnego i liczby ogólnej owoców
- Analizę cech wzrostu systemu korzeniowego drzew jabłoni i roślin truskawki wykonano za pomocą skanera korzeniowego, określając długość, pole powierzchni, objętość, średnicę i liczbę wierzchołków korzeni.
- Identyfikacja biochemiczna bakterii i grzybów mikroskopowych (System Identyfikacji Mikroorganizmów BIOLOG).
- Nicienie z gleby izolowano zmodyfikowaną metodą Baermana oraz metodą wirówkową. Skład ilościowy i jakościowy nematofauny wykonano przy użyciu mikroskopu stereoskopowego.
- Ocena stopnia asocjacji mykoryzowej w korzeniach metodą Trouvelot (1986), i programu MYCOCALC: <http://www2.dijon.inra.fr/mychintec/Mycocalc-prg/download.html>.

### **ANALIZA SKŁADU MINERALNEGO GLEBY ORAZ MATERIAŁU ROŚLINNEGO**

#### **Przygotowanie gleby do analiz**

Świeżą, dobrze wymieszaną próbkę gleby wysuszono do stanu powietrznie suchego w temperaturze nie przekraczającej 40<sup>0</sup> C. Powietrznie suchą glebę przesiewano przez sito o kwadratowych oczkach wielkości 1 mm.

#### **Oznaczanie pH gleby**

Stężenie jonów wodorowych w glebie mierzono w 1M chlorku potasu, metodą potencjometryczną. Odczyn gleby uwzględniał stężenie jonów wodorowych znajdujących się w roztworze glebowym a także jony wodoru słabo związane ze stałą frakcją gleby.



### **Oznaczanie przyswajalnych form fosforu, potasu, magnezu, mikroelementów**

Do oznaczania przyswajalnych form fosforu i potasu w glebie mineralnej wykorzystano metodę Egnera-Riehma (ekstrakcja z gleby związków fosforu i potasu roztworem mleczanu wapnia). Do oznaczania przyswajalnych form magnezu w glebie mineralnej wykorzystano metodę Schachtschabela (ekstrakcja gleby 0.025 M chlorkiem wapnia). Jon wapniowy wypiera z kompleksu sorpcyjnego jon magnezowy, który zostaje w ten sposób przeprowadzony do roztworu. Oznaczanie przyswajalnych form mikroelementów w glebie wykonano metodą ekstrakcji w roztworze 1M HCl.

### **Przygotowanie materiału roślinnego do oznaczeń.**

Próbkę materiału roślinnego suszono do stanu powietrznie suchego (65 0C). Wysuszoną próbkę zhomogenizowano używając młynka udarowego z sitem o średnicy oczek nie większej niż 1,0 mm.

### **Oznaczanie zawartości składników mineralnych w materiale roślinnym.**

Spalanie substancji roślinnej na mokro polegało na całkowitym utlenieniu za pomocą ciekłych utleniaczy takich jak stężone kwasy siarkowy, azotowy i nadchlorowy używanych pojedynczo lub w różnych kombinacjach i proporcjach. Do oznaczenia zawartości składników mineralnych zastosowano technikę atomowej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-OES).

**Zawartość azotu ogólnego w glebie i w materiale roślinnym** oznaczono wg Dumas'a, metodą konduktometryczną (aparatus TruSpec CNS). Tę samą metodę wykorzystano do oznaczania zawartości węgla organicznego w glebie. Zawartość substancji organicznej została wyliczona na podstawie zawartości węgla (Corg.x1.72).

### **Ocena zróżnicowania mikrobiologicznego gleby w uprawie drzew jabłoni odmiany Topaz oraz roślin truskawki odmiany Elsanta po zastosowaniu bioproduktów z użyciem techniki PCR-DGGE**

Celem pracy była ocena zróżnicowania bakteryjnego gleby w uprawie jabłoni i truskawki traktowanych bioproduktami. Analizy przeprowadzono z użyciem techniki PCR-DGGE (elektroforeza w denaturującym żelu gradientowym - denaturing gradient gel electrophoresis), która umożliwia określenie zróżnicowania mikrobiologicznego gleby bez konieczności kultywowania mikroorganizmów na pożywkach. Technika PCR-DGGE polega na rozdzieleniu pojedynczych amplikonów o tej samej długości, ale różniących się sekwencją, w żelu poliakrylamidowym, w gradiencie chemicznym (Hill i in., 2000). Technika ta była stosowana na przykład do oceny zróżnicowania mikrobiologicznego gleb uprawnych o zróżnicowanym poziomie nawożenia azotowego oraz gleb zanieczyszczonych chemicznie (Smalla i in. 2007; Hoshino i Morimoto 2008; Sun i in. 2014; Liu i in. 2015).

Ocenę zróżnicowania bakteryjnego gleby z użyciem techniki PCR-DGGE przeprowadzono dla 12 prób gleby pobranej z okolic korzeni jabłoni oraz dla 7 prób gleby pobranej z okolic korzeni truskawki. Próby gleby oznaczono następująco: 1-Jabłoń kontrola, 2-Jabłoń NPK, 3-Jabłoń obornik, 4-Jabłoń Micosat, 5-Jabłoń Humus UP, 6-Jabłoń Humus Active + Aktywit PM, 7-Jabłoń BFQuality, 8-Jabłoń BF Amin, 9-Jabłoń Tytanit, 10-Jabłoń Vinassa, 11-Jabłoń Florovit Natura, 12-Jabłoń Florovit Eco, 13-Truskawka kontrola, 14-Truskawka NPK, 15- Truskawka Substrat mykoryzowy, 16-Truskawka PGPR-C, 17-Truskawka

Vinassa+PGPR C, 18-Truskawka Humus UP+ PGPR C, 19-Truskawka Vinassa.

Identyfikację izolatów bakterii oparto na analizie zróżnicowania mikroorganizmów w obrębie genu rybosomalnego 16S rRNA. Analiza genów kodujących rRNA umożliwia identyfikację rodzajów i gatunków bakterii oraz ocenę ich podobieństwa genetycznego (Mulet i in. 2010, Susilowati i in. 2010). Przydatność tej analizy do identyfikacji bakterii wynika z faktu, że geny kodujące rRNA występują powszechnie u mikroorganizmów i zawierają domeny zmienne i konserwowane (Langille i in. 2013; Smets i in. 2016), a dostępna publicznie baza danych sekwencji małej podjednostki genu rybosomalnego 16S rRNA bakterii zawiera ponad 4 miliony sekwencji (Yarza i in. 2014). Do testów opartych na analizie zróżnicowania genu kodującego 16S rRNA zastosowano technikę PCR-RFLP (ang. restriction fragments length polymorphism; polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych) oraz analizę sekwencji. Amplifikację 16S rRNA przeprowadzono w 35 cyklach (94 °C x 1 min, 55 °C x 1 min, 72 °C x 2 min) z użyciem starterów 27/1492r (Lane 1991). Analizę restrykcyjną 16S rRNA przeprowadzono z użyciem enzymów FastDigest *HaeIII*, *RsaI*, *TaqI* (ThermoScientific®). Identyfikację szczepów bakterii na podstawie uzyskanych sekwencji przeprowadzono przez porównanie z danymi zgromadzonymi w bazie NCBI (National Center for Biotechnology Information, NIH, Bethesda, MD 20894, USA, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Do rozróżniania izolatów bakterii zastosowano także technikę rep-PCR, która umożliwia identyfikację bakterii na poziomie podgatunku lub szczepu (Ishii i Sadowsky 2009). Reakcje rep-PCR przeprowadzono z użyciem starterów ERIC i BOX (Louws i in. 1994), w następujących warunkach termicznych: ERIC-PCR – 42 cykle (94°C × 1 min., 52°C × 1.5 min., 65°C × 8 min.); BOX-PCR – 37 cykli (94°C × 1 min., 40°C × 2 min., 72°C × 2 min.). Łącznie przeprowadzono reakcje PCR z użyciem 3 par starterów.

## WNIOSKI – SEZON WEGETACYJNY 2015

- Aplikacja biostymulatorów, nawozów organicznych i konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów wpłynęła korzystnie na liczebność pożytecznych grup mikroorganizmów w glebie ryzosferowej oraz na zwiększenie wzrostu i plonowania roślin truskawki i drzew jabłoni.
- W glebie ryzosferowej roślin sadowniczych zidentyfikowano izolaty bakterii sporujących. Dane te posłużą do opracowania nowych konsorcjów mikrobiologicznych i bioproduktów przeznaczonych do upraw roślin sadowniczych. Uzyskane wyniki będą wykorzystane do charakterystyki molekularnej pożytecznych dla roślin mikroorganizmów, zdeponowanych w Symbio Banku Pracowni Ryzosfery Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach.
- Łączna aplikacja biowęgla z Florovit NPK wpłynęła na istotne zwiększenie wzrostu wegetatywnego drzew jabłoni, t.j. średnicy pnia, wysokości i wielkości drzew.
- Największy plon ogólny oraz liczbę owoców uzyskano z drzew jabłoni traktowanych biowęgłem w połączeniu z konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym, był on większy o 46% od plonu uzyskanego z roślin kontrolnych.

- Aplikacja biowęgla wzbogaconego o pożyteczne mikroorganizmy glebowe wpłynęła na istotne zwiększenie świeżej i suchej masy korzeni oraz długości, pola powierzchni i objętości korzeni jabłoni odmiany Ariwa.
- Zastosowanie biopreparatu Humus Active + Aktywit PM wpłynęło na zwiększenie zasiedlania korzeni jabłoni odmiany Topaz przez arbuskularne grzyby mykoryzowe (AGM). W korzeniach roślin kontrolnych odnotowano najniższy stopień asocjacji mykoryzowej.
- Biostymulatory wykazały korzystny wpływ na wzrost wegetatywny i plonowanie roślin truskawki w doświadczeniach polowych. Uzyskane wyniki doświadczenia wskazują na pozytywne działanie bioproduktów na stopień asocjacji mykoryzowej w korzeniach roślin truskawki odmian Elsanta i Elkat. Nawożenie standardowe NKP miało negatywny wpływ na stopień frekwencji mykoryzowej w korzeniach roślin truskawki.
- Najwyższe zawartości makroelementów i mikroelementów odnotowano w próbkach liści roślin truskawki odmiany Elsanta traktowanych biopreparatami BF Quality, Micosat, Humus UP, Florovit Eco, Vinassa oraz obornikiem.
- Najwyższe zawartości makroelementów i mikroelementów odnotowano w próbkach gleby ryzosferowej roślin truskawki odmiany Elsanta traktowanych biopreparatami Humus UP, Humus Active + Aktywit PM i Vinassa. W glebie ryzosferowej truskawki odmiany Elkat odnotowano najwyższe zawartości makroelementów i mikroelementów po aplikacji obornika, Florovit Eco, Micosat, BF Quality i Vinassa.
- Zastosowanie kompostu, Humus Up oraz kompostu z konsorcjum PGPR C miało największy wpływ na zwiększenie ogólnej populacji pożytecznych bakterii, t.j. bakterii wytwarzających formy przetrwalnikowe, bakterii z grupy *Pseudomonas fluorescens*, diazotrofów i promieniowców.
- Łączna aplikacja biowęgla i Florovitu NPK zwiększyła ogólną liczbę grzybów mikroskopowych w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Ariwa.
- Na poletkach z uprawą truskawki nawożonych Humus Active z Aktywit PM liczebność szpileczników była dwukrotnie mniejsza w porównaniu do poletek kontrolnych. Na poletkach traktowanych tym biostymulatorem stwierdzono istotnie mniejszą liczebność korzeniaków oraz wszystkich nicieni występujących w glebie.
- W uprawie jabłoni szkodniki z rodzaju *Paratylenchus* wystąpiły poniżej progu wykrywalności na poletkach nawożonych Humus UP, a najniższa liczebność wszystkich pasożytów roślin była notowana na poletkach gdzie stosowano preparat Florovit Eco.

## **WNIOSKI – SEZON WEGETACYJNY 2016**

Doglebowa aplikacja konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego wpłynęła na zwiększenie plonowania drzew jabłoni, a aplikacja Humus UP wpłynęła na zwiększenie plonowania roślin truskawki. Zastosowanie biowęgla wpłynęło na zwiększenie populacji bakterii z grupy *Pseudomonas fluorescens* i grzybów mikroskopowych oraz zmniejszenie populacji

promieniowców w glebie ryzosferowej drzew jabłoni. Humus UP i Vinassa wzbogacone mikrobiologicznie (PGPR C) wpłynęły na zwiększenie ogólnej liczby bakterii, w tym fluorescencyjnych bakterii *Pseudomonas* spp i diazotrofów w glebie ryzosferowej roślin truskawki. Zastosowane bioprodukty wpłynęły na zwiększenie zawartości makroelementów i mikroelementów w liściach jabłoni i truskawki. Aplikacja preparatu Humus Active + Aktywit PM w uprawie truskawki wpłynęła na zwiększenie ogólnej liczby nicieni oraz liczby nicieni pasożytów roślin a w uprawie jabłoni na ograniczenie występowania tych grup nicieni. Preparaty BF Quality, Tytanitu i Vinassy w uprawie truskawki ograniczały zasiedlanie gleby przez pasożytnicze nicienie glebowe, w tym szpileczniki. Aplikacja Micosatu, Humus Active+Aktywit PM, obornika, biowęgla i Florovitu NPK z mikroorganizmami wpłynęła na zwiększenie zasiedlania korzeni roślin przez grzyby mykoryzowe w polowej uprawie jabłoni i truskawki.

### **WNIOSKI – SEZON WEGETACYJNY 2017**

- Aplikacja biowęgla wpłynęła na zwiększenie plonowania drzew jabłoni odmiany Ariwa, a aplikacja biostymulatora Humus UP oraz Vinassy wpłynęła na zwiększenie plonowania roślin truskawki odmiany Elsanta i Elkat.
- Zastosowane bionawozy, biostymulatory oraz konsorcja mikrobiologiczne wpłynęły na zwiększenie zawartości makroelementów i mikroelementów w liściach drzew jabłoni odmiany Ariwa. Po zastosowaniu biowęgla, biowęgla łącznie z Florovitem oraz biowęgla łącznie z konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym odnotowano wzrost zawartości makroelementów i mikroelementów w glebie.
- Aplikacja konsorcjum PGPR C łącznie z kompostem oraz samego kompostu w największym stopniu wpłynęło na wzrost zawartości makro i mikroelementów w glebie roślin truskawki odmiany Elsanta i Elkat. Najwyższe zawartości makroelementów oraz mikroelementów w liściach roślin truskawki odmiany Elsanta i Elkat odnotowano po zastosowaniu nawożenia NPK, kompostu oraz biopreparatu Rhizocell.
- Łączna aplikacja biowęgla oraz konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego wpłynęła na istotne zwiększenie cech wzrostu korzeni drzew jabłoni odmiany Ariwa.
- Zastosowanie biowęgla, Florovitu NPK, Florovitu łącznie z biowęgłem oraz konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego wpłynęło na zwiększenie populacji wybranych grup mikroorganizmów w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Ariwa.
- Biostymulator Vinassa, Rhizocell oraz konsorcjum PGPR C wpłynęły na zwiększenie wybranych grup mikroorganizmów w glebie ryzosferowej roślin truskawki odmiany Elkat.
- Aplikacja konsorcjów PGPR A, PGPR C oraz nawożenie NPK w polowej uprawie truskawki w największym stopniu wpłynęło na zwiększenie ogólnej liczby nicieni, pasożytów, korzeniaków, długaczy, krępaków oraz szpileczników. Konsorcjum PGPR C wpłynęło na ograniczenie populacji nicieni, pasożytów oraz krępaków w porównaniu do gleby kontrolnej, natomiast zastosowanie biostymulatora Vinassa wpłynęło na

ograniczenie występowania korzeniaków, Humusu Up na ograniczenie występowania szpileczników, a nawożenie NPK ograniczyło występowanie długaczy.

- W uprawie jabłoni odmiany Topaz po aplikacji biostymulatora Tytanit odnotowano w glebie ryzosferowej największą liczebność pasożytów oraz szpileczników, a po aplikacji obornika odnotowano większą ogólną liczebność nicieni. Największą liczbę korzeniaków w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Topaz uzyskano po zastosowaniu Micosatu. Aplikacja biostymulatora Vinassa wpłynęła na ograniczenie występowania pasożytów, zastosowanie obornika wpłynęło na ograniczenie występowania szpileczników, natomiast aplikacja biostymulatora BF Quality wpłynęła na ograniczenie występowania korzeniaków w uprawie jabłoni odmiany Topaz.
- Wyniki przeprowadzonych doświadczeń wskazują na korzystny wpływ zastosowanych biostymulatorów i bionawozów oraz konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów na poprawę jakości gleb oraz na zwiększenie stopnia formowania się struktur arbuskularnych grzybów mykoryzowych w korzeniach drzew jabłoni odmiany Topaz i Ariwa.
- Wyniki doświadczeń wskazują, iż aplikacja zastosowanych bioproduktów oraz biostymulatorów stymulowała formowanie wyższej liczby zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych w ryzosferze drzew jabłoni odmian Ariwa i Topaz, w porównaniu do ryzosfery roślin kontrolnych.
- Przeprowadzone testy z użyciem technik molekularnych umożliwiły identyfikację glebowych szczepów bakterii, które mogą znaleźć zastosowanie do wzbogacania bionawozów przeznaczonych do upraw jabłoni i truskawki. Technika PCR-RFLP oraz sekwencjonowanie genu kodującego 16S rRNA umożliwiły identyfikację rodzaju lub gatunku bakterii, natomiast technika rep-PCR umożliwiła identyfikację szczepów bakterii w obrębie rodzaju/gatunku.
- Uzyskane wyniki znajdują zastosowanie do identyfikacji izolatów mikroorganizmów zasiedlających strefę ryzosferową korzeni drzew owocowych i innych gatunków roślin uprawnych. Ponadto, uzyskane wyniki będą wykorzystane do charakterystyki molekularnej pożytecznych dla roślin mikroorganizmów, zdeponowanych w SymbioBanku Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach.

## **WNIOSKI – SEZON WEGETACYJNY 2018**

- Aplikacja Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego łącznie z Florovitem NPK wpłynęła na zwiększenie plonowania drzew jabłoni odmiany Ariwa, a aplikacja biostymulatora Humus UP wpłynęła na zwiększenie plonowania roślin truskawki odmiany Elsanta.
- Zastosowane bionawozy, biostymulatory oraz konsorcja mikrobiologiczne wpłynęły na zwiększenie zawartości makroelementów i mikroelementów w liściach drzew jabłoni odmiany Ariwa. Po łącznej aplikacji Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego i Florovitu NPK oraz biowęgla łącznie z Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym odnotowano wzrost zawartości makroelementów i mikroelementów w glebie.

- Zastosowanie nawożenia NPK oraz biostymulatora Vinassa łącznie z konsorcjum PGPR C w największym stopniu wpłynęło na wzrost zawartości makro i mikroelementów w glebie spod roślin truskawki odmiany Elsanta. Najwyższe zawartości makroelementów oraz mikroelementów w liściach roślin truskawki odmiany Elsanta odnotowano po zastosowaniu Vinassy łącznie z Konsorcjum PGPR C oraz po łącznej aplikacji Humusu UP z Konsorcjum PGPR C.
- Łączna aplikacja biowęgla oraz Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego wpłynęła na istotne zwiększenie cech wzrostu korzeni drzew jabłoni odmiany Ariwa.
- Zastosowanie biowęgla, Florovitu NPK łącznie z biowęgłem oraz biowęgla łącznie z konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym wpłynęło na zwiększenie populacji wybranych grup mikroorganizmów w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Ariwa.
- Biostymulator Humus UP zastosowany łącznie z Konsorcjum PGPR C oraz aplikacja biostymulatora Vinassa razem z Konsorcjum bakteryjnym PGPR C wpłynęły na zwiększenie wybranych grup mikroorganizmów w glebie ryzosferowej roślin truskawki odmiany Elsanta.
- W polowej uprawie truskawki w kombinacji kontrolnej oraz po zastosowaniu substratu mykoryzowego odnotowano zwiększenie ogólnej liczby nicieni, korzeniaków, szpileczników, nicieni *Aphelenchus/Aphelenchoides sp.*, oraz nicieni *Belonolaimidae sp.* Zastosowanie biostymulatora Vinassa wpłynęło na ograniczenie występowania ogólnej liczby nicieni, pasożytów, korzeniaków oraz nicieni (*Belonolaimidae sp.*). Konsorcjum PGPR C wpłynęło na ograniczenie populacji szpileczników oraz nicieni (*Aphelenchus/Aphelenchoides sp.*).
- W uprawie drzew jabłoni odmiany Topaz w kombinacji kontrolnej odnotowano największą liczebność pasożytów oraz szpileczników. Po aplikacji nawożenia NPK odnotowano większą ogólną liczebność nicieni. Największą liczbę korzeniaków i krępaków w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Topaz uzyskano po zastosowaniu biostymulatora BF Quality. Po zastosowaniu Florovitu Natura odnotowano w glebie ryzosferowej największą liczebność nicieni (*Aphelenchus/Aphelenchoides sp.*). Aplikacja biostymulatora BF Quality spowodowała nieznaczne zwiększenie liczebności krępaków (*Trichodorus sp.*). Największą liczbę nicieni (*Belonolaimidae sp.*) uzyskano po zastosowaniu biostymulatora Vinassa. Aplikacja biostymulatora BF Amin wpłynęła na całkowite ograniczenie występowania nicieni *Aphelenchus/Aphelenchoides*, krępaków oraz nicieni *Belonolaimidae*.
- Wyniki przeprowadzonych doświadczeń wskazują na korzystny wpływ zastosowanych biostymulatorów i bionawozów oraz konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów na zwiększenie stopnia formowania struktur arbuskularnych grzybów mykoryzowych w korzeniach roślin truskawki i drzew jabłoni.
- Z przeprowadzonych doświadczeń wynika, iż aplikacja zastosowanych bioproduktów wzbogaconych mikrobiologicznie stymulowała formowanie większej liczby zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych w ryzosferze drzew jabłoni

odmian Ariwa i roślin truskawki odmiany Elsanta, w porównaniu do ryzosfery roślin kontrolnych (bez nawożenia) i traktowanych Florovitem NPK.

- Większe zróżnicowanie bakteryjne gleby obserwowano dla DNA pozyskanego z gleby ze strefy korzeni truskawki (średnio 16,3 prążków/próbę) niż jabłoni (średnio 11,6% prążków/próbę).
- Największe zróżnicowanie bakteryjne (22 prążki) obserwowano dla prób DNA pozyskanego z gleby ze strefy korzeni jabłoni traktowanych bioproduktem Humus UP.
- Uzyskane wyniki znajdują zastosowanie do oceny zróżnicowania mikrobiologicznego gleby traktowanej bioproduktami w uprawach roślin sadowniczych.

## **WNIOSKI – SEZON WEGETACYJNY 2019**

- Aplikacja Konsorcjum pożytecznych mikroorganizmów oraz biowęgla z Florovitem NPK wpłynęła korzystnie na zwiększenie zawartości makroelementów i mikroelementów w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Ariwa.
- W kombinacji kontrolnej odnotowano zwiększenie populacji wybranych grup mikroorganizmów w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Ariwa. Zastosowanie Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego łącznie z Florovitem NPK wpłynęło na zmniejszenie liczby grzybów mikroskopowych.
- W polowej uprawie jabłoni odmiany Topaz po zastosowaniu nawożenia NPK odnotowano w glebie ryzosferowej największą liczbę Subdominantów. W kombinacji kontrolnej odnotowano w glebie ryzosferowej największą liczebność nicieni bakteriożernych. Po aplikacji biostymulatora Tytanit odnotowano ograniczenie występowania nicieni drapieżnych. Największą liczbę nicieni roślinożernych w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Topaz uzyskano po zastosowaniu preparatu Micosat.
- Wyniki doświadczenia wskazują, iż aplikacja zastosowanych bioproduktów wzbogaconych mikrobiologicznie stymulowała formowanie większej liczby zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych w ryzosferze drzew jabłoni odmian Ariwa w porównaniu do ryzosfery roślin kontrolnych (bez nawożenia) i traktowania Florovitem NPK.
- Uzyskane wyniki znajdują zastosowanie do oceny zróżnicowania mikrobiologicznego gleby traktowanej bioproduktami w uprawach roślin sadowniczych.

## **ZALECENIA DLA PRAKTYKI**

- **W doświadczeniach polowych wykazano dużą skuteczność stosowania biostymulatorów i naturalnych nawozów wzbogaconych mikrobiologicznie na zwiększenie wzrostu i plonowania roślin sadowniczych oraz jakości gleb uprawnych.**

- Aplikacja bioproduktów wpłynęła na zwiększenie zawartości składników mineralnych i materii organicznej w glebie oraz wielkości populacji, bioróżnorodności i przeżywalności bakterii ryzosferowych i grzybów mykoryzowych w glebie ryzosferowej.
- Biopreparaty zawierające pożyteczne mikroorganizmy glebowe mogą być stosowane do nawożenia roślin oraz ograniczenia występowania patogenów glebowych.
- Stosowanie bioproduktów t.j. substrat mykoryzowy, Humus UP, Humus Active +Aktywit PM, BF Quality i Vinassa oraz nawozów organicznych Florovit Natura i Florovit Eko jest skuteczną i ekonomicznie opłacalną technologią nawożenia roślin.

### **WNIOSKI PODSUMOWUJĄCE**

- Bioprodukty wzbogacone mikrobiologicznie są skuteczną i ekonomicznie opłacalną alternatywą w stosunku do standardowego nawożenia NPK.
- Nowatorskie bionawozy wzbogacone mikrobiologicznie są wdrażane do praktyki ogrodniczej dla poprawy wzrostu i plonowania roślin uprawnych oraz żyzności gleby.

### **WYNIKI Z PRZEPROWADZONYCH DOŚWIADCZEŃ W 2015 R.**

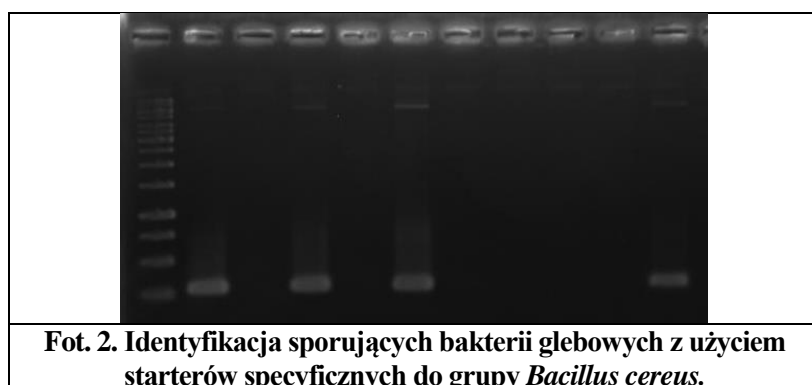
#### **Identyfikacja 20 izolatów bakterii sporujących technikami molekularnymi**

W wyniku przeprowadzonych reakcji ITS-PCR uzyskano 2 wzory DNA, co pozwoliło przyporządkować testowane izolaty do dwóch grup. Pierwsza grupa, określona jako grupa A, liczyła 16 izolatów, natomiast druga grupa (B) obejmowała 4 izolaty (Tabela. 1). W wyniku przeprowadzonych reakcji ze starterami specyficznymi dla bakterii z rodzaju *Bacillus* dla wszystkich prób uzyskano produkt o wielkości 1050 pz, co wskazuje, że wszystkie izolaty bakterii należą do rodzaju *Bacillus*. W wyniku reakcji przeprowadzonych ze starterami specyficznymi do bakterii z grupy *Bacillus cereus* uzyskano produkty o wielkości 300 pz dla 4 spośród 20 izolatów, co wskazuje, że 4 izolaty należą do grupy *B. cereus*. Na podstawie analizy stwierdzono, że izolaty te należą do grupy B (ITS-PCR). W wyniku amplifikacji genu 16S rRNA uzyskano produkt o wielkości 1490 pz. Uzyskane sekwencje wykazały podobieństwo na poziomie 96-99% do sekwencji w bazie NCBI (National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Analiza sekwencji genu 16S rRNA potwierdziła przynależność czterech izolatów do grupy *B. cereus*. Pozostałe izolaty zidentyfikowano jako należące do rodzaju *Bacillus*.



**Tabela. 1. Identyfikacja izolatów sporujących bakterii glebowych na podstawie techniki ITS-PCR oraz sekwencji genu 16S rRNA.**

| Izolaty   | Grupa ITS-PCR | Identyfikacja na podstawie sekwencji 16S rRNA |
|---|---------------|---|
| Sp14AA, Sp14 BA, Sp17BA, Sp14GA, Sp41CA Sp14EA, Sp14FA, Sp14IA, Sp17MA, Sp14CA, Sp14DA, Sp14KA, Sp17GA, Sp3D, Sp41DA Sp17CA | A             | <i>Bacillus</i> sp.                           |
| Sp1A, Sp1B, Sp1D, Sp3AB   | B             | <i>Bacillus cereus</i>                        |



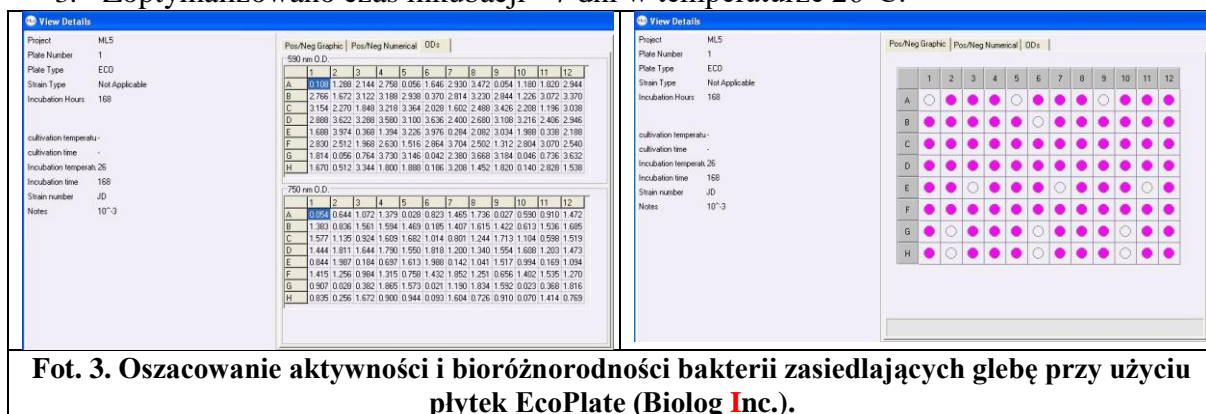
### **Optimalizacja metody określania aktywności i bioróżnorodności bakterii zasiedlających glebę**

W celu oszacowania aktywności i bioróżnorodności bakterii zasiedlających glebę przy użyciu płytek EcoPlate (Biolog inc) testowano wpływ następujących czynników na uzyskiwane wyniki:

- Wirowanie zawiesin glebowych przy prędkościach 0 (kontrola), 500, 1000, 2000, 2500, 3000, 3500 obrotów na minutę w czasie 30, 60, 300 sekund, w celu odseparowania z zawiesiny cząsteczek gleby mogących wpłynąć na uzyskane wyniki.
- Określenie wpływu stopnia rozcieńczenia badanej zawiesiny glebowej na powtarzalność uzyskiwanych wyników, testowane rozcieńczenia obejmowały 1:100, 1:1000, 1:10000.
- Oszacowanie optymalnego czasu inkubacji, szalki inkubowano przez 10 dni w temperaturze 26°C (codziennie odczytując wyniki).
- Różnorodność mikrobiologiczna została oszacowana przez współczynnik Shannona-Weavera (H)  $H = -\sum p_i (\ln p_i)$  oraz na podstawie współczynnika McIntosha (U)  $U = (\sum (n_i)^2)^{1/2}$ .

W wyniku prac przeprowadzonych nad optymalizacją metody określania aktywności i bioróżnorodności bakterii zasiedlających glebę przy użyciu płytek EcoPlate uzyskano wyniki pozwalające na sformułowanie poniższych wniosków:

1. Wirowanie zmniejsza liczbę cząsteczek gleby/zanieczyszczeń w zawiesinie, co przekłada się na uzyskanie bardziej powtarzalnych wyników. Wirowanie powoduje jednak zmniejszenie liczebności mikroorganizmów w zawiesinie, którą inokuluje się płytki EcoPlate, co umożliwia uzyskanie niższych wartości aktywności mikrobiologicznej, w porównaniu z płytkami kontrolnymi.
2. Optymalne rozcieńczenie próbki gleby do inokulacji płytek EcoPlate to 1:1000 dla populacji mikroorganizmów stanowiącej  $30-300 \times 10^5$  jtk  $\times g^{-1}$  gleby. Zastosowanie rozcieńczenia mniejszego tj. 1:100 powodowało powstawanie dużych różnic w uzyskanych wynikach (prawdopodobnie spowodowane to było przez drobiny gleby zaburzające odczyt wyników oraz reakcją enzymatyczną), a rozcieńczenie 1:10000 powodowało brak powtarzalności uzyskanych wyników.
3. Zoptymalizowano czas inkubacji - 7 dni w temperaturze 26°C.



### Optymalizacja metody określania populacji bakterii beztlenowych.

W badaniach nad uzyskaniem atmosfery beztlenowej w anaerostatach zastosowano dwie metody:

- tlen z anaerostatu usunięto mieszaniną wodnych roztworów pirogalolu i wodorotlenku sodu (w ilości 1g pirogalolu, 1 g NaOH na 100 cm<sup>3</sup> objętości anaerostatu).
- atmosferę w anaerostacie zastąpiono dwutlenkiem węgla (dwutlenek węgla generowany z wodorowęglanu sodu i kwasu solnego).

W wyniku prac prowadzonych nad optymalizacją w/w metody sformułowano poniższy wniosek:

1. Zastąpienie atmosfery dwutlenkiem węgla z użyciem wodorowęglanu sodu i kwasu solnego/kwasów organicznych spowodowało zakwaszenie pożywek używanych do oszacowania liczebności mikroorganizmów, co nieznacznie zmniejszyło liczebność izolowanych mikroorganizmów, w porównaniu do próbek kultywowanych w atmosferze z tlenem usuniętym przy pomocy mieszaniny pirogalolu i wodorotlenku sodu.

**Tabela 2. Wpływ aplikacji konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego, nawożenia organicznego oraz biowęgla na plon ogólny, liczbę owoców i masę 1 owocu zebranych z drzew jabłoni odmiany Ariwa (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice 2015).**

| Traktowanie                                      | Plon ogólny [kg] | Liczba owoców [szt.] | Masa 1 owocu [kg] |
|--|------------------|----------------------|-------------------|
| Kontrola   | 86 a             | 674 a                | 0,127 ab          |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe [0,3 kg/drzewo] | 95 ab            | 780 ab               | 0,122 ab          |
| Florovit NPK [0,2 kg/drzewo]                     | 105,5 b          | 856 ab               | 0,123 ab          |
| Konsorcjum + Florovit                            | 113 bc           | 915 b                | 0,123 ab          |

|                                  |                |               |                 |
|----------------------------------|----------------|---------------|-----------------|
| <b>Biowęgiel [1,6 kg/drzewo]</b> | <b>105,5 b</b> | <b>953 b</b>  | <b>0,110 a</b>  |
| <b>Biowęgiel + Konsorcjum</b>    | <b>126 c</b>   | <b>1039 c</b> | <b>0,121 ab</b> |
| <b>Biowęgiel + Florovit</b>      | <b>103 b</b>   | <b>633 a</b>  | <b>0,163 b</b>  |

Największy plon ogólny oraz liczbę owoców uzyskano z drzew jabłoni traktowanych biowęgłem w połączeniu z konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym i był on większy o 46% od plonu uzyskanego z drzew roślin kontrolnych. Drzewa kontrolne odmiany Ariwa plonowały na najniższym poziomie, w porównaniu do pozostałych kombinacji: t.j. kombinacji kontrolnej, po zastosowaniu konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego, nawożenia organiczno-mineralnego oraz biowęgla lub biowęgla w połączeniu z Florovitem. Drzewa jabłoni traktowane biowęgłem z konsorcjum mikroorganizmów uformowały największą liczbę owoców, w porównaniu do owoców z drzew nie nawożonych, bez aplikacji bioproduktów (kontrolnych) oraz pozostałych kombinacji nawozowych. Największą masę 1 owocu wydały drzewa jabłoni nawożone biowęgłem w połączeniu z Florovitem.



**Fot. 4. Owocujące drzewa odmiany Ariwa traktowane biowęgłem w połączeniu z konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym (Sad Doświadczalny, Dąbrowice 2015).**

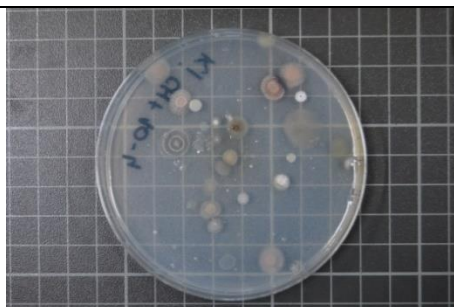
**Tabela 3. Wpływ aplikacji konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego, nawożenia organicznego oraz biowęgla na plon, liczbę owoców zebranych z drzew jabłoni odmiany Ariwa (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice 2015).**

| <b>Traktowanie</b>                                      | <b>Plon [kg/drzewo]</b> | <b>Liczba owoców [szt./drzewo]</b> |
|---|-------------------------|------------------------------------|
| <b>Kontrola</b>   | <b>7,17 a</b>           | <b>56,2 a</b>                      |
| <b>Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe [0,3 kg/drzewo]</b> | <b>7,92 a</b>           | <b>65,0 a</b>                      |
| <b>Florovit NPK [0,2 kg/drzewo]</b>                     | <b>8,79 ab</b>          | <b>71,3 ab</b>                     |
| <b>Konsorcjum + Florovit</b>                            | <b>9,42 ab</b>          | <b>76,2 ab</b>                     |
| <b>Biowęgiel [1,6 kg/drzewo]</b>                        | <b>8,79 ab</b>          | <b>79,4 ab</b>                     |
| <b>Biowęgiel + Konsorcjum</b>                           | <b>10,50 b</b>          | <b>86,6 b</b>                      |
| <b>Biowęgiel + Florovit</b>                             | <b>8,58 ab</b>          | <b>52,7 a</b>                      |

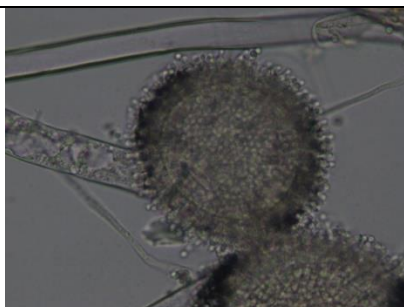
Plon oraz liczba zebranych owoców w przeliczeniu na drzewo były największe po łącznej aplikacji biowęgla z konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym .

Największy wpływ na zwiększenie ogólnej populacji pożytecznych bakterii, t.j. bakterii wytwarzających formy przetrwalnikowe, bakterii z grupy *Pseudomonas fluorescens*, diazotrofów i

promieniowców miały: kompost, Humus UP oraz kompost zaaplikowany łącznie z konsorcjum PGPR C.

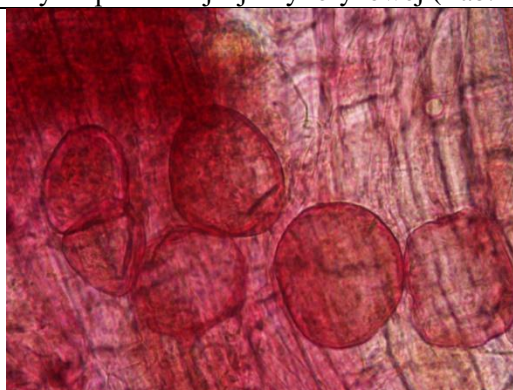


**Fot. 5. Promieniowce wyizolowane z gleby ryzosferowej truskawki odmiany Elkat po aplikacji Vinassy i konsorcjum PGPR C.**



**Fot. 6. Grzyb należący do rodzaju *Aspergillus* wyizolowany z gleby ryzosferowej jabłoni odmiany Ariwa po aplikacji Biowęgla i Florovitu NPK.**

Zastosowanie Humus Active + Aktywit PM w największym stopniu wpłynęło na zwiększenie zasiedlenia korzeni jabłoni odmiany Topaz przez arbuskularne grzyby mykoryzowe (AGM). W korzeniach roślin kontrolnych zaobserwowano najniższy stopień asocjacji mykoryzowej (Tab. 22).



**Fot. 7. Wezykule w korzeniach jabłoni odmiany Ariwa traktowanych biowęgłem w połączeniu z konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym (Sad Doświadczalny, Dąbrowice 2015).**



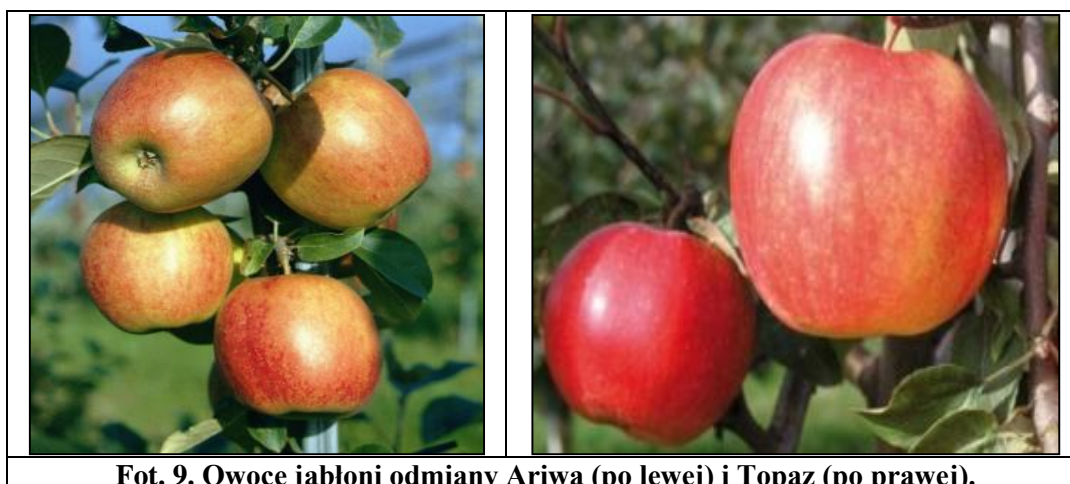
**Fot. 8. Kwitnące drzewa odmiany Ariwa traktowane biowęgłem w połączeniu z konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym (Sad Doświadczalny, Dąbrowice 2015).**

## WYNIKI Z PRZEPROWADZONYCH DOŚWIADCZEŃ W 2016 R.

Tabela 4. Wpływ aplikacji konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego, nawożenia organicznego oraz biowęgla na plon, liczbę owoców zebranych z drzew jabłoni odmiany ‘Ariwa’ (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice 2016).

| Traktowanie                      | Plon [kg/drzewo] | Liczba owoców [szt./drzewo] |
|----------------------------------|------------------|-----------------------------|
| Kontrola                         | 9,87 b           | 63,9 b                      |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe | 12,85 c          | 79,7 c                      |
| Florovit NPK                     | 7,00 ab          | 37,8 a                      |
| Konsorcjum + Florovit            | 5,56 a           | 36,6 a                      |
| Biowęgiel                        | 7,17 ab          | 45,7 ab                     |
| Biowęgiel + Konsorcjum           | 7,73 ab          | 46,8 ab                     |
| Biowęgiel + Florovit             | 10,9 b           | 65,4 b                      |

W sezonie 2016 roku najwyższy plon owoców zebrano z drzew traktowanych konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym, w porównaniu do plonu drzew z pozostałych kombinacji nawożenia.



Fot. 9. Owoce jabłoni odmiany Ariwa (po lewej) i Topaz (po prawej).

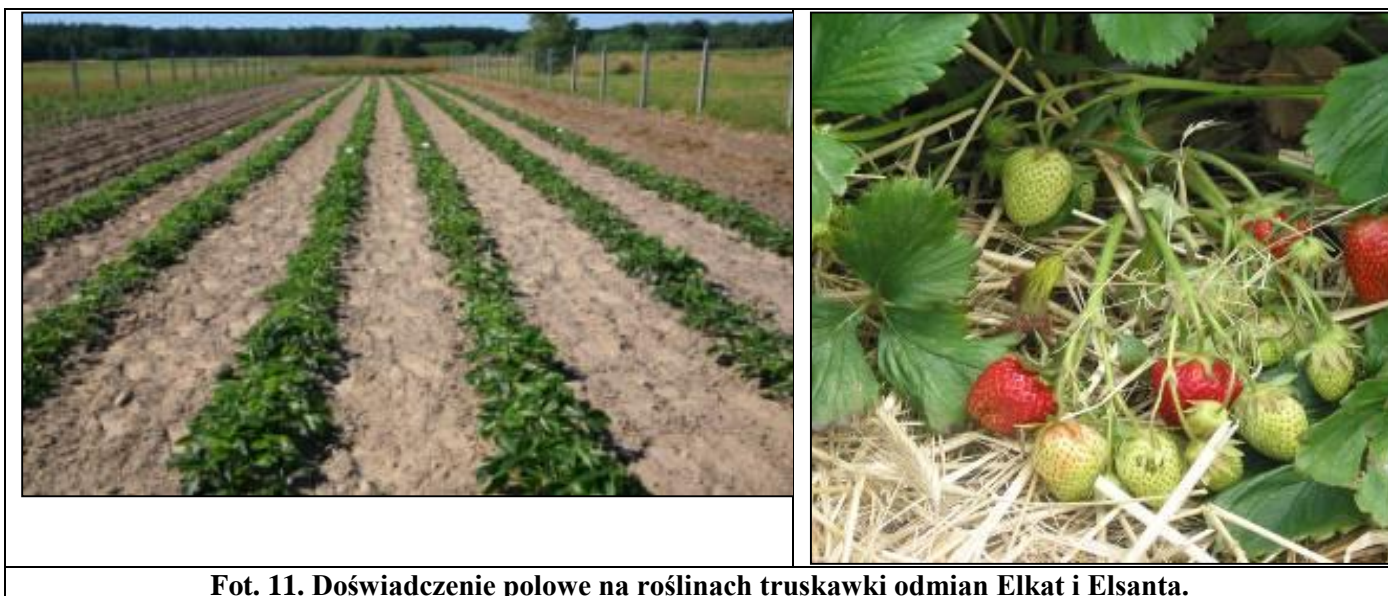
Tabela 5. Wpływ biostymulatorów i bionawozów na plon z poletka roślin truskawki odmian Elsanta i Elkat (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice, 2016).

| Traktowanie               | Plon [kg/20 roślin] |           |
|---------------------------|---------------------|-----------|
|                           | Elsanta             | Elkat     |
| Kontrola                  | 9,29 a              | 10,45 ab  |
| Kontrola NPK              | 10,68 ab            | 13,18 c-e |
| Obornik                   | 11,30 ab            | 14,95 ef  |
| Micosat                   | 11,04 ab            | 14,32 d-f |
| Humus UP                  | 12,15 a-c           | 16,10 f   |
| Humus Active + Aktywit PM | 11,97 a-c           | 13,96 de  |
| BF Quality                | 11,40 a-c           | 14,76 ef  |
| BF Amin                   | 11,48 a-c           | 14,98 ef  |
| Tytanit                   | 11,89 a-c           | 14,03 de  |
| Vinassa                   | 11,97 a-c           | 14,06 de  |
| Florovit Eco (PK)         | 12,12 a-c           | 12,80 b-d |
| Florovit Natura (NPK)     | 11,82 a-c           | 14,36 d-f |

Najwyższy plon owoców roślin truskawki zebrano z poletek traktowanych Humus UP, w porównaniu do plonu roślin z pozostałych kombinacji nawożenia.



**Fot. 10. Owocujące drzewa odmiany Topaz (Doświadczenie polowe, Dąbrowice 2016r.).**



**Fot. 11. Doświadczenie polowe na roślinach truskawki odmian Elkat i Elsanta.**

**Tabela 6. Cechy wzrostu korzeni drzew jabłoni odmiany Ariwa (Doświadczenie polowe, Dąbrowice 2016).**

| Traktowanie                      | Świeża masa korzeni [g/1L gleby] | Sucha masa korzeni [g/1L gleby] | Długość korzeni [cm/1L gleby] | Pole powierzchni korzeni [cm <sup>2</sup> /1L gleby] | Średnica korzeni [mm/1L gleby] | Objętość korzeni [cm <sup>3</sup> /1L gleby] | Liczba wierzchołków korzeni [szt./1L gleby] |
|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--|--------------------------------|--|---|
| Kontrola                         | 2,55 a                           | 1,00 a                          | 294,29 a                      | 66,96 a  | 0,57 a                         | 0,98 a                                       | 1095 a                                      |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe | 4,33 b                           | 1,68 a                          | 283,06 a                      | 77,75 bc   | 0,80 b                         | 1,55 b                                       | 1296 b                                      |
| Florovit NPK                     | 3,13 ab                          | 1,16 a                          | 343,26 a                      | 82,13 c  | 0,83 b                         | 1,40 a                                       | 1148 a                                      |
| Konsorcjum + Florovit            | 3,93 b                           | 1,60 a                          | 326,35 a                      | 64,98 a  | 0,75 b                         | 1,59 b                                       | 1110 a                                      |
| Biowęgiel                        | 4,31 b                           | 1,61 a                          | 359,40 a                      | 64,93 a  | 0,84 b                         | 1,44 b                                       | 1460 c                                      |
| Biowęgiel + Konsorcjum           | 6,26 c                           | 3,00 b                          | 534,50 b                      | 125,78 d   | 1,05 c                         | 2,82 c                                       | 1306 b                                      |
| Biowęgiel + Florovit             | 3,33 ab                          | 1,46 a                          | 282,45 a                      | 71,79 ab   | 0,79 b                         | 1,38 ab                                      | 1624 d                                      |

Aplikacja biowęgla wzbogaconego o pożyteczne mikroorganizmy glebowe wpłynęła na istotne zwiększenie cech wzrostu korzeni jabłoni odmiany Ariwa.



**Fot. 12. Analiza cech wzrostu korzeni jabłoni odmiany Ariwa.**



**Fot. 13. Kolonie fluorescencyjnych bakterii *Pseudomonas* spp.**

**Fot. 14. Kolonie promieniowców na pożywce z chityną koloidalną.**

**Fot. 15. Kolonie bakteryjne rosnące na 10% pożywce tryptonowo-sojowej.**

Tabela 7. Wpływ biostymulatorów i bionawozów na liczbę nicieni *Belonolaimide* sp. oraz *Trichodorus* sp. w glebie ryzosferowej roślin truskawki odmian Elsanta i Elkat (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice 2016).

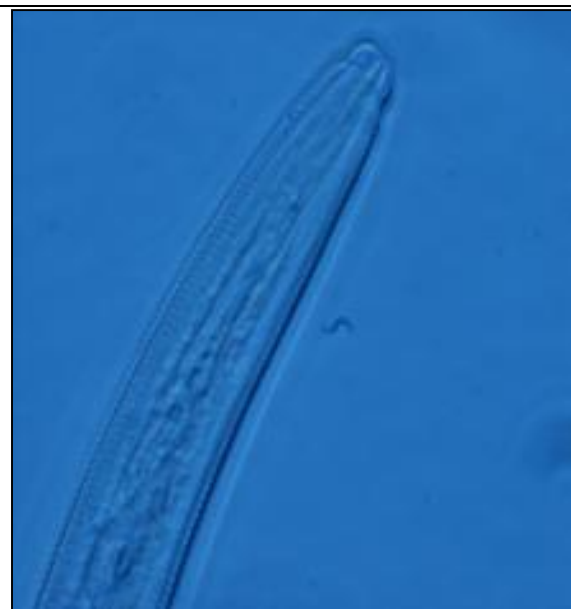
| Traktowanie               | Liczba nicieni <i>Belonolaimide</i> sp. w 250 g gleby |       | Liczba nicieni <i>Trichodorus</i> sp. w 250 g gleby |            |
|---------------------------|---|-------|---|------------|
|                           | Elsanta   | Elkat | Elsanta   | Elkat      |
| Kontrola                  | 0 a   | 0 a   | 2 b   | 0 a        |
| Kontrola NPK              | 0 a   | 0 a   | 0 a   | 0 a        |
| Obornik                   | 0 a   | 0 a   | 0 a   | 0 a        |
| Micosat                   | 48 g  | 8 d   | 0 a   | 0 a        |
| Humus UP                  | 0 a   | 0 a   | 14 f  | 0 a        |
| Humus Active + Aktywit PM | 0 a   | 20 f  | 4 c   | 0 a        |
| BF Quality                | 0 a   | 4 b   | 0 a   | 0 a        |
| BF Amin                   | 0 a   | 6 c   | 0 a   | 0 a        |
| Tytanit                   | 0 a   | 8 d   | 0 a   | 0 a        |
| Vinassa                   | 0 a   | 0 a   | 0 a   | <u>6 d</u> |
| Florovit Eco              | 0 a   | 8 d   | 8 e   | 0 a        |
| Florovit Natura           | 10 e  | 10 e  | 0 a   | 0 a        |

Wyniki analiz i opracowanie: dr Aneta Chalańska

Zastosowanie preparatów BF Quality, Tytanitu i Vinassy w uprawie truskawki ograniczało zasiedlanie gleby przez pasożytnicze nicienie glebowe, w tym szpileczniki. Najmniejsze występowanie nicieni odnotowano w glebie kontrolnej.



Fot. 16. *Paratylenchus* (szpilecznik).



Fot. 17. *Tylenchorhynchus* (nitek).

Zdjęcia: dr Aneta Chalańska



Tabela 8. Wpływ biostymulatorów i bionawozów na liczbę nicieni *Pratylenchus* sp., *Trichodorus* sp., *Belonolaimide* sp. oraz *Aphelenchoides* sp. w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Topaz (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice 2016).

| Traktowanie               | Liczba nicieni <i>Pratylenchus</i> sp. | Liczba nicieni <i>Trichodorus</i> sp. | Liczba nicieni <i>Belonolaimide</i> sp. | Liczba nicieni <i>Aphelenchoides</i> sp. |
|---------------------------|--|---------------------------------------|---|--|
|                           | w 250 g gleby                          |                                       |   |  |
| Kontrola                  | 104 h                                  | 10 c                                  | 30 g                                    | 0 a                                      |
| Kontrola NPK              | 74 f                                   | 0 a                                   | 0 a                                     | 0 a                                      |
| Obornik                   | 18 a                                   | 8 b                                   | 10 c                                    | 0 a                                      |
| Micosat                   | 276 l                                  | 0 a                                   | 38 h                                    | 0 a                                      |
| Humus UP                  | 128 i                                  | 0 a                                   | 0 a                                     | 0 a                                      |
| Humus Active + Aktywit PM | 38 d                                   | 0 a                                   | 12 d                                    | 4 b                                      |
| BF Quality                | 44 e                                   | 0 a                                   | 10 c                                    | 6 c                                      |
| BF Amin                   | 236 j                                  | 0 a                                   | 16 e                                    | 4 b                                      |
| Tytanit                   | 252 k                                  | 0 a                                   | 40 i                                    | 32 e                                     |
| Vinassa                   | 92 g                                   | 0 a                                   | 28 f                                    | 0 a                                      |
| Florovit Eco              | 20 b                                   | 0 a                                   | 16 e                                    | 12 d                                     |
| Florovit Natura           | 22 c                                   | 0 a                                   | 6 b                                     | 6 c                                      |

Wyniki analiz i opracowanie: dr Aneta Chalańska

Aplikacja preparatu Humus Active+Aktywit PM oraz Florovitu Natura wpłynęła na ograniczenie populacji wszystkich grup nicieni w uprawie jabłoni. Podobny wynik uzyskano w glebie spod roślin truskawki odmiany Elsanta. W uprawie jabłoni nawożonej Florovit Natura i Florovit Eko odnotowano niższe zasiedlenie gleby przez korzeniaki (*Pratylenchus* sp.).



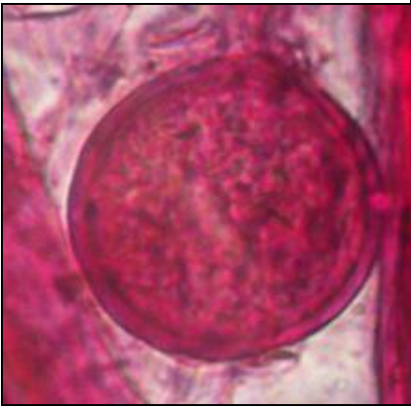
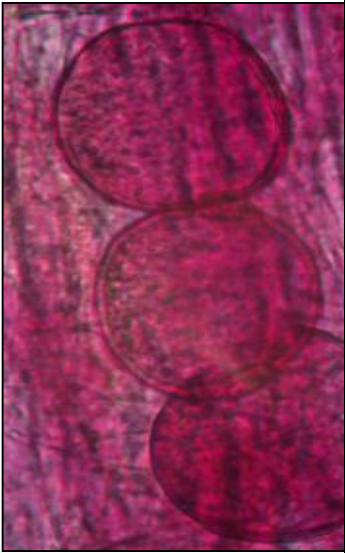
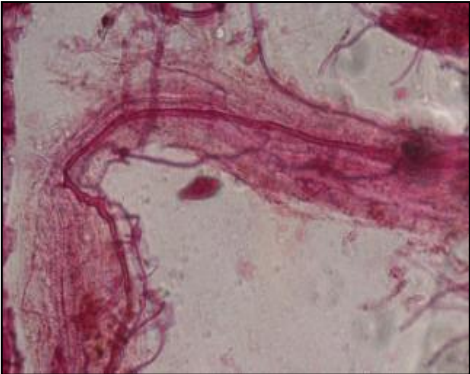
Fot. 18. *Pratylenchus* (korzeniak).



Fot. 19. *Trichodorus* (krępak).

Zdjęcia: dr Aneta Chalańska

Zastosowanie biopreparatów Micosat i Humus Active+Aktywit PM oraz obornika w polowej uprawie. W porównaniu do korzeni roślin kontrolnych i kontroli NPK, aplikacja biopreparatów Micosat oraz Humus UP w największym stopniu wpłynęły na zwiększenie stopnia frekwencji mykoryzowej w korzeniach jabłoni odmiany Ariwa. Nawożenie NPK miało negatywny wpływ na zasiedlanie korzeni jabłoni przez grzyby mykoryzowe.

|  |  |  |
|--|--|--|
|           |                           |                          |
| <p><b>Fot. 20. Spora w korzeniach jabłoni Topaz po aplikacji biopreparatu Micosat.</b></p> | <p><b>Fot. 21. Wezykule w korzeniach jabłoni Topaz po łącznej aplikacji Humus Active i Aktywit PM.</b></p> | <p><b>Fot. 22. Grzybnia AGM w korzeniach jabłoni Ariwa po łącznej aplikacji biowęglu i konsorcjum.</b></p> |

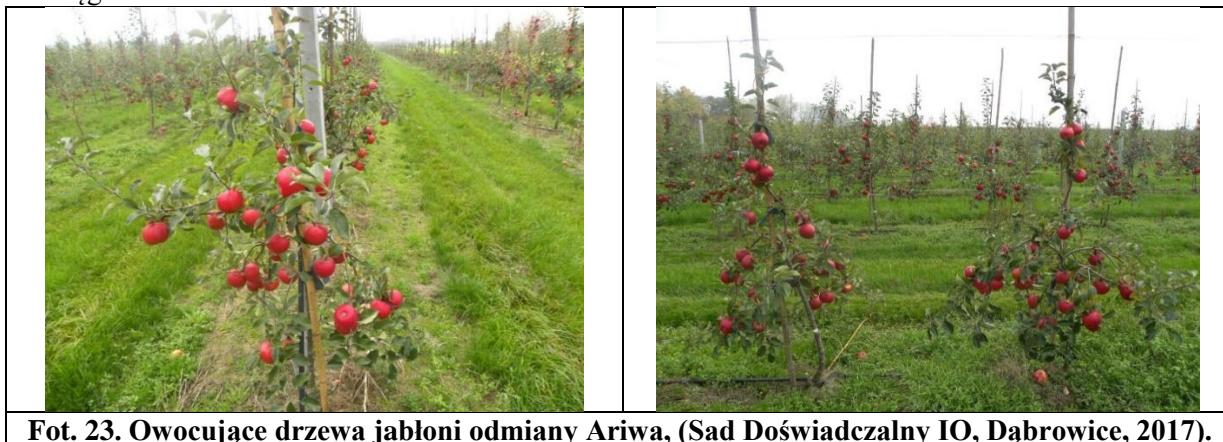
**Tabela 9. Wpływ biopreparatów na stopień frekwencji mykoryzowej (F%) i intensywność mykoryzową (M%) w korzeniach jabłoni odmiany Ariwa (Doświadczenie polowe, Dąbrowice, 2016).**

| Traktowanie                               | F%       | M%      | m%    |
|---|----------|---------|-------|
| Kontrola                                  | 7.78 a   | 0.08 a  | 1.0 a |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe          | 17.78 b  | 0.18 a  | 1.0 a |
| Florovit NPK                              | 17.78 b  | 0.18 a  | 1.0 a |
| Florovit NPK + Konsorcjum mikroorganizmów | 31.11 c  | 0.31 ab | 1.0 a |
| Biowęgiel                                 | 22.22 bc | 0.22 a  | 1.0 a |
| Biowęgiel + konsorcjum mikroorganizmów    | 31.11 c  | 0.31 ab | 1.0 a |
| Biowęgiel + Florovit                      | 20.0 bc  | 0.20 a  | 1.0 a |

Aplikacja biowęglu i bionawozu Florovit NPK z mikroorganizmami wpłynęła na istotne zwiększenie zasiedlania korzeni jabłoni odmiany Ariwa przez arbuskularne grzyby mykoryzowe oraz liczbę uformowanych wezykul.

## WYNIKI Z PRZEPROWADZONYCH DOŚWIADCZEŃ W 2017 R.

Przymrozki wiosenne miały negatywny wpływ na liczbę i plon owoców zebranych z drzew jabłoni odmiany Ariwa. Najwyższy plon, liczbę owoców oraz masę 1 owocu uzyskano z drzew nawożonych biowęglem.



**Fot. 23. Owocujące drzewa jabłoni odmiany Ariwa, (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice, 2017).**



**Fot. 24. Doświadczenie wazonowe na roślinach truskawki odmian Elsanta i Elkat, (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice, 2017).**



**Fot. 25. Doświadczenie wazonowe na roślinach truskawki odmian Elsanta i Elkat, (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice, 2017).**

Tabela 10. Wpływ biostymulatorów i bionawozów na zawartość azotu ogólnego, węgla oraz substancji organicznej w glebie ryzosferowej roślin truskawki odmian Elsanta i Elkat, (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice 2017).

| Traktowanie                  | Nog.      |          | C       |         | Substancja organiczna |          |
|------------------------------|-----------|----------|---------|---------|-----------------------|----------|
|                              | Elsanta   | Elkat    | Elsanta | Elkat   | Elsanta               | Elkat    |
|                              | % p. s.m. |          |         |         |                       |          |
| Kontrola                     | 0,04 a-d  | 0,02 a   | 0,50 de | 0,47 c  | 0,85 c-f              | 0,81 b-d |
| NPK                          | 0,04 a-d  | 0,04 a-d | 0,51 ef | 0,63 i  | 0,87 ef               | 1,08 h   |
| Substrat mykoryzowy          | 0,04 a-d  | 0,02 a   | 0,52 fg | 0,52 fg | 0,89 f                | 0,89 f   |
| PGPR A                       | 0,04 a-d  | 0,04 a-d | 0,52 fg | 0,52 fg | 0,90 f                | 0,89 f   |
| PGPR B                       | 0,03 ab   | 0,02 a   | 0,53 g  | 0,46 bc | 0,90 f                | 0,79 bc  |
| PGPR C                       | 0,02 a    | 0,02 a   | 0,41 a  | 0,47 c  | 0,71 a                | 0,81 b-d |
| Substrat mykoryzowy + PGPR C | 0,03 ab   | 0,03 ab  | 0,51 ef | 0,45 b  | 0,87 ef               | 0,78 b   |
| Kompost + PGPR C             | 0,06 d    | 0,05 cd  | 0,99 l  | 0,88 k  | 1,71 k                | 1,52 j   |
| Vinassa + PGPR C             | 0,06 d    | 0,05 cd  | 0,76 j  | 0,62 i  | 1,30 i                | 1,06 h   |
| Kompost                      | 0,03 ab   | 0,03 ab  | 0,52 fg | 0,50 de | 0,90 f                | 0,86 d-f |
| Vinassa                      | 0,03 ab   | 0,03 a-c | 0,47 c  | 0,51 ef | 0,81 b-d              | 0,88 ef  |
| Humus UP                     | 0,04 a-d  | 0,04 a-d | 0,56 h  | 0,57 h  | 0,96 g                | 0,98 g   |
| Humus UP + PGPR C            | 0,03 ab   | 0,03 ab  | 0,49 d  | 0,50 de | 0,83 b-e              | 0,86 d-f |
| Rhizocell                    | 0,03 ab   | 0,03 ab  | 0,46 bc | 0,47 c  | 0,80 b-d              | 0,81 b-d |

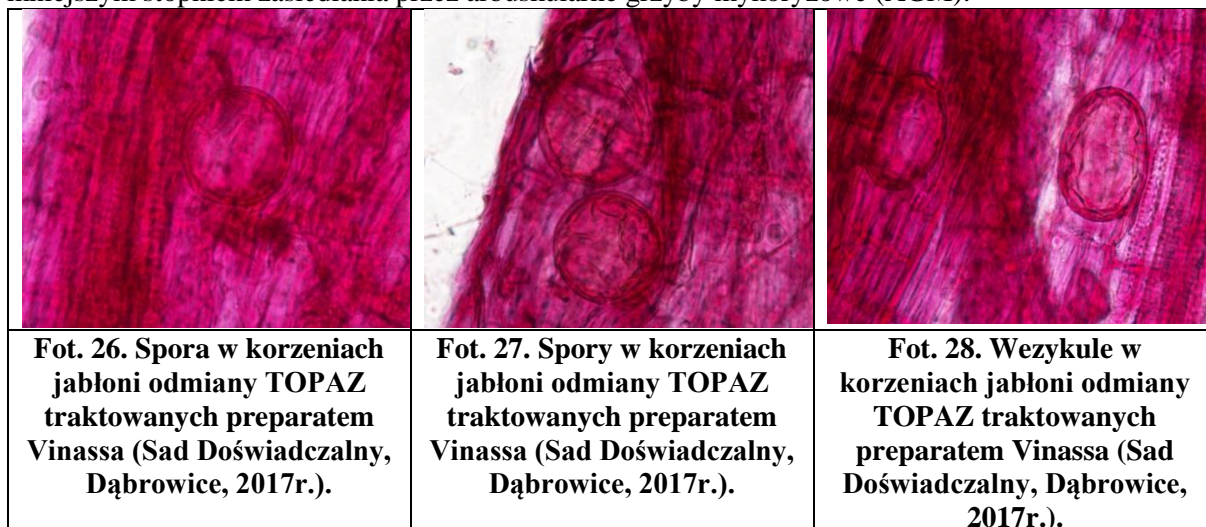
Po łącznej aplikacji kompostu wraz z konsorcjum PGPR C odnotowano wyższą zawartość azotu ogólnego, węgla i substancji organicznej w glebie pobranej spod roślin truskawki odmian Elsanta i Elkat.

Tabela 11. Wpływ aplikacji konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego oraz nawożenia organicznego na cechy wzrostu korzeni drzew jabłoni odmiany Ariwa, (Doświadczenie polowe, Dąbrowice 2017).

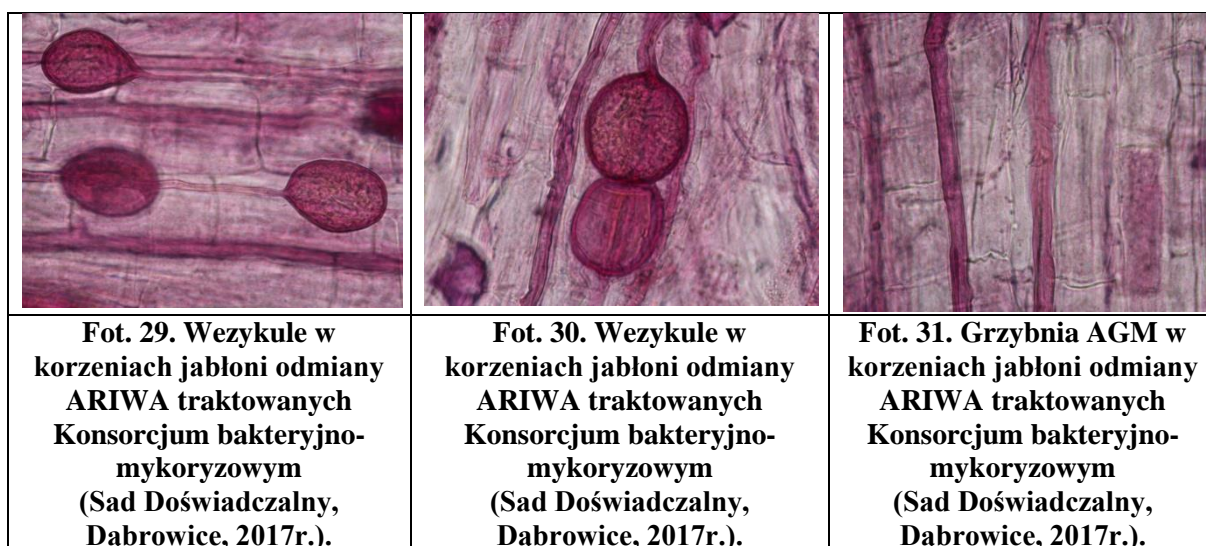
| Traktowanie                      | Świeża masa korzeni [g/1L gleby] | Sucha masa korzeni [g/1L gleby] | Długość korzeni [cm/1L gleby] | Pole powierzchni korzeni [cm <sup>2</sup> /1L gleby] | Średnica korzeni [mm/1L gleby] | Objętość korzeni [cm <sup>3</sup> /1L gleby] | Liczba wierzchołków korzeni [szt./1L gleby] |
|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--|--------------------------------|--|---|
| Kontrola                         | 2,06 a                           | 0,93 a                          | 234,96 a                      | 60,21 a  | 0,46 a                         | 1,00 a                                       | 1067 a                                      |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe | 3,81 bc                          | 1,4 a                           | 257,91 ab                     | 71,37 bc   | 0,74 b                         | 1,62 b                                       | 1228 bc                                     |
| Florovit NPK                     | 2,24 a                           | 0,97 a                          | 280,00 ab                     | 79,27 c  | 0,79 b                         | 1,40 b                                       | 1155 a-c                                    |
| Konsorcjum + Florovit            | 3,20 a-c                         | 1,33 a                          | 318,71 bc                     | 58,97 a  | 0,75 b                         | 1,55 b                                       | 1090 ab                                     |
| Biowęgiel                        | 4,05 c                           | 1,47 a                          | 361,99 c                      | 61,34 a  | 0,81 b                         | 1,49 b                                       | 1214 bc                                     |
| Biowęgiel + Konsorcjum           | 7,26 d                           | 4,00 b                          | 467,80 d                      | 103,04 d   | 1,00 c                         | 2,16 c                                       | 1262 c                                      |
| Biowęgiel + Florovit             | 2,60 ab                          | 1,16 a                          | 288,68 ab                     | 64,09 ab   | 0,82 b                         | 1,47 b                                       | 1179 a-c                                    |

Łączna aplikacja biowęglu oraz konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego wpłynęła na istotne zwiększenie cech wzrostu korzeni drzew jabłoni odmiany Ariwa.

Zastosowanie biostymulatora Vinassa w polowej uprawie jabłoni odmiany Topaz korzystnie wpłynęło na stopień asocjacji mykoryzowej w korzeniach. Korzenie roślin kontrolnych charakteryzowały się mniejszym stopniem zasiedlenia przez arbuskularne grzyby mykoryzowe (AGM).



Aplikacja konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego wpłynęła na zwiększenie zasiedlenia korzeni jabłoni odmiany Ariwa przez grzyby AGM oraz liczbę uformowanych wezykul.

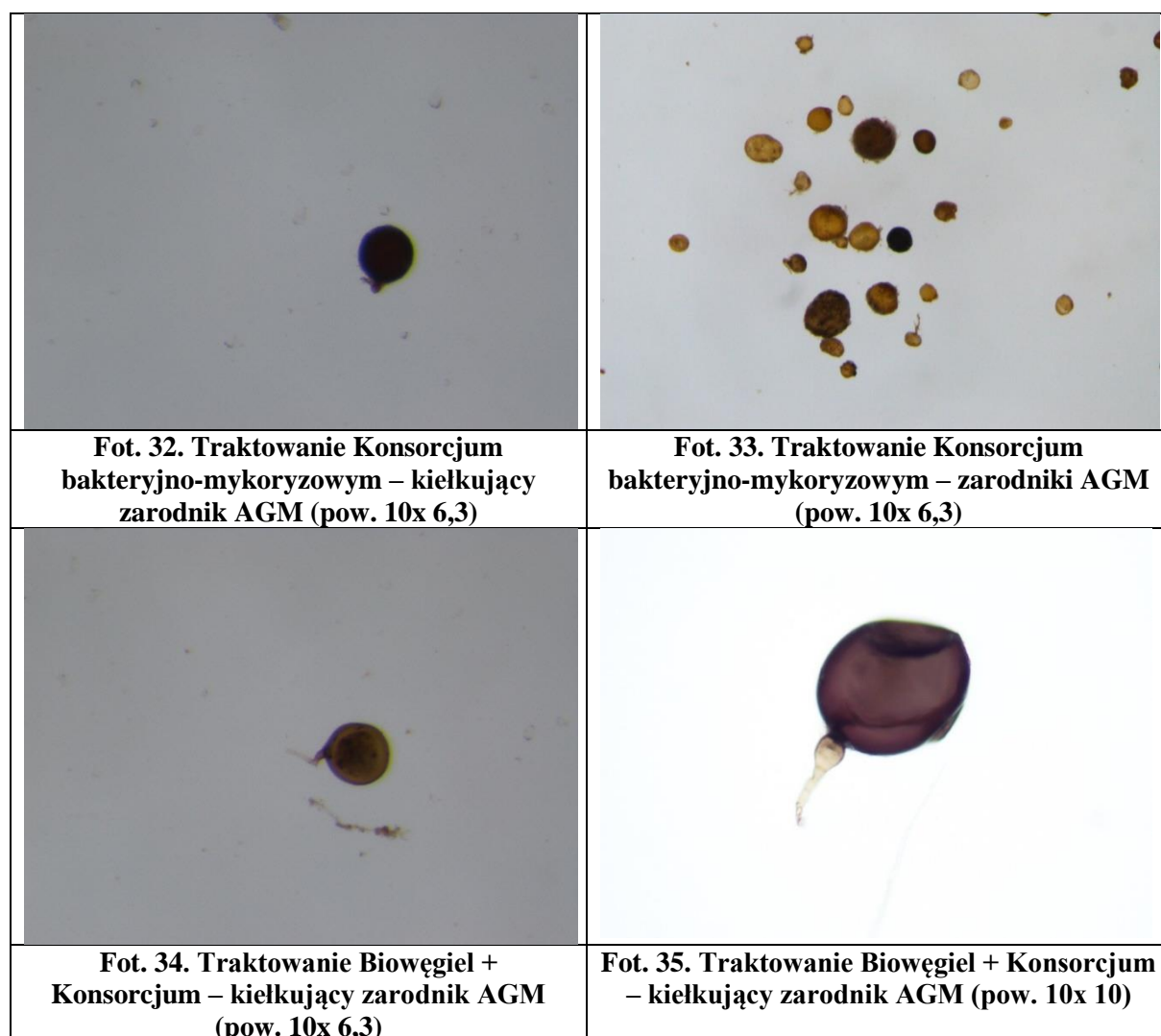


**Tabela 12. Liczba zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych (AGM) w 100g gleby ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Ariwa, (Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2017).**

| <b>Traktowanie</b>                      | <b>Liczba zarodników w 100g gleby</b> |
|---|---------------------------------------|
| <b>Kontrola</b>                         | <b>12 a</b>                           |
| <b>Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe</b> | <b>68 g</b>                           |
| <b>Florovit NPK</b>                     | <b>35 d</b>                           |
| <b>Konsorcjum + Florovit</b>            | <b>45 f</b>                           |
| <b>Biowęgiel</b>                        | <b>18 c</b>                           |
| <b>Biowęgiel + Konsorcjum</b>           | <b>38 e</b>                           |
| <b>Biowęgiel + Florovit</b>             | <b>15 b</b>                           |

W doświadczeniu polowym na drzewach jabłoni odmiany Ariwa wykazano korzystne działanie bionawozów na formowanie większej liczby zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych w ryzosferze roślin jabłoni, w porównaniu do kontroli. Aplikacja konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego, konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego łącznie z Florovitem oraz konsorcjum bakteryjno-

mykoryzowego wraz z biowęgłem w największym stopniu wpłynęła na uformowanie największej liczby zarodników AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa, w porównaniu do kontroli.

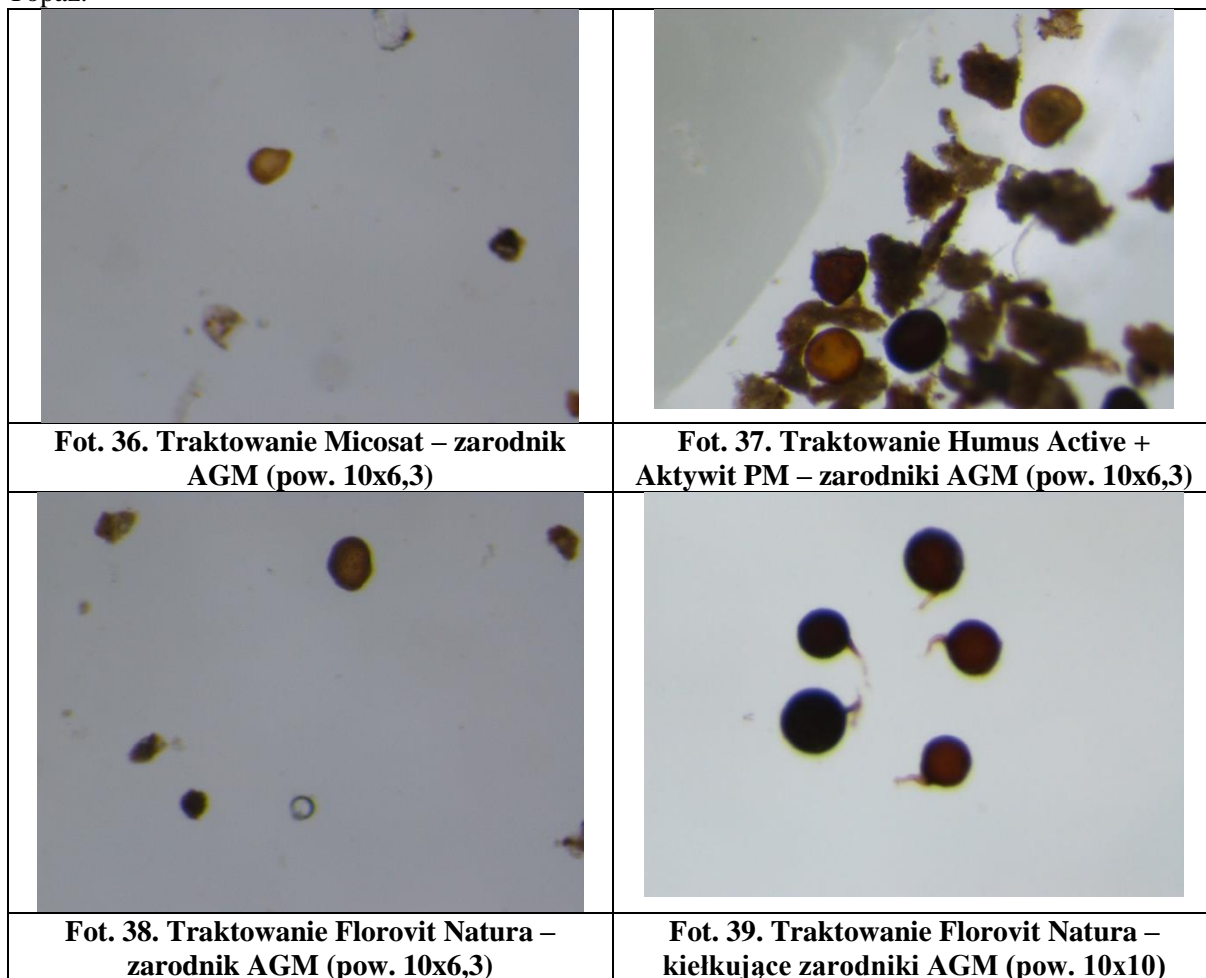


**Tabela 13. Liczba zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych w 100g gleby ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Topaz, (Sad doświadczalny, Dąbrowice, 2017).**

| Traktowanie               | Liczba zarodników w 100g gleby |
|---------------------------|--------------------------------|
| Kontrola                  | 12 b                           |
| Kontrola NPK              | 6 a                            |
| Obornik                   | 12 b                           |
| Micosat                   | 28 f                           |
| Humus UP                  | 21 e                           |
| Humus Active + Aktywit PM | 26 f                           |
| BF Quality                | 12 b                           |
| BF Amin                   | 20 de                          |
| Tytanit                   | 18 d                           |
| Vinassa                   | 15 c                           |
| Florovit Natura           | 38 g                           |
| Florovit Eco              | 20 de                          |

W doświadczeniu wykazano korzystne działanie bionawozów i biostymulatorów na formowanie większej liczby zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Topaz. W porównaniu do kontroli i kontroli NPK, aplikacja bioproduktów oraz

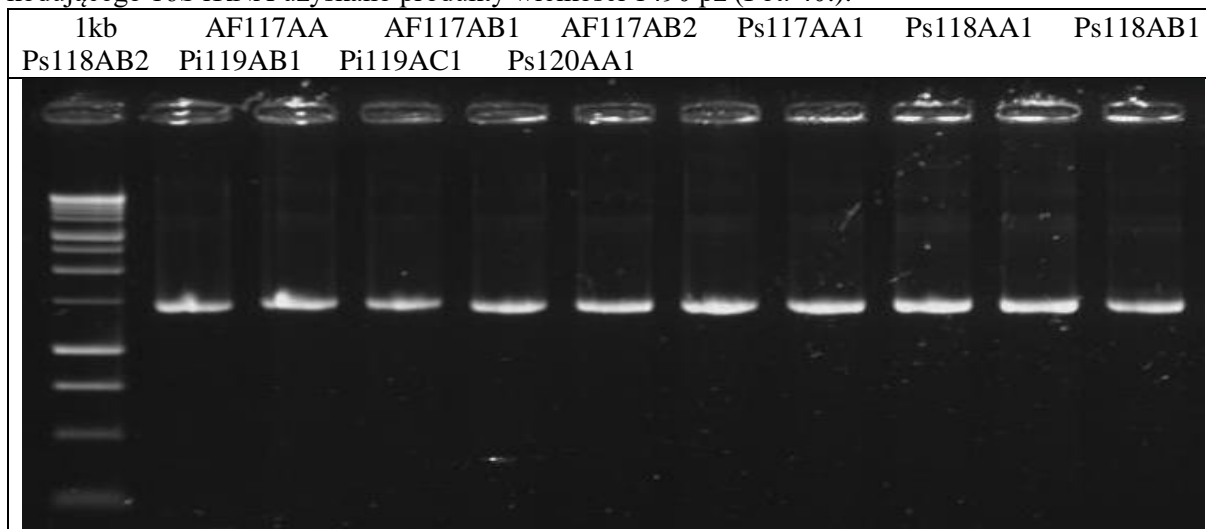
biostymulatorów: Florovit Natura, Micosat, oraz Humus Active + Aktywit PM w największym stopniu wpłynęła na uformowanie większej liczby zarodników AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Topaz.



#### Identyfikacja szczepów bakterii glebowych z użyciem technik molekularnych

##### Wyniki

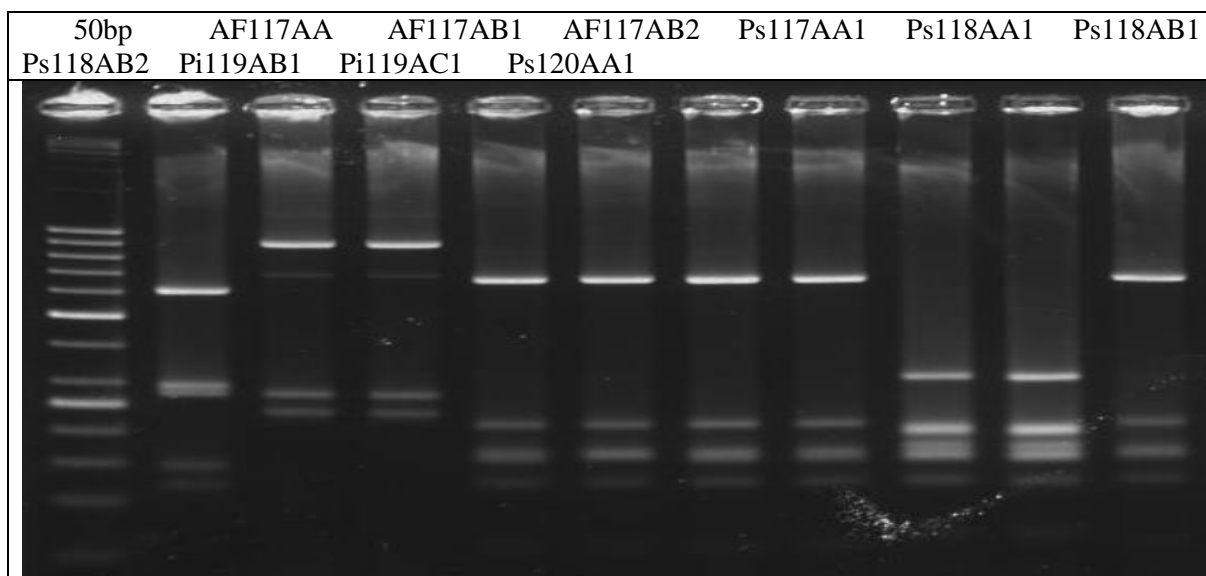
W wyniku przeprowadzonych reakcji PCR ze starterami 27f/1492r w celu amplifikacji genu kodującego 16S rRNA uzyskano produkty wielkości 1490 pz (Fot. 40.).



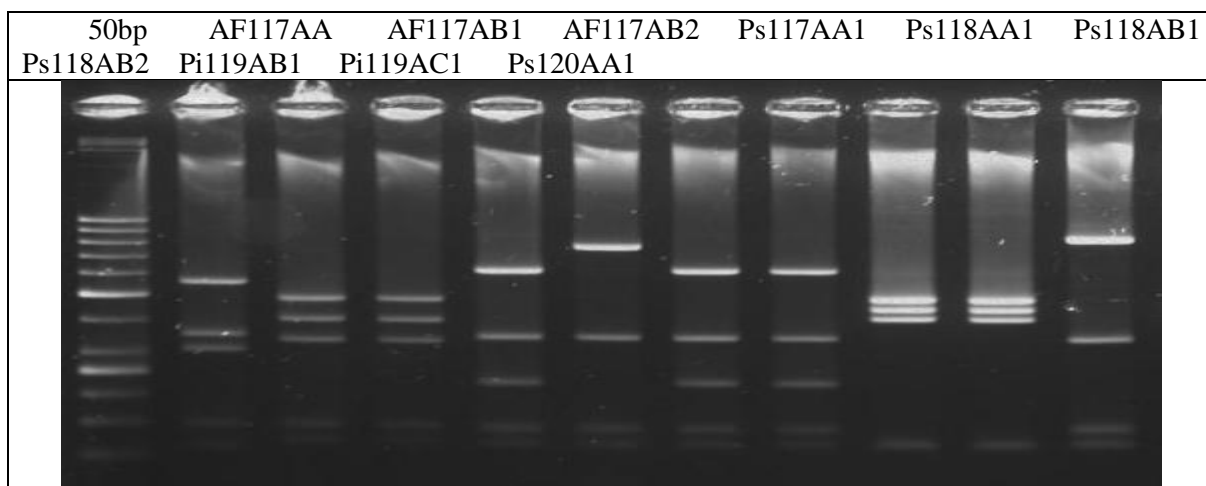
**Fot. 40. Amplifikacja genu kodującego 16S rRNA - produkty PCR wielkości 1490 pz uzyskane w reakcji ze starterami 27f/1492r. 1 kb – marker wielkości**

### Identyfikacja izolatów bakterii z użyciem techniki PCR-RFLP

W wyniku trawienia produktów amplifikacji genu 16S rRNA enzymami restrykcyjnymi *Hae*III, *Rsa*I lub *Taq*I uzyskano profile DNA charakteryzujące testowane izolaty (Fot. 41, 42, 43) Przeprowadzona analiza umożliwiła podział izolatów na grupy zgodnie z uzyskanymi profilami. Zastosowanie enzymów *Rsa*I umożliwiło uzyskanie największego zróżnicowania izolatów bakterii i podział ich na 6 grup. Zastosowanie enzymu *Taq*I lub *Hae*III umożliwiło podział izolatów bakterii na 5 lub 4 grupy.

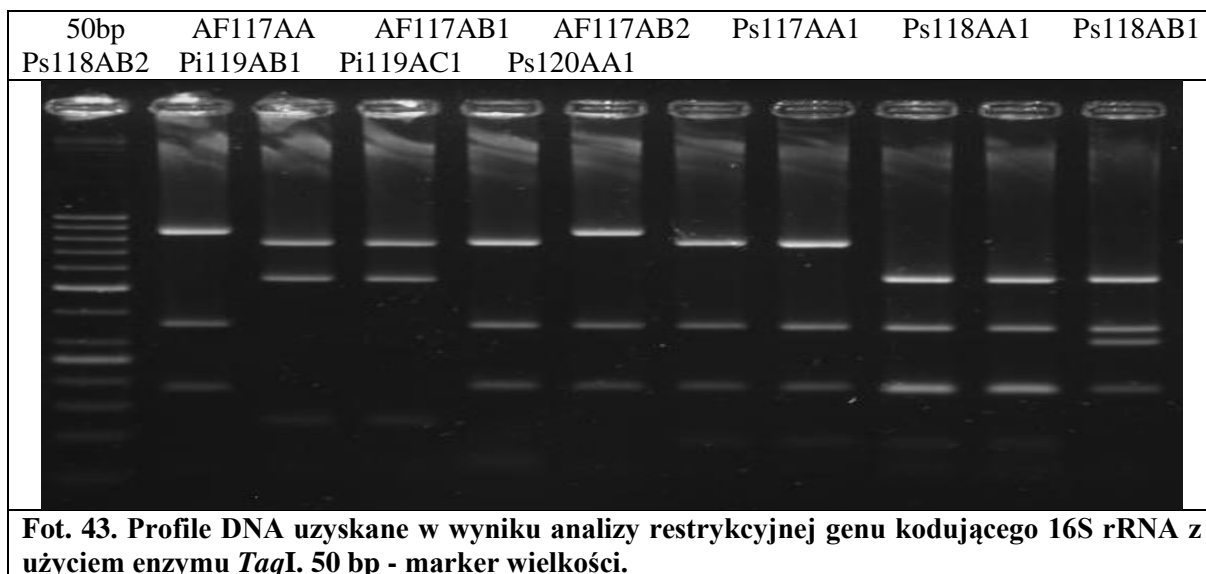


Fot. 41. Profile DNA uzyskane w wyniku analizy restrykcyjnej genu kodującego 16S rRNA z użyciem enzymu *Hae*III. 50 bp - marker wielkości.



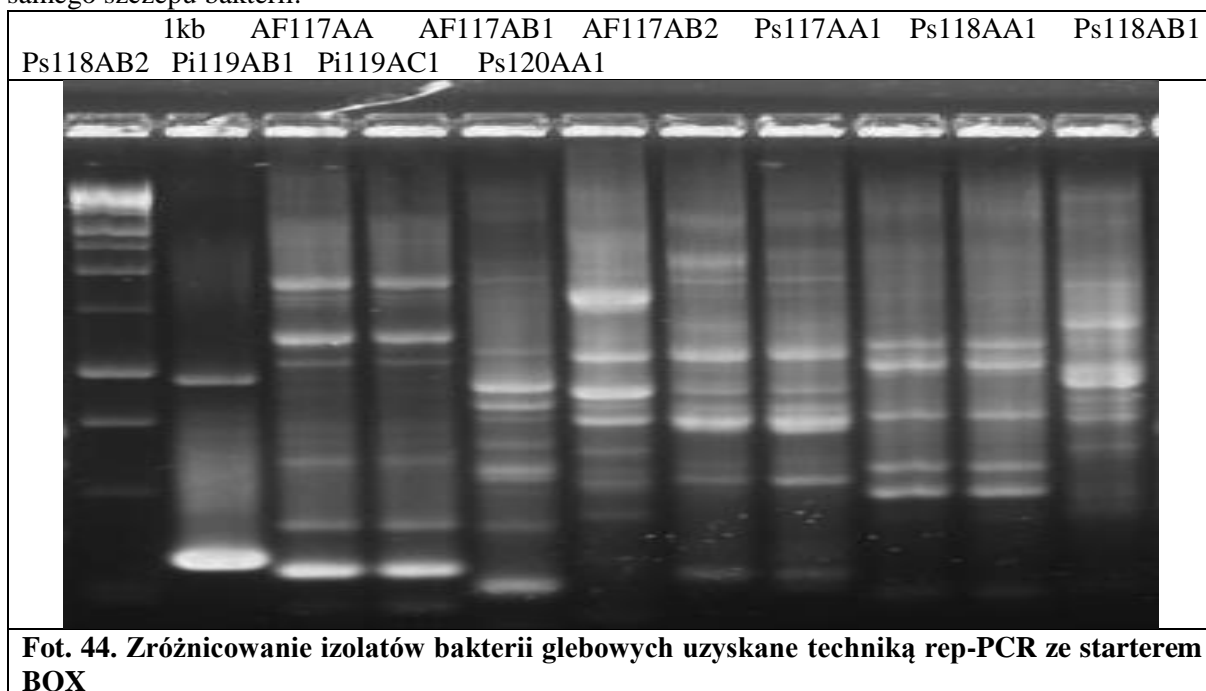
Fot. 42. Profile DNA uzyskane w wyniku analizy restrykcyjnej genu kodującego 16S rRNA z użyciem enzymu *Rsa*I. 50 bp - marker wielkości.

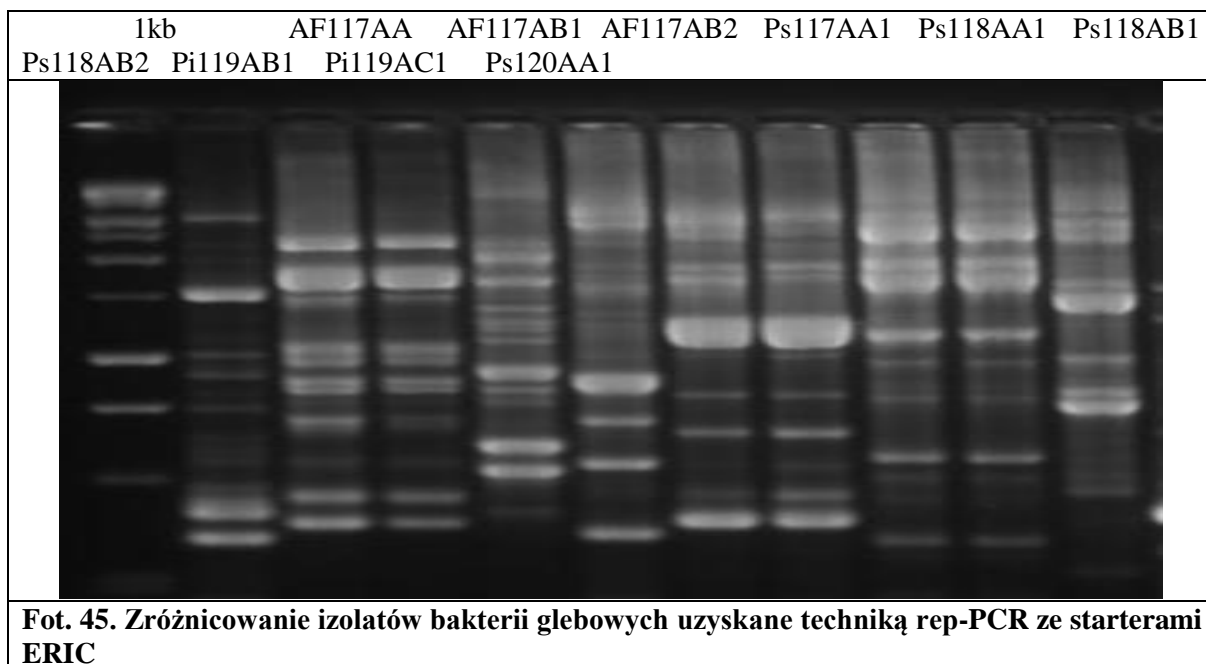




#### Identyfikacja izolatów bakterii z użyciem techniki rep-PCR

W wyniku przeprowadzonych reakcji uzyskano monomorficzne profile DNA dla następujących par izolatów bakterii: AF117AB1 i AF117AB2, Ps118AB1 i Ps118AB2 oraz Pi119AB1 i Pi119AC1 (Fot. 44, 45). Wynik ten wskazuje, że izolaty o takich samych profilach DNA mogą należeć do tego samego szczepu bakterii.





Wyniki uzyskane techniką RFLP oraz analiza sekwencji genu kodującego 16S rRNA pozwoliły zidentyfikować testowane izolaty i określić ich przynależność do gatunków *Paenibacillus polymyxa*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas brassicacearum*. Ponadto stwierdzono przynależność jednego izolatu do rodzaju *Flavobacterium* oraz dwóch izolatów do rodzaju *Enterobacter*.

#### WYNIKI Z PRZEPROWADZONYCH DOŚWIADCZEŃ W 2018 R.

**Tabela 14. Wpływ aplikacji konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego oraz nawożenia organicznego na plon i liczbę owoców zebranych z drzew jabłoni odmiany Ariwa (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice 2018 r.).**

| Traktowanie                                     | Plon [kg/drzewo] | Liczba owoców [szt./drzewo] |
|---|------------------|-----------------------------|
| Kontrola  | 5,2 a            | 54,2 a                      |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe                | 5,9 ab           | 61,9 ab                     |
| Florovit NPK                                    | 9,0 b            | 83,9 ab                     |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe + Florovit NPK | 9,0 b            | 90,1 b                      |
| Biowęgiel                                       | 8,7 b            | 87,0 b                      |
| Biowęgiel + Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe    | 8,2 ab           | 82,0 ab                     |
| Biowęgiel + Florovit NPK                        | 7,8 ab           | 79,5 ab                     |

Najwyższy plon oraz liczbę owoców uzyskano z drzew nawożonych konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym łącznie z Florovitem NPK.

**Tabela 15. Wpływ biostymulatorów i bionawozów na plon roślin truskawki odmiany Elsanta (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice, 2018 r.).**

| Traktowanie                | Plon [g/20 roślin] |
|----------------------------|--------------------|
|                            | Elsanta            |
| <b>Kontrola</b>            | <b>790 a</b>       |
| <b>NPK</b>                 | <b>1280,1 c</b>    |
| <b>Substrat mykoryzowy</b> | <b>1030,5 b</b>    |
| <b>PGPR C</b>              | <b>1784,5 d</b>    |
| <b>Vinassa + PGPR C</b>    | <b>1981,8 f</b>    |
| <b>Humus UP + PGPR C</b>   | <b>1881,4 e</b>    |
| <b>Vinassa</b>             | <b>1987,7 f</b>    |
| <b>Humus UP</b>            | <b>1998,5 g</b>    |

Najwyższy plon owoców roślin truskawki odmiany Elsanta zebrano z poletek traktowanych biostymulatorem Humus UP.

**Tabela 16. Wpływ aplikacji konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego oraz nawożenia organicznego na zawartość azotu ogólnego, węgla organicznego oraz substancji organicznej w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Ariwa (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice 2018 r.).**

| Traktowanie  | Nog.           | C               | Substancja organiczna |
|--|----------------|-----------------|-----------------------|
|  | %              |                 |                       |
| <b>Kontrola</b>  | <b>0,15 a</b>  | <b>1,46 ab</b>  | <b>2,51 a</b>         |
| <b>Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe</b>                | <b>0,16 ab</b> | <b>1,30 a</b>   | <b>2,23 a</b>         |
| <b>Florovit NPK</b>                                    | <b>0,17 ab</b> | <b>1,52 bc</b>  | <b>2,62 a</b>         |
| <b>Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe + Florovit NPK</b> | <b>0,25 c</b>  | <b>1,63 b-d</b> | <b>2,80 a</b>         |
| <b>Biowęgiel</b>                                       | <b>0,17 ab</b> | <b>1,58 b-d</b> | <b>2,72 a</b>         |
| <b>Biowęgiel + Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe</b>    | <b>0,18 b</b>  | <b>1,76 d</b>   | <b>3,02 a</b>         |
| <b>Biowęgiel + Florovit NPK</b>                        | <b>0,17 ab</b> | <b>1,69 cd</b>  | <b>2,90 a</b>         |

Najwyższą zawartość węgla organicznego oraz substancji organicznej w glebie odnotowano po łącznym zastosowaniu biowęgla wraz z Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym. Największą zawartość azotu ogólnego w glebie uzyskano po aplikacji Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego łącznie z Florovitem NPK.

Tabela 17. Wpływ biostymulatorów i bionawozów na zawartość azotu ogólnego, węgla oraz substancji organicznej w glebie ryzosferowej roślin truskawki odmiany Elsanta (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice 2018 r.).

| Traktowanie         | Nog.      | C        | Substancja organiczna |
|---------------------|-----------|----------|-----------------------|
|                     | % p. s.m. |          |                       |
| Kontrola            | 0,08 a    | 0,83 a-c | 1,43 a-c              |
| NPK                 | 0,08 a    | 0,77 ab  | 1,32 ab               |
| Substrat mykoryzowy | 0,09 a    | 0,83 a-c | 1,43 a-c              |
| PGPR C              | 0,08 a    | 0,76 a   | 1,31 ab               |
| Vinassa + PGPR C    | 0,09 a    | 0,87 bc  | 1,50 bc               |
| Humus UP + PGPR C   | 0,09 a    | 0,91 c   | 1,56 c                |
| Vinassa             | 0,07 a    | 0,73 a   | 1,26 a                |
| Humus UP            | 0,09 a    | 0,82 a-c | 1,33 ab               |

Po łącznej aplikacji biostymulatora Humus UP oraz Konsorcjum PGPR C odnotowano wyższą zawartość azotu ogólnego, węgla i substancji organicznej w glebie pobranej spod roślin truskawki odmiany Elsanta.

Tabela 18. Wpływ aplikacji konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego oraz nawożenia organicznego na cechy wzrostu korzeni drzew jabłoni odmiany Ariwa (Doświadczenie polowe, Dąbrowice 2018 r.).

| Traktowanie                                     | Świeża masa korzeni [g/1L gleby] | Sucha masa korzeni [g/1L gleby] | Długość korzeni [cm/1L gleby] | Pole powierzchni korzeni [cm <sup>2</sup> /1L gleby] | Średnica korzeni [mm/1L gleby] | Objętość korzeni [cm <sup>3</sup> /1L gleby] | Liczba wierzchołków korzeni [szt./1L gleby] |
|---|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--|--------------------------------|--|---|
| Kontrola  | 2,3 a                            | 0,90 a                          | 264,6 a                       | 63,6 a   | 0,51 a                         | 0,99 a                                       | 1081 a                                      |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe                | 4,1 ab                           | 1,50 a                          | 270,5 b                       | 74,5 c   | 0,77 b                         | 1,59 e                                       | 1262 d                                      |
| Florovit NPK                                    | 2,7 a                            | 0,97 a                          | 311,6 d                       | 80,7 d   | 0,81 c                         | 1,38 b                                       | 1152 c                                      |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe + Florovit NPK | 3,6 a                            | 1,40 a                          | 322,5 e                       | 61,9 a   | 0,77 b                         | 1,57 e                                       | 1100 b                                      |
| Biowęgiel                                       | 4,2 ab                           | 1,5 a                           | 360,7 f                       | 63,1 a   | 0,82 c                         | 1,47 d                                       | 1337 f                                      |
| Biowęgiel + Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe    | 6,7 b                            | 3,5 b                           | 501,2 g                       | 114,4 e  | 1,03 d                         | 2,49 f                                       | 1284 e                                      |
| Biowęgiel + Florovit NPK                        | 2,9 a                            | 1,3 a                           | 285,6 c                       | 67,9 b   | 0,80 c                         | 1,43 c                                       | 1402 g                                      |

Łączna aplikacja biowęgla oraz Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego wpłynęła na istotne zwiększenie cech wzrostu korzeni drzew jabłoni odmiany Ariwa.

Tabela 19. Wpływ biostymulatorów i bionawozów na populację wybranych grup mikroorganizmów w glebie ryzosferowej roślin truskawki odmiany Elsanta (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice 2018 r.).

| Treatment           | Ogólna liczba bakterii x 10 <sup>5</sup> cfu x g <sup>-1</sup> DW | Ogólna liczba bakterii wytwarzających formy przetrwalnikowe x 10 <sup>5</sup> cfu x g <sup>-1</sup> DW | Ogólna liczba grzybów x 10 <sup>5</sup> cfu x g <sup>-1</sup> DW |
|---------------------|---|--|--|
| Kontrola            | 71,31 ± 7,52 a  | 13,35 ± 0,42 a   | 0,55 ± 0,05 b  |
| NPK                 | 83,4 ± 4,18 a   | 17,22 ± 1,21 ab  | 0,55 ± 0,05 b  |
| Substrat mykoryzowy | 125,01 ± 0,66 b   | 12,99 ± 2,11 a   | 0,64 ± 0,11 b  |
| PGPR C              | 131,6 ± 6,4 b   | 19,86 ± 0,87 bc  | 0,24 ± 0,06 a  |
| Vinassa + PGPR C    | 164,7 ± 22,92 cd  | 20,27 ± 0,71 bc  | 0,21 ± 0,06 a  |
| Humus UP + PGPR C   | 185,3 ± 18,42 d   | 21,92 ± 2,24 c   | 0,37 ± 0,03 a  |
| Vinassa             | 146,52 ± 1,77 bc  | 17,56 ± 2,58 ac  | 1,08 ± 0,03 c  |
| Humus UP            | 127,01 ± 0,67 b   | 17,25 ± 1,23 ab  | 0,54 ± 0,05 b  |

W porównaniu do kontroli, aplikacja biostymulatora Humus UP łącznie z Konsorcjum PGPR C spowodowała wzrost ogólnej populację bakterii oraz bakterii wytwarzających formy przetrwalnikowe.

Po zastosowaniu biostymulatora Vinassa odnotowano istotne zwiększenie ogólnej liczby grzybów. Zastosowanie Vinassy stosowanej łącznie z konsorcjum PGPR C spowodowało zmniejszenie ogólnej liczebności grzybów mikroskopowych.

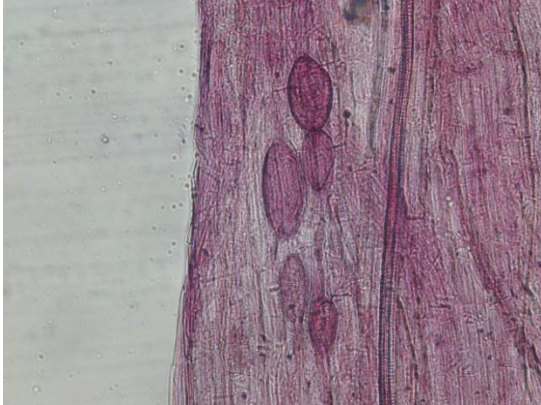
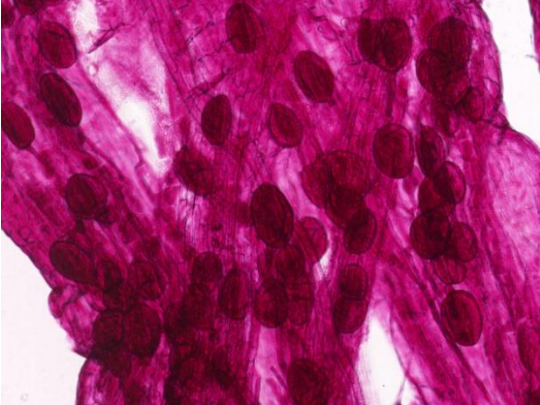
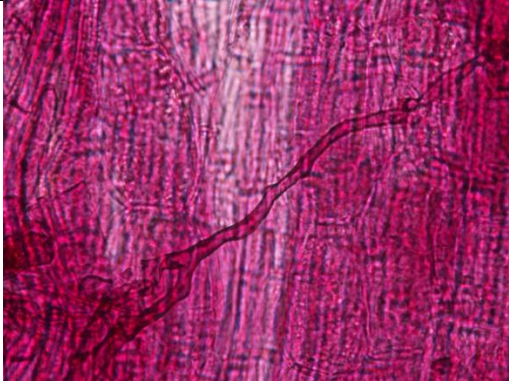
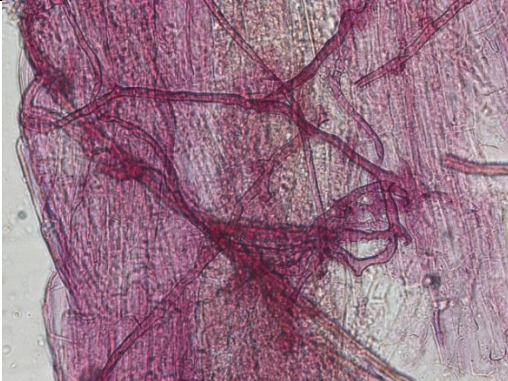
Tabela 20. Wpływ biostymulatorów i bionawozów na występowanie nicieni w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Topaz (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice 2018 r.).

| Traktowanie               | Liczba nicieni <i>Aphelenchus/Aphelenchoides</i> | Liczba krępaków ( <i>Trichodorus sp.</i> ) | Liczba nicieni <i>Belonolaimidae</i> |
|---------------------------|--|--|--------------------------------------|
|                           | w 250 g gleby                                    |  |                                      |
| Kontrola                  | 0 a  | 0 a  | 32 e                                 |
| Kontrola NPK              | 0 a  | 0 a  | 6 bc                                 |
| Obornik                   | 18 c   | 2 b  | 84 f                                 |
| Micosat                   | 0 a  | 3 bc                                       | 19 d                                 |
| Humus UP                  | 8 b  | 0 a  | 6 bc                                 |
| Humus Active + Aktywit PM | 26 d   | 0 a  | 4 b                                  |
| BF Quality                | 20 c   | 5 d  | 0 a                                  |
| BF Amin                   | 0 a  | 0 a  | 0 a                                  |
| Tytanit                   | 26 d   | 2 b  | 4 b                                  |
| Vinassa                   | 0 a  | 0 a  | 132 g                                |
| Florovit Natura           | 46 e   | 0 a  | 8 c                                  |
| Florovit Eco              | 0 a  | 4 cd                                       | 6 bc                                 |

Wyniki analiz i opracowanie: dr Aneta Chałańska

Po zastosowaniu Florovitu Natura w uprawie jabłoni odmiany Topaz odnotowano w glebie ryzosferowej największą liczebność nicieni (*Aphelenchus/Aphelenchoides sp.*). Po aplikacji biostymulatora BF Quality odnotowano nieznacznie większą liczebność krępaków (*Trichodorus sp.*). Największą liczbę nicieni (*Belonolaimidae sp.*) w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Topaz uzyskano po zastosowaniu biostymulatora Vinassa. Aplikacja biostymulatora BF Amin wpłynęła na całkowite ograniczenie występowania nicieni (*Aphelenchus/Aphelenchoides sp.*), krępaków (*Trichodorus sp.*) oraz nicieni (*Belonolaimidae sp.*).

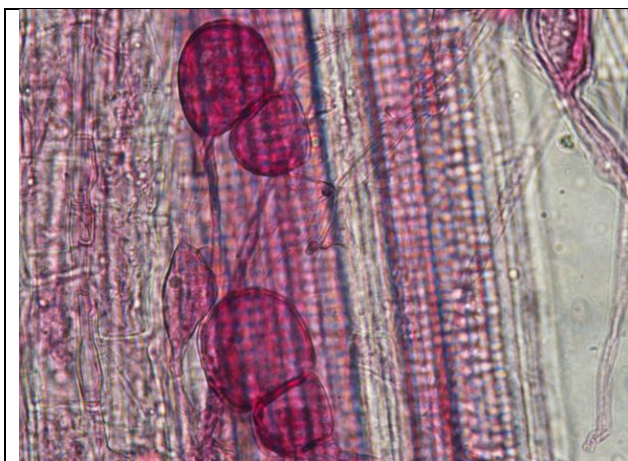
Aplikacja konsorcjum PGPR C w polowej uprawie roślin truskawki odmiany Elsanta wpłynęła korzystnie na formowanie się struktur grzybów mykoryzowych w korzeniach (42.22 %). Zastosowanie biostymulatora Vinassa łącznie z Konsorcjum PGPR C zwiększało intensywność zasiedlania korzeni przez arbuskularne grzyby mykoryzowe (AGM) (7.58%). Korzenie roślin kontrolnych charakteryzowały się mniejszym stopniem zasiedlania przez grzyby AGM.

|   |  |
|---|--|
|    |    |
| <p>Fot. 46. Wezykule w kontrolnych korzeniach roślin truskawki odmiany Elsanta (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice, 2018 r.).</p>            | <p>Fot. 47. Wezykule w korzeniach roślin truskawki odmiany Elsanta traktowanych Konsorcjum bakteryjnym PGPR C (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice, 2018 r.).</p>            |
|   |   |
| <p>Fot. 48. Grzybnia mykoryzowa w kontrolnych korzeniach roślin truskawki odmiany Elsanta (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice, 2018 r.).</p> | <p>Fot. 49. Grzybnia mykoryzowa w korzeniach roślin truskawki odmiany Elsanta traktowanych Konsorcjum bakteryjnym PGPR C (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice, 2018 r.).</p> |

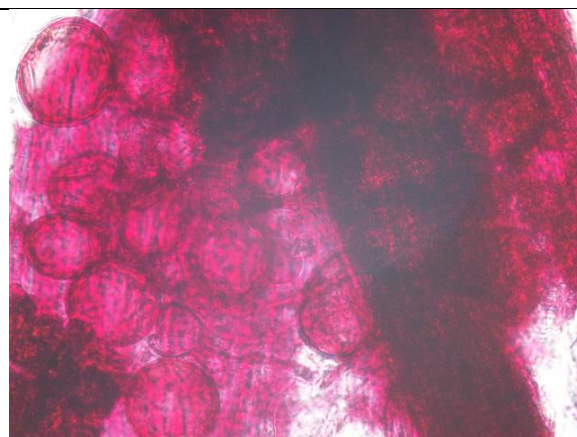
**Tabela 21. Wpływ aplikacji konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego oraz nawożenia organicznego na stopień frekwencji mykoryzowej (F%) i intensywność mykoryzową (M%, m%) w korzeniach drzew jabłoni odmiany Ariwa (Doświadczenie polowe, Dąbrowice, 2018 ).**

| Traktowanie                                     | F%       | M%     | m%     |
|---|----------|--------|--------|
| Kontrola  | 17.78 a  | 0.86 a | 4.42 a |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe                | 24.45 ab | 1.52 a | 6.31 a |
| Florovit NPK                                    | 18.89 a  | 1.42 a | 7.58 a |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe + Florovit NPK | 33.33 b  | 2.40 a | 7.23 a |
| Biowęgiel                                       | 20.0 a   | 1.20 a | 6.0 a  |
| Biowęgiel + Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe    | 25.56 ab | 1.71 a | 6.42 a |
| Biowęgiel + Florovit NPK                        | 24.44 ab | 1.89 a | 7.83 a |

Zastosowanie Konsorcjum pożytecznych mikroorganizmów wraz z nawożeniem Florovitem NPK wpłynęło na istotne zwiększenie stopnia asocjacji mykoryzowej w korzeniach drzew jabłoni odmiany Ariwa przez grzyby AGM (33.33%) oraz liczbę uformowanych wezykul. Aplikacja biowęglu oraz Florovitu NPK zwiększyła intensywność zasiedlania korzeni przez arbuskularne grzyby mykoryzowe (7.83%).



Fot. 50. Wezykule w kontrolnych korzeniach drzew jabłoni odmiany ARIWA (Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2018 r.).



Fot. 51. Wezykule w korzeniach drzew jabłoni odmiany ARIWA traktowanych Konsorcjum pożytecznych mikroorganizmów wraz z nawożeniem Florovitem NPK (Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2018 r.).

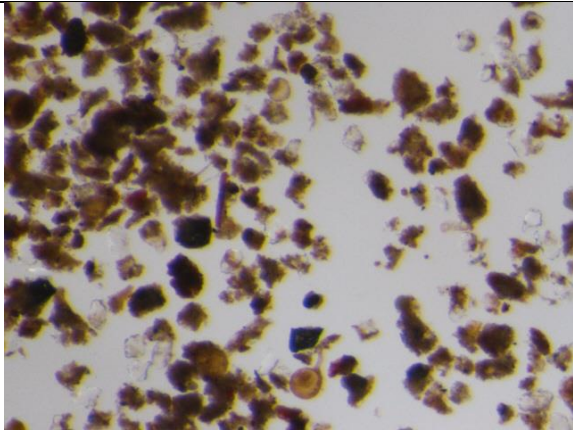


Fot. 52 i 53. Spory w korzeniach drzew jabłoni odmiany ARIWA traktowanych Konsorcjum pożytecznych mikroorganizmów wraz z nawożeniem Florovitem NPK (Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2018 r.).

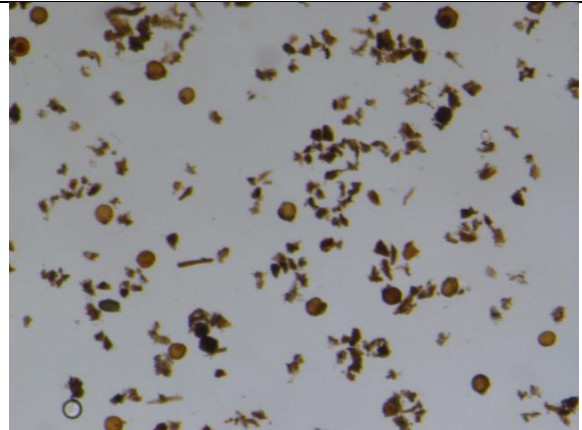
Tabela 22. Liczba zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych (AGM) w 100g gleby ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Ariwa (Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2018).

| Traktowanie                                     | Liczba zarodników w 100g gleby |
|---|--------------------------------|
| Kontrola  | 23 a                           |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe                | 195 e                          |
| Florovit NPK                                    | 22 a                           |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe + Florovit NPK | 68 c                           |
| Biowęgiel                                       | 43 b                           |
| Biowęgiel + Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe    | 93 d                           |
| Biowęgiel + Florovit NPK                        | 31 ab                          |

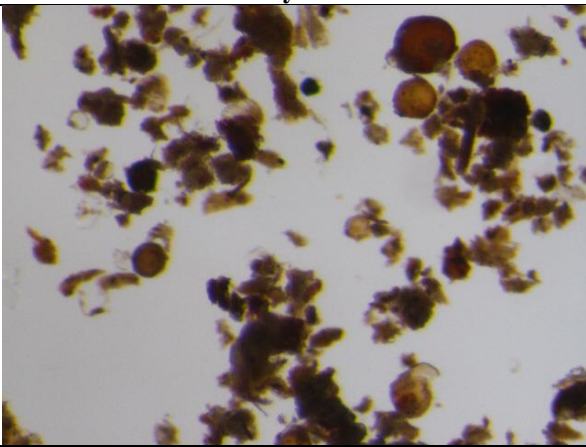
W doświadczeniu polowym na drzewach jabłoni odmiany Ariwa wykazano korzystne działanie bioproduktów wzbogaconych mikrobiologicznie (Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe) na formowanie większej liczby zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych w ryzosferze roślin jabłoni, w porównaniu do kontroli bez nawożenia. Aplikacja Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego istotnie wpłynęła na uformowanie największej liczby zarodników AGM w ryzosferze drzew jabłoni, w porównaniu do kontroli bez nawożenia i nawożenia Florovitem NPK. W traktowaniach z zastosowanym Konsorcjum pożytecznych mikroorganizmów stwierdzono istotnie wyższą liczbę zarodników AGM w połączeniu z biowęgłem oraz Florovitem NPK.



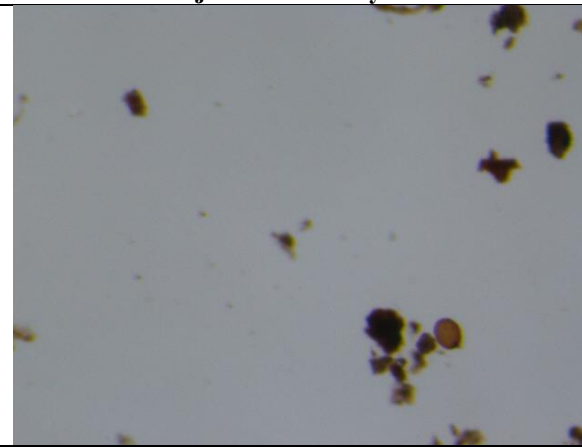
**Fot. 54. Kontrola (bez nawożenia) – kielkujący zarodnik AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.**



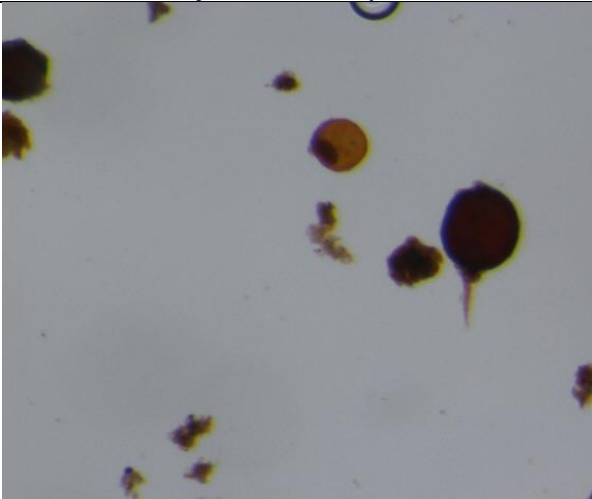
**Fot. 55. Traktowanie Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym – zarodniki AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.**



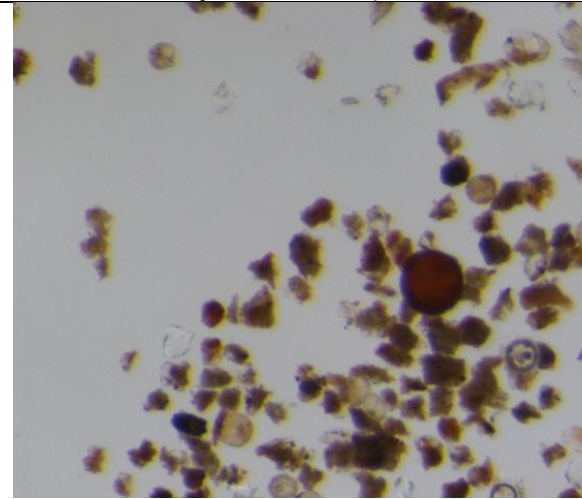
**Fot. 56. Traktowanie Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym – zarodniki AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.**



**Fot. 57. Traktowanie Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym – zarodnik AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.**

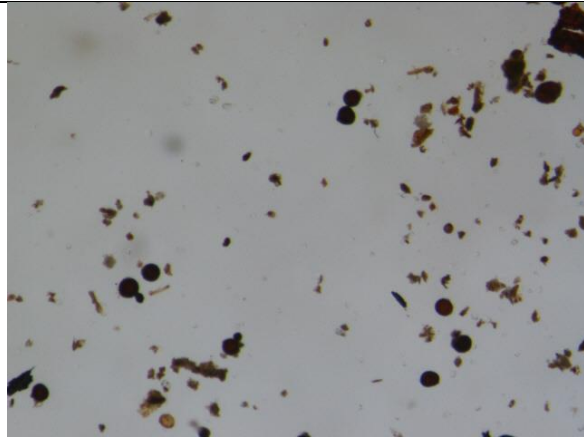


**Fot. 58. Traktowanie Florovitem NPK - kielkujący zarodnik AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.**

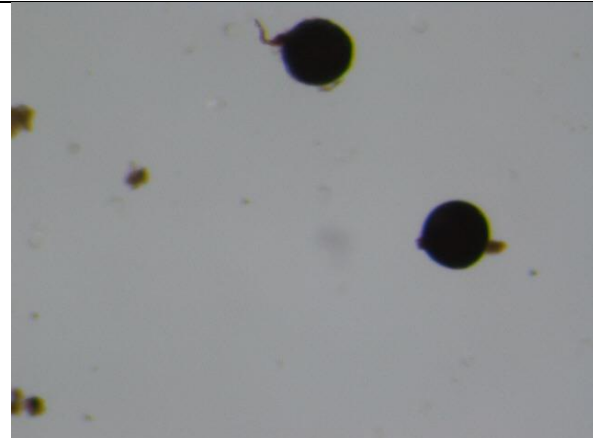


**Fot. 59. Traktowanie Biowegielem + Konsorcjum - zarodnik AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.**





Fot. 60. Traktowanie Biowęgłem + Konsorcjum - zarodniki AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.

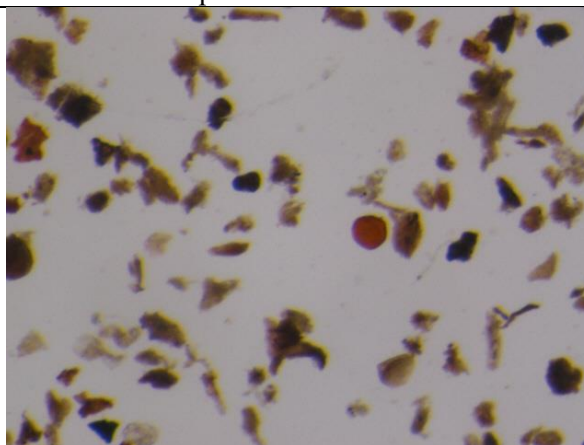


Fot. 61. Traktowanie Biowęgłem + Florovit NPK - zarodniki AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.

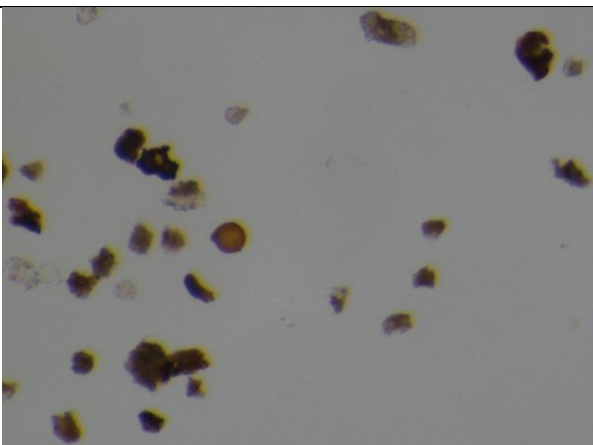
Tabela 23. Liczba zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych (AGM) w 100g gleby ryzosferowej roślin truskawki odmiany Elsanta (Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2018).

| Traktowanie         | Liczba zarodników w 100g gleby |
|---------------------|--------------------------------|
| Kontrola            | 21 a                           |
| NPK                 | 27 a                           |
| Substrat mykoryzowy | 37 b                           |
| PGPR C              | 38 b                           |
| Vinassa + PGPR C    | 52 c                           |
| Humus UP + PGPR C   | 33 a                           |
| Vinassa             | 34 a                           |
| Humus UP            | 30 a                           |

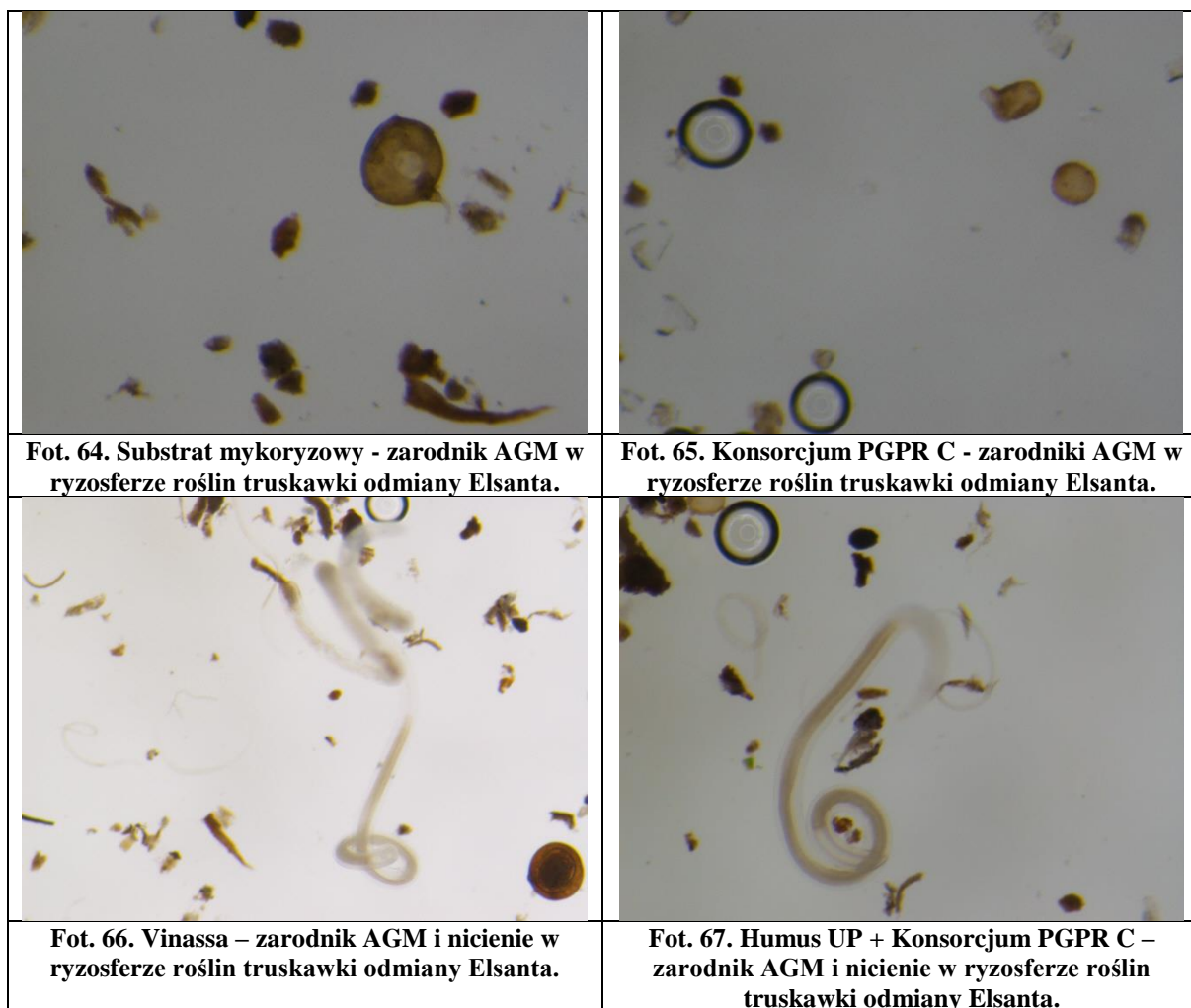
W przeprowadzonym doświadczeniu polowym wykazano korzystne działanie bioproduktów i biostymulatorów wzbogaconych mikrobiologicznie na formowanie większej liczby zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych w ryzosferze roślin truskawki odmiany Elsanta, w porównaniu do kontroli i nawożenia NPK. Aplikacje substratu mykoryzowego, Konsorcjum bakteryjnego PGPR C oraz łącznego stosowania Vinassy z Konsorcjum PGPR C wpłynęły na uformowanie istotnie większej liczby zarodników AGM w ryzosferze roślin truskawki, w porównaniu do kontroli.



Fot. 62. Kontrola bez nawożenia - zarodnik AGM w ryzosferze roślin truskawki odmiany Elsanta.



Fot. 63. Vinassa + Konsorcjum PGPR C - zarodnik AGM w ryzosferze roślin truskawki odmiany Elsanta.



### Ocena zróżnicowania mikrobiologicznego gleby w uprawie drzew jabłoni odmiany Topaz oraz roślin truskawki odmiany Elsanta po zastosowaniu bioproduktów z użyciem techniki PCR-DGGE

Celem pracy była ocena zróżnicowania bakteryjnego gleby w uprawie jabłoni i truskawki traktowanych bioproduktami.

#### Ekstrakcja DNA

DNA izolowano z 250 mg gleby z użyciem zestawu komercyjnego do izolacji DNA gleby NucleoSpin® Soil kit (MACHEREY-NAGEL). Koncentrację DNA mierzono spektrofotometrycznie przy długości fali 260 nm. Do analiz przygotowano próby DNA w rozcieńczeniu 10 ng/μl.

#### Warunki PCR

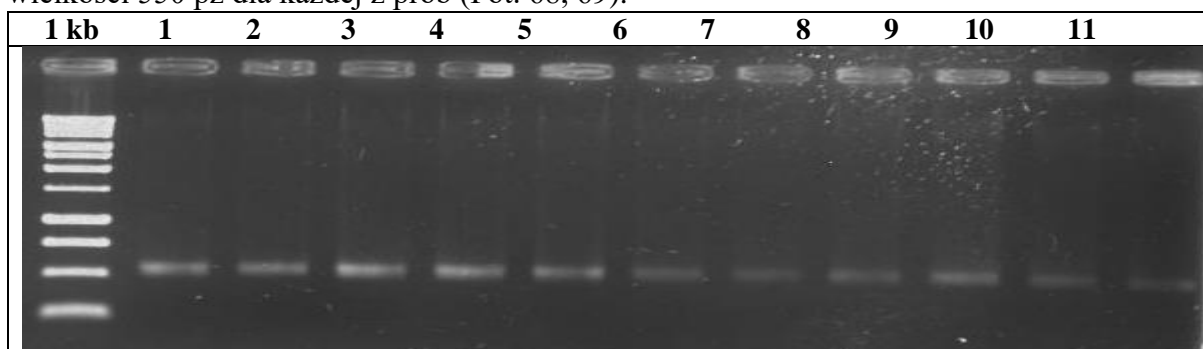
Reakcje przeprowadzono z użyciem starterów 536R (5'-GTATTACCGCGGCTGCTG) oraz 27F-GC, zawierającego klamrę GC długości 40 pz: (5'-CGCCCCCGCGCCCCGCGCCCGCCCCGCGCCCCCGCCCCGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') (Dahllöf i in. 2000). Reakcje przeprowadzono w 25 cyklach (94°C 30s, 50°C 1 min. 30s, 72°C 1 min. 30s) w mieszaninie o objętości 20 μl, zawierającej bufor reakcyjny 1x, 0,2 mM dNTPs, 0,4 μM każdego startera, 0,5 U polimerazy DNA (AmpliTaq Gold® DNA Polymerase with Buffer I; ThermoScientific, Waltham, USA) oraz 20 ng matrycy DNA. Reakcje przeprowadzono w termocyklerze S1000™ (BioRad, Hercules, USA). Obecność produktu PCR sprawdzono w 1,4% żelu agarozowym.

## Analiza DGGE (elektroforeza w denaturującym żelu gradientowym - denaturing gradient gel electrophoresis) bakteryjnego genu 16S rRNA

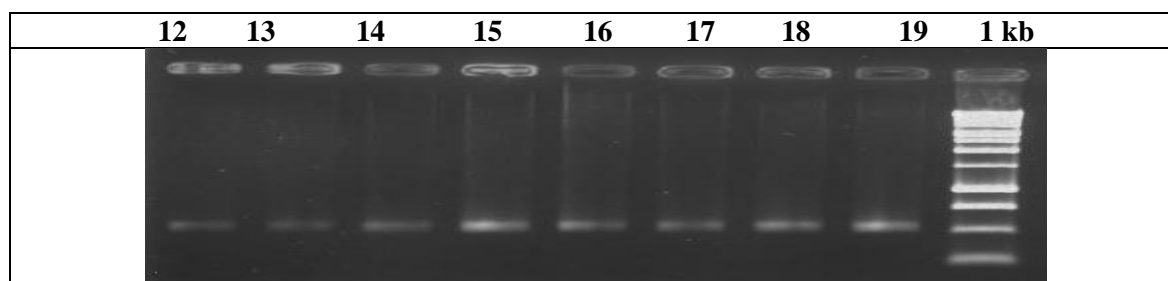
Analizę DGGE przeprowadzono z użyciem systemu do wykrywania mutacji DCode™ (Universal Mutation Detection System, Bio-Rad, Herkules, CA, USA). Żele poliakrylamidowe (37.5:1 akrylamid:bisakrylamid) w koncentracji 8% przygotowano w gradiencie chemicznym 35%-60%. Na żel poliakrylamidowy nakładano 10 µl każdej próby. Elektroforezę w buforze 1xTAE prowadzono przez 16 godz, w temperaturze 60°C przy napięciu 50V. Żele poliakrylamidowe barwiono z użyciem barwnika SYBR GREEN I (Sigma-Aldrich) w rozcieńczeniu 1:10000 przez 30 minut. Elektroforegramy dokumentowano przy użyciu systemu do dokumentacji żeli (GelDoc-It® Imaging System, UVP, Upland USA).

### Wyniki

W wyniku przeprowadzonych reakcji ze starterami 27F-GC/536R uzyskano produkty PCR wielkości 550 pz dla każdej z prób (Fot. 68, 69).



Fot. 68. Produkty PCR wielkości 550 pz uzyskane w reakcji ze starterami 27F-GC/536R dla prób DNA pozyskanego z gleby z okolic korzeni jabłoni. Próby 1-11 oznaczone są zgodnie z kombinacjami doświadczalnymi. 1 kb – marker wielkości.



Fot. 69. Produkty PCR wielkości 550 pz uzyskane w reakcji ze starterami 27F-GC/536R dla prób DNA pozyskanego z gleby z okolic korzeni jabłoni (próba 12) oraz truskawki (próby 13-19).

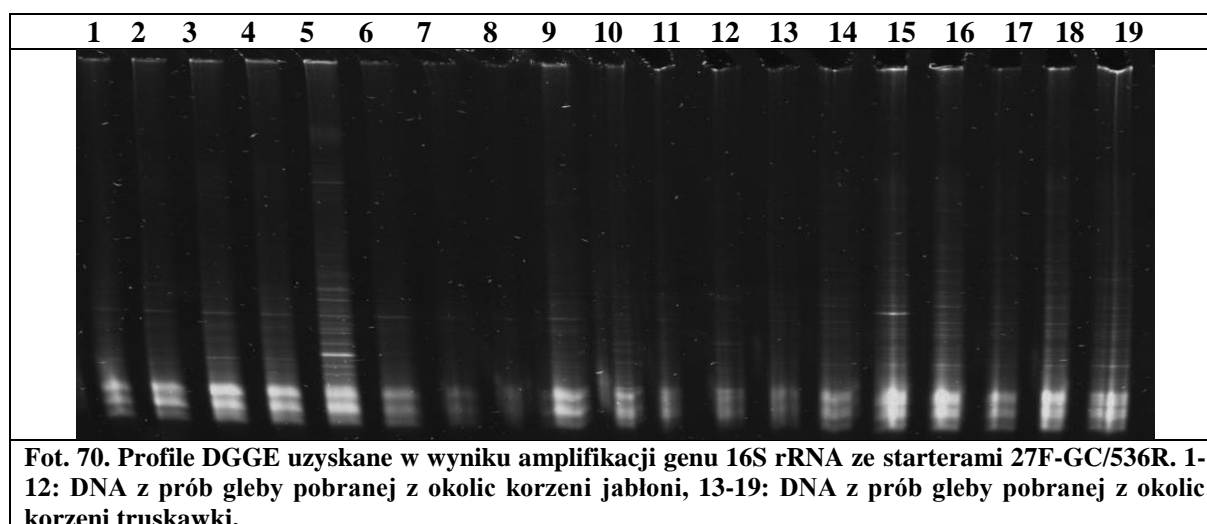
W wyniku rozdziału produktów PCR w żelu poliakrylamidowym z gradientem chemicznym 35%-60% uzyskano elektroforegram przedstawiający obecność ampikonów genu 16S rRNA w testowanych próbach gleby (Fot. 70). Dla poszczególnych prób DNA z gleby z okolic korzeni jabłoni uzyskano od 5 do 22 prążków (średnio 11,6 prążków/próbie), natomiast dla prób DNA z gleby z okolic korzeni truskawki uzyskano od 12 do 18 prążków (średnio 16,3 prążków/próbie).

Tabela 24. Liczba prążków uzyskanych w wyniku analizy PCR-DGGE dla prób gleby ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Topaz i roślin truskawki odmiany Elsanta.

| Lp. | Nazwa próby     | Liczba prążków |
|-----|-----------------|----------------|
| 1.  | Jabłoń kontrola | 9              |
| 2.  | Jabłoń NPK      | 11             |
| 3.  | Jabłoń obornik  | 12             |
| 4.  | Jabłoń Micosat  | 12             |

|     |                                  |    |
|-----|----------------------------------|----|
| 5.  | Jabłoń Humus UP                  | 22 |
| 6.  | Jabłoń Humus Active + Aktywit PM | 12 |
| 7.  | Jabłoń BFQuality                 | 5  |
| 8.  | Jabłoń BF Amin                   | 5  |
| 9.  | Jabłoń Tytanit                   | 19 |
| 10. | Jabłoń Vinassa                   | 13 |
| 11. | Jabłoń Florovit Natura           | 9  |
| 12. | Jabłoń Florovit Eco              | 11 |
| 13. | Truskawka kontrola               | 12 |
| 14. | Truskawka NPK                    | 17 |
| 15. | Truskawka Substrat mykoryzowy    | 18 |
| 16. | Truskawka PGPR-C                 | 18 |
| 17. | Truskawka Vinassa+PGPR C         | 14 |
| 18. | Truskawka Humus UP+ PGPR C       | 17 |
| 19. | Truskawka Vinassa                | 18 |

Dla prób DNA z gleby z okolic korzeni jabłoni najwięcej prążków (22) uzyskano dla próby traktowanej bioproduktem Humus UP, najmniej prążków (5) uzyskano dla prób traktowanych bioproduktami BFQuality i BF Amin. Dla prób DNA z gleby z okolic korzeni truskawki najwięcej prążków (18) uzyskano dla prób traktowanych substratem mykoryzowym, bioproduktem PGPR-C oraz Vinassą. Najmniej prążków (12) uzyskano dla próby kontrolnej.

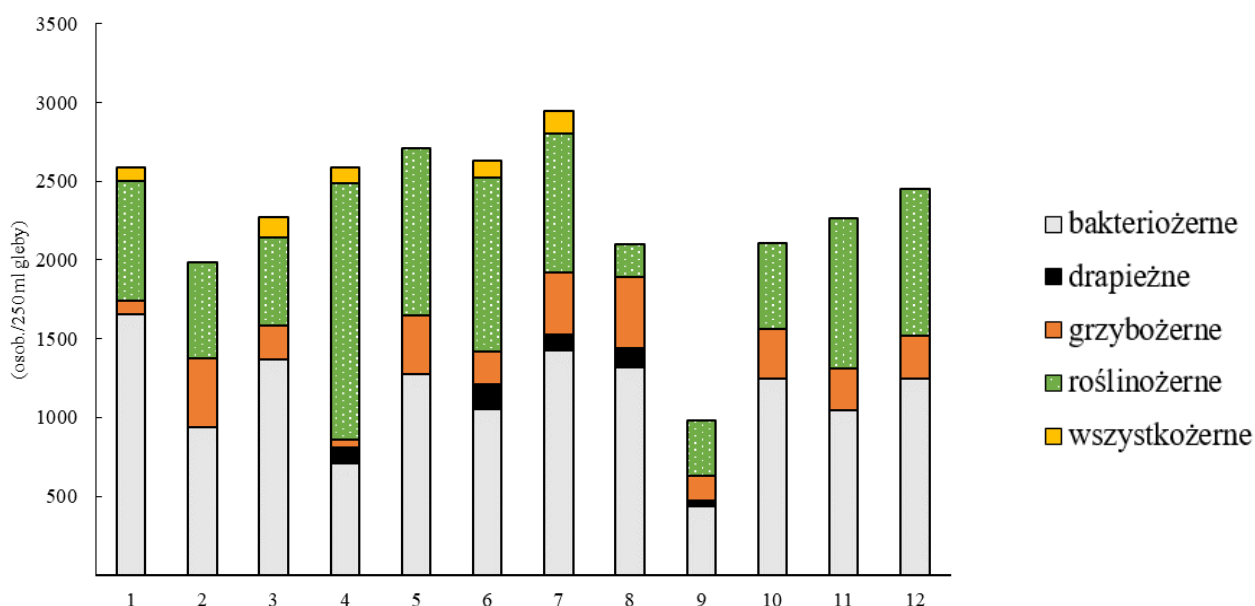


## WYNIKI Z PRZEPROWADZONYCH DOŚWIADCZEŃ W 2019

Tabela 25. Wpływ aplikacji konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego oraz nawożenia organicznego na zawartość azotu ogólnego, węgla organicznego oraz substancji organicznej w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Ariwa (Sad Doświadczalny IO, Dąbrowice 2019 r.).

| Traktowanie                                     | Nog.    | C      | Substancja organiczna |
|---|---------|--------|-----------------------|
|   | %       |        |                       |
| Kontrola  | 0,12 b  | 1,10 d | 1,89 a                |
| Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe                | 0,16 c  | 1,45 f | 2,50 a                |
| Florovit NPK                                    | 0,11 ab | 1,01 b | 1,73 a                |
| Florovit NPK + Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe | 0,11 ab | 1,03 c | 1,78 a                |
| Biowęgiel                                       | 0,11 ab | 1,01 b | 1,74 a                |
| Biowęgiel + Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe    | 0,10 a  | 0,98 a | 1,68 a                |
| Biowęgiel + Florovit NPK                        | 0,15 c  | 1,42 e | 2,45 a                |

Najwyższą zawartość azotu ogólnego, węgla organicznego oraz substancji organicznej w glebie ryzosferowej odnotowano po aplikacji Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego.



**Wyniki analiz i opracowanie: dr hab. Grażyna Soika, prof. IO, mgr Dawid Kozacki - Zakład Ochrony Roślin przed Szkodnikami, Instytut Ogrodnictwa.**

1. Kontrola, 2. Kontrola NPK, 3. Obornik t, 4. Micosat, 5. Humus UP, 6. Humus Active + Aktywit PM, 7. BF Quality, 8. BF Amin, 9. Tytanit, 10. Vinassa, 11. Florovit Natura, 12. Florovit Eco.

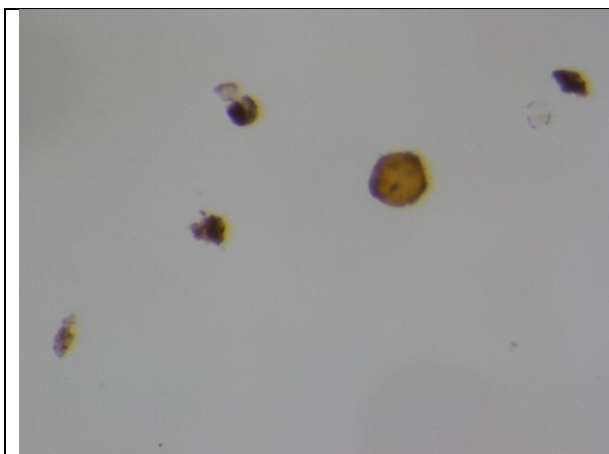
W kombinacji kontrolnej odnotowano w glebie ryzosferowej największą liczebność nicieni bakteriożernych. Po aplikacji biostymulatora Tytanit odnotowano ograniczenie występowania nicieni drapieżnych. Największą liczbę nicieni roślinożernych w glebie ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Topaz uzyskano po zastosowaniu preparatu Micosat.

**Tabela 26. Liczba zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych (AGM) w 100g gleby ryzosferowej drzew jabłoni odmiany Ariwa (Sad Doświadczalny, Dąbrowice, 2019).**

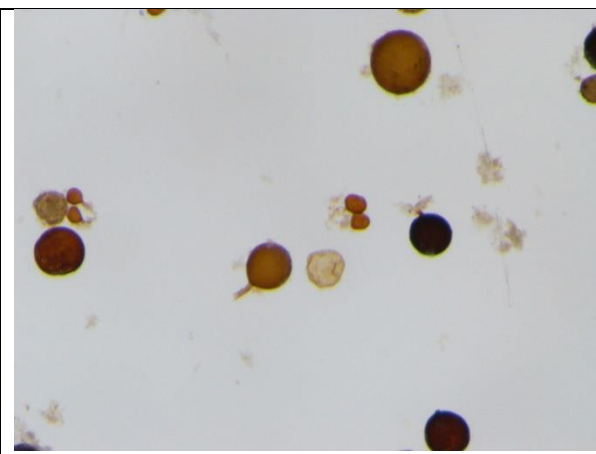
| Traktowanie  | Liczba zarodników w 100g gleby |
|--|--------------------------------|
| <b>Kontrola</b>  | <b>7 a</b>                     |
| <b>Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe</b>                | <b>28 c</b>                    |
| <b>Florovit NPK</b>                                    | <b>3 a</b>                     |
| <b>Florovit NPK + Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe</b> | <b>17 b</b>                    |
| <b>Biowęgiel</b>                                       | <b>15 b</b>                    |
| <b>Biowęgiel + Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe</b>    | <b>21 b</b>                    |
| <b>Biowęgiel + Florovit NPK</b>                        | <b>8 a</b>                     |

W doświadczeniu polowym na drzewach jabłoni odmiany Ariwa wykazano korzystne działanie bioproduktów wzbogaconych mikrobiologicznie (Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowe) na formowanie większej liczby zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych w ryzosferze drzew jabłoni, w porównaniu do kontroli bez nawożenia.

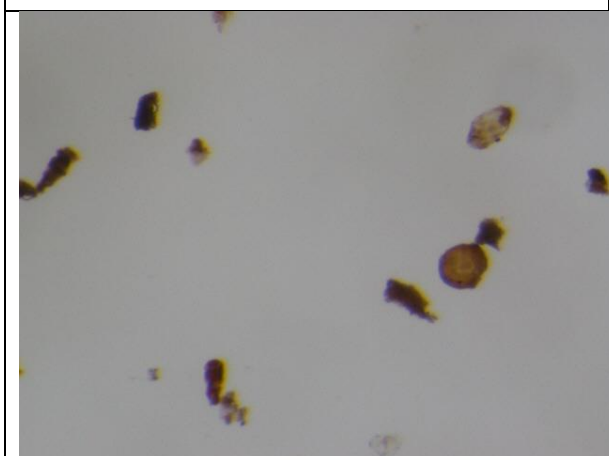
W porównaniu do kontroli bez nawożenia i nawożenia Florovitem NPK, aplikacja Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowego wpłynęła istotnie na uformowanie największej liczby zarodników AGM w ryzosferze drzew jabłoni.



**Fot. 71. Kontrola (bez nawożenia) – zarodnik AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.**



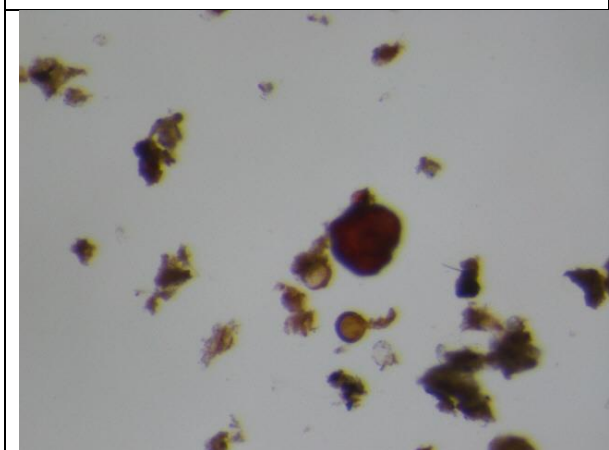
**Fot. 72. Traktowanie Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym – zarodniki AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.**



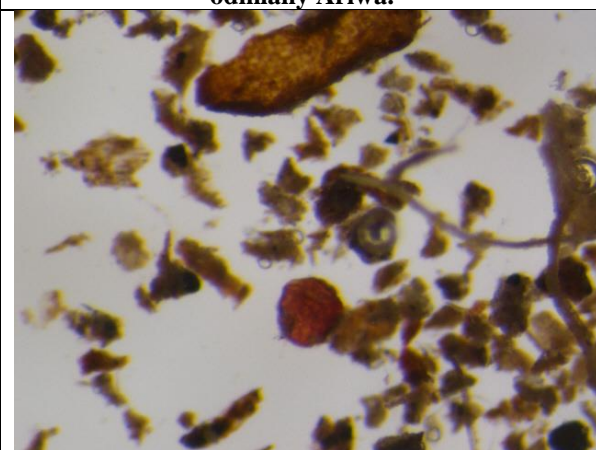
**Fot. 73. Traktowanie Florovitem NPK - kielkujący zarodnik AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.**



**Fot. 74. Traktowanie biowęgłem z łączną aplikacją Konsorcjum bakteryjno-mykoryzowym - zarodniki AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.**



**Fot. 75. Traktowanie biowęgłem – kielkujący zarodnik AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.**



**Fot. 76. Traktowanie biowęgłem z Florovit NPK - zarodnik AGM w ryzosferze drzew jabłoni odmiany Ariwa.**

## LITERATURA

- Azcón-Aguilar C., Jaizme-Vega M.C., Calvet C. (2002): The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil-borne plant pathogens. In: Gianinazzi S., Schuepp H., Barea J.M., Haselwandter K., eds. Mycorrhizal technology in agriculture. Birkhauser Verlag, Switzerland, pp. 187-197.
- Bashan Y., de-Bashan L., Prabhu S.R., Hernandez J.-P. (2014): Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant and Soil* 378: 1–33.
- Bieńkowski J., Jankowiak J. 2006. Zawartość węgla organicznego w glebie i jego zmiany pod wpływem różnych systemów produkcji. *Fragm. Agronom. Puławy*. 28: 216-225.
- Čatská V. (1994): Interrelationships between vesicular-arbuscular mycorrhiza and rhizosphere microflora in apple replant disease. *Biologia Plantarum* 36(1): 99-104.
- Cavagnaro T.R., Bender S.F., Asghari H.R., van der Heijden M.G.A. (2015): The role of arbuscular mycorrhizas in reducing soil nutrient loss. *Trends in Plant Science* 20: 283–290.
- Dahllöf, I., Baillie, H., & Kjelleberg, S. (2000). rpoB-based microbial community analysis avoids limitations inherent in 16S rRNA gene intraspecies heterogeneity. *Applied and environmental microbiology*, 66(8), 3376-3380.
- Das S, Jean J-S, Kar S, Chou M-L, Chen C-Y. (2014): Screening of plant growth-promoting traits in arsenic-resistant bacteria isolated from agricultural soil and their potential implication for arsenic bioremediation. *Journal of Hazardous Materials* 272: 112–120.
- El-Hasan A., Walker F., Schöne J., Buchenauer H. (2009): Detection of Viridifungin A and other antifungal metabolites excreted by *Trichoderma harzianum* active against different plant pathogens. *Eur. J. Plant Pathol.* 124: 457-470.
- Głuszek S., Sas-Paszt L., Sumorok B., Derkowska E. (2008): Wpływ mikoryzy na wzrost i plonowanie roślin ogrodnich. *Post. Nauk Rol.* 6: 11-22.
- Hill G. T., Mitkowski N. A., Aldrich-Wolfe L., Emele L. R., Jurkonie D. D., Ficke A., Maldonado-Ramirez S., Lynch S. T., Nelson, E. B. 2000. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Appl. Soil Ecol.* 15: 25-36.
- Hołownicki R. (2006): Miejsce agroinżynierii w rozwoju produkcji ogrodnich w Polsce. *Inż. Rol.* Vol. 11: 135-146.
- Hoshino Y. T., Morimoto S. 2008. Comparison of 18S rDNA primers for estimating fungal diversity in agricultural soils using polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis. *Soil Sci. Plant Nutr.* 54: 701-710.
- Ishii S., Sadowsky M.J. 2009. Applications of the rep-PCR DNA fingerprinting technique to study microbial diversity, ecology and evolution. *Env. Microbiol.* 11: 733-740.
- 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.

- Khan A.L., Lee I.-J.. (2013): Endophytic *Penicillium funiculosum* LHL06 secretes gibberellin that reprograms *Glycine max* L. growth during copper stress. *BMC Plant Biology* 13: 86.
- Krasowicz S., Kuś J. 2010. Kierunki zmian w produkcji rolniczej w Polsce do roku 2020–próba prognozy. *Zagadnienia Ekonomiki Rolnej* 3: 5–18.
- Lane D.J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing, pp. 115–175. In: Stackebrandt E. and M. Goodfellow (eds). *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, United Kingdom.
- Leifheit E.F., Verbruggen E., Rillig M.C. (2015): Arbuscular mycorrhizal fungi reduce decomposition of woody plant litter while increasing soil aggregation. *Soil Biology and Biochemistry* 81: 323–328.
- Lester G. E., Saftner R. A. 2011. Organically versus conventionally grown produce: common production inputs, nutritional quality, and nitrogen delivery between the two systems. *J. Agric. and Food Chem.* 59: 10401-10406.
- Li Y., Han L.-R., Zhang Y., Fu X., Chen X., Zhang L., Mei R., Wang Q. (2013): Biological Control of Apple Ring Rot on Fruit by *Bacillus amyloliquefaciens* 9001. *The Plant Pathology Journal* 29: 168–173.
- Liu J., Yu Y., Cai Z., Bartlam M., Wang Y. 2015. Comparison of ITS and 18S rDNA for estimating fungal diversity using PCR–DGGE. *World J. Microb. Biot.* 31: 1387-1395.
- Louws F.J., Fulbright D.W., Stephens C.T., de Bruijn F. 1994. Specific genomic fingerprints of phytopathogenic *Xanthomonas* and *Pseudomonas* pathovars and strains generated with repetitive sequences and PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2286-2295.
- Lovato P., Schuepp H., Trouvelot A., Gianinazzi S. (1995): Application of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in orchard and ornamental plants. In: Varma A, Hock B (eds) *Mycorrhiza: structure, function, molecular biology and biotechnology*. Springer, Berlin Heidelberg New York; 443–467.
- Malusà E., Sas Paszt L., Popińska V., Żurawicz E. (2006): The effect of a substrate containing arbuscular mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms and foliar fertilization on growth response and rhizosphere pH of three strawberry cultivars. *Int. J. Fruit Sci.* 6: 25-41.
- Martínez-Medina A., Del Mar Alguacil M., Pascual J., Van Wees S.M. (2014): Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. *Journal of Chemical Ecology* 40: 804–815.
- Mazzola M., Manici L.M. (2012): Apple Replant Disease: role of microbial ecology in cause and control. *Annual Review of Phytopathology* 50: 45–65.
- Mulet M., Lalucat J., García-Valdés E. 2010. DNA sequence-based analysis of the *Pseudomonas* species. *Environ. Microbiol.* 12: 1513–1530.
- 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.



Piwowar A. 2015. Zużycie nawozów wapniowych w Polsce a potrzeby wapnowania gleb. Technika Rolnicza Ogrodnicza Leśna 1: 24-26.

Qiu M., Zhang R., Xue C., Zhang S., Li S., Zhang N., Shen Q. (2012): Application of bio-organic fertilizer can control *Fusarium* wilt of cucumber plants by regulating microbial community of rhizosphere soil. *Biology and Fertility of Soils* 48: 807–816.

Raigón M. D., Rodríguez-Burruezo A., Prohens J. 2010. Effects of organic and conventional cultivation methods on composition of eggplant fruits. *J. Agricul. and Food Chem.* 58: 6833-6840.

Read D.J. (1996): The structure and function of the ericoid mycorrhizal root. *Ann. Bot.* 77: 365-374.

Sas L., Mercik S., Matysiak B. (1999): Rola ryzosfery w mineralnym odżywianiu się roślin. *Postępy Nauk Rolniczych*, 6: 27-36.

Sas Paszt L. Głuszek S. (2007): Nowoczesne metody w badaniach ryzosfery roślin sadowniczych. *Postępy Nauk Rolniczych*. 5: 51-63.

Sas-Paszt L. 2011. Pożyteczne mikroorganizmy szansą na zdrowe owoce. *Sad Nowoczesny* 12: 19.

Sas Paszt L., Grzyb Z.S. 2013. Węgiel brunatny i możliwości jego wykorzystania. *Miesięcznik Praktycznego Sadownictwa SAD* 8: 36-41.

Sas Paszt L., Frąc M., Derkowska E., Głuszek S., Trzciniński 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”. 28<sup>th</sup>-30<sup>th</sup> September 2015 Hochschule Geisenheim University, 28-30.09.2015 r. Germany, prezentacja.

Sas Paszt L., Lisek A., Trzciniński P., Przybył M., Frąc M., Głuszek S., Weszczak K. 2015. Wpływ pożytecznych mikroorganizmów na wzrost i plonowanie warzyw w uprawie ekologicznej. Aplikacyjne i teoretyczne problemy w przemyśle rolno-spożywczym – interdyscyplinarne aspekty zdrowego stylu życia. *Studia i Monografie z.432. Oficyna Wydawnicza, Opole* 2015: 181-196.

Sas Paszt L., Malusa E., Sumorok B., Canfora L., Derkowska E., Głuszek S. 2015. The influence of bioproducts on mycorrhizal occurrence and diversity in the rhizosphere of strawberry plants under controlled conditions. *Adv. in Microbiol.* 5: 40-53.

Sas Paszt L., Trzciniński P., Lisek A., Przybył M., Derkowska E., Głuszek S., Sumorok B., Frąc M., Weszczak K. 2015. Pożyteczne mikroorganizmy szansą na poprawę jakości plonów roślin sadowniczych i żyzności gleby. *Akademickie Warsztaty Naukowe „Interdyscyplinarne aspekty zdrowego stylu życia”* 17-19.11.2015 r. Łądek Zdrój.

Sas Paszt L., Lisek A., Trzciniński P., Przybył M., Frąc M., Głuszek S., Weszczak K. 2016. Wpływ pożytecznych mikroorganizmów na wzrost i plonowanie warzyw w uprawie ekologicznej. *Akademickie Warsztaty Naukowe „Interdyscyplinarne aspekty zdrowego stylu życia”* 17-19.11.2015 r. Łądek Zdrój.

- Smalla K., Oros-Sichler M., Milling A., Heuer H., Baumgarte S., Becker R., Neuber G., Kropf S., Ulrich A., Tebbe, C. C. 2007. Bacterial diversity of soils assessed by DGGE, T-RFLP and SSCP fingerprints of PCR-amplified 16S rRNA gene fragments: do the different methods provide similar results?. *J. Microbiol. Meth.* 69: 470-479.
- Smolińska U, Kowalska B, Kowalczyk W, Szczech M. 2014. The use of agro-industrial wastes as carriers of *Trichoderma* fungi in the parsley cultivation. *Scientia Horticulturae* 179: 1–8.
- Sun S., Xing F., Zhao H., Gao Y., Bai Z., Dong, Y. 2014. Response of bacterial community to simulated nitrogen deposition in soils and a unique relationship between plant species and soil bacteria in the Songnen grassland in Northeastern China. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 14: 565-580.
- Susilowati A., Wayhudi A.T., Lestar Y., Wiyono S., Suwanto A. 2010. Genetic diversity of antifungi-producing rhizobacteria of *Pseudomonas* sp. isolated from rhizosphere of soybean plant. *Microbiol. Indonesia* 4: 33-38.
- Termorshuizen A.J., Moolenaar S.W., Veeken A.H.M., Blok W.J. 2004. The value of compost. *Rev Environ. Sci. Biotechnol.* 3: 343–347.
- Trouvelot A., Kough J.L., Gianinazzi-Pearson V., 1986. Mesure du taux de mycorhization 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.
- Van Loon L.C., Bakker P.A.H.M. (2006): Root-associated bacteria inducing systemic resistance In: Gnanamanickam S.S. "Plant Associated Bacteria" Springer, The Netherlands: 269-316.
- Whipps J.M. (2001): Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 52, 487–511.
- Wrzaszcz W., Zegar J.S., Prandecki K., 2014. Żyzność gleby a sprawność ekonomiczna gospodarstw rolnych w kontekście zrównoważonego rozwoju. *Zagadnienia Doradztwa Rolniczego* 3(77): 5–25.
- Yarza P., Yilmaz P., Pruesse E., Glöckner F. O., Ludwig W., Schleifer K. H., Rosselló-Móra R. 2014. Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nature Rev. Microbiol.*, 12(9): 635-645.