

## **ORGANIZATOR KONFERENCJI**

Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach  
Oddział Warzywnictwa  
Pracownia Mikrobiologii  
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3  
96-100 Skierniewice  
[www.inhort.pl](http://www.inhort.pl)

## **KOMITET ORGANIZACYJNY**

Dr Magdalena Szczech - Przewodnicząca  
Dr Beata Kowalska - Sekretarz Komitetu Organizacyjnego  
Dr Maria Grzegorzewska

## **KOMITET NAUKOWY**

Dr Magdalena Szczech  
Dr hab. Urszula Smolińska, prof. IO  
Prof. dr hab. Małgorzata Korbin  
Prof. dr hab. Danuta Witkowska  
Prof. dr hab. Franciszek Adamicki  
Prof. dr hab. Ryszard Kosson

## **MIEJSCE KONFERENCJI**

ZAJAZD ROZDROŻE  
99-416 NIEBORÓW  
NIEBORÓW 163 C  
[www.zajazd-nieborow.pl](http://www.zajazd-nieborow.pl)

Konferencja organizowana jest w związku z realizacją projektu badawczego „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.



**Program konferencji naukowej****MIKROORGANIZMY W OCHRONIE ROŚLIN I ZAGOSPODAROWANIU ODPADÓW ORGANICZNYCH****Nieborów, 26-28.11.2014****26.11.2014****16.00-19.00** – rejestracja uczestników konferencji**17.00-19.00** – zawieszanie posterów i rozpoczęcie sesji posterowej**19.00-22.00** - kolacja powitalna**27.11.2014****8.00-9.30** – rejestracja uczestników konferencji**9.30-9.40** – powitanie uczestników konferencji**9.40-10.00** – *Trichoderma* w uprawie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych – badania i rezultaty projektu

Magdalena Szczech

**10.00-10.15** - Wybrane szczepy *Trichoderma* jako induktory wzrostu i reakcji obronnych ogórka (*Cucumis sativus* L.) i pomidora (*Solanum lycopersicum* L.) na *Rhizoctonia solani*

Justyna Nawrocka, Magdalena Szczech, Katarzyna Jas, Kamil Jarosiński, Urszula Małolepsza

**10.15-10.30** - Laminarynazy jako czynnik warunkujący zdolności nadpasożytnicze i potencjał w biologicznej ochronie roślin u grzybów z rodzaju *Trichoderma*

Judyta Strakowska, Lidia Błaszczyk, Jerzy Chełkowski

**10.30-10.45** - Charakterystyka molekularna i biochemiczna grzybów *Trichoderma* wyizolowanych z różnych biotopów w Polsce

Lidia Błaszczyk, Jerzy Chełkowski, Karolina Gromadzka, Henryk Jeleń, Joanna Kaczmarek, Leszek Lenc, Delfina Popiel, Marek Siwulski, Krzysztof Sobieralski, Łukasz Stępień, Judyta Strakowska, Agnieszka Waśkiewicz

**10.45-11.00** - Aktywność szlaku mewalonowego a właściwości biokontrolne *Trichoderma atroviride*

Joanna S. Kruszewska

**11.00- 11.15** - Aktywność biologiczna szczepu *Trichoderma harzianum* SK 75 w biopreparatach utrwalonych w procesie suszenia fontannowego i liofilizacji

Anna Kancelista, Danuta Witkowska, Regina Stempniewicz, Wojciech Łaba, Marta Pasławska, Michał Piegza, Aleksandra Wilczak, Monika Grzegorzczak, Magdalena Szczech

**11.15-11.30** - dyskusja**11.30-12.00** - przerwa**12.00-12.15** - Skuteczność mieszanych szczepionek (rizobia+*Azotobacter*) w stymulowaniu plonów roślin strączkowych

Stefan Martyniuk

**12.15-12.30** - Zawartość biomasy żywych mikroorganizmów oraz ich liczebność w glebie ogrodniczej wzbogaconej biopreparatem

Ilona Wrońska, Mirosław Onyszko, Krystyna Cybulska, Arkadiusz Telesiński, Sanaa Mahdi-Oraibi

**12.30-12.45** - Określenie zdolności bakterii endofitycznych do kolonizacji ryzosfery zbóż

Anna Gałązka, Maria Król, Jerzy Żuchowski, Andrzej Perzyński

**12.45-13.00** - Mikroorganizmy ryzosferowe w procesie wspomagania fitoremediacji terenów zanieczyszczonych metalami ciężkimi

Anna Grobelak, Anna Napora, Roksana Mosakowska

**13.00-13.15** - Wykorzystanie szczepu *Peanibacillus polimyxa* DCF B/00052 w zwalczaniu chorób roślin

Danuta Czernomys-Furowicz

**13.15-13.30** - Wpływ ochrony sadu przy użyciu „Efektywnych Mikroorganizmów” na zawartość bioaktywnych fitozwiązków w jabłkach

Agnieszka Bartoszek, Barbara Kusznierevicz, Dorota Martysiak-Żurowska, Anna Lewandowska, Kamila Klimaszewska, Michał Murawski, Monika Baranowska, Piotr Sójka

**13.30-13.45** - dyskusja

**13.45 -16.00** - przerwa obiadowa

**16.00-16.15** - Wpływ inkubacji substratów biogazowych z grzybami *Trichoderma* na wydajność biogazową

Andrzej Lewicki

**16.15-16.30** - Proces kompostowania odpadów organicznych w skali półtechnicznej

Kamil Witaszek

**16.30-16.45** - Composting process of agri-food industry waste on a laboratory scale

Pablo Cesar Rodriguez Carmona

**16.45-17.00** - Dodatki biologiczne w procesie kompostowania odpadów organicznych

Wojciech Czekala

**17.00-17.15** - Analiza liczebności grzybów pleśniowych, ze szczególnym uwzględnieniem *Trichoderma* sp. oraz ich interakcje w kompostach i w glebie pod uprawą wybranych warzyw

Agnieszka Wolna-Maruwka, Katarzyna Głuchowska, Tomasz Piechota, Małgorzata Jędrzycka, Jacek Dach, Andrzej Lewicki, Magdalena Szczech

**17.15-17.30** - Wpływ dodatków mikrobiologicznych na efekt plonotwórczy kompostów wytworzonych z odpadów warzywnych

Tomasz Piechota, Mariusz Kowalski, Agnieszka Wolna-Maruwka, Krzysztof Pilarski, Andrzej Lewicki, Damian Janczak, Wojciech Czekala

**17.30-17.45** - dyskusja

**9.00-18.30** – sesja posterowa

**18.00-18.30** - podsumowanie sesji posterowej

20.00- 2.00 – uroczysta kolacja

**28.11.2014**

**9.30-9.45** - Wpływ wybranych szczepów *Trichoderma* na plonowanie sałaty kruchej

Agnieszka Stępowska, Ryszard Kosson, Teresa Sabat, Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Magdalena Szczech, Paweł Szymczak

**9.45-10.00** - Wykorzystanie grzybów z rodzaju *Trichoderma* w bezglebowej uprawie pomidora

Jacek Dyśko, Magdalena Szczech, Danuta Witkowska, Anna Kancelista

**10.00-10.15** – Jakość i wartość odżywcza warzyw uprawianych z udziałem grzybów *Trichoderma*

Ryszard Kosson, Justyna Szwejda-Grzybowska, Magdalena Tuszyńska, Agnieszka Stępowska, Kazimierz Felczyński, Jacek Dyśko, Iwona Sobieszek, Jan Piecko, Magdalena Szczech

**10.15-10.30** - Jakość sensoryczna warzyw uprawianych na podłożach z zastosowaniem grzybów *Trichoderma*

Anna Wrzodak, Jacek Dyśko, Agnieszka Stępowska, Kazimierz Felczyński, Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Danuta Witkowska, Magdalena Szczech

**10.30-10.45** - Wpływ grzybów *Trichoderma* na morfologię i strukturę komórkową roślin warzywnych

Barbara Dyki, Aleksandra Murgrabia, Elżbieta Panek, Magdalena Szczech, Agnieszka Stępowska, Jacek Dyśko, Kazimierz Felczyński

**10.45 -11.00** - dyskusja

**11.00-11.30** – przerwa

**11.30-11.45** - Ciągły proces biodegradacji buraczanego wywaru gorzelniczego z wykorzystaniem mieszanej kultury bakterii z rodzaju *Bacillus*

Krzysztof Lutosławski, Edmund Cibis

**11.45-12.00** - Wpływ procesu kompostowania kory sosnowej z dodatkami organicznymi na zmienność populacji drobnoustrojów oraz aktywność kompleksu dehydrogenaz

Justyna Starzyk, Jacek Czekala, Agnieszka Wolna-Maruwka, Agnieszka Mocek-Płóciński

**12.00-12.15** - Programistyczna modyfikacja użyteczności bioreaktorów laboratoryjnych Biostat®B w badaniach nad dekoloryzacją buraczanego wywaru melasowego

Daniel Borowiak, Marta Wilk, Aniceta Ślęczka, Małgorzata Krzywonos, Przemysław Seruga

**12.15-12.30** - Wykorzystanie metody osadu czynnego przy oczyszczaniu ścieków- wpływ optymalnego napowietrzania na wydajność procesu

Filip Harasimiuk, Arkadiusz Drost, Arkadiusz Nędzarek

**12.30-12.45** - Wykorzystanie procesów separacji membranowej w oczyszczaniu wody

Filip Harasimiuk, Arkadiusz Drost, Arkadiusz Nędzarek

**12.45-13.00** - zakończenie konferencji

**13.00** - obiad

**Sesja posterowa**

1. Wpływ preparatu mikrobiologicznego i biostymulatora roślin na rozwój mikroorganizmów glebowych w uprawie pszenicy jarej  
Barbara Breza-Boruta, Karol Kotwica
2. Kompostowanie szczeciny odpadowej z udziałem mikrobiologicznej szczepionki wieloorganizmowej  
Anna Choińska, Wojciech Łaba, Anna Rodziewicz, Danuta Witkowska, Michał Piegza, Anna Kancelista
3. Stopień frekwencji mikoryzowej w korzeniach trzech odmian roślin truskawki traktowanych biopreparatami  
Edyta Derkowska, Lidia Sas Paszt
4. Wpływ nanoplantyny na wzrost i zarodnikowanie *Trichoderma* spp.  
Joanna Dłużniewska
5. Czy grzyby *Trichoderma* stymulują lignifikację komórek roślin warzywnych?  
Barbara Dyki, Agnieszka Stępowaska, Aleksandra Murgrabia, Elżbieta Panek
6. Wpływ wybranych szczepów grzybów z rodzaju *Trichoderma* i dwóch metod ich aplikacji na plonowanie marchwi oraz zawartość niektórych składników mineralnych w glebie i roślinie  
Kazimierz Felczyński, Waldemar Kowalczyk, Anna Felczyńska, Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Danuta Witkowska, Anna Kancelista, Magdalena Szczech
7. Określenie stopnia wykorzystywania przez szczepy bakterii endofitycznych z rodzaju *Azospirillum* kwasów fenolowych w procesie wiązaniu wolnego azotu  
Anna Gałązka, Maria Król, Andrzej Perzyński
8. Dolichol - nowa nadzieja biokontroli  
Sebastian Graczyk, Urszula Perlińska-Lenart, Wioletta Górka-Nieć, Patrycja Zembek, Sebastian Piłyk, Joanna S. Kruszewska
9. Siderofory bakteryjne we wspomaganie wzrostu roślin  
Anna Grobelak, Anna Napora, Joanna Hiller
10. Wpływ rodzaju pożywki na produkcję zarodników grzybów *Trichoderma* w hodowlach w bioreaktorze  
Natalia Grochowina, Danuta Witkowska, Wojciech Łaba, Regina Stempniewicz, Anna Kancelista, Magdalena Szczech, Michał Piegza
11. Wpływ grzybów *Trichoderma* na trwałość przechowalniczą wybranych gatunków warzyw  
Maria Grzegorzewska, Ewa Badełek, Kazimierz Felczyński, Kalina Sikorska-Zimny, Agnieszka Stępowaska, Paweł Szymczak, Magdalena Szczech

12. Wzajemne oddziaływania pomiędzy szczepami *Fusarium* spp. (*F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichoides*) a szczepami *Trichoderma* spp. (*T. harzianum*, *T. koningii* i *T. reesei*)  
Jolanta Jaroszuk-Ściseł, Artur Nowak, Elżbieta Patkowska, Sabina Lipionoga, Magdalena Rola
13. Wpływ wybranych szczepów *Trichoderma* na zmiany w metabolizmie związków fenolowych w roślinach ogórka (*Cucumis sativus* L.)  
Katarzyna Jas, Kamil Jarosiński, Justyna Nawrocka, Magdalena Szczech, Kazimierz Felczyński, Urszula Małolepsza
14. Produkcja zarodników przez wybrane szczepy *Trichoderma* w bioreaktorze w zależności od intensywności mieszania hodowli  
Joanna Koniuszewska, Michał Piegza, Wojciech Łaba, Regina Stempniewicz, Anna Kancelista, Magdalena Szczech, Danuta Witkowska
15. Wpływ inokulacji wełny mineralnej grzybami z rodzaju *Trichoderma* na dostępność wybranych składników pokarmowych w strefie korzeniowej pomidora  
Waldemar Kowalczyk, Anna Felczyńska, Jacek Dyśko, Magdalena Szczech
16. Elementy fitomonitoringu w ocenie skuteczności polskich szczepów *Trichoderma* sp. w uprawie warzyw  
Artur Kowalski, Agnieszka Stępowska, Magdalena Szczech
17. Identyfikacja i ocena zróżnicowania genetycznego bakterii glebowych *Pseudomonas* spp. z użyciem technik molekularnych  
Anna Lisek, Lidia Sas-Paszt, Paweł Trzciniński
18. Dobór parametrów liofilizacji i czynników osłonowych do utrwalania dwóch izolatów grzybów strzępkowych *Trichoderma* sp.  
Wojciech Łaba, Danuta Witkowska, Justyna Klepacz, Anna Kancelista, Michał Piegza, Magdalena Szczech
19. Akumulacja ołowiu w biomase trawy *Festuca ovina* uprawianej w glebie zanieczyszczonej związkami ołowiu  
Małgorzata Majewska
20. Stan mikrobiologiczny gleby pod uprawą buraków cukrowych na terenach zachodniej Ukrainy  
Agnieszka Mocek-Płóciniak, Agnieszka Wolna-Maruwka, Katarzyna Głuchowska, Justyna Starzyk, Waldemar Spsychalski, Dima Kostarev
21. Otrzymywanie egzopolisacharydów różnych gatunków grzybów należących do rodzaju *Fusarium* i *Penicillium*  
Artur Nowak, Jolanta Jaroszuk Ściseł, Ewa Ozimek, Anna Słomka, Małgorzata Majewska
22. Pożyteczne bakterie w mikrorozmnażaniu roślin

- Teresa Orlikowska, Katarzyna Nowak, Aleksandra Trzewik
23. Opracowanie metody multiplex-PCR przydatnej do wykrywania i monitorowania *Trichoderma* w glebie Michał Oskiera, Magdalena Szczech, Grzegorz Bartoszewski
  24. Monitorowanie *Trichoderma* w środowisku glebowym z zastosowaniem sekwencjonowania wysokoprzepustowego Illumina Miseq Michał Oskiera, Magdalena Szczech, Grzegorz Bartoszewski
  25. Zastosowanie materiałów organicznych jako nośnika mikroorganizmów uruchamiających P i K w produkcji rozsady kapusty głowiastej Ewa Ozimek, Anna Słomka, Małgorzata Majewska, Bogusław M. Kaszewski, Jolanta Jaroszk-Ścisiel
  26. Zagospodarowanie wycierki ziemniaczanej jako nośnika drobnoustrojów Marta Pasławska
  27. Transporter siarczanowy AstA u grzyba *Fusarium sambucinum* w aspekcie infekcji i kolonizacji ziemniaka Sebastian Piłsyk, Hanna Gawińska-Urbanowicz, Marzena Sieńko, Renata Natorff, Joanna S. Kruszewska
  28. SYMBIO BANK - Kolekcja pożytecznych mikroorganizmów glebowych Lidia Sas Paszt, Beata Sumorok, Anna Lisek, Edyta Derkowska, Paweł Trzciniński, Aleksandra Bogumił, Anton Harbusov, Sławomir Głuszek, Eligio Malusa,
  29. Zastosowanie szczepionek mikrobiologicznych w uprawie szalwii lśniącej (*Salvia splendens* Buc'hoz ex Etl) Anita Schroeter-Zakrzewska, Agnieszka Wolna-Maruwka
  30. Wpływ parametrów procesu na stabilizację tlenową (kompostowanie) odpadów Przemysław Seruga, Małgorzata Krzywonos, Marta Wilk, Aniceta Ślęczka, Daniel Borowiak
  31. Zalety aplikacji do gleby grzybów *Trichoderma* na nośnikach organicznych Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Magdalena Szczech, Waldemar Kowalczyk
  32. Zastosowanie antagonistycznego grzyba *Trichoderma* w integrowanej ochronie ogórka przed mączniakiem rzekomym Jan Sobolewski, Kazimierz Felczyński, Agnieszka Włodarek, Danuta Witkowska, Regina Stempniewicz, Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Magdalena Szczech
  33. Aktywność mikrobiologiczna kompostów sporządzonych na bazie kory sosnowej Justyna Starzyk, Jacek Czekala
  34. Zastosowanie preparatu Fungilitic w uprawie truskawki Małgorzata Statkiewicz, Danuta Czernomysy-Furowicz, Piotr Chełpiński, Grzegorz Mikiciuk
  35. Wpływ czasu przechowywania na żywotność i aktywność enzymatyczną szczepu *Trichoderma atroviride* SK 25 w suszonych biopreparatach



- Regina Stempniewicz, Anna Kancelista, Marta Paślawska, Wojciech Łaba, Michał Piegza, Magdalena Szczech, Danuta Witkowska
36. Arbuskularne grzyby mikoryzowe (*Glomeromycota*) związane z korzeniami roślin sadowniczych okolic Bieszczadzkiego Parku Narodowego  
Beata Sumorok, Lidia Sas Paszt, Edyta Derkowska, Sławomir Głuszek
37. Efekty zastosowania grzybów *Trichoderma* w uprawie ziemniaka  
Magdalena Szczech, Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Kazimierz Felczyński, Jan Sobolewski, Agnieszka Włodarek
38. Nawozowe wykorzystanie mineralnych sorbentów otrzymanych po procesie odbarwiania wywaru gorzelniczego  
Aniceta Ślęczka, Marta Wilk, Przemysław Seruga, Małgorzata Krzywonos, Daniel Borowiak
39. Oddziaływanie grzybni *Piriformospora indica* na gatunki rodzaju *Phytophthora*  
Aleksandra Trzewik, Katarzyna Nowak, Teresa Orlikowska
40. Dekoloryzacja buraczanego wywaru melasowego z wykorzystaniem bakterii *Lactobacillus plantarum* - wpływ parametrów procesu oraz stopnia rozcieńczenia wywaru  
Marta Wilk, Małgorzata Krzywonos, Przemysław Seruga, Aniceta Ślęczka, Daniel Borowiak
41. Wpływ pre-inokulacji antagonistycznymi grzybami *Trichoderma* na zasiedlenie roślin grochu siewnego (*Pisum sativum* L.) przez patogeniczne izolaty *Fusarium*  
Karolina Wilman, Łukasz Stępień, Lidia Błaszczyk, Judyta Strakowska, Piotr Kachlicki
42. Zastosowanie antagonistycznego grzyba *Trichoderma* w integrowanej ochronie marchwi przed alternariozą  
Agnieszka Włodarek, Jan Sobolewski, Kazimierz Felczyński, Danuta Witkowska, Michał Piegza, Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Magdalena Szczech
43. Analiza wpływu preparatu mikrobiologicznego na parametry enzymatyczne torfu i cechy morfologiczne aksamitki rozpierzchłej  
Agnieszka Wolna-Maruwka, Anita Schroeter-Zakrzewska, Agnieszka Mocek-Płóciniak, Justyna Starzyk, Alicja Niewiadomska, Dorota Swędrzyńska, Donata Kosicka, Agnieszka Pilarska
44. Możliwości zastosowania kompostów z poużytkowych tworzyw drzewnych z dodatkiem szczepionek mikrobiologicznych w uprawie chryzantemy wielkokwiatowej (*Chrysanthemum x grandiflorum* Ramat./Kitam.)  
Hanna Wróblewska, Anita Schroeter-Zakrzewska, Piotr Zakrzewski
45. Wpływ szczepów *Trichoderma* i metod ich aplikacji na jakość sensoryczną świeżych i przechowywanych korzeni marchwi  
Anna Wrzodak, Kazimierz Felczyński, Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Magdalena Szczech
46. Wpływ antagonistycznych bakterii *Pseudomonas* sp. na porażenie fasoli przez mikroorganizmy chorobotwórcze  
Mieczysław Żurek



# REFERATY



## **TRICHODERMA W UPRAWIE ROŚLIN Z ZAGOSPODAROWANIU ODPADÓW ORGANICZNYCH – BADANIA I REZULTATY PROJEKTU**

Magdalena Szczech

Instytut Ogrodnictwa  
magdalena.szczech@inhort.pl

Od 2010 r. realizowany jest projekt badawczy, którego celem jest opracowanie preparatów z grzybami *Trichoderma*, które będą stosowane do poprawy wzrostu i zdrowotności roślin warzywnych w uprawach integrowanych, a także ekologicznych. Jako nośniki dla *Trichoderma* są wykorzystywane różnego rodzaju odpady i materiały organiczne.

W pierwszym etapie badań prowadzono selekcję szczepów *Trichoderma* pod kątem efektywności ich działania w uprawie warzyw. Jednocześnie komponowano skład nośników organicznych do namnażania tych grzybów, do aplikacji doglebowych oraz technologie produkcji zarodników konidialnych, które można zastosować m.in. jako zaprawy nasienne do oprysków itp. Przeprowadzono szczegółowe analizy molekularne badanych szczepów *Trichoderma* w celu potwierdzenia ich przynależności gatunkowej, a także opracowywano metody monitoringu tych mikroorganizmów w środowisku. Badano różne właściwości grzybów *Trichoderma* m.in. zdolności do indukcji odporności w roślinach oraz aktywność produkowanych przez nie enzymów. Wiele uwagi poświęcono możliwości zastosowania *Trichoderma* do ograniczania rozwoju patogenów w glebie.

Do tej pory wytworzono szereg prototypowych preparatów, których działanie sprawdzano w doświadczeniach polowych i szklarniowych w Instytucie Ogrodnictwa oraz u producentów ogrodniczych. Stosowano różne metody aplikacji dobierając izolaty *Trichoderma* w zależności od ich cech, gatunku rośliny i warunków uprawy. W czasie uprawy oceniano wpływ zastosowanych preparatów na parametry wzrostu roślin, stan ich odżywienia oraz stopień porażenia przez patogeny. Określano także zawartości składników mineralnych w glebie oraz zagęszczenie grzybów *Trichoderma* w podłożu, ryzosferze i fyllosferze roślin. W trakcie zbiorów zwracano uwagę na wielkość, ale przede wszystkim na jakość uzyskanych plonów. Oceniano strukturę plonu pod kątem udziału plonu handlowego i zdrowotności zebranych części roślin. Wykonano szereg badań dotyczących oceny jakości pozbiorniczej i przechowalniczej warzyw z upraw traktowanych *Trichoderma*. Zebrane rośliny poddawano analizom biochemicznym, chemicznym i sensorycznym, aby ocenić ich jakość konsumpcyjną.

Stwierdzono, że aplikacja grzybów *Trichoderma* przyspiesza rozwój roślin, skracając ich okres wegetacji oraz stymuluje dojrzewanie owoców. W wielu przypadkach zastosowane preparaty poprawiały strukturę plonów zwiększając udział frakcji handlowej, poprzez lepsze formowanie owoców (papryka), bulw (ziemniaki), korzeni (marchew) czy główek (sałata). Cechy jakościowe tych roślin nie ulegały pogorszeniu, a nawet stwierdzono korzystne zmiany np. wzrost zawartości likopenu w owocach pomidorów lub witaminy C w sałacie. Obserwowano również ochronne działanie *Trichoderma*: ograniczenie zarazy na ziemniakach i mączniaka na ogórkach, zmniejszenie nasilenia alternariozy na liściach marchwi. Jednak w niektórych przypadkach preparaty działały również niekorzystnie: doglebowe stosowanie nośników organicznych zmniejszyło kiełkowanie nasion, a u roślin korzeniowych (marchew, pietruszka, rzodkiewka) następował bardziej intensywny rozrost korzeni.

W projekcie, oprócz opracowywania technologii zastosowania *Trichoderma* w uprawie roślin, wykorzystywano również te grzyby do utylizacji rolniczych odpadów organicznych w procesach kompostowania oraz wytwarzania biogazu. Wyselekcjonowane szczepy *Trichoderma* dodawano do

kompostowanych materiałów organicznych w celu przyspieszenia procesów ich rozkładu, ale także w celu wprowadzenia do kompostów mikroorganizmów korzystnych dla wzrostu roślin. Szczepione komposty dodawano do gleby w uprawach polowych kilku roślin warzywnych. Działanie tych kompostów porównywano do rezultatów uzyskiwanych po zastosowaniu obornika oraz nawozów mineralnych. W zależności od gatunku uprawianej rośliny oraz rodzaju kompostu uzyskiwano różne wyniki. Generalnie jednak szczepione komposty wpływały korzystnie na wzrost roślin. Bardzo dobre rezultaty uzyskano stosując *Trichoderma* w produkcji biogazu. Grzyby te w sposób istotny zwiększały efektywność procesu wytwarzania metanu.

Rezultatem projektu jest wyselekcjonowanie kilku efektywnych szczepów grzybów z rodzaju *Trichoderma*, których działanie zostało potwierdzone w warunkach polowych. Opracowano kilka technologii zastosowania tych grzybów w produkcji rolniczej. Użycie materiałów organicznych, głównie odpadowych, do produkcji preparatów oraz namnażania grzybów daje nowe możliwości wtórnego ich zagospodarowania. Natomiast zastosowanie *Trichoderma* w wytwarzaniu kompostów może zintensyfikować zastosowanie tych produktów w rolnictwie.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## WYBRANE SZCZEPY *TRICHODERMA* JAKO INDUKTORY WZROSTU I REAKCJI OBRONNYCH OGÓRKA (*CUCUMIS SATIVUS* L.) I POMIDORA (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) NA *RHIZOCTONIA SOLANI*

Justyna Nawrocka<sup>1</sup>, Magdalena Szczech<sup>2</sup>, Katarzyna Jas<sup>1</sup>, Kamil Jarosiński<sup>1</sup>, Urszula Małolepsza<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Uniwersytet Łódzki, <sup>2</sup>Instytut Ogródnictwa, Skierniewice; nawrocka.justyna88@gmail.com

Grzyby *Trichoderma* znane są jako mikroorganizmy wspomagające wzrost i zdrowotność roślin. Zdolność *Trichoderma* do indukowania naturalnych mechanizmów obronnych i odporności roślin na choroby wywoływane przez fitopatogeny stanowi obiekt wielu badań, jednak biochemiczne podłoże odporności indukowanej jest zagadnieniem ciągle budzącym wiele kontrowersji.

Wyniki przeprowadzonych badań pozwoliły na wyłonienie szczepów *Trichoderma*: *T. atroviride* TRS25 oraz *T. virens* TRS106 pozytywnie wpływających na wzrost roślin ogórka (*Cucumis sativus* L.) cv. Iwa F1 i pomidora (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Remiz F1 uprawianych w komorach wegetacyjnych, oraz aktywujących biochemiczne wskaźniki reakcji obronnych i ograniczających porażanie roślin przez nekrotroficzny patogen *Rhizoctonia solani*.

Wyniki badań wykazały korzystny wpływ *Trichoderma* na przyrost świeżej masy pędów oraz suchej masy korzeni roślin. Szczep TRS25 oddziaływał lepiej na wzrost roślin ogórka, natomiast szczep TRS106 był bardziej skuteczny w stymulacji wzrostu roślin pomidora. Oba szczepy, a szczególnie TRS25, ograniczały porażanie korzeni ogórka i pomidora przez *R. solani*. W roślinach rosnących w podłożu zawierającym zarodniki *Trichoderma*, u których rozwój symptomów chorobowych wywoływanych przez *R. solani* był zahamowany, obserwowano systemiczne zmiany biochemicznych markerów rozwoju reakcji obronnych i odporności. W roślinach traktowanych TRS25 lub TRS106 obserwowano tendencję do kumulacji nadtlenu wodoru, której towarzyszyła obniżona aktywność peroksydazy askorbinianowej, jednego z głównych enzymów antyoksydacyjnych. Równolegle w roślinach nieinokulowanych oraz inokulowanych *R. solani*, rosnących w podłożu z zarodnikami TRS25 lub TRS106, odnotowano spadek stężenia nadtlenków lipidowych, świadczący o zmniejszonym stopniu destrukcji błon komórkowych oraz wzrost aktywności peroksydazy syringaldazynowej, enzymu zaangażowanego w proces wzmacniania ścian komórek roślinnych. Zaobserwowano istotne zmiany w stężeniu związków fenolowych, metabolitów o znaczącej roli w bezpośredniej oraz pośredniej ochronie roślin. Wzrost stężenia fenoli skorelowany był ze wzrostem aktywności głównego enzymu zaangażowanego w ich syntezę tj. amoniakolizazy-l-fenylalaniny. Analiza stężeń fenoli wykazała w roślinach ogórka traktowanych TRS25 wzrost stężenia *ortodihydroksyfenoli* oraz fenylopropanoidów, z kolei traktowanie roślin ogórka szczepem TRS106 powodowało istotny wzrost stężenia flawonoidów oraz antocyjanin. W roślinach pomidora wzrost stężenia *ortodihydroksyfenoli* oraz flawonoidów towarzyszył traktowaniu roślin szczepem TRS25, natomiast wzrost stężenia antocyjanin był indukowany obecnością TRS106 w podłożu hodowlanym. Kumulacja fenoli w roślinach ogórka hodowanych na podłożach zawierających zarodniki TRS25 lub TRS106 może świadczyć o zaangażowaniu tych związków w formowanie barier chroniących tkanki roślinne przed patogenem. Uzyskane wyniki wskazują, że obserwowane zmiany mogą być ważnym elementem systemu obronnego roślin pomidora i ogórka indukowanego przez szczepy *Trichoderma*.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## LAMINARYNAZY JAKO CZYNNIK WARUNKUJĄCY ZDOLNOŚCI NADPASOŻYTNICZE I POTENCJAŁ W BIOLOGICZNEJ OCHRONIE ROŚLIN U GRZYBÓW Z RODZAJU *TRICHODERMA*

Judyta Strakowska, Lidia Błaszczyk, Jerzy Chełkowski

Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań

[jstr@igr.poznan.pl](mailto:jstr@igr.poznan.pl)

Laminarynazy ( $\beta$ -1,3-glukanazy) obok chitynaz pełnią istotną rolę w degradacji biopolimerów ścian komórkowych grzybów patogenicznych. Szczepy *Trichoderma harzianum* potrafią produkować od 1 do 7 typów laminarynaz. Enzymy te wykazują podczas reakcji nadpasożytnictwa, synergistyczne działanie razem z peptaibolami - peptydowymi antybiotykami.  $\beta$ -1,3-glukanazy dodatkowo mogą potęgować działanie paptaiboli.

Materiał badawczy stanowił zestaw 186 izolatów grzybów z rodzaju *Trichoderma* pochodzących z różnych regionów Polski, głównie z próchniejącego drewna zebranego w lasach i parkach. Badane izolaty reprezentują 18 gatunków: *T. aggressivum*, *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. citrinoviride*, *T. gamsii*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. koningiopsis*, *T. longibrachiatum*, *T. longipile*, *T. minutispora*, *T. oblongisporum*, *T. pseudokoningii*, *T. virens*, *T. viride* oraz *T. viridescens*.

Aktywność glukanolityczną mierzono spektrofotometrycznie przy długości fali 530 nm. W reakcji enzymatycznej użyto kwasu 3,5-dinitrosalicylowego (DNS) oraz jako substratu laminaryny z *Laminaria digitata* (Sigma Aldrich).

Izolaty cechujące się najwyższą aktywnością glukanolityczną wytypowano do testów antagonistycznych. Były to izolaty należące do następujących gatunków: *T. atroviride* (AN 240), *T. cremeum* (AN 392), *T. gamsii* (AN 385), *T. koningiopsis* (AN 251), *T. viride* (AN 379), oraz *T. viridescens* (AN 323, AN 334, AN 351, AN 405, AN 416).

Testy antagonistyczne prowadzono w bikulturach na podłożu stałym PDA. Izolat patogeniczny stanowił KF 846, należący do gatunku *Fusarium culmorum*. Największy potencjał antagonistyczny wykazały 3 izolaty: AN 240 (*T. atroviride*), AN 351 (*T. viridescens*) i AN 385 (*T. gamsii*).



## CHARAKTERYSTYKA MOLEKULARNA I BIOCHEMICZNA GRZYBÓW *TRICHODERMA* WYIZOLOWANYCH Z RÓŻNYCH BIOTOPÓW W POLSCE

Lidia Błaszczuk<sup>1</sup>, Jerzy Chełkowski<sup>1</sup>, Karolina Gromadzka<sup>2</sup>, Henryk Jeleń<sup>2</sup>, Joanna Kaczmarek<sup>1</sup>,  
Leszek Lenc<sup>3</sup>, Delfina Popiel<sup>1</sup>, Marek Siwulski<sup>2</sup>, Krzysztof Sobieralski<sup>2</sup>, Łukasz Stępień<sup>1</sup>,  
Judyta Strakowska<sup>1</sup>, Agnieszka Waśkiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

<sup>3</sup>Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. J.J. Śniadeckich w Bydgoszczy  
lgol@igr.poznan.pl

Celem prezentowanych badań było wyselekcjonowanie szczepów *Trichoderma*, o stwierdzonych zdolnościach do nadpasożytnictwa i antybiozy względem grzybów z rodzaju *Fusarium*, jako potencjalnych czynników kontroli biologicznej tych patogenów, a także zdolnych do stymulacji wzrostu i rozwoju roślin.

Materiał do badań stanowiła kolekcja ponad 500 izolatów *Trichoderma* pochodzących z gleby leśnej i ogrodowej, nasion zbóż, podłoża do uprawy pieczarek i boczniaka oraz z drewna z objawami korozji, zebranego w lasach i parkach Polski. W badaniach wykorzystano także izolaty *Fusarium*, pochodzące z kolekcji własnej IGR PAN. Izolaty te zidentyfikowano pod względem gatunkowym na podstawie morfologii i za pomocą markerów sekwencyjnych oraz określono ich zróżnicowanie genetyczne na podstawie analiz RAPD i analiz wybranych sekwencji DNA. Podjęto również próbę opracowania markerów gatunkowo-specyficznych typu PCR w celu identyfikacji gatunków grzybów *Trichoderma* wyizolowanych ze środowiska lub identyfikacji wyselekcjonowanych już szczepów.

Dotychczasowe badania pozwoliły na określenie potencjału antagonistycznego izolatów *Trichoderma* względem różnych gatunków *Fusarium* i selekcję korzystnych szczepów. W tym celu dokonano oceny inhibicyjnego wpływu wybranych izolatów *Trichoderma* na wzrost i rozwój izolatów *Fusarium* na podłożach laboratoryjnych (w bikulturach na pożywkach PDA), analizy zdolności izolatów *Trichoderma* do inhibicji biosyntezy mikotoksyn fuzaryjnych w bikulturach na ryżu oraz rozkładu mikotoksyn fuzaryjnych i identyfikacji genów potencjalnie związanych z mechanizmami biotransformacji tych toksyn. Ponadto wykonano modelowe badania nad ochronnym wpływem izolatów *Trichoderma* przed fuzariozą kłosów i akumulacją mykotoksyn w ziarniakach u pszenicy ozimej oraz w glebie zebranej z poletek po żniwach. W ramach prowadzonych badań poznany został również profil metabolitów lotnych tworzonych w kulturach izolatów *Trichoderma*, w tym metabolitów mających zarówno właściwości hamujące rozwój grzybów patogenicznych jak i stymulujące odporność i wzrost roślin. Ponadto wszystkie izolaty *Trichoderma* zostały scharakteryzowane pod względem syntezy wybranych enzymów litycznych, zaangażowanych w procesy nadpasożytnictwa.

## AKTYWNOŚĆ SZLAKU MEWALONOWEGO A WŁAŚCIWOŚCI BIOKONTROLNE *TRICHODERMA ATROVIRIDE*

Joanna S. Kruszewska

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa  
jsk@ibb.waw.pl

*T. atroviride* posiada naturalne właściwości przeciwgrzybowe. Właściwości te są związane z aktywnością wydzielanych enzymów hydrolitycznych oraz metabolitów wtórnych. W szlaku mewalonowym syntetyzowane są związki o bezpośrednim działaniu przeciwgrzybowym jak antybiotyki, substancje lotne czy terpeny. Syntetyzowany jest również lipidowy nośnik reszt cukrowych fosforan dolicholu, którego ilość wpływa na intensywność glikozylacji enzymów hydrolitycznych wydzielanych przez *Trichoderma*, a także na ich aktywność. W naszych badaniach zwiększyliśmy aktywność szlaku mewalonowego w kierunku zwiększenia produkcji związków przeciwgrzybowych oraz fosforanu dolicholu. Podwyższeniu uległa aktywność syntazy pirofosforanu farnezyli, zaobserwowaliśmy zwiększoną aktywność enzymów związanych z procesami glikozylacji a w następstwie hiperglikozylację wydzielanych hydrolaz przez szczepy modyfikowane. Aktywność celulaz i glukozaminidazy podniosła się nawet dwukrotnie. Metabolity wtórne wydzielane do podłoża wraz z hydrolazami nawet około 2 razy silniej hamowały wzrost patogena roślin *Pythium ultimum*. Związki lotne między innymi alfa-pyron wydzielane przez szczepy zmodyfikowane o 41% silniej hamowały wzrost *Rhizoctonia solani* niż związki wydzielane przez szczep wyjściowy. Stwierdziliśmy również, że nasiona zakażone *Pythium ultimum* i ochraniane szczepami modyfikowanymi mogą kiełkować nawet w ponad 80% a chronione szczepem kontrolnym tylko w 43%, podczas gdy nasiona całkowicie pozbawione ochrony kiełkowały tylko w 30%. Szczepy modyfikowane stymulowały także w znaczący sposób wzrost roślin w porównaniu do szczepu wyjściowego.

Reasumując, otrzymane szczepy posiadają znacząco zwiększoną aktywność grzybostatyczną i biokontrolną. Aktywność ta jest związana z synergistycznym działaniem enzymów hydrolitycznych i związków przeciwgrzybowych produkowanych intensywniej przez szczepy zmodyfikowane.

## AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA SZCZEPU *TRICHODERMA HARZIANUM* SK75 W BIOPREPARATACH UTRWALONYCH W PROCESIE SUSZENIA FONTANOWEGO I LIOFILIZACJI

Anna Kancelista<sup>1</sup>, Danuta Witkowska<sup>1</sup>, Regina Stempniewicz<sup>1</sup>, Wojciech Łaba<sup>1</sup>, Marta Paślawska<sup>1</sup>,  
Michał Piegza<sup>1</sup>, Aleksandra Wilczak<sup>1</sup>, Monika Grzegorzczak<sup>1</sup>, Magdalena Szczech<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

<sup>2</sup>Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

anna.kancelista@up.wroc.pl

Mikrobiologiczne czynniki biokontroli wykorzystywane w produkcji biopreparatów znajdujących zastosowanie w ochronie roślin powinny charakteryzować się szeregiem specyficznych cech, a jedną z nich jest wysoka aktywność biologiczna gwarantująca ich efektywne działanie. W związku z powyższym, celem badań było otrzymanie biopreparatu na bazie szczepu *Trichoderma harzianum* SK75, a następnie określenie przydatności wybranego czynnika biokontroli oraz warunków produkcji biopreparatu poprzez ocenę jego przeżywalności i aktywności enzymatycznej.

W produkcji biomasy szczepu *Trichoderma harzianum* SK75 metodą solid state fermentation (SSF) wykorzystano dwa podłoża ligninocelulozowe – słomę pszenną (SŁP) oraz podłoże trójskładnikowe WOW skomponowane z wysłodków buraczanych, otrąb pszennych oraz wycieków jabłkowych w równoważnych ilościach. Otrzymaną na nośniku ligninocelulozowym biomasę po hodowli SSF utrwalono w procesie suszenia fontannowego w temperaturze 60°C oraz w procesie liofilizacji z wykorzystaniem maltodekstryny jako czynnika osłonowego. Otrzymane suszone oraz liofilizowane biopreparaty przechowywano w warunkach próżniowych przez okres 12 miesięcy. W przeprowadzonych badaniach określono wpływ sposobu utrwalania biomasy oraz czasu przechowywania biopreparatów (3, 6 i 12 miesięcy) na żywotność szczepu SK75 metodą płytkową Kocha. Ponadto zbadano także zdolność szczepu *T. harzianum* SK75 do biosyntezy wybranych enzymów hydrolitycznych bezpośrednio po hodowli SSF oraz w czasie przechowywania biopreparatów (3 i 12 miesięcy).

Oba zastosowane podłoża ligninocelulozowe stanowiły dobre środowisko hodowlane do namnożenia biomasy badanego szczepu - w obu przypadkach wykazano wzrost plonu biomasy, o około 3 rzędy logarytmiczne, sięgający poziomu  $10^9$  jtk/g sm po 10-dobowej hodowli w podłożu stałym. Po procesie utrwalania badany czynnik biokontroli zachował wysoką przeżywalność w zakresie 64,92%-100,00% oraz 78,98%-100,00%, odpowiednio w procesie suszenia fontannowego i suszenia sublimacyjnego w zależności od zastosowanego nośnika oraz obecności lub braku środka osłonowego (w przypadku liofilizacji). Poza właściwościami determinującymi zachowanie wysokiej żywotności bezpośrednio po procesie utrwalania, o efektywności biopreparatu decyduje także zdolność do zachowania wysokiej liczby żywych konidiów szczepu w czasie jego przechowywania. Przeprowadzone badania wykazały znaczne różnice w żywotności SK75 podczas przechowywania, które uwarunkowane były przede wszystkim zastosowaną metodą utrwalania. Po 12 miesiącach przechowywania szczep SK75 w suszonych biopreparatach charakteryzował się przeżywalnością w zakresie 5,4-6,7%, co odpowiadało plonowi biomasy rzędu  $10^8$  jtk/g sm, natomiast w liofilizatach liczba żywych konidiów uległa znacznemu ograniczeniu do poziomu  $10^3$  jtk/g sm. Wykazano także, że badany szczep charakteryzował się zdolnością do biosyntezy enzymów. Po 10-dobowej hodowli odnotowano najwyższe wartości aktywności enzymatycznych w podłożu trójskładnikowym, które było lepszym induktorem badanych enzymów niż podłoże jednoskładnikowe, w tym celulaz (7,67 U/g), ksylanaz (32,31 U/g podłoża) i poligalakturonaz

(20,00 U/g podłoża). Szczep SK75 utrwalony w procesie suszenia fontannowego po 12 miesiącach przechowywania nadal charakteryzował się zdolnością do biosyntezy enzymów, niezależnie od zastosowanego nośnika w biopreparacie oraz podłoża hodowlanego.

Reasumując uzyskane wyniki stwierdzono, że badany szczep *T. harzianum* SK75 charakteryzuje się wysoką aktywnością biologiczną po procesie utrwalania oraz zachowaniem wysokiej żywotności i zdolności do biosyntezy enzymów w biopreparacie utrwalonym w procesie suszenia fontannowego, co umożliwi jego zastosowanie jako potencjalnego czynnika biokontroli w produkcji nowych biopreparatów znajdujących przeznaczenie w ochronie roślin.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## SKUTECZNOŚĆ MIESZANYCH SZCZEPIONEK (RIZOBIA+AZOTOBACTER) W STYMULOWANIU PŁONÓW ROŚLIN STRĄCZKOWYCH

Stefan Martyniuk

Zakład Mikrobiologii Rolniczej, IUNG-PIB Puławy

[sm@iung.pulawy.pl](mailto:sm@iung.pulawy.pl)

Słowa kluczowe: Azotobacter, rizobia, wiązanie azotu, rośliny strączkowe

Badania przeprowadzone w różnych krajach wykazały, że stosowanie szczepionek zawierających bakterie symbiotyczne (rizobia) roślin motylkowatych (bobowatych) daje bardzo pozytywne efekty, czyli istotne przyrosty plonów nasion, w przypadku uprawy tych roślin na glebach zasiedlonych przez małe populacje wymienionych bakterii lub nie zawierających ich w ogóle, natomiast stosowanie szczepionek rizobiowych w przypadku upraw strączkowych i innych motylkowatych na glebach zasiedlonych przez duże populacje bakterii symbiotycznych nie przyczynia się na ogół do istotnych przyrostów plonów nasion omawianych roślin. W związku z powyższym poszukiwane są sposoby lub metody zwiększenia efektywności aplikacji preparatów rizobiowych w agrotechnice roślin bobowatych, zwłaszcza wtedy gdy uprawiane są one na glebach bogatych w bakterie symbiotyczne. Możliwości w tym zakresie są różnorakie i dotyczą one takich zagadnień jak: - selekcja i stosowanie w szczepionkach szczepów rizobiów odznaczających się wysoką aktywnością we wiązaniu azotu atmosferycznego lub wysoką konkurencyjnością w stosunku naturalnych szczepów tych bakterii, - modyfikacja metod aplikacji preparatów szczepionkowych, np. poprzez zwiększenie przyczepności szczepionek do nasion, - lub stosowanie szczepionek mieszanych, czyli zawierających także inne pożyteczne bakterie glebowe, np. z rodzajów *Azospirillum*, *Azotobacter* czy *Pseudomonas*. Bakterie należące do rodzaju *Azotobacter* charakteryzują się, podobnie jak rizobia, zdolnością do wiązania azotu atmosferycznego, ale przeprowadzają one ten proces jako mikroorganizmy wolno żyjące w glebie, czyli bez symbiozy z korzeniami roślin. Liczne badania wykazały ponadto, że bakterie z rodzaju *Azotobacter* wytwarzają różnego rodzaju substancje biologicznie aktywne (witaminy, hormony wzrostu roślin) i z tego względu mogą mieć korzystny wpływ na wzrost i plonowanie roślin. Badania innych autorów wykazały ponadto, że szczepionki mieszane zawierające bakterie symbiotyczne niektórych roślin bobowatych oraz bakterie z rodzaju *Azotobacter* wykazywały korzystniejszy wpływ na brodawkowanie i plonowanie badanych roślin niż szczepionki składające się tylko z bakterii symbiotycznych. Badania te przeprowadzone były jednak tylko w doświadczeniach wazonowych z jałowymi podłożami do wzrostu roślin takimi jak perlit lub z glebami sterylizowanymi, czyli były to badania tylko w niewielkim stopniu odzwierciedlające warunki panujące w glebach uprawnych.

Nasze badania przeprowadzone w warunkach polowych (poletkowych) wykazały, że mieszane szczepionki bakterii symbiotycznych z *Azotobacter chroococcum* zastosowane przedsięwzięcie na nasiona nie były efektywniejsze w stymulowaniu brodawkowania i plonów nasion badanych roślin strączkowych (łubin, groch, soja) od szczepionek zawierających tylko bakterie symbiotyczne, niezależnie od tego, czy gleba zasiedlona jest przez duże populacje rizobiów (jak w przypadku łubinu), czy gdy populacje tych bakterii były bardzo małe (jak w przypadku soi). Doglebowa aplikacja szczepionki bakterii symbiotycznych była skuteczniejsza w stymulowaniu brodawkowania i plonów nasion niż otoczkowanie nasion tymi szczepionkami, zwłaszcza w przypadku soi uprawianej na glebie zasiedlonej przez małe populacje bakterii symbiotycznych tej rośliny.

## ZAWARTOŚĆ BIOMASY ŻYWYCH MIKROORGANIZMÓW ORAZ ICH LICZEBNOŚĆ W GLEBIE OGRODNICZEJ WZBOGACONEJ BIOPREPARATEM

Ilona Wrońska, Mirosław Onyszko, Krystyna Cybulska,  
Arkadiusz Telesiński, SanaaMahdi-Oraibi

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
ilona.wronska@zut.edu.pl

Stosowanie środków ochrony roślin oraz intensywna uprawa wpływają niekorzystnie na mikroorganizmy gleby. Przejawia się to zmianą liczebności poszczególnych grup mikroorganizmów zasiedlających glebę, czego efektem jest zaburzona równowaga biologiczna. Odpowiedzią na zmiany zachodzące w środowisku glebowym, może być stosowanie biopreparatów, zawierających aktywne szczepy drobnoustrojów. Wprowadzenie ich do gleby daje ciąg pozytywnych rezultatów sprzyjających podniesieniu jej żyzności i zdrowotności, a co za tym idzie również zachowaniu jej wysokiego potencjału plonotwórczego. Na rynku dostępny jest szeroki wachlarz biopreparatów wykorzystywanych zarówno w praktyce rolniczej, jak i ogrodniczej.

W badaniu określono liczebność podstawowych i fizjologicznych grup drobnoustrojów oraz zawartości biomasy żywych mikroorganizmów w wybranych podłożach ogrodniczych. Analizowano 2 podłoża, których bazą był słabo i silnie rozłożony torf wysoki. Próbą badaną było podłoże warzywno-kwiatowe wzbogacone w mikroorganizmy, którego producentem jest Evolution Group (Evolution Trade sp. z o. o., ul. Piotrowska 278, 90-361 Łódź). Producent nie podaje informacji nt. składu jakościowego i ilościowego zastosowanych mikroorganizmów. Próbę kontrolną stanowił substrat do produkcji roślin ogrodniczych marki Hollas (ul. 3 Maja 30, 14-400 Pasłęk). W przeciwieństwie do próby badanej podłoże to nie zawierało dodatku preparatu mikrobiologicznego. Zawartość materii organicznej rozumianej jako straty na wyżarzaniu w temperaturze 550°C dla podłoża wzbogaconego wynosiła 79,29%, a dla podłoża kontrolnego 77,59%. Z kolei odczyn (w 1 M KCl) wyniósł odpowiednio 6,33 i 5,50.

Analiza liczebności drobnoustrojów została wykonana metodą płytkową posiewu rozcieńczeń glebowych, wykorzystując selektywne podłoża mikrobiologiczne. Oznaczono biomasę żywych drobnoustrojów według metodyki opracowanej przez Andersona i Domscha z wykorzystaniem analizatora Ultragas U4S.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że wprowadzenie do podłoża preparatu biologicznego przyczyniło się do zwiększenia liczebności analizowanych grup drobnoustrojów, za wyjątkiem grzybów. Podłoże wzbogacone biopreparatem cechowało się dużą liczebnością bakterii i drobnoustrojów lipolitycznych, a niewielką liczebnością promieniowców i drobnoustrojów proteolitycznych. Zawartość biomasy żywych mikroorganizmów w glebie wzbogaconej wyniosła 1647,5 mg C · 100 g<sup>-1</sup>, natomiast w glebie kontrolnej była ponad 2-krotnie mniejsza.

## OKREŚLENIE ZDOLNOŚCI BAKTERII ENDOFITYCZNYCH DO KOLONIZACJI RYZOSFERY ZBÓŻ

Anna Gałązka, Maria Król, Jerzy Żuchowski, Andrzej Perzyński

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach  
agalazka@iung.pulawy.pl

Celem badań było określenie zależności pomiędzy odpornością na biologiczne działanie kwasów fenolowych u różnych szczepów z rodzaju *Azospirillum* spp. a efektywnością kolonizacji ryzosfery zbóż oraz wpływu tych szczepów na aktywność mechanizmów odpornościowych.

Określono zawartości kwasów fenolowych w ziarnie oraz w 30-dniowych siewkach zbóż: pszenicy ozimej (Tonacja, Bogatka, Satyna), jęczmienia ozimego (Laverola, Mertada i Merk), jęczmienia jarego (Rodos, Rambo, Start) oraz żyta ozimego (Stanko, Dańkowskie złote, Amilo), siewkach pszenicy ozimej (Tonacja, Bogatka, Satyna) i jęczmienia ozimego (Laverola, Mertada i Merk) rosnących na czarnoziemiu, rędzinie wapienne, glebie płowej oraz glebie brunatnej. Przeprowadzono także analogiczne oznaczenia zawartości kwasów fenolowych w siewkach zbóż w warunkach szczepienia roślin zawiesiną bakterii *Azospirillum* spp. (5 ml zawiesiny o gęstości  $1 \times 10^8$  jtk na 500 g gleby). Zawartość kwasów fenolowych w próbkach była oznaczana metodą LC-MS/MS. W wyniku przeprowadzonych analiz stwierdzono, iż badane ziarniaki zbóż charakteryzował zróżnicowany poziom zidentyfikowanych kwasów fenolowych, zależny od właściwości rodzajowych i odmianowych rośliny. Najwyższe zawartości kwasów fenolowych ( $\Sigma 8$  kwasów) stwierdzono w przypadku żyta ozimego odmiana Stanko (2040  $\mu\text{g/g}$ ), zaś najniższe w przypadku jęczmienia ozimego odmiana Metaxa (151  $\mu\text{g/g}$ ), przy czym w największej ilości występował kwas ferulowy i kwas p-kumarowy. Stwierdzono statystycznie istotny spadek zawartości kwasów fenolowych w ryzosferze roślin szczepionych zawiesiną bakterii z rodzaju *Azospirillum* spp., szczególnie widoczny w przypadku wzrostu roślin w czarnoziemiu i rędzinie wapiennej.

Badane szczepy bakterii wykorzystywały kwasy fenolowe jako jedyne źródło węgla w procesie wiązania azotu atmosferycznego. Stwierdzono, iż szczepy bakterii *Azospirillum* spp. charakteryzowały się wysoką aktywnością nitrogenazy podczas wzrostu w podłożach bezazotowych zawierających kwas kawowy, syringowy, p-kumarowy i ferulowy jako jedyne źródła węgla i energii. Najwyższe średnie wartości aktywności nitrogenazy szczepów bakterii *Azospirillum* spp., w czasie 168 godzin inkubacji, hodowanych w pożywkach bezazotowych z kwasami fenolowymi, jako jedynym źródłem węgla uzyskano w czasie 24 i 48 godzin inkubacji w przypadku kwasu ferulowego oraz w czasie 48 godzin w przypadku kwasu p-kumarowego. Najwyższą średnią aktywność nitrogenazy stwierdzono w przypadku szczepu 1/7 (364,87  $\text{nM C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1} \text{cm}^{-3}$  fazy gazowej), szczepu 12/6 (245,14  $\text{nM C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1} \text{cm}^{-3}$ ) oraz szczepu 4B (248,46  $\text{nM C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1} \text{cm}^{-3}$ ).

Szczepienie siewek zbóż mieszaniną bakterii z rodzaju *Azospirillum* spp. nie wpłynęło istotnie na spadek aktywności przeciwutleniającej badanych kwasów fenolowych. Stwierdzono jednak istotny wpływ szczepienia siewek zbóż na wzrost aktywności amoniakolizacji L-fenyloalaninowej (PAL) a tym samym na wzrost odporności systemicznej u roślin. Właściwości antyutleniające kwasów fenolowych zależały od czasu trwania reakcji oraz cech genotypowych odmiany rośliny. Ziarniaki zbóż o wyższej zawartości kwasów fenolowych wykazywały także wyższą aktywność antyoksydacyjną ekstraktów tych związków. Wyniki zawartości kwasów fenolowych w ziarnie badanych odmian korelowały z aktywnością antyutleniającą ich ekstraktów.

Szczepy bakterii z rodzaju *Azospirillum* aktywnie kolonizowały ryzosferę siewek zbóż w przypadku wszystkich badanych gleb, co potwierdzono zarówno ich liczebnością w ryzosferze zbóż po zakończonym doświadczeniu jak i badaniami molekularnymi. Na podstawie sekwencji genów 16S rRNA i genu *nifH* oznaczono filogenetyczne drzewo szczepów z rodzaju *Azospirillum* pokazujące wzajemne pokrewieństwo między tymi szczepami. W wyniku przeprowadzonych analiz ustalono podział badanych szczepów bakteryjnych na dwie grupy gatunkowe: grupa I - szczepy 1/7 i 12/6 (*Azospirillum brasilense*); Grupa II – szczepy 35Bb, 83B1, 77Bb1, 4B, 36S i 15/7 (*Azospirillum amazoense*).

Zdolność bakterii endofitycznych z rodzaju *Azospirillum* do wykorzystywania związków fenolowych w ryzosferze i zdolności do jej kolonizacji może przynieść w przyszłości możliwość wykorzystania tych szczepów w biologicznej ochronie roślin.



## MIKROORGANIZMY RYZOSFEROWE W PROCESIE WSPOMAGANIA FITOREMEDIACJI TERENÓW ZANIECZYSZCZONYCH METALAMI CIĘŻKIMI

Anna Grobelak, Anna Napor, Roksana Mosakowska

Politechnika Częstochowska  
agrobela@is.pcz.czest.pl

Pierwiastki takie jak: Cd, Zn czy Pb ze względu na swoją toksyczność stanowią poważne zagrożenie dla organizmów żywych, zarówno roślin jak i zwierząt. Ekonomiczną oraz powszechnie akceptowaną metodą remediacji gruntów jest fitoremediacja. Wykorzystuje ona naturalne zdolności roślin do wychwytywania i akumulacji metali ciężkich z gleby, jednak skuteczność tej metody może być ograniczona powolnym wzrostem biomasy roślin na silnie zanieczyszczonych glebach. Rozwiązaniem tego problemu może być zastosowanie bakterii PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) [1, 2].

Celem doświadczenia było zbadanie wpływu PGPR na promowanie wzrostu roślin i poprawę efektywności procesu fitoremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi. W doświadczeniu wyizolowano bakterie PGPR z korzeni trzęślicy pospolitej rosnącej na glebie zanieczyszczonej metalami ciężkimi. Przeprowadzono testy biochemiczne: wytwarzanie hormonu IAA, przyswajanie azotu atmosferycznego, mineralizacja związków organicznych fosforu do rozpuszczalnych fosforanów, wytwarzanie sideroforów oraz produkcja ACC-deaminazy. Oceniono też zdolność wyizolowanych szczepów do hamowania wzrostu grzybów fitopatogenicznych [3]. Ostatecznie wybrano bakterie charakteryzujące się pożądanymi właściwościami. Efekt stymulacji wzrostu badano w warunkach kontrolowanych komory fitotronowej dla kostrzewy czerwonej (*Festuca rubra* L.) oraz rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.) w dwóch różnych kombinacjach skażonej gleb (glebie piaszczystej zawierającej wysokie stężenie metali ciężkich oraz glebie piaszczystej o niskich stężeniach metali).

Doświadczenie wykazało, że zaszczepienie roślin bakteriami PGPR ma stymulujący wpływ na przyrost biomasy roślin. Dla kostrzewy po zaszczepieniu bakterii w glebie mniej skażonej metalami nastąpiła stymulacja wzrostu wydłużeniowego korzenia oraz masy łodygi roślin, podczas gdy dla rzepaku nastąpiła wyłącznie stymulacja wzrostu wydłużeniowego korzeni. W glebie silnie zanieczyszczonej metalami w przypadku inokulacji kostrzewy nastąpiła silniejsza stymulacja przyrostu masy korzenia oraz wzrostu wydłużeniowego łodygi, podczas gdy dla rzepaku na tym podłożu zauważono większy przyrost tylko dla długości i masy łodygi.

Otrzymane wyniki wskazują, iż bakterie wybrane spośród izolatów PGPR, wykazujące określone cechy biochemiczne, mogą skutecznie promować wzrost roślin i poprawiać skuteczność fitoremediacji na glebach silnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi.

### Literatura:

1. Bhattacharyya P.N., Jha D.K., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J Microbiol Biotechnol.* 28:1327–1350.
2. Grobelak A., Napor A., Kacprzak A., 2014. The impact of plant growth promoting bacteria (PGPR) on the development of phytopathogenic fungi. *Acta Universitatis Lodzianae. Folia Biologica et Oecologica*, 107-112.
3. Napor A., Grobelak A., Kacprzak M., Placek A., 2014. Wpływ bakterii ryzosferowych na promowanie wzrostu rzepaku. *Nauka i Przemysł Lubelskie Spotkanie Studentów. UMCS*, 112-115.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/03/N/NZ9/02034.

## WYKORZYSTANIE SZCZEPU *PAENIBACILLUS POLYMYXA* DCF B/00052 W ZWALCZANIU CHOROÓB ROŚLIN

Danuta Czernomysy-Furowicz

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
[dfurowicz@wp.pl](mailto:dfurowicz@wp.pl)

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie możliwością zastosowania w ochronie roślin niepatogennych mikroorganizmów, izolowanych ze środowisk naturalnych. Szczególne znaczenie mają szczepy hamujące rozwój grzybów patogennych dla roślin, do których zaliczane są niektóre gatunki z rodzaju *Paenibacillus*.

Do rodzaju *Paenibacillus* zaliczane są przetrwalnikujące, ciepłoporne, Gram-dodatnie bakterie. Bakterie z tego rodzaju stanowią znaczący składnik środowiska przyrodniczego ze względu na: różnorodność wytwarzanych enzymów, zdolność do wiązania azotu, antagonistyczne działanie w stosunku do fitopatogennych bakterii. Do roku 2000 nie wyizolowano żadnego szczepu, który wykazywałby działanie przeciw grzybowe.

*Paenibacillus polymyxa* DCF B/00052 jest jedynym szczepem, który wykazuje nie tylko zdolność do hamowania dermatofitów, bakterii patogennych dla człowieka i zwierząt, ale także do tłumienia wielu chorób roślin oraz intensyfikacji ich wzrostu. Szczep ten produkuje peptydy antygrzybiczne w okresie wczesnej sporulacji, wykazuje również silne właściwości chitynolityczne. Posiada zdolność do inhibicji wzrostu m.in. *Leptosphaeria maculans*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum lagenarium*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*.

*Paenibacillus polymyxa* DCF B/00052 produkuje enzymy, które degradują celulozę, z tego względu jest wyjątkowo efektywnym mikroorganizmem rozkładającym resztki poźniwne, co ma istotne znaczenie przy ograniczonym nawożeniu organicznym pól uprawnych.

Szczep ten wytwarza biofilm wokół systemu korzeniowego roślin, stanowiący naturalną zaporę dla grzybów, bakterii i nicieni pasożytujących na korzeniach. Zwiększa plonowanie roślin gdyż syntetyzuje wolny azot i przekształca go w formy łatwo przyswajalne dla roślin, a także rozpuszcza kompleksy fosforu glebowego.

Szczep *P. polymyxa* DCF niszczy mszyce (*Aphidoidea*) oraz skrzypionkę zbożową (*Oulema melanopa*) w przeciągu 4-5 dni.

Chemiczne środki ochrony roślin ograniczają populacje autochtonicznych bakterii glebowych, które są naturalnymi antagonistami grzybów. Możliwość przejścia w endospory powoduje, że szczep wykazuje niewrażliwość na stosowane w rolnictwie desykyanty.

Obecnie duży nacisk kładzie się na poszukiwanie mikroorganizmów, które miałyby wpływ na poprawę warunków glebowych, przywrócenie równowagi biologicznej, ograniczałyby liczebność mikroorganizmów patogennych, a także wspomagały, bądź ograniczały stosowanie chemicznych środków ochrony roślin. Szczep *P. polymyxa* DCF jest jednym z niewielu mikroorganizmów wykazującym wszystkie te cechy, dlatego istnieje realna możliwość zastosowania go w rolnictwie, ogrodnictwie, leśnictwie, czy też kulturach *in vitro*.

Szczep *P. polymyxa* jest całkowicie bezpieczny dla ludzi, zwierząt i środowiska.

## WPLYW OCHRONY SADU PRZY UŻYCIU „EFEKTYWNYCH MIKROORGANIZMÓW” NA ZAWARTOŚĆ BIOAKTYWNYCH FITOZWIĄZKÓW W JABŁKACH

Agnieszka Bartoszek, Barbara Kusznierevicz, Dorota Martysiak-Żurowska, Anna Lewandowska, Kamila Klimaszewska, Michał Murawski, Monika Baranowska, Piotr Sójka

Politechnika Gdańska  
agnieszka.bartoszek@pg.gda.pl

W ostatnich latach obserwuje się malejące zaufanie konsumentów do żywności produkowanej metodami konwencjonalnymi, tj. przy zastosowaniu chemicznej ochrony i nawożenia roślin. Widocznym zjawiskiem jest wzrost zapotrzebowania na żywność ekologiczną oraz zmiana preferencji konsumentów z żywności suplementowanej na rzecz żywności wysokiej jakości o walorach prozdrowotnych. Jednakże produkty rolnictwa ekologicznego są znacząco droższe od tych pochodzących z uprawy konwencjonalnej. Proponowanym ostatnio podejściem pozwalającym obniżyć koszty upraw ekologicznych są efektywne mikroorganizmy (EM). Jest to specyficzna kombinacja pożytecznych mikroorganizmów występujących w warunkach naturalnych, opracowana poprzez Teruo Higa z Uniwersytetu Ryukyu na Okinawie w Japonii [Higa 1991]. W skład kompozycji wchodzi m.in. bakterie fotosyntezujące, promieniowce, bakterie kwasu mlekowego, drożdże czy też grzyby fermentujące koegzystujące w symbiozie i zabezpieczające rośliny w składniki odżywcze, a zarazem chroniące je przed fitofagami i patogenami. W naszych badaniach zainteresowaliśmy się wpływem tego typu ochrony na zawartość wtórnych metabolitów w chronionych uprawach, w tym przede wszystkim substancji uważanych za prozdrowotne. Obiektem badań były dwie odmiany jabłek (Żółta Oliwka i Early Geneva) pochodzące z okolic Grudziądza z sadów chronionych konwencjonalnie lub przy użyciu EM.

Zakres badań obejmował ocenę potencjału antyoksydacyjnego badanych jabłek, uzyskanie profili przeciwutleniaczy, oznaczenie składu i zawartości związków fenolowych, a także oznaczenie składu frakcji lipidowej skórki, miąższu i pestek. Porównano także potencjał antyoksydacyjny soków z jabłek pochodzących z sadu chronionego przy użyciu EM oraz dostępnych handlowo jabłek. We wszystkich testach wykazano znacząco wyższą zawartość przeciwutleniaczy w owocach pochodzących z sadu chronionego mikrobiologicznie. Wpływ ten na frakcję lipidową był natomiast nieznaczny. Obecnie dobiegają końca oznaczenia wybranych aktywności biologicznych.

Uzyskane wyniki wskazują, że zaletą stosowania technologii EM w rolnictwie nie jest tylko ograniczenie zużycia chemicznych nawozów i syntetycznych pestycydów, co było dotychczas podkreślane. Przynajmniej w przypadku jabłek uzyskuje się jednocześnie produkty żywnościowe o poprawionej jakości zdrowotnej także dzięki wyższej zawartości bioaktywnych fitozwiązków.

## WPLYW INKUBACJI SUBSTRATÓW BIOGAZOWYCH Z GRZYBAMI *TRICHODERMA* NA WYDAJNOŚĆ BIOGAZOWĄ

Andrzej Lewicki

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
alewicki@up.poznan.pl

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* posiadają wiele możliwych zastosowań w przemyśle. Większość z nich koncentruje się jednak na ich właściwościach polepszających jakość oraz wielkość plonu. W Pracowni Ekotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu przeprowadzone zostały badania wpływu zaszczerpienia substratu grzybami *Trichoderma* na jego rozkład w warunkach beztlenowych – fermentację metanową. Badania biogazowe bazowały na powszechnie uznanej niemieckiej normie DIN 38 414-S8 i prowadzone były w warunkach mezofilowych. Doświadczenia przeprowadzone na substratach: słomie kukurydzianej oraz liściach klonów wskazały, że dzięki 9-tygodniowej inkubacji substratów z wybranymi gatunkami grzyba *Trichoderma* możliwy jest wzrost wydajności biogazowej substratu nawet o 48,5%. Jest to pośredni sposób udowodnienia celulolitycznych właściwości tego grzyba, który dzięki wydzielonym w trakcie inkubacji enzymom, udostępnia część frakcji lignocelulozowej - niedostępnej podczas rozkładu beztlenowego, procesowi fermentacji metanowej.

Badania wykonano przy wsparciu projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## **PROCES KOMPOSTOWANIA ODPADÓW ORGANICZNYCH W SKALI PÓLTECHNICZNEJ**

Kamil Witaszek

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
witaszek@up.poznan.pl

Celem badań było zastosowanie, w procesie biologicznego przetwarzania odpadów organicznych, komór kompostowych w skali półtechnicznej. Miało to na celu zwiększenie ilości przekompostowanych odpadów takich jak: liście pomidora i łuski cebulowej w porównaniu z ilością wyprodukowanego kompostu w komorach w skali laboratoryjnej. Badania przeprowadzono w Pracowni Ekotechnologii w Instytucie Inżynierii Biosystemów na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu. Do badań kompostowych użyto bioreaktory zbudowane w Pracowni Ekotechnologii o objętości komory  $1 \text{ m}^3$  oraz o objętości  $3,97 \text{ m}^3$ . Proces kompostowania zarówno liści pomidorów jak i łuski cebulowej przebiegł prawidłowo osiągając temperatury powyżej  $70^\circ\text{C}$  (wyjątek stanowił proces kompostowania łuski cebulowej w bioreaktorze o objętości  $1 \text{ m}^3$ , w którym temperatura osiągnęła wartość  $60^\circ\text{C}$ ). Doświadczenie wykazało dużą wartość nawozową kompostów oraz ich zasobność w azot amonowy, bez istotnych różnic w zależności od objętości komory w bioreaktorze.

## COMPOSTING PROCESS OF AGRI-FOOD INDUSTRY WASTE ON A LABORATORY SCALE

Pablo Cesar Rodriguez Carmona

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

pablocesar1987@gmail.com

Biowaste composting is one of the most widely used technologies for biowaste management in European Union and consequently in Poland. Composting is a process based on the decomposition of the organic matter by aerobic microorganisms in an aerobic environment. Composting biowaste is a very effective way of management the different organic materials coming from the food industry. Therefore, the aim of this study is to analyze the efficiency and issues of composting agri-food industry waste, more precisely, the cabbage leaves with other agro-food waste as dry tomato leaves and onion husk. In order to achieve the aim, three isolated composting chambers of 180 dm<sup>3</sup> were used. Air was pumped from the bottom of the chambers with a 3 dm<sup>3</sup>/h flow. The load of the first chamber (K3) was: cabbage leaves, dry tomato leaves, cattle manure and cattle slurry. The input of the second chamber (K5) was: cabbage leaves, fermented pulp, cattle manure and maize straw. And the third chamber (K6) was loaded with cabbage leaves, onion husks and maize straw. After, 33 days of composting, the maximum registered temperatures were: 70,4 °C for K3, 76,3 °C for K5 and 70,5 °C for K6. Those temperatures are above the minimum required to destroy the pathogens (>70 °C for 1 hour or more time), and below the limits that could inhibit most microbial activity (>77 °C for a few hours), which means that the compost will be able to be used as a soil fertilizer. After those 33 days, it was necessary to start an aeration process of the compost because of the low temperature. Then, the composting process could run for 14 more days. After aeration, just in K5, the temperature went high enough to reactivate a suitable composting process, achieving almost 50 °C. Concerning to gas emission, it can be stated that the composting process of these substrates it is not an important air pollutant emitter. It just can be mentioned that in K3 there was a constantly emission of ammonia of around 100 ppm which is an acceptable limit. The emission of H<sub>2</sub>S was poor, so the odor was not annoying, although due to lack of instrumentation it was not possible to measure other typical composting odor compounds such as dimethyl disulfide, dimethyl sulfide and carbon disulfide. Concerning to greenhouse impact, it is important to mention that the higher amount of CH<sub>4</sub> emitted to the atmosphere was 0,2% for a few hours, in some other points of the composting process it was 0,1% and in the rest of the process it was 0%.

## **DODATKI BIOLOGICZNE W PROCESIE KOMPOSTOWANIA ODPADÓW ORGANICZNYCH**

Wojciech Czekala

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
wojciech@up.poznan.pl

Produkcja i przetwórstwo warzyw jest jednym z najważniejszych sektorów rolnictwa w Polsce, m.in. dzięki stosunkowo dobrze rozwiniętemu przemysłowi rolno-spożywczemu. Jak w każdym przemyśle, również i tutaj nieodzownym elementem procesów produkcyjnych jest powstawanie odpadów, charakteryzujących się specyficznymi właściwościami. Są to bowiem w głównej mierze odpady ulegające biodegradacji, z natury zasobne w materię organiczną. Ich największą zaletą jest stosunkowo łatwa podatność na rozkład w warunkach naturalnych pod wpływem mikroorganizmów. I właśnie ta cecha może okazać się istotna w procesie ich zagospodarowania.

W Polsce najpopularniejszą metodą utylizacji odpadów organicznych jest składowanie na ogół w miejscach do tego przeznaczonych. Według wymogów Unii Europejskiej składowanie winno być ostatecznością, a nie dominującą metodą zagospodarowania. Alternatywą dla tego typu rozwiązania może być odzysk R3 na drodze kompostowania - procesu naturalnego rozkładu materii organicznej pod wpływem mikroorganizmów, zachodzącego w warunkach tlenowych. W jego wyniku z odpadów organicznych powstaje kompost – wartościowy nawóz, pozbawiony patogenów, ale również zasobny w próchnicę oraz w makro- i mikroelementy.

Mając na uwadze potrzebę pozyskania bardziej wartościowego kompostu bądź przyśpieszenia przemian można zastosować do kompostowanej przyzmy różne dodatki biologiczne. Spośród nich można wymienić m.in. szczepionki mikrobiologiczne, enzymy, dżdżownice kalifornijskie lub różnego rodzaju preparaty. Rodzi się jednak pytanie: Czy na pewno tego typu dodatki korzystnie wpływają na proces kompostowania i jakość kompostu?

By odpowiedzieć na to pytanie należy dokonać porównania niektórych parametrów procesu kompostowania tych samych odpadów dla próby kontrolnej oraz tej z dodatkiem biologicznym. Z badań literaturowych oraz badań własnych Zespołu nie wynika jednoznacznie, że dodatki takie w sposób jednoznaczny wpływają stymulująco na rozkład tlenowy bioodpadów. Z tego względu przed ich zastosowaniem na szeroką skalę zaleca się przeprowadzenie dokładnych badań porównawczych.

Informacje przedstawione w referacie pochodzą z danych literaturowych oraz z badań laboratoryjnych Instytutu Inżynierii Biosystemów Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu i z badań terenowych na terenie kompostowni otwartej.

## ANALIZA LICZEBNOŚCI GRZYBÓW PLEŚNIOWYCH, ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM *TRICHODERMA* SP. ORAZ INTERAKCJE W KOMPOSTACH I W GLEBIE POD UPRAWĄ WYBRANYCH WARZYW

Agnieszka Wolna-Maruwka<sup>1</sup>, Katarzyna Głuchowska<sup>1</sup>, Tomasz Piechota<sup>1</sup>, Małgorzata Jędrzycka<sup>2</sup>, Jacek Dach<sup>1</sup>, Andrzej Lewicki<sup>1</sup>, Magdalena Szczech<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

[amaruwka@interia.pl](mailto:amaruwka@interia.pl)

<sup>2</sup>Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

<sup>3</sup>Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

Grzyby rodzaju *Trichoderma* wchodzi w skład preparatów mikrobiologicznych stosowanych w celu optymalizacji kompostowania odpadów pochodzenia roślinnego. Skuteczną degradację odpadów zawdzięcza się wytwarzaniu wielu enzymów takich jak celulazy, proteazy, fosfatazy, lipazy, ksylanazy oraz amylazy. Ponadto izolaty *Trichoderma* sp. wykorzystuje się w rolnictwie z uwagi na właściwości fitosanitarne, jak również indukowanie wzrostu i rozwoju roślin. Z tego względu, od lat prowadzi się liczne prace mające na celu wyodrębnienie, identyfikację, a następnie określenie właściwości izolatów należących do rodzaju *Trichoderma*.

W pierwszym etapie doświadczenia celem badań było monitorowanie liczebności grzybów pleśniowych oraz trzech, wybranych izolatów *Trichoderma* sp. (T1 - T3) w kompostowanych odpadach pochodzenia roślinnego. Prowadzono również analizę mikroskopową i genetyczną grzybów pleśniowych, wyizolowanych z kompostowanych odpadów po zakończeniu fazy termofilnej. Analizowano interakcje między tymi grzybami a zastosowanymi szczepami *Trichoderma* sp.

W kolejnym etapie doświadczeń zaszczepione grzybami *Trichoderma* komposty wprowadzono do gleby, na której uprawiano sałatę oraz buraki. W poszczególnych fazach rozwojowych roślin określano w glebie ogólną liczebność grzybów pleśniowych, w tym *Trichoderma* sp., *Alternaria* sp. i *Fusarium* sp.

Na podstawie uzyskanych wyników badań wykazano, że najwyższą liczebność grzybów pleśniowych w kompostowanych odpadach cebulowych odnotowano po wprowadzeniu izolatu T3. Z kolei najwyższy poziom liczebności omawianych mikroorganizmów w kompostowanych odpadach pomidorowych zaobserwowano po zastosowaniu szczepu T1. Monitorując poziom liczebności *Trichoderma* sp. w kompostowanych odpadach wykazano, że głównym czynnikiem istotnie statystycznie determinującym poziom liczebności wyżej wymienionych drobnoustrojów był termin analiz.

Na podstawie identyfikacji mikroskopowej, potwierdzonej analizą molekularną, wykazano, że wśród wyizolowanych szczepów grzybów dominowały gatunki *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Paecilomyces variotii*, *Acremonium strictum*, *Rhizopus nigricans*, *Rhodotorula* sp., *Mucor* sp., *Cephalosporium* sp. oraz *Penicillium* sp.

Stwierdzono, że zastosowane szczepy *Trichoderma* sp. w większości przypadków wykazywały antagonistyczne oddziaływania w stosunku do grzybów pleśniowych, z wyjątkiem niektórych szczepów *Penicillium* sp. wyizolowanych z kompostowanych odpadów po zakończeniu fazy termofilnej.

Liczba grzybów pleśniowych w glebie, w tym *Trichoderma* sp., *Alternaria* sp. i *Fusarium* sp. uzależniona była od rodzaju uprawianej rośliny, jak również od terminu pobierania próbek gleby. Wykazano, że najwyższy poziom liczebności *Trichoderma* sp. w glebie pod uprawą sałaty odnotowano w glebie nawożonej kompostem wyprodukowanym z odpadów pomidorowych,



zainokulowanych dwoma szczepami T1 i T2 oraz w obiektach nawożonych odpadami cebulowymi, które zaszczepiono izolatami T1. Z kolei najwyższą liczebność *Trichoderma* sp. w glebie pod uprawą buraków odnotowano w obiektach nawożonych odpadami cebulowymi, które zainokulowano szczepem T3 lub jednocześnie dwoma izolatami T1 i T3.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## WPLYW DODATKÓW MIKROBIOLOGICZNYCH NA EFEKT PLONOTWÓRCZY KOMPOSTÓW WYTWORZONYCH Z ODPADÓW WARZYWNYCH

Tomasz Piechota, Mariusz Kowalski, Agnieszka Wolna-Maruwka, Krzysztof Pilarski,  
Andrzej Lewicki, Damian Janczak, Wojciech Czeakała

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
tompiech@up.poznan.pl

Nawożenie jest jednym z najważniejszych czynników plonotwórczych. Nawozy organiczne są uznawane za szczególnie cenne, ze względu na korzystny wpływ na właściwości gleby, lecz ich bezpośredni efekt plonotwórczy jest zazwyczaj słabszy niż nawożenia mineralnego. Niedobór nawozów naturalnych skłania do sięgania po surowce odpadowe, które jednak zazwyczaj wymagają przekompostowania przed ich rolniczym wykorzystaniem. Dodatek preparatów mikrobiologicznych może podnosić wartość uzyskanych kompostów, a zaszczerpiiony kompost może być źródłem dodatkowych mikroorganizmów dla gleby.

W badaniach prowadzonych w latach 2013–2014 porównywano wartość nawozową kompostów wytworzonych z odpadów z cebuli oraz odpadów z pielęgnacji pomidorów szklarniowych, w uprawie warzyw gruntowych (sałata, rzodkiew japońska, burak ćwikłowy, kapusta pekińska, szpinak). Badano również wpływ dodatku preparatów opartych o grzyby z rodzaju *Trichoderma* do testowanych kompostów. Komposty porównywano z obornikiem, rosącymi dawkami nawożenia mineralnego oraz obiektami kontrolnymi bez nawożenia. W uprawie rzodkwi i buraków ćwikłowych zastosowano dodatkowo kombinacje z nawożeniem organiczno-mineralnym.

Reakcja roślin na nawożenie organiczne zależała od rodzaju zastosowanego kompostu, dodatku mikrobiologicznego oraz uprawianego gatunku. Stwierdzono pozytywny wpływ niektórych szczepów grzybów z rodzaju *Trichoderma* na wartość nawozową badanych kompostów, obserwowano również poprawę jakości plonu. Łączne nawożenie organiczne i mineralne korzystnie wpływało na poziom plonowania roślin testowych.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## WPLYW WYBRANYCH SZCZEPÓW *TRICHODERMA* SP. NA PLONOWANIE SAŁATY KRUCHEJ

Agnieszka Stębowska<sup>1</sup>, Ryszard Kosson<sup>1</sup>, Teresa Sabat<sup>1</sup>, Urszula Smolińska<sup>1</sup>,  
Beata Kowalska<sup>1</sup>, Magdalena Szczech<sup>1</sup>, Paweł Szymczak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut Ogrodnictwa, Skierniewice

[agnieszka.stepowska@inhort.pl](mailto:agnieszka.stepowska@inhort.pl)

<sup>2</sup>Grupa Producentów Warzyw PRIMAVEGA

Szczepy *Trichoderma* sp. wyselekcjonowane w latach 2010-2012, w trakcie badań w ramach projektu „Polskie szczepy *Trichoderma* sp. w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych” zostały zastosowane w uprawie polowej sałaty kruchej w latach 2012-2014. Badania prowadzono na polach doświadczalnych Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach oraz w produkcyjnym przedsiębiorstwie ogrodniczym. Obiektami badanymi były pojedyncze szczepy *Trichoderma* oraz mieszanki składające się z dwóch szczepów tych grzybów. W doświadczeniach prowadzonych w IO *Trichoderma* aplikowano doglebowo na nośniku organicznym przed sadzeniem roślin. Jako obiekt porównawczy użyto sam nośnik organiczny, a kontrolę stanowiły poletka, na których nie aplikowano preparatu. Rozsadę sałaty kruchej uniwersalnej odm. Elenas sadzono do gruntu w maju, w rozstawie 30 x 30 cm, a zbierano po odpowiednim ukształtowaniu główek, czyli po 8-12 tygodni (w zależności od przebiegu pogody w kolejnych latach). W doświadczeniach prowadzonych w systemie produkcyjnym (2013 – 2014) grzyby *Trichoderma* aplikowano jako mieszanki dwóch wybranych szczepów doglebowo na nośniku organicznym oraz w formie oprysku gleby zawiesiną zarodników przed wysadzeniem rozsady sałaty. Efektywność badanych szczepów *Trichoderma* porównywano do działania dwóch preparatów komercyjnych (BA i BI) zastosowanych w formie oprysku na glebę, zgodnie z zaleceniami. W obu lokalizacjach rośliny nawadniano systemem kropłowym, na podstawie wskazań tensometrów i nawożono według zaleceń dla uprawy sałaty. W doświadczeniach wykonywanych w IO, w trakcie wzrostu roślin wykonywano pomiary zawartości chlorofilu w liściach okrywających główkę. W momencie zbioru ważono całe rośliny oraz główkę wewnętrzną (po usunięciu najstarszych liści), mierzono średnicę główki wewnętrznej i palpacyjnie oceniano jej zwięzłość w skali 5-stopniowej (gdzie 1° oznaczał brak zawiązanej główki). Na podstawie wysokości plonu ogólnego i zawartości suchej masy określono produkcję fotosyntetyczną brutto łąnu (PFB) w poszczególnych obiektach. Analitycznie oznaczono zawartość azotanów w liściach i obliczono depozyt azotowy resztek pozbiornych. W doświadczeniach wykonywanych w firmie ogrodniczej w trakcie zbioru mierzono masę całych główek, oraz masę i średnicę główki wewnętrznej. Pobierano również próby gleby w celu oznaczenia liczebności grzybów *Trichoderma* sp. w podłożu.

Badania przeprowadzone na poletkach IO wykazały, że doglebowe zastosowanie grzybów *Trichoderma* na nośniku organicznym w uprawie sałaty kruchej miało istotny wpływ na masę jej główek handlowych oraz potencjał plonotwórczy określony przez produkcję fotosyntetyczną brutto. Największą masę główek uzyskiwano w obiektach, w których do gleby aplikowano mieszanki dwóch szczepów *Trichoderma* oraz w jednym z obiektów z pojedynczym szczepem, w którym stwierdzono również jedną z najniższych zawartości azotanów. Najniższy średni poziom azotanów stwierdzono w roślinach kontrolnych, ale główki w tym obiekcie były najmniejsze, o najbardziej zróżnicowanej zwięzłości (od 3° do 5°) i najniższej produktywności fotosyntezy brutto. O plonotwórczym potencjale roślin świadczy zdolność do produkcji suchej masy jako ostatecznego produktu fotosyntezy. O ile aplikacja samego nośnika właściwie nie miała wpływu na intensywność

fotosyntezy brutto, o tyle wprowadzenie grzybów *Trichoderma* zwiększyło produkcję PFB średnio o 10%.

W doświadczeniach prowadzonych w drugiej lokalizacji, w gospodarstwie ogrodniczym, uzyskano podobne wyniki jak w badaniach prowadzonych w IO. Zastosowanie mieszanki dwóch szczepów *Trichoderma* na nośniku organicznym powodowało zwiększenie masy całkowitej oraz masy główki wewnętrznej sałaty. Stymulację wzrostu, ale w mniejszym stopniu, uzyskiwano również po aplikacji samego nośnika. Natomiast oprysk gleby zawiesiną zarodników nie wpływał na wielkość plonu sałaty. Z dwóch zastosowanych preparatów handlowych z *Trichoderma* jeden nie działał istotnie (BA) natomiast drugi (BI) wpłynął pozytywnie na masę główki wewnętrznej, ale tylko w drugim roku badań (2014). Analizy liczebności *Trichoderma* w glebie wykazały, że dodatek tych grzybów na nośnikach organicznych pozwala na utrzymanie ich populacji na poziomie ok.  $10^5$  jtk/1 g suchej masy gleby przez cały okres wegetacji. W glebie opryskiwanej zawiesiną zarodników liczebność *Trichoderma* była niewiele wyższa od ich ilości w glebie kontrolnej.

Podsumowując, szczepy *Trichoderma* sp. miały pozytywny wpływ na plonowanie i jakość sałaty kruchej. Najlepsze efekty plonotwórcze uzyskano stosując mieszanki szczepów *Trichoderma* na nośniku organicznym zapewniając bardzo dobrą jakość handlową i biologiczną główek, dzięki największej efektywności fizjologicznej roślin.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## WYKORZYSTANIE GRZYBÓW Z RODZAJU *TRICHODERMA* W BEZGLEBOWEJ UPRAWIE POMIDORA

Jacek Dyśko<sup>1</sup>, Magdalena Szczech<sup>1</sup>, Danuta Witkowska<sup>2</sup>, Anna Kancelista<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
jacek.dysko@inhort.pl

W latach 2012 – 2014 przeprowadzono badania, których celem była ocena wpływu wyselekcjonowanych szczepów grzybów *Trichoderma* na wzrost, rozwój i plonowanie pomidora uprawianego na wełnie mineralnej. Uprawa pomidora odmiany Growdena F<sub>1</sub> prowadzona była w warunkach szklarniowych, w cyklu przedłużonym, na płytach wełny mineralnej Grodan –Grotop Master. *Trichoderma* były stosowane kilkakrotnie, w formie podlewania roślin wodnymi zawiesinami preparatów zawierającymi zarodniki grzybów oraz jednorazowo z wykorzystaniem nowej techniki aplikacji opracowanej w trakcie badań. Pierwszą dawkę preparatów, w wariantach z podlewaniem, zastosowano w okresie produkcji rozsady pomidora w kostkach rozsadowych. Kolejne dawki były aplikowane w równych odstępach czasowych. W roku 2012 badano działanie pięciu pojedynczych szczepów *Trichoderma* oznaczonych jako T1, T2, T3, T4 i T5, z których do dalszych doświadczeń wytypowano dwa pojedyncze izolaty T1 i T3 oraz ich mieszaninę w proporcji 1:1. Dla porównania stosowano preparat Trianum firmy Koppert zawierający *Trichoderma harzianum*. W obiektach kontrolnych nie dodawano grzybów *Trichoderma*. W trakcie wegetacji monitorowano liczebność *Trichoderma* w strefie korzeniowej roślin.

Obydwie metody inokulacji wełny mineralnej szczepami grzybów *Trichoderma* wpłynęły korzystnie na plonowanie pomidorów. Większą zwyżkę plonu zanotowano przy stosowaniu pojedynczych izolatów T1 i T3 w porównaniu do ich mieszanki. Najwyższy plon handlowy uzyskano po inokulacji podłoża izolatami T1, natomiast najniższy w kontroli, w której nie stosowano grzybów *Trichoderma*. Plonowanie pomidorów traktowanych preparatem Trianum oraz izolatami T3 było na podobnym poziomie. Przy inokulacji wełny mineralnej izolatami T1 obserwowano, w początkowym okresie uprawy intensywniejszy rozwój roślin: wyższe, bardziej krępe rośliny o większej powierzchni liści i większej wartości indeksu zazielenienia (SPAD). Stwierdzono, że liczebność *Trichoderma* w strefie korzeniowej roślin, przy obydwu sposobach aplikacji, przez cały okres uprawy utrzymywała się na wyższym poziomie w porównaniu do liczebności tych grzybów po zastosowaniu komercyjnego preparatu Trianum. Nowa metoda aplikacji *Trichoderma* opracowana w projekcie okazała się skutecznym i bardziej ekonomicznym sposobem wprowadzania preparatów grzybowych w uprawie pomidorów.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## JAKOŚĆ I WARTOŚĆ ODŻYWCZA WARZYW UPRAWIANYCH Z UDZIAŁEM GRZYBÓW *TRICHODERMA*

Ryszard Kosson, Justyna Szwejda-Grzybowska, Magdalena Tuszyńska,  
Agnieszka Stępowska, Kazimierz Felczyński, Jacek Dyśko,  
Iwona Sobieszek, Jan Piecko, Magdalena Szczech

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
ryszard.kosson@inhort.pl

Badano wpływ wybranych szczepów grzybów *Trichoderma*, stosowanych w uprawach w gruncie i pod osłonami, na jakość i wartość odżywczą kilku gatunków warzyw. Grzyby *Trichoderma* aplikowano dogłębowo lub w postaci oprysków. Bezpośrednio po zbiorach oceniano jakość i wartość odżywczą warzyw na podstawie analizy ich składu chemicznego i cech fizycznych. Badania obejmowały następujące gatunki warzyw: sałata, pomidor, ogórek, papryka, marchew. Analizowano zawartość suchej masy, ekstraktu, witaminy C, cukrów ogółem, polifenoli rozpuszczalnych, likopenu, karotenoidów, azotanów, oceniano także twardość oraz barwę warzyw.

Na podstawie analizy zawartości wybranych składników chemicznych i cech fizycznych stwierdzono korzystny wpływ grzybów *Trichoderma* na jakość i wartość odżywczą warzyw niektórych gatunków.

W sałacie uprawianej z dodatkiem większości szczepów *Trichoderma* stwierdzono podwyższoną – w stosunku do kontroli - zawartość witaminy C i polifenoli rozpuszczalnych, a poziom azotanów nie przekraczał dopuszczalnego limitu. Szczepy *Trichoderma* stosowane w uprawie pomidora wpływały na podwyższenie zawartości likopenu w owocach, przy stabilnym poziomie ekstraktu. Zaobserwowano jednocześnie zróżnicowany wpływ poszczególnych szczepów badanych grzybów na zawartość tego składnika. Papryka oraz ogórki uprawiane z udziałem *Trichoderma* charakteryzowały się wartością odżywczą zbliżoną do owoców zebranych z roślin kontrolnych. Zawartości karotenoidów i polifenoli rozpuszczalnych w marchwi uprawianej z udziałem niektórych szczepów *Trichoderma* były wyższe w porównaniu do marchwi uprawianej bez tych szczepów. Różnice w poziomach zawartości tych składników pomiędzy marchwią uprawianą z udziałem szczepów *Trichoderma* a marchwią uprawianą bez szczepów zależały również od roku uprawy.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## JAKOŚĆ SENSORYCZNA WARZYW UPRAWIANYCH NA PODŁOŻACH Z ZASTOSOWANIEM GRZYBÓW *TRICHODERMA*

Anna Wrzodak, Jacek Dyśko, Agnieszka Stębowska, Kazimierz Felczyński, Urszula Smolińska,  
Beata Kowalska, Danuta Witkowska, Magdalena Szczech

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
[anna.wrzodak@inhort.pl](mailto:anna.wrzodak@inhort.pl)

Celem przeprowadzonych doświadczeń było zbadanie wpływu zastosowania grzybów z rodzaju *Trichoderma* wprowadzanych do gleby na nośnikach organicznych, oprysku i zaprawy nasiennej na jakość sensoryczną owoców pomidora, papryki i ogórka oraz korzeni marchwi. Badania były przeprowadzone w laboratorium oceny sensorycznej Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach w latach 2013-2014. Materiał badawczy stanowiły warzywa uprawiane na polu doświadczalnym IO. Ocenę sensoryczną wykonał 10-osobowy zespół specjalistów, z wykorzystaniem metody ilościowej analizy opisowej QDA (*Quantitative Description Analysis*).

Dwuletnie wyniki jakościowej oceny sensorycznej pomidorów odmiany Growdena F<sub>1</sub> wskazują na wysoką jakość owoców obiektu w którym stosowano grzyby *Trichoderma*. Pomidory te charakteryzowały się najwyższą intensywnością smaku pomidorowego i uzyskały najwyższe noty oceny ogólnej jakości w porównaniu do pozostałych obiektów. Najniższą jakością sensoryczną charakteryzowały się pomidory kontrolne.

W doświadczeniu z papryką odmiany Abadia zastosowano 5 kombinacji (łącznie z kontrolą) w formie oprysku zarodnikami *Trichoderma* i 7 kombinacji aplikowanych, gdzie *Trichoderma* aplikowano doglebowo na nośniku organicznym. W obu latach badań najlepszą jakością sensoryczną charakteryzowała się papryka z obiektu, gdzie rośliny były opryskiwane zarodnikami jednego z izolatów *Trichoderma*. Zastosowanie zarodników *Trichoderma* doglebowo skutkowało wysoką jakością owoców uzyskanych z roślin uprawianych na glebie z dodatkami dwóch szczepów *Trichoderma*.

W przypadku doświadczeń z ogórkiem gruntowym odmiany Śremski F<sub>1</sub> zastosowano 5 kombinacji (w tym kontrola) pojedynczych szczepów zarodników *Trichoderma*, aplikowanych na nośnikach organicznych doglebowo, w formie oprysku roślin w czasie wegetacji oraz zaprawiania nasion. Zaobserwowano pewne tendencje związane z wpływem zastosowanych preparatów oraz formy ich aplikacji na cechy jakościowe owoców ogórka oceniane bezpośrednio po zbiorze. W dwuletnim cyklu badań najlepszą jakością sensoryczną charakteryzowały obiekty, których nasiona ogórka były zaprawiane zarodnikami grzybów *Trichoderma*.

Ocena sensoryczna korzeni marchwi wskazuje na duże zróżnicowanie uzyskanych wyników w poszczególnych latach badań. W 2013 r. korzenie marchwi kontrolnej uzyskały najniższe noty jakości sensorycznej pod względem większości wyróżników jakości, natomiast w roku 2014 marchew kontrolna została oceniona wysoko w porównaniu do pozostałych obiektów. Sposób aplikacji grzybów *Trichoderma* miał wpływ na jakość sensoryczną korzeni marchwi. W dwuletnim cyklu badań najwyższą ocenę ogólną jakości uzyskały korzenie marchwi z obiektów, w których stosowano zabieg oprysku zarodnikami *Trichoderma* naprzemiennie z fungicydem.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## WPLYW GRZYBÓW Z RODZAJU *TRICHODERMA* NA MORFOLOGIE I STRUKTURĘ KOMÓRKOWĄ ROŚLIN WARZYWNYCH

Barbara Dyki, Aleksandra Murgrabia, Elżbieta Panek,  
Magdalena Szczech, Agnieszka Stębowska, Jacek Dyško, Kazimierz Felczyński

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

[barbara.dyki@inhort.pl](mailto:barbara.dyki@inhort.pl)

Przedmiotem badań były rośliny papryki, sałaty, marchwi, ogórka i pomidora zarówno z doświadczeń polowych jak i prowadzonych pod osłonami w latach 2012-2014. Analizowano wpływ szczepów *Trichoderma*: T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9 na pokrój części nadziemnej i systemu korzeniowego oraz na cechy strukturalne tkanek i komórek wymienionych gatunków warzyw. Materiał do badań mikroskopowych obejmował fragmenty świeżych i utrwalanych tkanek roślin. Wykonano histologiczne preparaty krojone i macerowane tkanek liści, korzeni i łodygi, preparaty z izolowanej epidermy liści do oceny w mikroskopie świetlnym oraz preparaty z korzeni odwodnionych, wysuszonych i napylnych złotem do badań mikromorfologii powierzchni w elektronowym mikroskopie skaningowym. Analizy wykonywano przy użyciu: stereoskopowego mikroskopu (Olympus SZX16) z programem Cell<sup>^</sup>B do cyfrowej analizy obrazów, mikroskopu świetlnego (Nicon Eclipse 80i) z polaryzacją i programem NIS Elements Br. oraz elektronowego mikroskopu skaningowego JEOL JSM-6390LV stanowiącego wyposażenie Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN w Warszawie. Wyniki obserwacji makroskopowych i mikroskopowych analiz wskazują korzystny wpływ określonych szczepów *Trichoderma* na rozwój zarówno niektórych organów nadziemnych jak i systemu korzeniowego poszczególnych gatunków warzyw. U papryki zanotowano ponad trzykrotne zwiększenie masy korzeni i dwukrotne liczby kwiatów oraz zawiązków owoców pod wpływem szczepu T1. W doświadczeniach z sałatą najlepiej zadziałała mieszanka szczepów T4 i T9 na liczbę liści i korzeni. U ogórka najlepiej rozwiniętym systemem korzeniowym charakteryzowały się rośliny z kombinacji T4 i T7. Miały one lepiej rozwinięty system korzeniowy niż rośliny po traktowaniu zaprawą nasienną T. Rośliny pomidora, pod wpływem szczepów T2 i T4 miały najgrubszą warstwę tkanki przewodzącej w korzeniach i łodydze oraz charakterystyczne, największe zagęszczenie drobnych korzeni. W uprawie marchwi zanotowano również, że szczepy T1 i T4 powodowały stymulację rozwoju tkanki przewodzącej i tkanki wzmacniającej co prowadziło do zwiększonej lignifikacji w korzeniach. Korzenie marchwi z tych obiektów były większe i miały większą średnicę niż w obiektach kontrolnych.

Badania mikromorfologii powierzchni korzeni ujawniły większe niż u roślin kontrolnych zagęszczenie różnych grzybów i bakterii. Analizy porównawcze struktury wewnętrznej tkanek korzeni wykazały wzrost zagęszczenia strzępek grzybów w korzeniach sałaty pod wpływem szczepów T4 i T9 i w korzeniach papryki rosnącej w obecności szczepów T4, T6 i T8. Obrazy mikroskopowe struktury komórkowej łodygi korzeni analizowanych gatunków warzyw wskazują na tendencję do stymulacji rozwoju tkanek przewodzących, głównie ksylemu, pod wpływem szczepów *Trichoderma*.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.



## CIĄGŁY PROCES BIODEGRADACJI BURACZANEGO WYWARU GORZELNICZEGO Z WYKORZYSTANIEM MIESZANEJ KULTURY BAKTERII Z RODZAJU *BACILLUS*

Krzysztof Lutosławski, Edmund Cibis

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu; krzysztof.lutoslawski@ue.wroc.pl

W Europie, w tym także i w Polsce, buraki cukrowe są surowcem w coraz większym stopniu przeznaczanym do produkcji energii odnawialnej w postaci biopaliwa. W 2013 roku europejska produkcja etanolu paliwowego z buraków cukrowych wzrosła już do poziomu ok. 1 mld litrów. Problemem towarzyszącym produkcji etanolu z buraków cukrowych jest powstający produkt uboczny (buraczany wywar gorzelniczy) ze względu na jego wysoki ładunek zanieczyszczeń wyrażany poprzez ChZT – w przypadku badanego wywaru wynosił 48 g O<sub>2</sub>/l. Co więcej na jeden litr produkowanego etanolu przypada nawet kilkanaście litrów tego uciążliwego dla środowiska odpadu. W trosce o środowisko naturalne problem ten wymusił poszukiwanie różnych efektywnych metod zagospodarowania buraczanego wywaru gorzelniczego.

Celem pracy było zbadanie wpływu szybkości rozcieńczania na przebieg i efektywność procesu ciągłej biodegradacji buraczanego wywaru gorzelniczego z wykorzystaniem mieszanej kultury bakterii z rodzaju *Bacillus*.

Tlenową biodegradację wywaru buraczanego w systemie ciągłym przeprowadzono przy szybkościach rozcieńczania  $D_1=0,0257\text{ h}^{-1}$ ,  $D_2=0,0171\text{ h}^{-1}$  oraz  $D_3=0,0111\text{ h}^{-1}$ . Eksperymenty wykonano w bioreaktorze z układem mieszania (Biostat®B) o objętości roboczej 2 l, w temperaturze 36°C, przy obrotach mieszadła 900 obr./min i napowietrzaniu 1,0 l/(l·min). Podczas biodegradacji nie regulowano pH medium (wartość początkowa pH=8,0), ani też nie korygowano pH wywaru doprowadzanego do bioreaktora (pH=5,25). Efektywność biodegradacji oceniano przede wszystkim poprzez stopień zmniejszenia zanieczyszczeń wyrażanych przez wskaźniki ChZT, BZT<sub>5</sub> oraz OWO, a także przez szybkość redukcji ChZT.

Niższa szybkość rozcieńczania przyczyniała się do uzyskania wyższej efektywności biodegradacji wywaru. Przy szybkości rozcieńczania  $D_3$  uzyskano najwyższe stopnie usunięcia zanieczyszczeń wyrażanych przez wskaźniki ChZT, BZT<sub>5</sub> oraz OWO wynoszące odpowiednio 79,6%, 98,1% oraz 72,9%, przy szybkości usuwania ładunku ChZT wynoszącej 0,3 g O<sub>2</sub>/(l·h). W eksperymencie przeprowadzonym przy szybkości  $D_3$  wysoki był także stopień wykorzystania azotu i fosforu ogólnego równy odpowiednio 38,9% i 69%. Jednakże wadą tego procesu była największa ilość wytworzonych zawiesin (6,7 g/l) w trakcie biodegradacji.

Spośród głównych substancji organicznych wywaru substancje redukujące oznaczane zarówno przed, jak i po hydrolizie były w najwyższym stopniu (odpowiednio w 82,4% i 83%) wykorzystywane przez bakterie przy pośredniej szybkości rozcieńczania ( $0,0171\text{ h}^{-1}$ ). Przy tej samej wartości szybkości rozcieńczania, a także przy szybkości  $D_3$  osiągnięto najwyższy stopień usunięcia łącznej zawartości kwasów organicznych (odpowiednio 89,2% i 89,1%). We wszystkich eksperymentach, a więc niezależnie od czasu zatrzymania, glicerol był całkowicie usuwany z podłoża wywarowego przez stosowaną kulturę bakterii, a w procesach prowadzonych przy szybkości  $D_2$  i  $D_3$  w 100% usuwana była również betaina.

Zastosowana mieszana kultura bakterii z rodzaju *Bacillus* pozwala na efektywną tlenową biodegradację buraczanego wywaru gorzelniczego w procesach ciągłych. Proponowane rozwiązanie może zatem stanowić pierwszy stopień w dwu- lub wielostopniowym systemie oczyszczania tego wywaru w skali przemysłowej. Należy podkreślić, że wysoką skuteczność biodegradacji uzyskano bez konieczności regulacji pH, co obniża koszty prowadzenia tego typu procesów.

## WPLYW PROCESU KOMPOSTOWANIA KORY SOSNOWEJ Z DODATKAMI ORGANICZNYMI NA ZMIENNOŚĆ POPULACJI DROBNOUSTROJÓW ORAZ AKTYWNOŚĆ KOMPLEKSU DEHYDROGENAZ

Justyna Starzyk, Jacek Czekala, Agnieszka Wolna-Maruwka, Agnieszka Mocek-Płóćiniak

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
jstarzyk@up.poznan.pl

Zagospodarowanie odpadów organicznych, w tym pochodzenia roślinnego w procesie kompostowania może odbywać się jedynie przy współdziałaniu mikroorganizmów, których działalność związana jest z tworzeniem humusu. W procesie mineralizacji materii organicznej powstający humus zawiera nie tylko podstawowe komponenty, tj. kwasy fulwowe, huminowe i huminy, ale także mineralne związki azotowe i fosforowe. Procesom tym towarzyszy wydzielanie znacznych ilości dwutlenku węgla, energii cieplnej oraz zwiększa się biomasa mikroorganizmów, przy czym obserwuje się sukcesję następujących po sobie grup drobnoustrojów biorących udział w kolejnych fazach kompostowania. Celem przeprowadzonych badań było określenie dynamiki zmian liczebności wybranych grup bakterii heterotroficznych, grzybów pleśniowych oraz poziomu aktywności kompleksu dehydrogenaz, zachodzących podczas kompostowania kory sosnowej, w zależności od zastosowania różnych dodatków organicznych i preparatu mikrobiologicznego oraz zmian wartości pH i temperatury kompostowanych pryzm.

Proces kompostowania przeprowadzono w siedmiu stosach kory sosnowej z dodatkiem różnych dawek zielonej masy roślin strączkowych, Efektywnych Mikroorganizmów i mocznika. Na mikrobiologicznych podłożach wybiórczych, metodą płytkową, oznaczano liczebność jednostek tworzących kolonie (jtk) bakterii heterotroficznych mezofilnych i termofilnych oraz mezofilnych i termofilnych grzybów pleśniowych. Ponadto, badano aktywność enzymatyczną mikroorganizmów, określając aktywność kompleksu dehydrogenaz, za pomocą metody spektrofotometrycznej, używając jako substratu 1% TTC (chlorek trójfenylotetrazolu). Analizowano również wpływ składu kompostu, pH i temperatury na zmiany liczebności drobnoustrojów. Badania przeprowadzono w czterech kolejnych terminach doświadczalnych.

Dodatki do kompostowanych pryzm miały istotny wpływ na zmiany liczebności analizowanych grup drobnoustrojów. Bakterie heterotroficzne najintensywniej namnażały się w kombinacjach z dodatkiem zielonej masy roślin w połączeniu z EM, natomiast rozwój grzybów stymulował, poza zieloną masą roślinną, dodatek mocznika. Aktywność kompleksu dehydrogenaz malała stopniowo wraz z kolejnymi terminami analiz, osiągając najwyższy poziom w kombinacjach z zieloną masą roślin.

Praca oraz udział w Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej „Mikroorganizmy w prawie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych” finansowane w ramach projektu badawczego NR 3055/B/P01/2011/40 61/2011/GW „Kompostowanie kory sosnowej z zieloną masą roślin, jako alternatywnym źródłem azotu w warunkach ograniczonego dostępu do odpadów biodegradowalnych” 2011-2014.

## **PROGRAMISTYCZNA MODYFIKACJA UŻYTECZNOŚCI BIOREAKTORÓW LABORATORYJNYCH BIOSTAT<sup>®</sup>B W BADANIACH NAD DEKOLORYZACJĄ BURACZANEGO WYWARU MELASOWEGO**

Daniel Borowiak, Marta Wilk, Aniceta Ślęczka,  
Małgorzata Krzywonos, Przemysław Seruga

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu  
daniel.borowiak@ue.wroc.pl

Bardzo popularnym modelem bioreaktora stosowanym do dzisiaj w wielu placówkach naukowo-badawczych jest BIOSTAT<sup>®</sup>B (B.Braun Biotech International). Urządzenie to jest często wykorzystywane do prowadzenia eksperymentów z udziałem mikroorganizmów, zwłaszcza bakterii i drożdży. Jednym z takich procesów jest dekoloryzacja buraczanego wywaru melasowego z udziałem bakterii fermentacji mlekowej. W bioreaktorach laboratoryjnych typu BIOSTAT<sup>®</sup>B wykonano eksperymenty mające na celu dekoloryzację, potwierdzające prawidłowy dobór parametrów procesowych (ustalonych na wcześniejszym etapie badań) oraz dokonano dalszej ich optymalizacji i weryfikacji zarówno w hodowlach okresowych jak i ciągłych.

Celem pracy było rozszerzenie możliwości standardowych, laboratoryjnych systemów bioreaktorowych typu BIOSTAT<sup>®</sup>B poprzez wykorzystanie interfejsu komunikacyjnego i specjalnie przygotowanego oprogramowania do automatycznego monitorowania przebiegu eksperymentów z możliwością zdalnego podglądu aplikacji.

Do eksperymentów wykorzystano trzy laboratoryjne zestawy bioreaktorowe typu BIOSTAT<sup>®</sup>B z naczyniami o objętości roboczej 5 dm<sup>3</sup> i 2 dm<sup>3</sup>. Do przesyłania informacji z zestawów bioreaktorowych do komputera sterującego wykorzystano port drukarki (Printer), przeznaczony do drukowania raportów w trakcie eksperymentów. Zbieranie danych i wizualizację wykonano w oparciu o standardowy komputer PC podłączony do sieci komputerowej z przydzielonym unikalnym adresem sieciowym IP. Program sterujący pracą całego systemu przygotowano w graficznym środowisku programistycznym LabVIEW 8.0 (National Instruments).

Po nawiązaniu połączenia, bioreaktor w zadanych odstępach czasu wysyła dane pomiarowe w formie raportu do portu drukarki. Stąd, zamiast trafiać na papier, informacje te przechwytywano do programu sterującego. Brak dokładnego opisu ramki przesyłanych danych wymusił konieczność zebrania i przeanalizowania struktury napływających danych i samodzielnego przygotowania algorytmu do ich dekodowania. Algorytm ten zaimplementowano w programie sterującym, co pozwoliło na odbieranie wyników z bioreaktora i prawidłowe ich odczytywanie. Po zdekodowaniu program prezentował dane w formie liczbowej i graficznej oraz zapisywał je do pliku na dysku twardym. Program sterujący równocześnie pełnił rolę serwera www, pozwalając na obserwowanie interfejsu aplikacji zdalnie za pomocą przeglądarki internetowej komputerów, tabletów czy smartfonów.

Prawidłowe i efektywne działanie komputerowego systemu wspomagającego monitorowanie badań pozytywnie zweryfikowano w trakcie eksperymentów nad dekoloryzacją melasowego wywaru buraczanego. Przeprowadzono 18 hodowli okresowych, trwających 84 godziny każda oraz hodowle ciągle z hydraulicznym czasem retencji wynoszącym 12, 24, 48 i 72 godziny. System komputerowy wraz z oprogramowaniem pracował nieprzerwanie 780 godzin (32,5 dnia) i w trakcie wszystkich eksperymentów bezbłędnie realizował postawione przed nim zadania.

Pracę zrealizowano w ramach projektu N N312 421940 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

## WYKORZYSTANIE METODY OSADU CZYNNEGO PRZY OCZYSZCZANIU ŚCIEKÓW- WPLYW OPTIMALNEGO NAPONIEWIERZANIA NA WYDAJNOŚĆ PROCESU

Filip Bronisław Harasimiuk, Arkadiusz Drost, Arkadiusz Nędzarek  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
Filip.Harasimiuk@zut.edu.pl, [filiph\\_k@ymail.com](mailto:filiph_k@ymail.com)

Oczyszczanie ścieków metodą osadu czynnego wykorzystuje procesy samooczyszczania wód powierzchniowych. Polega na mineralizacji organicznych zanieczyszczeń, które znajdują się w ściekach przez drobnoustroje znajdujące się w zbiornikach przeznaczonych do prowadzenia tego procesu. W ten sposób mikroorganizmy zyskują energię niezbędną do życia – mineralne formy węgla, fosforu, siarki i azotu. W trakcie procesu dochodzi także do wzrostu ich biomasy. W wyniku uzyskuje się również nadmiar mikroorganizmów, który usuwany jest z układu jako tzw. osad nadmierny. Intensyfikacji procesu, w stosunku do naturalnego samooczyszczania, dokonuje się stosując zwiększoną ilość drobnoustrojów, które biorą udział w procesie, co w efekcie zwiększa wydajność oczyszczania ścieków. Metoda osadu czynnego jest biologiczną metodą oczyszczania ścieków, która polega na hodowli w reaktorach napowietrzanych powietrzem zespołów mikroorganizmów, których wzrost następuje w warunkach stałego przepływu ścieków. Wraz z upływem czasu mikroorganizmy mogą ze sobą oddziaływać i łączyć się tworząc tzw. kłaczkosad czynnego. Do mikroorganizmów wchodzących w skład osadu czynnego można zaliczyć głównie bakterie, ale również liczne wolno pływające oraz osiadłe pierwotniaki, nicienie, wrotki, larwy owadów a także pajęczaki. Dla większości z nich bakterie są źródłem pokarmu, przez co stabilizują ich ilość w osadzie czynnym. Proces prowadzi się najczęściej w sposób ciągły, a wypływająca z bioreaktora mieszanina oczyszczonych ścieków i osadu czynnego jest następnie rozdzielana w osadniku wtórnym. Osad, który trafił do osadnika wtórnego to tzw. osad nadmierny. Część tego osadu może być ponownie skierowana do bioreaktora w zależności od potrzeb. Niezawracana część jest stabilizowana i utylizowana. Trudno określić stopień oczyszczenia ścieków przed procesem ze względu na rodzaj i stężenie zanieczyszczeń jakie zawierają ścieki oraz czas jaki zostaną one zatrzymane w bioreaktorze w celu przeprowadzenia procesu oczyszczania. Ścieki komunalne są zatrzymywane w bioreaktorze przez 6-8 godzin. Kłaczkosad czynnego stanowią liczne, różnorodne mikroorganizmy głównie bakterie oraz cząstki organiczne i nieorganiczne. Występują również pozakomórkowe polimeryczne substancje (EPS), które wraz z innymi składnikami budującymi kłaczkosad odpowiedzialne są za ich właściwości i strukturę, zdolności flokulacyjne, opadalność i uwodnienie. Mikroorganizmy stanowią do 20% objętości kłaczków, resztę stanowią substancje w stanie koloidalnym. Do składowych elementów części koloidalnej zalicza się polisacharydy, lipidy, białka, kwasy tłuszczowe, substancje humusowe oraz liczne heteropolimery. Część z nich pochodzi z lizy komórek, część jest produkowana przez bakterie a część jest wynikiem absorpcji ze ścieków. Jądra kłaczków osadu czynnego składają się w większości z glin (Si, Fe, Al), ortofosforanów wapnia i tlenków żelaza ( $Fe_2O_3$ ). Zarówno gliny jak i tlenki pochodzą z cząstek gruntu zawartych w ściekach natomiast ortofosforany powstają na granicy stref - tlenowej oraz beztlenowej. Istnieje ścisła zależność wiążąca właściwości kłaczków osadu czynnego z właściwościami samego osadu czynnego. Kłaczkosad o niewielkich porach wykazuje słabą opadalność, natomiast duże i gęste kłaczkosady wykazują znaczną opadalność cząstek. Słabo opadające kłaczkosady są bardzo trudne do odwodnienia, co w pewnym stopniu wiąże się z zawartością EPS, które są w stanie związać znaczne ilości wody. Uzyskanie kłaczków o odpowiednich właściwościach jest istotne ze względu na konieczność zapewnienia im odpowiedniej flokulacji, co wpływa na przebieg oczyszczania ścieków w osadzie czynnym. Mimo niewielkiego wkładu mikroorganizmów w budowę kłaczków odgrywają one kluczową rolę w stosunku do właściwości kłaczków i osadu czynnego. Mogą tworzyć mikrokolonie, odpływać z osadu czynnego, tworzyć struktury nitkowate

lub szkielety. Odpowiadają również za produkcję EPS a tym samym wpływają na ich ilość i skład, co również ma istotny wpływ na właściwości osadu czynnego. Na szybkość rozkładu obecnych w osadzie czynnym wielkocząsteczkowych polimerów znaczący wpływ ma szybkość hydrolizy, która z kolei jest związana zależnością z wielkością cząstek. Ze wzrostem ciężaru cząsteczkowego maleje zdolność do dyfuzji tychże cząsteczek, co wpływa na spowolnienie ich transportu do komórek, a tym samym spowolnienie procesu rozkładu tych polimerów. Powstałe produkty rozkładu są łatwo przyswajalne przez mikroorganizmy, a pozostała część – nie ulegająca rozkładowi – zwiększa pulę trudno rozkładalnych substancji, które pozostają w osadzie. Do organizmów wchodzących w skład osadu czynnego zalicza się głównie bakterie z rodzaju: *Pseudomonas*, *Acinetobacterium*, *Aeromonas*, *Zooglea*, *Enterobacteriae*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Micrococcus* oraz pierwotniaki – orzęski z rodzaju *Vorticella*, *Paramecium*, *Aspidisca*, *Suctorina* i wiciowce z rodzaju: *Trigonomonas*, *Tetramitus*. Podziału systemów osadu czynnego można dokonać na podstawie różnych parametrów. Ze względu na obciążenie osadu możemy je podzielić na nisko, średnio i wysoko obciążony. Ze względu na przepływ ścieków mamy do czynienia z przepływem o całkowitym wymieszaniu, o przepływie tłokowym lub systemach mieszanych. Ze względu na sposób napowietrzania istnieją systemy o napowietrzaniu mechanicznym, sprężonym powietrzem, czystym tlenem czy mieszane systemy napowietrzające. W oparciu o sposób zasilania ściekami osadu czynnego można mówić o systemach z czołowym zasilaniem lub stopniowo zasilane. Natomiast ze względu na zastosowane rozwiązania technologiczne w celu prowadzenia procesu mamy do czynienia z systemami jedno- lub wielostopniowymi, kontaktowo-stabilizacyjnymi lub reaktorami sekwencyjnymi typu SBR. Reaktor sekwencyjny SBR jest rozwiązaniem organizacyjnym, które zakłada zachodzenie w komorze kolejno następujących po sobie faz: napełniania komory, mieszania wraz z natlenianiem układu, sedymentacji osadu, opróżniania oraz ewentualnie występującej fazy bezruchu. Tego typu reaktor pełni dwie role – zarówno komory osadu czynnego jak i osadnika. Natlenianie komór osadu czynnego prowadzi się w celu zapewnienia odpowiedniego przebiegu procesów, jakie zachodzą w komorze. Tlen jest wykorzystywany w następujących procesach składowych: oddychaniu substratowym oraz oddychaniu podstawowym. W wyniku oddychania substratowego część zanieczyszczeń organicznych ulega utlenianiu, a powstała energia jest zużywana na budowę komórek mikroorganizmów. Oddychanie podstawowe wykorzystuje wcześniej utworzoną substancję komórkową, która jest utleniana a następnie trawiona przez bakterie. Większość z nich jest przystosowana do życia w warunkach ciągłego dopływu substancji pokarmowych. W reaktorach biologicznych stosuje się różnego rodzaju aparaturę napowietrzającą, która ma na celu zapewnienie optymalnego dostępu do tlenu żyjącym w osadzie czynnym mikroorganizmom. Stosuje się w tym celu napowietrzanie mechaniczne, dyfuzorowe oraz strumieniowe, przy czym te ostatnie stosuje się najrzadziej. W systemach napowietrzania dyfuzorowego wprowadza się sprężone powietrze w okolicy dna komory napowietrzanej. Powietrze trafia tam przy pomocy odpowiednio skonstruowanych rusztów zakończonych dyfuzorami. W przypadku mechanicznego napowietrzania podczas procesu stosowane są najczęściej powierzchniowe aeratory o osi poziomej lub pionowej, układy pompowe lub szczotki napowietrzające. Istotnym elementem tego typu urządzeń są łopatki, które wzbudzają powierzchnię cieczy w metodzie osadu czynnego. W niektórych rowach do biologicznego oczyszczania ścieków stosuje się obracające łopatki, wirniki, śmigła czy obracające się szczotki. Wprowadzenie burzliwości przepływu ułatwia napowietrzanie oraz zachodzenie innych biologicznych procesów w ściekach.

Praca naukowa współfinansowana przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego i Budżetu Państwa, Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki Priorytetu VIII, Działanie 8.2 Transfer wiedzy Poddziałanie 8.2.2 „Regionalne Strategie Innowacji”, projektu systemowego realizowanego przez Wojewódzki Urząd Pracy w Szczecinie „Inwestycja w wiedzę motorem rozwoju innowacyjności w regionie – III edycja”

## WYKORZYSTANIE PROCESÓW SEPARACJI MEMBRANOWEJ W OCZYSZCZANIU WODY

Filip Bronisław Harasimiuk, Arkadiusz Drost, Arkadiusz Nędzarek

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Filip.Harasimiuk@zut.edu.pl, [filiph\\_k@ymail.com](mailto:filiph_k@ymail.com)

Niezadowolająca jakość wód naturalnych, oraz rosnące wymagania stawiane wodzie przeznaczonej bezpośrednio do spożycia wymusza, że do układów technologicznych oczyszczania wody coraz częściej włącza się zaawansowane procesy separacyjne. Różnorodność zanieczyszczeń, które występują w ujmowanych wodach powoduje, że tradycyjne podejście do procesów oczyszczania często jest mało skuteczne. Dlatego też w ostatnich latach coraz powszechniejsze staje się stosowanie do oczyszczania wody zintegrowanych układów membranowych. Same procesy membranowe w rozbudowanych układach technologicznych mogą pełnić rolę doczyszczania wody, która została wcześniej oczyszczona za pomocą klasycznych metod klarowania (w procesach typu koagulacja, sedymentacja, filtracja) lub też bardziej zaawansowanych (w procesach typu koagulacja, sedymentacja i filtracja w połączeniu z adsorpcją na węglu aktywnym i ozonowaniem). Techniki membranowe mogą też pełnić funkcję wstępnego oczyszczania wody przed jej dalszym oczyszczaniem zarówno metodami konwencjonalnymi oraz membranowymi.

Prezentowane wyniki wskazują na możliwości wykorzystania membran ceramicznych do usuwania wybranych zanieczyszczeń określanych mianem trudnych. W badaniach zastosowany został proces nanofiltracji w ujęciu ćwierć technicznych. Eksperyment został przeprowadzony z użyciem 19 kanałowej membrany ceramicznej, o cut-off 450Da, która składała się z  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{TiO}_2$ . Długość czynna membrany wynosiła 1178 mm, a przekrój membrany wynosił 25 mm, przekrój kanału czynnego wynosił 3,5 mm a powierzchnia filtracyjna  $0,25 \text{ m}^2$ . W trakcie badań procesowi oczyszczania został poddany modelowy roztwór z zawartością jonów Fe. Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowanie procesu membranowego oczyszczania redukuje o 80 % zawartość Fe w porównaniu do roztworów wejściowych, oraz że istotnym parametrem warunkującym sprawność procesu jest pH roztworu.

# POSTERY





## WPLYW PREPARATU MIKROBIOLOGICZNEGO I BIOSTYMULATORA ROŚLIN NA ROZWÓJ MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH W UPRAWIE PSZENICY JAREJ

Barbara Breza-Boruta, Karol Kotwica

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy  
breza@utp.edu.pl

Mikrobiocenozę gleby pola uprawnego kształtuje wiele czynników biotycznych i abiotycznych, które wpływają na tworzenie się zróżnicowanych zespołów mikroorganizmów, zarówno korzystnych, jak i szkodliwych z rolniczego punktu widzenia. Zabiegi agrotechniczne powinny zapewnić optymalne warunki dla rozwoju mikroorganizmów saprotroficznych odpowiedzialnych za podstawowe procesy biochemiczne w glebie, m.in. przemiany związków mineralnych i organicznych, wiązanie azotu atmosferycznego, produkcji witamin, antybiotyków i innych substancji biologicznie czynnych. W celu ograniczenia stosowania w uprawie roślin środków chemicznych, coraz częściej wykorzystuje się alternatywne metody, polegające na wprowadzeniu doglebowo lub nalistnie preparatów biologicznych o działaniu stymulującym wzrost roślin, a także hamującym rozwój fitopatogenów.

Celem badań było określenie wpływu preparatu mikrobiologicznego Efektywne Mikroorganizmy (EM) i biostymulatora Asahi na występowanie mikroorganizmów saprotroficznych, uczestniczących w przemianach węgla i azotu w środowisku glebowym pod uprawą pszenicy jarej. Analizy wykonano w trzech terminach przed siewem, w okresie wegetacji oraz po zbiorze roślin. Izolacji drobnoustrojów dokonano metodą płytkową na odpowiednich podłożach ogólnych i selektywnych.

Uzyskane wyniki liczebności badanych grup drobnoustrojów opracowano statystycznie metodą analizy wariancji (ANOVA). Liczebność drobnoustrojów okazała się zróżnicowana w zależności od sposobu użyźniania oraz terminu analiz. Największy wpływ preparatu EM odnotowano na wzrost liczebności bakterii ogółem (trzykrotnie więcej w porównaniu z uprawą bez aplikowanego preparatu) oraz drobnoustrojów proteolitycznych (czterokrotnie). Porównując uzyskane wyniki stwierdzono, że istotnie statystycznie najwięcej bakterii ogółem, promieniowców oraz drobnoustrojów proteolitycznych otrzymano po zastosowaniu kombinacji EM łącznie z biostymulatorem Asahi. W przypadku bakterii wiążących N atmosferyczny z rodzaju *Azotobacter* testowane preparaty nie przyczyniły się do wzrostu ich populacji. W dynamice rozwoju badanych grup drobnoustrojów zauważono, że zdecydowanie najwięcej występowało ich w okresie dojrzałości młecznicy pszenicy jarej.

## KOMPOSTOWANIE SZCZECINY ODPADOWEJ Z UDZIAŁEM MIKROBIOLOGICZNEJ SZCZEPIONKI WIELOORGANIZMOWEJ

Anna Choińska, Wojciech Łaba, Anna Rodziewicz,  
Danuta Witkowska, Michał Piegza, Anna Kancelista

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
wojciech.laba@up.wroc.pl

Szczecina świńska, będąca odpadem przemysłu mięsnego, należy do materiałów trudno degradowanych. Jej biodegradacja w procesie kompostowania z udziałem mikroflory autochtonicznej jest procesem długotrwałym i nieefektywnym. Zastosowanie szczepionki złożonej z wyselekcjonowanych mikroorganizmów o uzdolnieniach keratynolitycznych jest sposobem na zwiększenie wydajności kompostowania szczeciny, z jednoczesnym uzyskaniem wartościowego produktu nawozowego.

Celem przeprowadzonych badań była analiza procesu biodegradacji szczeciny świńskiej z udziałem wieloorganizmowej szczepionki mikrobiologicznej. Prowadzono kompostowanie w skali półtechnicznej w zamkniętym bioreaktorze statycznym, z wymuszonym napowietrzaniem. Masa kompostowa (60 kg) składała się z rozdrobnionej szczeciny, wiór drzewnych i pyłu węgla brunatnego. Zastosowano szczepionkę mikrobiologiczną w postaci płynnych kultur keratynolitycznych bakterii, promieniowców i grzybów strzępkowych, wprowadzanych sukcesywnie do masy kompostowej. Przebieg kompostowania monitorowany był przez oznaczenia: temperatury, wilgotności, pH, sukcesji poszczególnych grup mikroorganizmów, aktywności proteolitycznej i oksydoredukcyjnej w kompoście, a także ubytku masy kompostowej i stopnia mineralizacji.

Uzyskane wyniki potwierdziły wyższość mikrobiologicznej szczepionki wieloorganizmowej w porównaniu do szczepionki monokulturowej. W efekcie jej zastosowania nastąpiła intensyfikacja procesów biodegradacyjnych, przejawiających się wydłużoną fazą termiczną oraz podwyższoną aktywnością enzymów proteolitycznych i oksydoredukcyjnych, a ponadto wyższym poziomem zaawansowania procesu nityfikacji. Otrzymane wyniki wskazują, że efektywna biodegradacja odpadów keratynowych w postaci szczeciny świńskiej możliwa jest wyłącznie w obecności wieloorganizmowej szczepionki mikroorganizmów keratynolitycznych, przy zachowaniu określonych składników masy kompostowej i warunków procesu. W efekcie powstaje produkt o podwyższonej wartości nawozowej, cechujący się zaawansowanym poziomem dojrzałości.

## STOPIEŃ FREKWENCJI MIKORYZOWEJ W KORZENIACH TRZECH ODMIAN ROŚLIN TRUSKAWKI TRAKTOWANYCH BIOPREPARATAMI

Edyta Derkowska, Lidia Sas Paszt

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
edyta.derkowska@inhort.pl

Celem badań była ocena wpływu wybranych biopreparatów na wzrost systemu korzeniowego, liczbę spor grzybów mikoryzowych oraz stopień asocjacji mikoryzowej w korzeniach dwóch odmian truskawki.

Doświadczenie na roślinach truskawki 3 odmian prowadzono w rizoboksach od kwietnia do czerwca 2013 r. w Kompleksie Szklarniowym Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach. Obiektem badań były sadzonki truskawki typu frigo odmiany Elsanta, Honeoye i Elkat. Rośliny posadzono w rizoboksach, w czterech powtórzeniach i zastosowano nawożenie standardowe NPK ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 1,02g,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  – 1,16g,  $\text{P}_2\text{O}_5$  – 1,9g), obornik granulowany (1g/roślinę), preparat mikoryzowy Micosat F (10g/roślinę) oraz biopreparaty: Humus UP (2% roztwór) oraz Vinassa (0,5% roztwór). Kontrolę stanowiły rośliny nie nawożone NPK bez aplikacji bioproduktów, rosące w rizoboksach.

Aplikacja Humusu UP wpłynęła na istotne zwiększenie długości korzeni oraz ich średnicy u odmiany Elkat a preparat Vinassa zwiększył liczbę wierzchołków korzeni u odmiany Honeoye. Zastosowanie biopreparatu Humus UP u odmiany Elkat spowodowało istotne zwiększenie stopnia frekwencji mikoryzowej w korzeniach oraz wzrost liczby zarodników arbuskularnych grzybów mikoryzowych (AGM) w glebie rizosferowej. Aplikacja preparatu Vinassa wpłynęła na istotne zwiększenie świeżej masy korzeni u odmian Elsanta i Honeoye, a efektem zastosowania obornika u odmiany Elsanta była istotnie większa sucha masa korzeni.

Wyniki doświadczeń pozwalają wnioskować, że nawożenie biopreparatami Humus UP i Vinassa wpłynęło korzystnie na wzrost systemu korzeniowego testowanych odmian truskawki oraz na zwiększenie liczby spor grzybów AGM w glebie rizosferowej i stopnia frekwencji mikoryzowej w korzeniach roślin.

Badania wykonano w ramach projektu „Opracowanie innowacyjnych produktów i technologii dla ekologicznej uprawy roślin sadowniczych”, współfinansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka UDA-POIG.01.03.01-10-109/08-00.

## ODDZIAŁYWANIE NANOPLATYNY NA WZROST I ZARODNIKOWANIE GRZYBÓW *TRICHODERMA VIRIDE* I *TRICHODERMA PSEUDOKONINGII*

Joanna Dłużniewska, Agnieszka Stopa

Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie  
e-mail [rrdluzni@cyf-kr.edu.pl](mailto:rrdluzni@cyf-kr.edu.pl)

Celem pracy było określenie oddziaływania nanoplatyny na wzrost liniowy i zarodnikowanie wybranych szczepów grzybów *Trichoderma viride* oraz *Trichoderma pseudokoningii*. Sposób aplikacji nanoplatyny wpływa na oddziaływanie na grzyby z rodzaju *Trichoderma*. Nanoplatyna wpływa na wzrost liniowy grzybów *T. viride* oraz *T. pseudokoningii*. Najbardziej wrażliwe na działanie nanoplatyny u grzyba *T. viride* są zarodniki, mniej podatna dojrzała grzybnia, a najbardziej odporne rosnące strzępki grzybni. Natomiast u *T. pseudokoningii* najmniejszą odpornością odznaczają się zarodniki, mniej wrażliwe są rosnące strzępki, a najbardziej odporna jest dojrzała grzybnia. Nanocząsteczki platyny istotnie stymulują zarodnikowanie *T. viride* w każdym stadium rozwojowym. Nanoplatyna istotnie hamuje zarodnikowanie *T. pseudokoningii*, gdy jest aplikowana na rosnące strzępki grzyba, a stymuluje tworzenie zarodników po wprowadzeniu na dojrzałą grzybnię.

Wykorzystanie grzybów z rodzaju *Trichoderma* w biologicznej ochronie roślin z wykorzystaniem nanozwiązków wymaga dokładniejszego poznania, ze względu na zmienność uzyskiwanych wyników.

## CZY GRZYBY Z RODZAJU *TRICHODERMA* STYMULUJĄ LIGNIFIKACJĘ ROŚLIN WARZYWNYCH ?

Barbara Dyki, Agnieszka Stępowaska, Aleksandra Murgrabia, Elżbieta Panek

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
[barbara.dyki@inhort.pl](mailto:barbara.dyki@inhort.pl)

Celem pracy było zbadanie wpływu grzybów z rodzaju *Trichoderma* na strukturę komórek i tkanek roślin papryki, sałaty, marchwi, ogórka i pomidora. W eksperymentach wykorzystano szczepy *Trichoderma*: T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9. Morfologię roślin analizowano przy użyciu stereoskopowego mikroskopu (Olympus SZX16) z zastosowaniem programu Cell<sup>^</sup>B do cyfrowej analizy obrazów i sporządzania dokumentacji fotograficznej. Do badań histologicznych i do badań mikromorfologii powierzchni, fragmenty korzeni i łodyg utrwalano w utrwalaczu CrAF (kwas chromowy, kwas octowy, formalina), odwodniono w etanolu, zatopiono w parafinie, pocięto i barwiono w safraninie i zieleni jasnej do analizy tkanek w mikroskopie świetlnym z polaryzacją (Nicon Eclipse 80i) i programem NIS Elements Br do wykonywania pomiarów i fotografii.

Badania struktury korzeni i łodyg wykazały zwiększoną, w porównaniu z kontrolą, lignifikację/drewnienie ścian komórkowych tkanek pod wpływem grzybów *Trichoderma* u wszystkich analizowanych gatunków warzyw. Proces lignifikacji obejmował głównie komórki naczyniowe i wzmacniające wiązki przewodzących ksylenu. Jednakże stopień lignifikacji tkanek był zróżnicowany w zależności od zastosowanego szczepu grzyba i gatunku rośliny. Zmiany te najbardziej zaznaczyły się u papryki po zastosowaniu szczepu T6. Porównawcze analizy i pomiary grubości warstwy ksylenu roślin pomidora, sałaty i ogórka ujawniły zmiany struktury wskazujące na najszybciej postępującą lignifikację komórek pod wpływem szczepów T2 i T7. Działanie różnych szczepów *Trichoderma* na stymulację procesu lignifikacji korzeni marchwi nie było tak jednoznaczne jak u pozostałych gatunków warzyw. Notowano znaczne różnice grubości pierścienia ksylenu między korzeniami w obrębie każdego obiektu. Pomiary średnicy komórek naczyniowych wykazywały jednak wyższe wartości dla korzeni rosnących w obecności grzybów *Trichoderma* niż w kontroli.

Lignifikacja, która jest uwarunkowanym genetycznie procesem wtórnego wzmacniania struktury ścian komórkowych zachodzi u niektórych gatunków roślin zielnych, w tym analizowanych warzyw i wskazuje na przyspieszenie procesów starzenia komórek, a tym samym stymulować może rozwój generatywny roślin i plonowanie.

Zwiększenie grubości ścian komórkowych na drodze lignifikacji może być też procesem korzystnym, ponieważ jego efekt stanowi potencjalną barierę dla patogenów odglebowych, sprawców chorób infekcyjnych wywoływanych m.in. przez *Fusarium* czy *Verticillium*.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## WPLYW WYBRANYCH SZCZEPÓW GRZYBÓW Z RODZAJU *TRICHODERMA* I DWÓCH METOD ICH APLIKACJI NA PLONOWANIE MARCHWI ORAZ ZAWARTOŚĆ NIEKTÓRYCH SKŁADNIKÓW MINERALNYCH W GLEBIE I ROŚLINIE

Kazimierz Felczyński, Waldemar Kowalczyk, Anna Felczyńska, Urszula Smolińska,  
Beata Kowalska, Danuta Witkowska, Anna Kancelista, Magdalena Szczech

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
kazimierz.felczynski@inhort.pl

Badania, których celem było poznanie wpływu wyselekcjonowanych szczepów grzybów z rodzaju *Trichoderma* i dwóch metod ich aplikacji na plonowanie marchwi i zawartość wybranych składników mineralnych w glebie i roślinie przeprowadzono w latach 2012 – 2014. Doświadczenia jednoczynnikowe, polowe, ściśle założono w układzie losowanych bloków, w 4 powtórzeniach, na Polu Doświadczalnym Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach. Badania przeprowadzono na średnio-późnej odmianie marchwi Nerac F<sub>1</sub> - firmy Bejo Zaden. Na poletkach wysiewano po 4 rzędy marchwi, przy czym do zbioru przeznaczono dwa środkowe. Szczepy *Trichoderma* oznaczone jako T1, T2 i T3 aplikowano dwoma metodami: doglebowo na nośniku organicznym organicznych, w formie oprysków nalistnych zawiesiną zarodników grzyba, w trakcie wegetacji marchwi. W obiektach kontrolnych nie stosowano grzybów *Trichoderma* lub stosowano sam nosnik organiczny. Aplikacje szczepów *Trichoderma* w formie oprysku prowadzono w pełni wegetacji marchwi, na przemian z fungicydem Amistar Opti w dawce 2,5 l/ha, w odstępach dwutygodniowych. W obiekcie kontrolnym dla tej metody aplikacji stosowano w tych samych terminach wyłącznie Amistar Opti.

Ulewne deszcze w trakcie wegetacji 2013 roku, zwłaszcza w początkowym jego okresie, spowodowały silne rozwidlanie korzeni marchwi wahające się od 24.0 d 52.6%, podczas gdy w 2012 roku nie przekroczyły 10%. W roku 2012 we wszystkich badanych obiektach uzyskano wyższe plony handlowe niż w nietraktowanej kontroli. Natomiast w latach 2013- 2014 wyższe plony handlowe, w porównaniu do kontroli, uzyskano w obiektach, w których szczepy *Trichodermy* aplikowano w formie opryskiwania na przemian z fungicydem Amistar Opti oraz w obiekcie z opryskiwaniem wyłącznie tym fungicydem. We wszystkich obiektach, w których stosowano preparaty doglebowo nośnik organiczny powodował obniżenie plonu w porównaniu do kontroli. Spośród badanych szczepów nieco lepsze wyniki uzyskano stosując szczep T3 niż T1 i T2. Porównując metody aplikacji grzyba *Trichoderma* bardziej efektywne okazało się opryskiwanie roślin niż stosowanie doglebowo na nośniku.

Materiał organiczny, w dalszym okresie wegetacji, na ogół wpływał jednak na zwiększenie zawartości podstawowych składników mineralnych zarówno w glebie jak i w roślinach marchwi, w porównaniu do kontroli. Nie zaobserwowano natomiast większego wpływu na odżywienie roślin grzybów *Trichoderma* obecnych na nośniku. Aplikacja szczepów *Trichoderma* w postaci oprysków również nie oddziaływała na zawartość składników mineralnych w glebie i roślinach marchwi.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## OKREŚLENIE STOPNIA WYKORZYSTYWANIA PRZEZ SZCZEPY BAKTERII ENDOFITYCZNYCH Z RODZAJU *AZOSPIRILLUM* KWASÓW FENOLOWYCH W PROCESIE WIĄZANIU WOLNEGO AZOTU

Anna Gałązka, Maria Król, Andrzej Perzyński

Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy  
agalazka@iung.pulawy.pl

W badaniach wykorzystano 12 szczepów bakterii *Azospirillum* spp., wyizolowanych wcześniej, a pochodzących z endoryzofery jęczmienia jarego (*Hordeum sativum*): 12/6, 1/7 i 15/7, kukurydzy (*Zea mays*): 4B, 23B, 35Bb, 48B, 77Bb1 i 83B, wydmuchrzy cy piaskowej (*Elymus arenarius*): 29S, 36S i 42S z wydm nadbałtyckich.

Szczepy bakterii *Azospirillum* spp. badano, określając wykorzystywanie kwasów fenolowych: kawowego, syringowego, p-kumarowego i ferulowego jako jedyne źródła węgla i energii, podczas wzrostu i wiązania azotu w ciągu 168 godzin w pożywce mineralnej, bezazotowej (Döbereiner i in. 1976, Döbereiner 1988) z tymi kwasami, w dawce  $5 \text{ g} \cdot 1000 \text{ cm}^{-3}$  z dodatkiem węglanu wapnia ( $\text{CaCO}_3$ ) w dawce  $3 \text{ g} \cdot 1000 \text{ cm}^{-3}$ . Bakterie po zmyciu solą fizjologiczną ze skosów ziemniaczanych były głodzone przez 15 h na pożywce bez źródła węgla (w celu wykorzystania zapasów endogennych), następnie przenoszono je na półpłynne podłoże z kwasem kawowym lub syringowym i oznaczano aktywność nitrogenazy. Aktywność nitrogenazy szczepów *Azospirillum* spp. oznaczano metodą redukcji acetyleny na chromatografie gazowej PAY UNICAM – 204 (detektor płomieniowo-jonizacyjny FID, kolumna szklana o długości 2,1 m, wypełnienie: Poropak Q 80-120 mesh., temperatury: dozownik –  $135^\circ\text{C}$ , detektor –  $125^\circ\text{C}$ , kolumna –  $60^\circ\text{C}$ , jako gaz nośny stosowano odtleniony azot, zawartość  $\text{O}_2$ : poniżej  $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Bakterie hodowano w kalibrowanych buteleczkach zawierających  $6 \text{ cm}^3$  bezazotowego, półpłynnego podłoża z kwasem i inkubowano przez 168 h w atmosferze 10-procentowego acetyleny w temperaturze  $30^\circ\text{C}$  (pojemność fazy gazowej:  $7 \text{ cm}^3$ ). Pomiary redukcji acetyleny do etyleny oznaczano po 2, 24, 48, 72, 86, 120, 144 i 168 h inkubacji. Hodowle prowadzono w trzech powtórzeniach w temperaturze  $30^\circ\text{C}$ . Jako kontrolę stosowano nieszczepione podłoża z kwasem i bez niego. Do oceny istotności różnic między szczepami wykorzystującymi kwasy fenolowe jako jedyne źródło węgla przy wiązaniu wolnego azotu wykorzystano wielokrotny test LSD.

Różnice aktywności nitrogenazy bakterii podczas hodowli, w czasie 168 h inkubacji, oceniono tym samym testem. Największe średnie wartości aktywności nitrogenazy szczepów bakterii *Azospirillum* spp. uzyskano w czasie 24 i 48 h inkubacji na podłożu z kwasem kawowym, ferulowym i kumarowym oraz w czasie 48 h w przypadku kwasu syringowego. Największą średnią aktywność nitrogenazy stwierdzono w przypadku szczepów wyizolowanych z endoryzofery jęczmienia: 1/7 (kwas ferulowy –  $824,32 \text{ nM C}_2\text{H}_4$  na  $1 \text{ h} \cdot \text{cm}^{-3}$  fazy gazowej) i 12/6 (kwas p-kumarowy  $594,14 \text{ nM C}_2\text{H}_4$  na  $1 \text{ h} \cdot \text{cm}^{-3}$ ) oraz szczepu pochodzącego z endoryzofery kukurydzy – 4B (kwas ferulowy  $715,14 \text{ nM C}_2\text{H}_4$  na  $1 \text{ h} \cdot \text{cm}^{-3}$ ).

Słowa kluczowe: kwasy fenolowe, *Azospirillum* spp., redukcja acetyleny

## DOLICHOL – NOWA NADZIEJA BIOKONTROLI

Sebastian Graczyk, Urszula Perlińska-Lenart, Wioletta Górka-Nieć, Patrycja Zembek,  
Sebastian Piłsyk, Joanna S. Kruszewska

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa  
s.graczyk@ibb.waw.pl

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* znane są jako organizmy wydzielające liczne enzymy hydrolityczne oraz związki o silnych właściwościach przeciwgrzybowych i antybakteryjnych. Właściwości te wykorzystywane są w procesie biokontroli.

Celem pracy było otrzymanie szczepów *Trichoderma* charakteryzujących się ulepszonymi właściwościami grzybobójczymi. W badaniach prowadzonych przez Zespół zauważono istotny związek pomiędzy glikozylacją białek a aktywnością i sekrecją enzymów hydrolitycznych. Uważa się, że ważnym czynnikiem regulującym procesy glikozylacji jest dostępność lipidowego nośnika reszt cukrowych, fosforanu dolicholu. Dolichol produkowany jest w szlaku mewalonowym przy udziale cis-prenylotransferazy. Transformacja *T. atroviride* drożdżowym genem *RER2* kodującym cis-prenylotransferazę spowodowała wzrost aktywności tego enzymu u transformantów i w efekcie podniesienie aktywności syntazy DPM i *N*-acetyloglukozaminotransferazy, dolicholo-zależnych enzymów procesów glikozylacji. Taki wzrost aktywności spowodował zwiększoną glikozylacją wydzielanych białek. W następstwie hiper-glikozylacji, enzymy hydrolityczne wydzielane przez transformanty (celulazy i chitynazy) były nawet dwukrotnie bardziej aktywne niż te wydzielane przez szczep rodzicielski. Dodatkowo transformanty wydzielały kilkukrotnie większe ilości substancji lotnych, w tym 6-pentylo- $\alpha$ -pyronu, którego działanie przeciwgrzybowe zostało udowodnione. Związek ten może być syntetyzowany z mewalonianu, który może być produkowany w zwiększonych ilościach przez transformanty, gdyż stwierdzono, że wzrost aktywności cis-prenylotransferazy uaktywnił wcześniejsze etapy szlaku mewalonowego.

Badania właściwości przeciwgrzybowych transformantów wykazały zwiększone hamowanie wzrostu roślinnych patogenów *Pythium ultimum* i *Rhizoctonia solani* w testach szalkowych. Badania roślin rosnących w ziemi zakażonej *Pythium ultimum* i chronionych szczepem kontrolnym wykazały, że tylko 43% nasion wykiełkowało podczas gdy nasiona chronione szczepami transformowanymi kiełkowały nawet w 84%. Stwierdziliśmy także, że rośliny chronione szczepami transformowanymi są o ponad 10% wyższe niż te chronione szczepem rodzicielskim.



## SIDEROFORY BAKTERYJNE WE WSPOMAGANIU WZROSTU ROŚLIN

Anna Grobelak, Anna Napora, Joanna Hiller

Politechnika Częstochowska

[agrobelak@is.pcz.czest.pl](mailto:agrobelak@is.pcz.czest.pl)

Bakterie zarówno endofityczne, jak i ryzosferowe są bezpośrednio lub pośrednio związane ze wzrostem roślin, szczególnie tych rosnących na terenach zdegradowanych, gdzie warunki wzrostu są bardzo ograniczone. Mikroorganizmy te określane są mianem PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria). Interakcje roślina– bakterie są szczególnie ważne w procesach fitoremediacji terenów zanieczyszczonych metalami ciężkimi. We wspomaganiu wzrostu roślin na terenach zdegradowanych szczególne znaczenie mają siderofory- wtórne metabolity produkowane przez bakterie w warunkach niskiej zawartości żelaza. Siderofory tworzą także kompleksy z pierwiastkami śladowymi, jak  $Cd^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  (Grobelak, Hiller, 2014).

Celem badań było określenie stopnia wytwarzania sideroforów przez bakterie endofityczne i ryzosferowe roślin rosnących na terenie zanieczyszczonym metalami ciężkimi (Cd, Zn, Pb). Celem badań było także określenie wpływu typu wytwarzanych sideroforów na wzrost roślin. Badania przeprowadzono na 3 gatunkach roślin: rzodkiewnik pospolity, kostrzewa czerwona, mietlica pospolita pochodzących z obszaru zanieczyszczonego metalami ciężkimi (okolice huty cynku). Łącznie wyizolowano 108 izolatów bakterii, z czego 35 izolatów stanowiły bakterie endofityczne po dezynfekcji korzeni przez 10 min (t10), 27 izolatów bakterie endofityczne po dezynfekcji korzeni przez 5 min (t5) oraz 46 izolatów bakterii ryzosferowych (czas dezynfekcji 0 min - t0). Na wyizolowanych bakteriach przeprowadzono jakościowe i ilościowe testy na produkcję sideroforów. W celu oznaczenia produkcji sideroforów przeprowadzono test CAS (Chrome Azurol Sulphonate), a następnie testy na ilościowe oznaczenie różnych grup sideroforów: typu katecholowego- test Arnows, typu hydroksymowego- test Csaksy, test Atkins oraz pomiar absorbancji przy długości fali 400 nm (Gupta i inni, 2007; Pal i Gokarn, 2010). Wśród wyizolowanych bakterii 42 izolaty-39%, dały pozytywny wynik w teście CAS, gdzie przeważającą liczbę stanowiły bakterie t0- 55%, natomiast najmniejszą liczbę izolatów produkujących siderofory stanowiły bakterie endofityczne z czasu t10- 16%. Dla trzech badanych gatunków roślin najwięcej bakterii wytwarzających siderofory związanych było z kostrzewą czerwoną, natomiast najmniej z mietlicą pospolitą. Przeprowadzone testy ilościowe wykazały, że najwyższe stężenia sideroforów wytwarzały bakterie ryzosferowe z czasu t0, natomiast najmniejsze stężenia sideroforów wytwarzały izolaty endofityczne. W toku badań wykazano, że bakterie endofityczne t10 wytwarzały odpowiednio 53% sideroforów katecholowych, 20% sideroforów hydroksymowych oraz 27% zarówno siderofory katecholowe jak i hydroksymowe. Izolaty t5 wytwarzały 37% sideroforów katecholowych, 42% sideroforów hydroksymowych oraz 21% wytwarzały zarówno siderofory katecholowe jak i hydroksymowe. Izolaty t0 wytwarzały 42,5% sideroforów katecholowych, 35% oraz 22,5% wytwarzały katecholowe jak i hydroksymowe siderofory. Wykazano, że rośliną, która najbardziej związana jest z bakteriami produkującymi siderofory jest kostrzewa czerwona. Jednakże najwyższe stężenie produkowanych sideroforów uzyskano dla bakterii ryzosferowych związanych z rzodkiewnikiem pospolitym, co tłumaczy cechy tej rośliny jako halofitu. Oznacza to, że wytwarzanie sideroforów bakteryjnych w dużym stopniu wpływa na zwiększony pobór metali z podłoża.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/03/N/NZ9/02034.

## WPLYW RODZAJU POŻYWKI NA PRODUKCJĘ ZARODNIKÓW GRZYBÓW *TRICHODERMA* W HODOWLACH W BIOREAKTORZE

Natalia Grochowina<sup>1</sup>, Danuta Witkowska<sup>1</sup>, Wojciech Łaba<sup>1</sup>, Regina Stempniewicz<sup>1</sup>,  
Anna Kancelista<sup>1</sup>, Magdalena Szczech<sup>2</sup>, Michał Piegza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

<sup>2</sup>Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

danuta.witkowska@up.wroc.pl

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* oceniane są jako alternatywa dla chemicznych preparatów stosowanych w rolniczej produkcji żywności. Elementem zaporowym w wielkoskalowej produkcji preparatów wydaje się nie tylko sama aktywność (działania antagonistyczne) preparatu opartego na jednym, czy kilku szczepach, ale szczególnie jego trwałość, łatwość przechowywania i rozprowadzania, a co za tym idzie opłacalność ekonomiczna. Jedną z możliwych dróg pozyskiwania trwałych preparatów zawierających grzybowe zarodniki wydaje się hodowla w podłożu płynnym, w teorii pozwalająca na stosunkowo prosty mechanizm uzyskiwania tych preparatów. Jednak w hodowlach w bioreaktorach jest mniejsze zużycie odpadów przemysłu rolniczego, w porównaniu z hodowlami w podłożu stałym (SSF), ale uzyskując biopreparat o odpowiedniej gęstości zarodników, można by z powodzeniem stosować go w warunkach polowych.

Prezentowana praca skupia się na ocenie pięciu podłoży płynnych, o zróżnicowanym składzie, szczególnie ze względu na stosunek węgla do azotu, oraz towarzyszące związki organiczne i mineralne, pod kątem wydajnej produkcji zarodników i biomasy przez wybrane szczepy dwóch gatunków *Trichoderma* (5 szczepów *T. atroviride* i 1 szczep *T. virens*). Stosunek węgla do azotu w zastosowanych podłożach kształtował się od 3,4:1 do 54,8:1, dodatkowo zbadano dla wybranego podłoża, wpływ jonów  $Ca^{+2}$ , jako istotny stymulator zarodnikowania u grzybów *Trichoderma*. Dziesięcio-dniowe hodowle prowadzono w bioreaktorze Biostat B Plus przy ciągłym mieszaniu 400 obr/min, napowietrzaniu 1 m<sup>3</sup>/min, pH=5,5 i temperaturze 25<sup>0</sup>C. Oceniano mikroskopowo liczbę zarodników oraz liczbę j.t.k. (na podłożu PDA z różem bengalskim).

Liczebność konidiów wykazana na zakończenie hodowli badanych szczepów kształtowała się na poziomie 10<sup>5</sup> - 10<sup>8</sup> konidiów w ml płynu pohodowlanego. Najwyższe ich wartości stwierdzono u większości badanych szczepów w podłożu zarówno GLU jak i GGB z  $Ca^{2+}$ . Równocześnie stwierdzono, że obecność jonów wapnia  $Ca^{2+}$  wpłynęła na zwiększenie gęstości zarodników średnio o jeden rząd logarytmiczny w odniesieniu do podłoża pozbawionego tych jonów. Największe zróżnicowanie w liczebności żywych komórek (jtk/g s.m.) w biomacie badanych szczepów, w zależności od rodzaju podłoża wykazano w hodowlach szczepów *T. atroviride*: SK 80 (10<sup>5</sup> -10<sup>9</sup> jtk/g s.m.) oraz szczepu SK 17 (10<sup>5</sup> -10<sup>7</sup> jtk/g s.m.), natomiast najmniejsze zróżnicowanie w hodowli szczepu SK49 (2,1\*10<sup>8</sup> – 4,2\*10<sup>8</sup> jtk/g s.m.).

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## WPLYW WYBRANYCH GRZYBÓW *TRICHODERMA* NA TRWAŁOŚĆ PRZECHOWALNICZĄ WYBRANYCH GATUNKÓW WARZYW

Maria Grzegorzewska<sup>1</sup>, Ewa Badełek<sup>1</sup>, Kazimierz Felczyński<sup>1</sup>,  
Kalina Sikorska-Zimny<sup>1</sup>, Agnieszka Stępowaska<sup>1</sup>, Paweł Szymczak<sup>2</sup>, Magdalena Szczech<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
maria.grzegorzewska@inhort.pl

<sup>2</sup>Grupa Producentów Warzyw PRIMAVEGA

Uzyskanie dobrego wyniku przechowania warzyw uzależnione jest z jednej strony od jakości warzyw kierowanych do przechowania, z drugiej zaś od warunków utrzymywanych w czasie całego okresu przechowywania.

Grzyby *Trichoderma* uznane są za mikroorganizmy chroniące rośliny przed chorobami jak również wspomagające wzrost i rozwój, czyli wpływające na jakość uzyskanego plonu. Przedmiotem badań przeprowadzonych w Instytucie Ogrodnictwa w latach 2013 – 2014 był wpływ stosowania grzybów *Trichoderma* na trwałość przechowalniczą ogórków, sałaty lodowej i marchwi.

W uprawie ogórka odmiany Śremski, w pierwszym roku grzyby *Trichoderma* zastosowano do zaprawiania nasion, dodano bezpośrednio do gleby na nośniku organicznym przed wysiewem nasion oraz w formie oprysku. Ogórki przechowywano przez 3 tygodnie w temperaturze 12°C. Zaprawianie nasion wpłynęło na pogorszenie trwałości przechowalniczej ogórków ze względu na większe gnicie i szybsze przebarwienie skórki. Zastosowanie szczepów *Trichoderma* bezpośrednio do gleby na nośnikach organicznych, miało wpływ na utrzymanie lepszej zdrowotności owoców, a tym samym lepszej ich trwałości przechowalniczej. W następnym roku po 3 tygodniach przechowania tylko nieliczne owoce zachowywały cechy towaru handlowego ze względu na objawy starzenia (przebarwienia skórki) i gnicie. Najlepszą jakość stwierdzono w obiekcie, w którym w czasie wegetacji zastosowano *Trichoderma* w formie oprysku.

Sałata przeznaczona do przechowania pochodziła z produkcji komercyjnej i z Pola Doświadczalnego IO z uprawy na zbiór jesienny. Główki przechowywano przez okres 3-4 tygodni w temperaturze 0°C. W 2013 r sałata uprawiana u producenta, traktowana *Trichoderma* wykazała lepszą trwałość w czasie przechowywania, bowiem po 4 tygodniach składowania uzyskano od 6,6 do 26,5 % towaru handlowego więcej niż w obiekcie kontrolnym. W następnym roku procent towaru handlowego po 3 tygodniach przechowania z obiektów traktowanych *Trichoderma* był podobny jak z obiektu kontrolnego. Sałata traktowana *Trichoderma*, uprawiana na polu doświadczalnym IO zarówno w pierwszym jak i w drugim roku uprawy nie wykazała poprawy trwałości przechowalniczej.

Marchew 'Nerac F<sub>1</sub>' przechowywano przez okres 8 miesięcy w temperaturze 0°C. W pierwszym roku badań wyraźnie mniej korzeni chorych, nadgniętych i zgniętych stwierdzono po przechowaniu marchwi potraktowanej dwoma szczepami *Trichoderma* na nośniku organicznym. W następnym roku najwięcej towaru handlowego uzyskano w obiekcie, w którym zastosowano *Trichoderma* w formie zaprawiania nasion.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

**WZAJEMNE ODDZIAŁYWANIA POMIĘDZY SZCZEPAMI *FUSARIUM* SPP.  
(*F. AVENACEUM*, *F. CULMORUM*, *F. GRAMINEARUM*,  
*F. OXYSPORUM*, *F. SPOROTRICHOIDES*)  
A SZCZEPAMI *TRICHODERMA* SPP. (*T. HARZIANUM*, *T. KONINGII* I *T. REESEI*)**

Jolanta Jaroszuk-Ścisiel<sup>1</sup>, Artur Nowak<sup>1</sup>, Elżbieta Patkowska<sup>2</sup>,  
Sabina Lipionoga<sup>1</sup>, Magdalena Rola<sup>1</sup>

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy, Lublin

[jolanta.jaroszuk-scisel@poczta.umcs.lublin.pl](mailto:jolanta.jaroszuk-scisel@poczta.umcs.lublin.pl)

Oddziaływania szczepów patogenicznych oraz populacji mikroorganizmów ryzosferowych i endofitycznych warunkowane są wieloma mechanizmami i czynnikami. Konieczne jest uwzględnianie w tych relacjach oddziaływania obu partnerów. Efekt biotyczny pomiędzy dwudziestoma czterema szczepami *Trichoderma* należącymi do gatunków *T. harzianum*, *T. koningii* i *T. reesei* oraz siedmioma patogenicznymi szczepami należącymi do gatunków *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum* i dziewięcioma niepatogenicznymi szczepami *Fusarium* z gatunków *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum* i *F. sporotrichoides* oszacowano na podłożu Martina i PDA. Wzrost siedmiu patogenicznych szczepów *Fusarium* spp. hamowało ok. 70% szczepów *Trichoderma* spp. przy czym jednocześnie patogeniczne szczepy *Fusarium* hamowały wzrost 30% szczepów *Trichoderma*. Wzrost patogenicznych szczepów *Fusarium* na podłożu Martina hamowało ok. 66% a na podłożu PDA 82% szczepów *Trichoderma*. Wyższy procent dodatniego efektu biotycznego zaobserwowany na podłożu PDA, na którym wszystkie szczepy *T. harzianum* hamowały wzrost wszystkich siedmiu szczepów *Fusarium* spp., wskazuje na znaczącą rolę substancji antybiotycznych w tej interakcji. Wzrost patogenicznych szczepów *F. culmorum* hamowało 69% i 89% szczepów *Trichoderma* spp., odpowiednio na podłożu Martina i PDA, *F. graminearum* 62% i 83% a *F. oxysporum* 65% i 71%. Wzrost poszczególnych patogenicznych szczepów *Fusarium* spp. hamowany był przez 0-60% (średnio 31%) niepatogenicznych szczepów *Fusarium* spp. na podłożu Martina i 13-93% (średnio 65%) na podłożu PDA. Na podłożu PDA wzrost wszystkich testowanych szczepów patogenicznych był hamowany przez kilka szczepów niepatogenicznych głównie z gatunków *F. culmorum*, *F. oxysporum* i *F. avenaceum*. Natomiast patogeniczne szczepy *Fusarium* hamowały wzrost ok. 60% ryzosferowych szczepów *Fusarium*. Zwykle wzrost szczepu hamującego wzrost patogena na jednym podłożu był hamowany przez szczep patogeniczny na drugim podłożu.

Zdolność do syntezy chitinazy,  $\beta$ -1,3-glukanazy i proteazy miało odpowiednio 45%, 63% i 85% testowanych szczepów *Trichoderma* spp. oraz 31%, 69% i 81% szczepów *Fusarium* spp. co wskazuje na możliwość hamowania przez nie wzrostu na drodze mykolizy. Wszystkie testowane szczepy *Trichoderma* spp. i *Fusarium* spp. syntetyzowały związki kompleksujące  $Fe^{3+}$  i związki fenolowe, co stwarza możliwość hamowania wzrostu patogenów poprzez mechanizm oglądania ich z  $Fe^{3+}$ .

Praca finansowana ze środków na naukę w ramach projektu badawczego BS 11-1100-0000

## WPLYW WYBRANYCH SZCZEPÓW *TRICHODERMA* NA ZMIANY W METABOLIZMIE ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH W ROŚLINACH OGÓRKA (*CUCUMIS SATIVUS L.*)

Katarzyna Jas<sup>1</sup>, Kamil Jarosiński<sup>1</sup>, Justyna Nawrocka<sup>1</sup>, Magdalena Szczech<sup>2</sup>,  
Kazimierz Felczyński<sup>2</sup>, Urszula Małolepsza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Łódzki; nawrocka.justyna88@gmail.com

<sup>2</sup>Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* są jednymi z najefektywniejszych czynników kontroli biologicznej (BCAs). Wprowadzenie ich do uprawy może zmniejszyć konieczność stosowania chemicznych środków ochrony roślin. Stanowią one dużą szansą dla zintegrowanego rolnictwa, w którym poza dbałością o wielkość plonu znaczną uwagę przywiązuje się do jego dobrej jakości, korzystnego wpływu na zdrowie człowieka, przy jak najmniejszej szkodliwości dla środowiska. Grzyby *Trichoderma* znane są jako mikroorganizmy wspomagające wzrost i zwiększające odporność roślin na choroby infekcyjne. W interakcjach różnych roślin z *Trichoderma* często obserwuje się zwiększenie syntezy, kumulację i utlenianie związków fenolowych takich jak np. fitoaleksyny, ligniny. Związki te mogą wykazywać bezpośrednie działanie antypatogenne, biorą również udział w tworzeniu metabolicznych i strukturalnych barier uniemożliwiających lub ograniczających rozprzestrzenianie się patogenów. Właściwości antyoksydacyjne oraz estrogenowe związków fenolowych takich jak np. flawonoidy i antocyjaniny powodują, że są one pożądanymi składnikami produktów spożywczych.

Prezentowane badania miały na celu ocenę wpływu wybranych, polskich szczepów grzybów *Trichoderma* na zmiany w aktywności amoniakolizazy L-feniloalaniny (PAL), enzymu rozpoczynającego szlak biosyntezy związków fenolowych; badano ponadto stężenie związków fenolowych: fenoli całkowitych (FC), *o*-dihydroksyfenoli (oDF), fenylopropanoidów (FP), flawonoidów (FL) i antocyjanin (AC) w roślinach ogórka (*Cucumis sativum L.*) uprawianych w warunkach polowych. Zastosowano różne metody aplikacji grzybów *Trichoderma*: jako zaprawa nasienna, zawiesina do oprysku roślin oraz doglebowo. Badania wykazały, że niezależnie od sposobu aplikacji, traktowanie roślin *Trichoderma* powodowało zmiany w metabolizmie związków fenolowych. Wzrosty w aktywności enzymatycznej PAL odnotowano w roślinach wyhodowanych z nasion zaprawianych TRS25 oraz opryskiwanych zawiesiną zarodników tych grzybów. Aplikacja doglebowa TRS25 także skutkowała ponad dwukrotnym, w stosunku do kontroli, wzrostem aktywności enzymu; jeszcze silniejszy wzrost aktywności PAL odnotowano w roślinach uprawianych w podłożu traktowanym TRS106. Rośliny ogórka traktowane *Trichoderma* charakteryzowały się wyższą zawartością związków fenolowych. Wyraźne wzrosty stężenia FC obserwowano w roślinach traktowanych TRS25 zarówno w formie zaprawy nasiennej jak i rosnących w glebie z dodatkiem tych grzybów, podczas gdy najsilniejsza kumulacja oDF miała miejsce w roślinach poddanych działaniu TRS106. Traktowanie roślin zarodnikami badanych szczepów *Trichoderma* w formie zaprawy nasiennej i zawiesiny do oprysku roślin skutkowało wzrostem stężenia fenylopropanoidów, podczas gdy stężenie flawonoidów i antocyjanin w roślinach ogórka wzrastało po potraktowaniu *Trichoderma* niezależnie od sposobu ich aplikacji. Badane szczepy grzybów *Trichoderma* wydają się być dobrymi stymulatorami syntezy związków fenolowych w roślinach ogórka, co może zwiększać ich odporność na biotyczne i abiotyczne czynniki stresowe oraz podnosić wartość odżywczą plonów.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## PRODUKCJA ZARODNIKÓW PRZEZ WYBRANE SZCZEPY *TRICHODERMA* W BIOREAKTORZE W ZALEŻNOŚCI OD INTENSYWNOŚCI MIESZANIA HODOWLI

Joanna Koniuszewska<sup>1</sup>, Michał Piegza<sup>1</sup>, Wojciech Łaba<sup>1</sup>, Regina Stempniewicz<sup>1</sup>,  
Anna Kancelista<sup>1</sup>, Magdalena Szczech<sup>2</sup>, Danuta Witkowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu; [michal.piegza@up.wroc.pl](mailto:michal.piegza@up.wroc.pl)

<sup>2</sup>Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* od dłuższego czasu znajdują się w kręgu zainteresowania w szeroko pojętym przemyśle rolno-spożywczym, ze względu na idealne właściwości antagonistyczne wobec fitopatogennych mikroorganizmów. Tym samym, jako biopestycyd, stanowiąc mogą alternatywę dla środków chemicznych, o udowodnionych, negatywnych właściwościach zdrowotnych, równocześnie wpływając pozytywnie na rozwój roślin uprawnych, jako istotny stymulator ich wzrostu. Żeby jednak móc stosować biopreparat zawierający grzyby *Trichoderma* w pierwszej kolejności należy dopracować metodę wytwarzania, przechowywania, a następnie aplikowania określonego szczepu o preferowanych cechach. Jednym z najprostszych sposobów wydaje się uzyskanie preparatu zawierającego odpowiednio dużą gęstość konidiów grzybowych. Najczęściej stosuje się w tym celu hodowle grzybów w podłożu stałym (SSF), prowadząc produkcję zarodników w przerośniętych grzybnią podłożach. Do produkcji zarodników można też wykorzystać inny typ hodowli, tzw. hodowle w podłożu płynnym, prowadząc je na wstrząsarkach lub w bioreaktorach.

W niniejszych badaniach skoncentrowano się na produkcji zarodników przez 2 szczepy grzybów z rodzaju *Trichoderma* (*T. atroviride* SK 80 i *T. harzianum* SK 75) w hodowlach węglnych w bioreaktorze Biostat B Plus, opierając się na dwóch podłożach hodowlanych o zróżnicowanym składzie, w tym szczególnie, o różnym stosunku węgla do azotu (GLU 10,5:1; GGB 3,8:1 z jonami Ca<sup>2+</sup>). Media hodowlane sterylizowano w standardowych warunkach bezpośrednio w bioreaktorze o objętości roboczej 2000 ml. Hodowle prowadzono przy stałym natlenianiu (2 m<sup>3</sup>/min, pH=5,5, temp.=25<sup>0</sup>C, zmieniając jedynie poziom intensywności mieszania w zakresie 0-800 obrotów przez 10 dni. Ogólną liczbę zarodników oceniano mikroskopowa, natomiast ich żywotność z wykorzystaniem metody płytkowej na podłożu PDA z różem bengalskim.

We wszystkich przeprowadzonych hodowlach badanych szczepów uzyskano produkcję zarodników na poziomie 10<sup>7</sup> - 10<sup>8</sup> /ml. Ilość ta nie korelowała w pełni z żywotnością uzyskanych zarodników, bowiem ilość jednostek tworzących kolonie w 1 gramie mokrej biomasy, uzyskanej po odwirowaniu hodowli, kształtowała się na poziomie niższym o minimum cztery rzędy logarytmiczne.

Zróżnicowanie w intensywności mieszania mechanicznego, w niewielki sposób wpłynęło na produkcję żywych komórek (jtk/g s.m.) obu badanych szczepów. Szczep *T. harzianum* SK 75 w podłożu GLU przy zwiększonych obrotach, produkował więcej biomasy (1,1\*10<sup>5</sup>- 4,8\*10<sup>5</sup> jtk/g s.m.) niż w hodowli bez użycia mieszadła (2,8\*10<sup>4</sup>), natomiast w podłożu GGB, największą ilość żywych komórek (9,8\*10<sup>6</sup> jtk/g s.m.) oznaczono przy wyłączonym mieszadle mechanicznym, a jedynie w warunkach wymuszonego mieszania przez stałe napowietrzenie (2m<sup>3</sup>/min). Szczep *T. atroviride* SK 80 w podłożu GGB przy wysokiej intensywności mieszania (800 obr/min) osiągnął wzrost na poziomie 8,3\*10<sup>5</sup> jtk/g s.m., czyli prawie 2 krotnie więcej niż w hodowli bez mieszania mechanicznego.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

**WPLYW INOKULACJI WELNY MINERALNEJ GRZYBAMI  
Z RODZAJU *TRICHODERMA* NA DOSTĘPNOŚĆ WYBRANYCH SKŁADNIKÓW  
POKARMOWYCH W STREFIE KORZENIOWEJ POMIDORA**

Waldemar Kowalczyk, Anna Felczyńska, Jacek Dyśko, Magdalena Szczech

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
waldemar.kowalczyk@inhort.pl

W latach 2013 -2014 przeprowadzono badania, których celem była ocena wpływu szczepów *Trichoderma* na dostępność składników pokarmowych i stan odżywienia roślin pomidora szklarniowego uprawianego w węglinie mineralnej. Badano wpływ dwóch pojedynczych szczepów oznaczonych jako T1 i T3 oraz ich mieszanin w proporcji 1:1. Izolaty te porównywano z komercyjnym preparatem Trianum oraz z kontrolą, w której nie stosowano grzybów *Trichoderma*. Pomidory odmiany Growdena F<sub>1</sub> uprawiane były w warunkach szklarniowych w cyklu przedłużonym. We wszystkich badanych obiektach stosowano pożywkę nawozową o tym samym składzie mineralnym dozowaną z tą samą częstotliwością. Raz w miesiącu pobierano wyciągi pożywek z mat uprawowych oraz próby liści pomidora do analiz chemicznych. We wszystkich badanych obiektach stwierdzono właściwą dostępność składników pokarmowych i prawidłowy stan odżywienia roślin. Nie stwierdzono istotnego wpływu badanych szczepów *Trichoderma* na zmiany zawartości składników mineralnych zarówno w obrębie rizosfery jak również w roślinach. Jednak podczas inokulacji węgliny mineralnej szczepem T1, w pożywce pobieranej z mat uprawowych oznaczano większe zawartości żelaza i manganu. Mikroelementy te w obydwu latach badań w tym obiekcie utrzymywały się na nieznacznie większym poziomie w porównaniu do pozostałych obiektów z innymi grzybami *Trichoderma* oraz w stosunku do kontroli. W obiekcie tym zauważono również tendencję lepszego odżywienia roślin pomidora niektórymi składnikami mineralnymi. Rośliny te charakteryzowały się większą zawartością azotu, potasu i żelaza.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## ELEMENTY FITOMONITORINGU W OCENIE SKUTECZNOŚCI POLSKICH SZCZEPÓW *TRICHODERMA SP.* W UPRAWIE WARZYW

Artur Kowalski, Agnieszka Stębowska, Magdalena Szczec  
Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice; artur.kowalski@inhort.pl

Narzędziem wspierającym nowoczesne badania naukowe dedykowane praktyce ogrodniczej jest monitoring zarówno stanu zdrowotności i odżywienia roślin, jak również środowiska abiotycznego, które ma bezpośredni wpływ na ich rozwój.

Pełny fitomonitoring oznacza sukcesywne gromadzenie danych w zakresie kilkudziesięciu parametrów dotyczących rośliny, mikro i pedoklimatu, zarówno tych najprostszych (np. wysokość roślin, plon, temperatura powietrza, wilgotność podłoża) jak i procesów wewnętrznych. Niestety badania takie są długotrwałe i nie zawsze dają bezpośrednią i szybką odpowiedź. Dopiero szczegółowe powiązanie wszystkich elementów pozwala nie tylko ocenić stan uprawy, ale również w przyszłości przewidywać reakcje roślin na zmieniające się warunki. Obecny stan wiedzy z zakresu fizjologii roślin, umożliwia stosowanie nowoczesnych metod pomiarowych, dlatego w projekcie „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, podjęto próbę ich wykorzystania do oceny stanu roślin i chociaż wyniki badań nie dały jeszcze pełnego obrazu zależności to na pewno nas do nich zbliżają. W skład aparatury do monitoringu wchodziły m.in. takie urządzenia jak: przenośny skaner powierzchni liści AM 300, porometr typu SC-1, chlorofilomierz CCM-200 Plus oraz spektrometr Black Comet. Badaniami objęto następujące gatunki: pomidor, papryka (pod osłonami) oraz sałata, marchew, cebula, ziemniak (w warunkach polowych).

Za pomocą przenośnego skanera powierzchni liści AM 300 prowadzono bezinwazyjne pomiary wielkości blaszek liściowych, które umożliwiały ocenę różnic tego parametru w poszczególnych kombinacjach. Kolejnym urządzeniem wchodzącym w skład aparatury do monitoringu był chlorofilomierz CCM-200 Plus. Dzięki niemu możliwa była ocena wpływu różnych szczepów grzybów z rodzaju *Trichoderma* na względną zawartość chlorofilu w liściach. Porównując zawartość tego barwnika w badanych obiektach ze standardowo wybarwionym liściem danego gatunku można uzyskać ocenę stanu zdrowia rośliny (odpowiedni poziom syntezy chlorofilu), oraz podjąć ewentualne kroki w przypadku, kiedy jego zawartość jest zbyt niska. Porometr SC-1 wykorzystywano do oceny przewodności porowej liści, która jest funkcją rozmiaru, zagęszczenia oraz stopnia otwarcia aparatów szparkowych. Zastosowanie tego urządzenia, umożliwiło ocenę warunków świetlnych, w których uprawiane były rośliny. Porównanie odczytów dla różnych obiektów pozwalało określić wpływ badanego czynnika na stan uwodnienia tkanek. Określenie czasu najwyższej transpiracji, dawało możliwość lepszego sterowania nawadnianiem, a co za tym idzie również odżywieniem roślin.

W badaniach podjęto również próbę oceny stopnia wybarwienia owoców papryki za pomocą Spektrometru Black Comet, który umożliwia precyzyjne i nieinwazyjne określenie tego parametru na podstawie pomiaru wartości transmisji i odbicia światła. Wyniki uzyskiwano w formie współrzędnych  $a^*$  i  $b^*$  z zakresu -90 do +90 w przestrzeni barw CIELAB "circle", gdzie  $a^*$ : -90 = zielony lub +90 = czerwony,  $b^*$ : -90 = niebieski lub +90 = żółty. Dzięki zastosowaniu tego urządzenia możliwe było uzyskanie precyzyjnych danych, określających stopień wybarwienia owoców papryki.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.



## IDENTYFIKACJA I OCENA ZRÓŻNICOWANIA GENETYCZNEGO BAKTERII GLEBOWYCH *PSEUDOMONAS* SPP. Z UŻYCIEM TECHNIK MOLEKULARNYCH

Anna Lisek, Lidia Sas Paszt, Paweł Trzciniński

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

[anna.lisek@inhort.pl](mailto:anna.lisek@inhort.pl)

Bakterie z rodzaju *Pseudomonas* są często komponentami bioproduktów przeznaczonych do poprawiania kondycji gleby i roślin. Zastosowanie bakterii *Pseudomonas* w bioproduktach wymaga pozyskania, charakterystyki oraz selekcji pożytecznych szczepów glebowych. Warunkiem koniecznym przy selekcji szczepów bakterii przeznaczonych do wzbogacenia bioproduktów jest możliwość szybkiej i precyzyjnej identyfikacji izolatów. Do identyfikacji i oceny podobieństwa genetycznego 15 izolatów bakterii pozyskanych z gleby z okolic korzeni wiśni zastosowano technikę rep-PCR, analizę restrykcyjną genu 16S rRNA, operonu 16S-ITS-23S rRNA oraz analizę sekwencji genu 16S rRNA. Przeprowadzone testy umożliwiły podział izolatów na cztery grupy oraz określenie ich przynależności do gatunków *Pseudomonas* spp. Największe zróżnicowanie izolatów uzyskano po zastosowaniu techniki rep-PCR. Analiza RFLP operonu 16S-ITS-23S rRNA pozwoliła uzyskać większe zróżnicowanie izolatów niż RFLP genu 16S rRNA. Żadna z zastosowanych technik nie pozwoliła jednak rozróżnić wszystkich izolatów, co wskazuje na bardzo wysokie podobieństwo genetyczne izolatów *Pseudomonas* pochodzących z tej samej próby gleby rizoferowej wiśni. Przeprowadzone testy znajdują zastosowanie do odróżniania i identyfikacji szczepów *Pseudomonas* pozyskiwanych z gleby w celu selekcji najbardziej wartościowych szczepów bakterii korzystnie oddziałujących na rośliny.

Badania wykonano w ramach projektu 'Opracowanie innowacyjnych produktów i technologii dla ekologicznej uprawy roślin sadowniczych', współfinansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka.

## DOBÓR PARAMETRÓW LIOFILIZACJI I CZYNNIKÓW OSŁONOWYCH DO UTRWALANIA DWÓCH IZOLATÓW GRZYBÓW STRZĘPKOWYCH *TRICHODERMA SP.*

Wojciech Łaba<sup>1</sup>, Danuta Witkowska<sup>1</sup>, Justyna Klepacz<sup>1</sup>, Anna Kancelista<sup>1</sup>,  
Michał Piegza<sup>1</sup>, Magdalena Szczech<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

<sup>2</sup>Instytut Ogrodnictwa  
wojciech.laba@up.wroc.pl

Liofilizacja jest metodą często stosowaną do utrwalania istotnych technologicznie kultur mikroorganizmów, ze względu na zapewnienie wysokiej żywotności liofilizatów, długiego czasu ich przechowywania oraz zachowanie istotnych cech biochemicznych. Zastosowanie tej metody wymaga zazwyczaj wstępnej optymalizacji, ponieważ uzyskane efekty zależą w dużym stopniu od utrwalanego szczepu.

Celem przeprowadzonych badań był dobór podstawowych parametrów procesu liofilizacji w celu zapewnienia optymalnej przeżywalności dwóch izolatów grzybów strzępkowych: *Trichoderma harzianum* SK 75 i *Trichoderma atroviride* SK49. Dobór parametrów obejmował analizę żywotności zawiesiny konidiów przy zastosowaniu różnych metod wstępnego mrożenia, przy różnych sposobach suszenia sublimacyjnego oraz w obecności różnych czynników osłonowych na bazie 10% mleka odtłuszczonego. Proces liofilizacji prowadzono przez okres 22-24 godzin, przy wyjściowej temperaturze suszenia -36°C (ciśnienie 0,20 mBar).

W efekcie wytypowano warunki procesu korzystne dla przeżywalności szczepów *T. harzianum* SK 75 oraz *T. atroviride* SK49. W przypadku obu badanych szczepów korzystny był sposób mrożenia wstępnego, polegający na powolnym chłodzeniu zawiesin na półce liofilizatora, do temperatury -36°C. Spośród wariantów suszenia sublimacyjnego wskazany byłby zarówno najprostszy sposób liofilizacji w stałej temperaturze (-36°C), jak i przy dwufazowym dosuszaniu (-36°C, -10°C i +5°C). Zaobserwowano ponadto, że końcowa wilgotność liofilizatów powyżej 5% jest korzystna dla przeżywalności konidiów badanych grzybów strzępkowych. Spośród środków osłonowych, dla obu badanych szczepów najkorzystniejsze okazało się użycie 10% odtłuszczonego mleka z dodatkiem 7% fruktozy, przy czym dla szczepu *T. atroviride* SK49 10% mleko lub 10% mleko z 7% maltodekstryny dawało również pozytywne efekty.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## AKUMULACJA OŁOWIU W BIOMASIE TRAWY *FESTUCA OVINA* UPRAWIANEJ W GLEBIE ZANIECZYSZCZONEJ ZWIĄZKAMI OŁOWIU

Małgorzata Majewska

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin  
majewska@poczta.umcs.lublin.pl

Istotnym efektem odtworzeniem szaty roślinnej na terenie skażonym jest ochrona gleby przed erozją jak również przywrócenie piękna krajobrazu. Wybór rośliny o danym typie odpowiedzi fizjologicznej determinuje rodzaj stosowanej techniki fitoremediacyjnej (np. fitoekstrakcja lub fitostabilizacja). O skuteczności fitoremediacji decyduje: 1) tolerancja roślin na dany metal i jego akumulacja w biomacie; 2) właściwości fizykochemiczne gleby i poziom jej skażenia; oraz 3) aktywność i różnorodność mikroorganizmów ryzosferowych. Mikroorganizmy produkując takie związki jak fitohormony, witaminy, związki zwiększające biodostępność pierwiastków biogennych i mikroelementów są w stanie stymulować wzrost, rozwój i odporność roślin na metale ciężkie.

Celem prowadzonych badań było określenie przeżywalności szczepu *Trichoderma koningii* Ag0 w glebie zanieczyszczonej Pb (250 mg · kg<sup>-1</sup>SM gleby), jego wpływu na wzrost kosterwey owczej (*Festuca ovina* var. Bornito) oraz akumulację Pb w korzeniach i częściach nadziemnych tej trawy, jak również oznaczenie dystrybucji wprowadzonego do gleby metalu między frakcje wyznaczone metodą sekwencyjnej ekstrakcji. Glebę (piasek słabo-gliniasty) umieszczono w 6 seriach doniczek: **K** – gleba niemodyfikowana; **Tk** – gleba szczepiona wodną zawiesiną zarodników *T. koningii* (10 000 jtk g<sup>-1</sup> SM gleby), **A-Pb** – gleba zanieczyszczona PbO; **A-Pb-Tk** – gleba zanieczyszczona PbO i szczepiona zarodnikami; **B-Pb** – gleba zanieczyszczona Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; **B-Pb-Tk** – gleba zanieczyszczona Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> i szczepiona zarodnikami. Do każdej doniczki wysiano 100 ± 10 nasion trawy a następnie inkubowano w kontrolowanych warunkach wilgotności, temperatury oraz długości dnia i nocy przez 4 miesiące.

Szczep *T. koningii*, wprowadzony zarówno do gleby niezanieczyszczonej jak i zanieczyszczonej ołowiem, zasiedlił ryzosferę *F. ovina* osiągając liczebność około 1 400 000 jtk g<sup>-1</sup> SM gleby. Ołów, bez względu na formę w jakiej został wprowadzony do gleby, ograniczył kiełkowanie nasion oraz obniżył produkcję biomasy przez *F. ovina*. Jednak korzenie i części nadziemne trawy rosnącej w glebie A-Pb-Tk i B-Pb-Tk osiągnęły większą masę niż roślin uprawianych w glebie nieszczepionej (A-Pb i B-Pb). Zaobserwowano również wydajniejszą całkowitą akumulację ołowiu w korzeniach i częściach nadziemnych roślin uprawianych w glebie szczepionej zarodnikami *T. koningii*. Wprowadzony do gleby ołów w formie PbO i Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> odzyskiwano podczas sekwencyjnej ekstrakcji we frakcjach stabilnych: 90% metalu stwierdzono we frakcji tlenkowej (ekstrahowanej 1M roztworem hydroksyloaminy), 3% we frakcji organicznej (związanej z glebową substancją organiczną) a 6% w tzw. frakcji resztkowej. Udział frakcji biodostępnej (ekstrahowanej 0,1M NaNO<sub>3</sub>) stanowił mniej niż 1% ogólnej puli metalu obecnego w glebie. Dystrybucja Pb pomiędzy wyznaczone frakcje nie zmieniła się po 4-miesięcznej uprawie roślin.

Uzyskane wyniki sugerują, że szczep *T. koningii* może być brany pod uwagę jako czynnik biologiczny stymulujący wzrost roślin podczas fitostabilizacji ołowiu w glebach zanieczyszczonych tym metalem.

Badania finansowane ze środków na naukę w ramach projektu BS-11-1100-0000

## STAN MIKROBIOLOGICZNY GLEBY POD UPRAWĄ BURAKÓW CUKROWYCH NA TERENACH ZACHODNIEJ UKRAINY

Agnieszka Mocek-Płóćiniak<sup>1</sup>, Agnieszka Wolna-Maruwka<sup>1</sup>, Katarzyna Głuchowska<sup>1</sup>,  
Justyna Starzyk<sup>1</sup>, Waldemar Spsychalski<sup>1</sup>, Dima Kostarev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,

<sup>2</sup> Agriculture Analyst, Zakhidnyi Buh Private Company, Ukraine

[agam-p@up.poznan.pl](mailto:agam-p@up.poznan.pl)

Celem badań było określenie liczebności podstawowych grup mikroorganizmów glebowych: ogólnej liczebności heterotroficznych bakterii, promieniowców i grzybów (metodą płytkową Kocha) oraz aktywności dehydrogenaz, fosfatazy zasadowej, ureazy i katalazy (metodą spektrofotometryczną) w glebie pod uprawą buraków cukrowych na terenach zachodniej Ukrainy. W czerwcu 2013 roku z 17 punktów należących do 4 typów glebowych (rędziny czarnoziemne, gleba płowa, brunatna i czarnoziemy), z głębokości 0-20 cm pobrano próbki glebowe, a następnie w każdej z nich (w pięciu powtórzeniach) oznaczono wybrane właściwości mikrobiologiczne oraz fizyczno-chemiczne (skład granulometryczny – metodą areometryczną Bouyoucosa w modyfikacji Prószyńskiego, węgiel organiczny i azot ogółem na autoanalyzerze Vario-Max CNS, odczyn w wodzie destylowanej i elektrolicie 1 molowego KCl). Wyniki oznaczeń mikrobiologicznych i fizyczno-chemicznych poddano obliczeniom statystycznym wykorzystując program STATISTICA 11.0. Pod względem klasy bonitacyjnej analizowane gleby zaklasyfikowano według kryteriów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 12 września 2012 roku w sprawie gleboznawczej klasyfikacji gruntów od klas I do IVa. Przeważającymi grupami granulometrycznymi (według Klasyfikacji uziarnienia PTG-2009) w poziomach wierzchnich były utwory pyłowe ilaste. Odczyn analizowanego materiału zmierzony w elektrolicie 1M KCl wynosił od 4,46 do 7,35, natomiast mierzony w H<sub>2</sub>O wahał się w granicach 5,70 do 8,08. Zawartość węgla organicznego wynosiła od 0,8 do 3,8%, co w przeliczeniu odpowiadało zawartości humusu na poziomie od 1,38 do 6,55%, a ilości azotu ogólnego wahały się w granicach od 0,088% do 0,592%. Stosunek C:N w większości próbek glebowych był wyrównany, gdyż mieścił się w przedziale 8,0:11,0. Świadczy to o dość dużej aktywności biologicznej panującej w poziomach wierzchnich badanych gleb. Przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie, iż najwyższą ogólną liczebnością bakterii heterotroficznych charakteryzowały się czarnoziemy, natomiast w glebach płowych występowało najwięcej promieniowców, a w rędzinach czarnoziemnych wykazano najwyższą liczebność grzybów. Analizując aktywność biologiczną gleby stwierdzono, iż najwyższy poziom wszystkich badanych enzymów odnotowano w glebie brunatnej. Stopień korelacji pomiędzy badanymi cechami zależał od typu gleby, niemniej jednak najsilniejszą korelację stwierdzono w przypadku gleby brunatnej i czarnoziemów.

## OTRZYMYWANIE EGZOPOLISACHARYDÓW RÓŻNYCH GATUNKÓW GRZYBÓW NALEŻĄCYCH DO RODZAJU *FUSARIUM* I *PENICILLIUM*

Artur Nowak, Jolanta Jaroszuk-Ściśeł, Ewa Ozimek, Anna Słomka, Małgorzata Majewska

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

e-mail: [artur.nowak@poczta.umcs.lublin.pl](mailto:artur.nowak@poczta.umcs.lublin.pl)

Egzopolisacharydy (EPS) szczepów grzybowych należących do *Ascomycota* mogą być rozpatrywane jako ważny czynnik kształtujący typ interakcji tych szczepów z rośliną. Zdolność do wytwarzania EPS opisano dotąd u nielicznych gatunków i pojedynczych szczepów *Fusarium*: *F. moniliforme* (*Giberella fujikuroi*), *F. coccophilum*, *F. solani*, *F. oxysporum*, przy czym nie została ona opisana dla gatunku *F. culmorum*. EPS otrzymano dotąd z hodowli nielicznych szczepów należących do rodzaju *Penicillium*, np.: *P. vermiculatum*, *P. citrinum*, *P. paraphergal*. Udowodnione zostały elicytorowe właściwości szczepu Dzf17 *F. oxysporum* w stosunku do komórek roślinnych (*Dioscorea zingiberensis*). Poznanie roli EPS w różnorodnych procesach wymaga doskonalenia technik ich otrzymywania, oczyszczania oraz badania ich właściwości.

Celem badań było określenie różnic zdolności wybranych szczepów *Fusarium* i *Penicillium* do wytwarzania EPS wytrącanych poprzez precypitację etanolową z płynów pohodowlanych.

Określono warunki (źródło węgla, skład podłoża i temperaturę inkubacji) optymalne do uzyskiwania EPS z hodowli trzech różnie oddziałujących (PGPF, DRMO, patogen) na wzrost roślin zbożowych endofitycznych szczepów *F. culmorum*. Na optymalnym dla wytwarzania EPS podłożu Czapek-Dox z 3% sacharozą i 0.75% peptonem w temperaturze 20°C prowadzono hodowlę trzech szczepów należących do rodzaju *Penicillium* (gatunki: *P. chrysogenum*, *P. janthinellum*, *P. lanosum*).

Zaobserwowano wyraźne różnice w zdolności do syntezy EPS i dynamice tej syntezy pomiędzy trzema szczepami *F. culmorum* oraz trzema szczepami *Penicillium* spp. w płynach uzyskanych od 2. do 11. dnia inkubacji. Obecność EPS wykrywano w płynach pohodowlanych szczepów *Penicillium* przez cały okres hodowli w odróżnieniu od hodowli szczepów *Fusarium*. EPS *F. culmorum* otrzymywano z płynów pohodowlanych uzyskiwanych do 10. dnia hodowli szczepu DRMO, do 6. dnia hodowli patogena i tylko w drugim dniu hodowli szczepu PGPF. Szczep DRMO *F. culmorum* i patogen z tego gatunku wytwarzał EPS w najwyższym stężeniu w 3. dniu hodowli. Szczep *P. janthinellum* syntetyzował EPS w najwyższych stężeniach w 2. i 5. dniu hodowli, *P. lanosum* w 8. i 9. dniu hodowli a szczep *P. chrysogenum* w 8. dniu hodowli. Stężenie EPS w uzyskanych płynach pohodowlanych *Fusarium* i *Penicillium* nie przekraczało 0.1%. Patogeniczny *F. culmorum* syntetyzował EPS w najwyższym stężeniu ze wszystkich badanych szczepów. Patogen syntetyzował wyższe stężenia EPS niż szczep DRMO i PGPF: odpowiednio ok. 0.8, 0.5 i 0.03 mg w przeliczeniu na 1 ml płynu hodowlanego oraz 44, 33 i 7 mg w przeliczeniu na g s.m. grzybni. Szczepy *P. lanosum*, *P. janthinellum* i *P. chrysogenum* syntetyzowały odpowiednio ok. 0.5, 0.23 i 0.18 mg w przeliczeniu na 1 ml płynu hodowlanego oraz 28, 27 i 5 mg w przeliczeniu na g s.m. grzybni.

Praca finansowana ze środków na naukę w ramach projektu badawczego BS-11-1100-D011 „Młoda kadra i doktoranci” 2014

## POŻYTECZNE BAKTERIE W MIKROROZMNAŻANIU ROŚLIN

Teresa Orlikowska, Katarzyna Nowak, Aleksandra Trzewik

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

teresa.orlikowska@inhort.pl

Kultury roślinne *in vitro* kojarzą się przede wszystkim ze sterylnością. Niespełnienie tego wymogu powoduje, że mikroorganizmy, które mają krótki cykl życiowy, mogą całkowicie zdominować kulturę roślinną. Jeśli jednak prześledzimy przebieg ewolucji, a w szczególności pojawienie się roślin, to nabierzemy przekonania, że rośliny bez bakterii żyć nie mogą. Sukces ewolucyjny roślin był możliwy w wyniku wielokrotnej endosymbiozy cyjanobakterii a następnie zielonych alg z heterotroficznymi eukariontami i euglenidami. Endosymbionty przekształciły się w częściowo autonomiczne chloroplasty. Organizm roślinny nie mógł i nie może przemieszczać się w poszukiwaniu pożywienia, musi więc sam je produkować, a więc być samożywym.

Wracając do kultur *in vitro*... Należy pogodzić się z faktem, że na żadnym etapie kultury *in vitro*, eksplantaty roślinne nie są całkowicie sterylne. Wydaje się, że takie eksplantaty nie mogłyby funkcjonować, nawet gdyby niektóre produkty metabolizmu endogennych bakterii można by było zastąpić dodatkami do pożywki. Wiele z tych bakterii jest pełnymi endosymbiontami i ich życie poza rośliną i poza komórką nie jest możliwe. Z tego powodu nie można ich wyizolować, są one „non cultivable”. Są wśród nich bakterie/bakteriosomy bytujące specyficznie w określonych tkankach a nawet komórkach, także merystematycznych, skąd są przekazywane do kolejnych pokoleń generatywnych i wegetatywnych. Pełna wiedza na temat tego rodzaju symbiozy nie jest znana.

Bakterie zasiedlające powierzchnie i wnętrza eksplantatów roślinnych można przyporządkować do trzech grup: patogeniczne, zanieczyszczenia i pożyteczne. Te pierwsze nie mogą być tolerowane i w przypadku ich stwierdzenia, kultury muszą być usunięte. O zanieczyszczeniach bakteryjnych mówimy wtedy, kiedy bakterie nie są czynnikami wywołującymi choroby roślin, ale w warunkach *in vitro* mogą całkowicie skolonizować eksplantaty, uniemożliwiając im wzrost bądź powodować rozmaite vitropatie, które często przypominają tzw. choroby fizjologiczne. Wreszcie, bakterie pożyteczne to takie, które mogą wspomagać wzrost i rozmnażanie, umożliwiać organo- i embriogenezę, a także ułatwiać aklimatyzację mikroślim do warunków *ex vitro*. Geny tych bakterii kodują powstawanie wielu metabolitów podstawowych i wtórnych, w tym enzymów, roślinnych regulatorów wzrostu i szeregu związków pełniących role sygnałne i obronne przed stresami bio- i abiotycznymi. Bardzo często bakterie te są wyspecjalizowane w zasiedlaniu specyficznych roślin, które je tolerują lub „zachęcają” do zasiedlenia i odwrotnie, kiedy wobec innych bakterii rośliny uruchamiają procesy obronne.

Wykorzystanie tzw. pożytecznych bakterii do zwiększenia wydajności mikrorozmnażania zostało po raz pierwszy przedstawione w 1987 roku. Do tej pory zanotowano wiele takich prób, a niektóre są bardzo obiecujące, także w indukcji organogenezy i embriogenezy somatycznej. Ważne jest badanie aplikacyjnego stosowania takich bakterii, które mogą kolonizować i wchodzić w interakcje „pożyteczne” z wieloma gatunkami roślin. Taką uniwersalną bakterią wydaje się m.in., *Burkholderia phytofirmans* PsJN™, która wykazała pozytywny wpływ na kultury takich roślin, jak ziemniak, pomidor, winorośl, ryż, proso, malina, oregano i inne.

## OPRACOWANIE METODY MULTIPLEX-PCR PRZYDATNEJ DO WYKRYWANIA I MONITOROWANIA *TRICHODERMA* W GLEBIE

Michał Oskiera<sup>1</sup>, Magdalena Szczech<sup>1</sup>, Grzegorz Bartoszewski<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

<sup>2</sup> Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

[michal.oskiera@inhort.pl](mailto:michal.oskiera@inhort.pl)

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* mogą korzystnie wpływać na wzrost roślin chroniąc je przed grzybami patogennymi. Z tego też względu grzyby te są wykorzystywane w rolnictwie jako środki biologicznej ochrony roślin. Stosowanie preparatów biologicznych podczas uprawy roślin wymaga jednak potwierdzenia obecności wprowadzanych do gleby mikroorganizmów. Istotne są również informacje jak długo mikroorganizmy te utrzymują się w glebie gdyż pomaga to w ustaleniu częstości stosowania biopreparatów. W związku z tym podjęto próbę opracowania metody opartej o PCR umożliwiającej wykrywanie i monitoring *Trichoderma* w warunkach uprawy polowej. Wykonano doświadczenia, w których przed wysadzeniem sałaty aplikowano dogłębowo mieszaninę szczepów *T. atroviride* i *T. harzianum*. Doświadczenie polowe przeprowadzono w trzech powtórzeniach, w latach 2012 (jedno doświadczenie) i 2013 (dwa doświadczenia). Próby gleby pobierano z poletek w minimum trzech terminach: przed aplikacją *Trichoderma*, w trakcie uprawy sałaty oraz po zebraniu roślin. Aby potwierdzić obecność *T. atroviride* i *T. harzianum* w próbach gleby, opracowano metodę multiplex-PCR. Zaprojektowano startery PCR gatunkowo-specyficzne dla *T. atroviride* oraz *T. harzianum* (sensu stricto). Opracowane startery testowano w różnych kombinacjach ze starterami PCR uniwersalnymi dla grzybów i najlepsze układy zastosowano w pojedynczej reakcji multiplex-PCR. Liczebność *Trichoderma* w glebie monitorowano także metodami klasycznymi, poprzez zliczanie jednostek tworzących kolonie (jtk), uzyskanych na podłożu mikrobiologicznym z dodatkiem rózu bengalskiego, na którym posiano, odpowiednio rozcieńczone próbki gleby. Analizy multiplex-PCR potwierdziły obecność *T. atroviride* i *T. harzianum* we wszystkich próbach gleby pobranych po aplikacji *Trichoderma*, natomiast przed aplikacją analizowanych grzybów nie wykryto. Wyniki uzyskane metodą multiplex-PCR i klasyczną metodą mikrobiologiczną były zgodne, co potwierdziło, że nowo opracowane metody multiplex-PCR są odpowiednie do wykrywania *T. atroviride* oraz *T. harzianum* w glebie.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## MONITOROWANIE *TRICHODERMA* W ŚRODOWISKU GLEBOWYM Z ZASTOSOWANIEM SEKWENCJONOWANIA WYSOKOPRZEPUSTOWEGO ILLUMINA MISEQ

Michał Oskiera<sup>1</sup>, Magdalena Szczech<sup>1</sup>, Grzegorz Bartoszewski<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

<sup>2</sup> Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

[michal.oskiera@inhort.pl](mailto:michal.oskiera@inhort.pl)

Szybki postęp w rozwoju wysokoprzepustowych metod sekwencjonowania DNA (NGS) niesie ze sobą wiele nowych możliwości badania środowiska naturalnego. Takie badania mogą dostarczać informacji o populacjach mikroorganizmów na niewyobrażalną kilka lat temu skalę. W badaniach środowiskowych NGS umożliwia poznanie składu gatunkowego populacji mikroorganizmów w glebie, bez konieczności ich odszczepiania i namnażania w warunkach laboratoryjnych. W badaniach środowiskowych wykorzystywane jest kilka platform NGS: pirosekwencjonowanie 454, Illumina, a także Ion Torrent. W celu określenia przydatności podejścia metagenomicznego do monitorowania *Trichoderma* w glebie podczas uprawy sałaty wykorzystano platformę Illumina MiSeq. Przed wysadzeniem sałaty do gleby wprowadzono mieszaninę grzybów *T.atroviride* i *T.harzianum*. Następnie pobrano reprezentatywne próbki gleby z poletek doświadczalnych przed aplikacją *Trichoderma*, podczas uprawy sałaty oraz po zbiorze roślin. Z prób gleby wyizolowano DNA i wykorzystano do amplifikacji regionu ITS grzybów oraz bakteryjnego zmiennego regionu V4 16S rDNA. Amplikony PCR dla każdej z 24 prób oczyszczono i wykorzystano do skonstruowania indeksowanych bibliotek, które zmieszano ze sobą, a następnie zsekwencjonowano metodą Illumina MiSeq (Genomed S.A., Warszawa). Z zastosowaniem narzędzi bioinformatycznych wykonano taksonomiczną klasyfikację uzyskanych sekwencji oraz porównano skład gatunkowy populacji bakterii i grzybów przed i po zastosowaniu mieszanek *Trichoderma*. Wyniki analiz bioinformatycznych potwierdziły, że populacja grzybów w trakcie uprawy sałaty została silnie zdominowana przez aplikowane izolaty *T. atroviride* i *T. harzianum*. Nie stwierdzono wpływu aplikacji grzybów *Trichoderma* na strukturę populacji bakterii. Wykonane badania wykazują, że nowe technologie sekwencjonowania są przydatne do monitorowania grzybów w środowisku glebowym.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.



## ZASTOSOWANIE MATERIAŁÓW ORGANICZNYCH JAKO NOŚNIKA MIKROORGANIZMÓW URUCHAMIAJĄCYCH P I K W PRODUKCJI ROZSADY KAPUSTY GŁOWIASTEJ

Ewa Ozimek, Anna Słomka, Małgorzata Majewska, Bogusław M. Kaszewski,  
Jolanta Jaroszuk-Ścisiel

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin  
e-mail: [ozimek@poczta.umcs.lublin.pl](mailto:ozimek@poczta.umcs.lublin.pl)

Z materiałów organicznych skomponowano nośnik o składzie: preparat handlowy „ziemia uniwersalna” 84% w/w, lignit 11% w/w i wióry bukowe 5% w/w, pozwalający na immobilizację na nim zarodników szczepów grzybowych oraz kontrolowane wprowadzenie zarodników do gleby. Składniki nośnika–Lignit (Betrans sp. z o.o.) i „ziemia uniwersalna” (PPHU Arex)–nie hamowały kiełkowania nasion. Badane materiały nośnikowe nie hamowały również wzrostu żadnego ze szczepów grzybowych z rodzaju *Penicillium* uruchamiających fosfor z jego różnych związków (PS-grzyby, ang. Phosphate Solubilizing). Grzyby PS z rodzaju *Penicillium*: *P. chrysogenum* (szczepy 26 i 46) i *P. lanosum* (szczepy 7, 23 i 29) zastosowano przy produkcji rozsady kapusty „Kamienna Głowa” (*Brassica oleracea* L. convar *capitata* odmiana późna) w warunkach polowych (gleba-pył gliniasty). Nasiona kapusty opłaszczono nośnikiem zaszczipionym mieszaniną zarodników każdego z wyselekcjonowanych szczepów PS wprowadzonych w jednakowej ilości ( $5 \cdot 10^5$  komórek/g s.m. nośnika). Rośliny hodowano od początku kwietnia przez 35 dni (okres optymalny do pełnego wykształcenia sadzonek kapusty) w 2012 i w 2013 roku.

Celem doświadczenia było zwiększenie w glebie biodostępnej frakcji P i K (pierwiastków biogennych) przy produkcji rozsady kapusty głowiastej z zastosowaniem szczepów grzybowych z rodzaju *Penicillium* oraz przetestowanie wpływu szczepienia na zawartość Zn w tkankach roślin.

Wprowadzenie mieszanki szczepów grzybowych PS spowodowało wzrost (średnio o 17%) zawartości K w tkankach roślin, a także wzrost stężenia biodostępnego P w glebie (średnio o 2,8%). Zawartość P w tkankach roślin szczepionych oraz nieszczepionych w obu sezonach wegetacyjnych była porównywalna. Wzrost (o 5,6%) całkowitej suchej masy roślin szczepionych nie był istotny statystycznie. Całkowita zawartość Zn w roślinach oraz w glebie roślin szczepionych była istotnie wyższa w doświadczeniu przeprowadzonym w 2012 roku. W tym samym roku zastosowanie mieszanki szczepów grzybowych z rodzaju *Penicillium* nie spowodowało istotnego wzrostu ogólnej liczebności grzybów, grzybów PS ani wzrostu liczebności form wegetatywnych i przetrwalnych kopiotrofów i oligotrofów w glebie ryzosferowej roślin. Natomiast w glebie ryzosferowej roślin szczepionych w 2013 roku ogólna liczebność grzybów zwiększyła się istotnie statystycznie podobnie jak liczebność grzybów PS.

Praca finansowana ze środków na naukę w ramach projektu badawczego BS 11-1100-0000

## ZAGOSPODAROWANIE WYCIERKI ZIEMNIACZANEJ JAKO NOŚNIKA DROBNOUSTROJÓW

Marta Paślawska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

[marta.paslawska@up.wroc.pl](mailto:marta.paslawska@up.wroc.pl)

Wycierka ziemniaczana stanowi odpad po produkcji skrobi ziemniaczanej i jest często deponowanym na składowiskach odpadów, niewykorzystanym źródłem biomasy „nieleśnej”. Mokra pulpa ziemniaczana to mieszanina skórki i miazgi komórkowej, i ze względu na wysoką wilgotność (87%) oraz bogaty skład chemiczny (zawiera skrobię (4,8%), błonnik roślinny (4,9%) oraz białko (0,5%)), jest bardzo nietrwała fizycznie, chemicznie i biochemicznie oraz podatna na zakażenia liczną mikroflorą. Sposobem na zatrzymanie wszelkich przemian i zakażeń jest odwodnienie wycierki ziemniaczanej bezpośrednio po procesie produkcji skrobi ziemniaczanej. Suchą wycierkę ziemniaczaną można natomiast wykorzystać do różnych celów - jako dodatek do żywności wysokobłonnikowej, jako surowiec energetyczny lub jako nośnik drobnoustrojów. Granulat wycierki ziemniaczanej zawierający unieruchomione komórki drobnoustrojów, mógłby stanowić wygodną w dystrybucji i użyciu szczepionkę dla przemysłu spożywczego, fermentacyjnego, a także w biologicznych metodach ochrony środowiska.

Dostępne aktualnie na rynku suche szczepionki (startery) to zazwyczaj liofilizaty-preparaty uzyskane na drodze suszenia sublimacyjnego zamrożonej próbki. Popularność liofilizatów wynika z przekonania, że charakteryzują się najwyższą czystością mikrobiologiczną i aktywnością biotechnologiczną, trwałością przechowalniczą oraz łatwością rehydracji. Liofilizacja jest jednak metodą kosztowną i czasochłonną, a w przypadku niektórych szczepów drożdży i grzybów strzępkowych, źle znoszących zamrażanie i wielogodzinne odwadnianie, nie zapewnia uzyskania starterów najlepszej jakości. Metodami alternatywnymi mogą być: odwadnianie pod obniżonym ciśnieniem z nagrzewaniem mikrofalowym lub suszenie w złożu fontannowym. Podczas suszenia mikrofalowo-próżniowego woda usuwana jest z próbki w sposób łagodny w niskiej temperaturze, ale z dużą intensywnością, ponieważ energia mikrofal dostarczana jest do całej objętości cząstki. W trakcie suszenia w złożu fontannowym cząstki materiału unoszone są przez strumień powietrza, w temperaturze zapewniającej intensywne odwadnianie przy zachowaniu wysokiej żywotności utrwalonej populacji komórek.

Celem przeprowadzonych doświadczeń była ocena możliwości zastosowania granulatu wysuszonej wycierki ziemniaczanej jako nośnika wybranych szczepów drożdży podczas suszenia w złożu fontannowym oraz suszenia mikrofalowo-próżniowego.

Wycierkę ziemniaczaną pozyskaną z przemysłu ziemniaczanego rozdrobniono, uformowano w cząstki o kształcie walca o średnicy 3,5mm i wysokości 7mm, a następnie wysuszone w złożu fontannowym (temperatura powietrza 110°C, prędkość powietrza w zakresie od 5 do 11 m/s tak, aby złożo o zmieniającej się wilgotności utrzymywać w fazie stabilnego fontannowania.). Na tak wytworzony nośnik naniesiono zawiesinę wybranych szczepów drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i poddano suszeniu w złożu fontannowym (temperatura powietrza suszącego 60°C, prędkość powietrza suszącego 5-11m/s) oraz suszeniu mikrofalowo-próżniowemu (240 W, 2-4 kPa) do momentu uzyskania suszu o wilgotności 6%. Żywotność komórek drożdży analizowano mikroskopowo w trakcie suszenia oraz po zakończonym procesie.

Stwierdzono, że wycierka ziemniaczana w postaci granulatu, stanowi dobry nośnik do unieruchamiania drożdży, ponieważ wysuszone preparaty drożdżowe charakteryzowały się wysoką żywotnością komórek po ponownej rehydracji (87-93%).

## TRANSPORTER SIARCZANOWY AstA U GRZYBA *FUSARIUM SAMBUCINUM* W ASPEKCIE INFEKcji I KOLONIZACJI ZIEMNIAKA

Sebastian Piłsyk<sup>1</sup>, Hanna Gawińska-Urbanowicz<sup>2</sup>, Marzena Sieńko<sup>1</sup>,  
Renata Natorff<sup>1</sup>, Joanna S. Kruszewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa

<sup>2</sup>Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin (IHAR), Bonin

Seba@ibb.waw.pl

Białko AstA (Alternative Sulfate Transporter) reprezentuje nieznaną dotychczas typ transportera dla siarczanu, należącego do słabo poznanej rodziny permeaz alantoinianowych Da15 [1]. Gen kodujący białko AstA ulega ekspresji w warunkach głodu siarkowego u *Aspergillus nidulans*. Najbliższe homologe tego genu występują u często niespokrewnionych ze sobą grzybów w większości z taksonu *Pezizomycotina*, których wspólną cechą, poza nielicznymi wyjątkami, jest patogenność wobec roślin. Są to głównie patogeny roślin uprawnych, reprezentowane min. przez gatunki: *Fusarium graminearum* (*Giberella zeae*), *F. verticillioides* (*Giberella moniliformis*), *F. oxysporum*, *Nectria haematococca* (*Fusarium solani*), *Verticillium alfalfae*, *V. dahliae*, *Septoria musiva*, *Leptosphaeria maculans*. Homolog AstA występuje też w celulozowym gatunku *Chaetomium globosum*, wyrządzającym znaczne szkody w przemyśle papierniczym, u oportunistycznego ludzkiego patogena *Neosartorya fischeri*, u nieszkodliwej *Podospora anserina* występującej w odchodach kopytnych zwierząt roślinożernych (krowa, koń), jak i u entomobiokontrolnych gatunków *Metarhizium* (zielona muskardyna).

Grupa grzybów *Fusarium*: *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum* czynią poważne szkody w uprawach ziemniaków, a środki ochrony roślin podnoszą koszty uprawy. Zasadniczym problemem w walce z grzybowymi patogenami roślin jest zbyt duże podobieństwo metaboliczne oraz białkowe patogenów względem gospodarza.

Celem projektu jest określenie funkcji jaką pełni AstA w procesie infekcyjności i zasiedlania roślinnego gospodarza przez patogena grzybowego *F. sambucinum*. Transkrypt genu *FsastA* ulega znaczącej derepresji w zainfekowanych bulwach ziemniaka i jest regulowany podobnie jak jego ortolog z *A. nidulans*. Analiza molekularna cytoplazmatycznej pętli transportera wykazała udział konserwowanych reszt lizyny w transporcie siarczanu. Wyjaśnienie biologicznej funkcji transportera AstA pozwoli zrozumieć przystosowania metaboliczne patogena podczas infekcji rośliny i wyznaczyć nowe miejsca uchwytu dla potencjalnych fungicydów.

1. Piłsyk, S., Natorff, R., Sieńko, M., Paszewski, A. „Sulfate transport in *Aspergillus nidulans*: A novel gene encoding alternative sulfate transporter”. (2007) *Fungal Genet Biol.* 44(8):715–725.

## SYMBIO BANK – KOLEKCJA POŻYTECZNYCH MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH

Lidia Sas Paszt, Beata Sumorok, Anna Lisek, Edyta Derkowska, Paweł Trzciniński,  
Aleksandra Bogumił, Anton Harbuzov, Sławomir Głuszek, Eligio Malusa  
Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice; lidia.sas@inhort.pl

Ważną częścią projektu o akronimie ‘EkoTechProdukt’, który jest realizowany w Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach, jest założenie i utrzymanie Banku Mikroorganizmów Symbiotycznych o nazwie SYMBIO BANK. Zgromadzony materiał wyizolowanych zarodników grzybów mikoryzowych i bakterii PGPR pochodzi z ekologicznych sadów i plantacji w Polsce Centralnej oraz terenów Bieszczad i Białowieży. Aby odróżnić ponad 80 izolatów bakterii *Pseudomonas* i bakterie rozpuszczające związki fosforu, pozyskanych z gleby w strefie korzeniowej jabłoni i wiśni, zastosowano technikę rep-PCR w oparciu o analizę polimorfizmu DNA. Badania pozwoliły na wyselekcjonowanie szczepów bakterii, które różniły się lub należały do tego samego szczepu. Do wykrywania arbuskularnych grzybów mikoryzowych (AMF) w korzeniach roślin truskawki zastosowano technikę reakcji zagnieżdżonego PCR opartą na amplifikacji fragmentów dużej podjednostki genu rybosomalnego (LSU rDNA) przy użyciu specyficznych starterów. Dziesięć szczepów bakterii o najbardziej pożytecznych zdolnościach zidentyfikowano i scharakteryzowano za pomocą systemu BIOLOG i stosowano w dalszych badaniach przesiewowych w warunkach szklarniowych. Badania wskazują, że trzy szczepy (*Ps49A* – *Pseudomonas fluorescens*, *Pi3A* i *Pi5A* – *Rahnella aquatilis*) wpływają na zwiększenie wzrostu roślin truskawek.

Kolekcja w SYMBIO BANK zawiera: zarodniki wyizolowane z gleby następujących gatunków roślin: truskawki 18,0 tys., jabłoni 10,5 tys., wiśni 1,5 tys., gruszy 14,0 tys., poziomki 9,0 tys.; Izolaty bakterii: *Pseudomonas fluorescens* – 300, produkujące siderofory – 500, rozpuszczające związki fosforu – 200, trawiące celulozę – 40, wytwarzające zarodniki – 110, wiążące azot atmosferyczny – 100, *Actinomycetes* – 100; Izolaty grzybów mikroskopijnych – 50, w tym *Trichoderma* sp. – 30. Kultury pułapkowe stosowano do wyizolowania i identyfikacji zarodników następujących gatunków arbuskularnych grzybów mikoryzowych: *Ambispora fennica*, *A. gerdemannii*, *Gigaspora margarita*, *Glomus aggregatum*, *G. caledonium*, *G. claroideum*, *G. constrictum*, *G. drummondii*, *G. fasciculatum*, *G. macrocarpum*, *G. microaggregatum*, *G. mosseae*, *G. pallidum*, *G. rubiforme*, *Scutellospora dipurpurescens*. Zidentyfikowane gatunki i szczepy grzybów AMF i bakterii PGPR są skatalogowane i przechowywane w Banku Mikroorganizmów Symbiotycznych o nazwie SYMBIO BANK (przechowywane w konserwacji kriogenicznej (gliceryna) w temperaturze -80°C). Uruchomiona zostanie strona internetowa SYMBIO BANKu, która będzie zawierać wykaz izolatów przechowywanych w kolekcji oraz ich opisy, co będzie służyć jako źródło najważniejszych informacji do identyfikacji gatunków grzybów AMF i bakterii PGPR. Przyczyni się to do poszerzenia wiedzy o różnorodności biologicznej tych symbiontów i pomoże w sformułowaniu mikrobiologicznie wzbogaconych bioproduktów do stosowania w praktyce sadowniczej. Najbardziej skuteczne szczepy i gatunki mikroorganizmów zostaną zarejestrowane w Polsce jako inokula bakteryjno-mikoryzowe do stosowania w produkcji owoców oraz w fitoremediacji zanieczyszczeń metalami ciężkimi.

Utworzenie SYMBIO BANKu przyczyni się do zrozumienia i utrzymania różnorodności biologicznej tych symbiontów, powiększy wiedzę o ich biologii i ekologii, jak również przyczyni się do rozwoju ekologicznych technologii nawożenia roślin ogrodniczych i ochrony środowiska naturalnego oraz zdrowia ludzkiego.

Badania wspierane są przez dotacje z Funduszu Rozwoju Regionalnego UE w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Umowa nr UDA-POIG.01.03.01-10-109/08-00.

## ZASTOSOWANIE SZCZEPIONEK MIKROBIOLOGICZNYCH W UPRAWIE SZALWII LŚNIĄCEJ (*SALVIA SPLENDENS* BUC'HOZ EX ETL)

Anita Schroeter-Zakrzewska, Agnieszka Wolna-Maruwka

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

[anitazak@up.poznan.pl](mailto:anitazak@up.poznan.pl)

Celem przeprowadzonego doświadczenia była ocena wzrostu i kwitnienia szalwii lśniacej (*Salvia splendens* Buc'hoz ex Etl) 'Saluti Red' traktowanej szczepionkami mikrobiologicznymi.

Do badań wykorzystano dostępny na rynku preparat EM (Efektywne Mikroorganizmy) oraz szczepionkę mikrobiologiczną przygotowaną w Katedrze Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, którą oznaczono symbolem BPG<sub>1</sub> (Bakterie-Promieniowce-Grzyby). W skład biopreparatu wchodziło 15 szczepów bakterii, 5 promieniowców wyizolowanych z dojrzałego kompostu, sporządzonego na bazie resztek roślinnych i osadu ściekowego oraz 4 szczepów grzyba *Trichoderma harzianum*, pochodzącego z kolekcji Instytutu Genetyki Roślin w Poznaniu.

Preparaty rozcieńczano w wodzie wodociągowej, w celu uzyskania stężeń 1:10, 1:50, 1:100 i aplikowano w dwojaki sposób: dolistnie, doglebowo, oraz łącznie dolistnie i doglebowo, jednak zawsze w ilości 10 ml na roślinę.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zastosowane szczepionki wywarły wpływ na jakość roślin. Dzięki zastosowaniu szczepionki BPG<sub>1</sub> uzyskano obficie kwitnące i ulistnione rośliny. Natomiast preparat EM przyczynił się do uzyskania wyższych roślin o ciemniejszym zabarwieniu liści.

## WPLYW PARAMETRÓW PROCESU NA STABILIZACJĘ TLENOWĄ (KOMPOSTOWANIE) ODPADÓW

Przemysław Seruga, Małgorzata Krzywonos, Marta Wilk, Aniceta Ślęczka, Daniel Borowiak

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu

[przemyslaw.seruga@ue.wroc.pl](mailto:przemyslaw.seruga@ue.wroc.pl)

Kompostowanie to biologiczny rozkład i stabilizacja substancji organicznych zachodzący w obecności tlenu, którego głównymi produktami ubocznymi są przede wszystkim dwutlenek węgla, woda i ciepło.

Stabilizacja tlenowa jest procesem odgrywającym dużą rolę w gospodarce odpadami. Składowiska odpadów wypełniają się w alarmującym tempie, w rezultacie czego coraz więcej uwagi poświęca się problemom związanym z zagospodarowaniem odpadów stałych. Podjęte przez Polskę, wraz z wejściem do Unii Europejskiej (w 2004 r.) zobowiązania dotyczące zapewnienia zredukowania masy odpadów komunalnych biodegradowalnych przeznaczonych do składowania o 35% do 16 lipca 2020 r. (w stosunku do ilości biodegradowalnych odpadów wytworzonych w 1995 r.) wymagały rozwinięcia mechaniczno-biologicznego przetwarzania zmieszanych odpadów komunalnych (MBP) i koncentracji na recyklingu i stabilizacji tlenowej jako sposobach ograniczania ilości odpadów trafiających na składowisko.

Kompostowanie uznawane jest za najlepsze rozwiązanie, umożliwiające stabilizację biologiczną odpadów organicznych, a także przy spełnieniu określonych warunków, przetworzenie substancji organicznej w użyteczny produkt. 11 września 2012 r. Minister Środowiska określił wymagania prawne odnośnie tlenowej stabilizacji frakcji organicznej wydzielonej ze zmieszanych odpadów komunalnych w Rozporządzeniu (Dz. U. z 2012 r. poz. 1052). Jednym z nich jest, aby proces był prowadzony przez przynajmniej dwa tygodnie w zamkniętych bioreaktorach.

Kompostowanie, niezależnie od zastosowanej technologii intensywnej stabilizacji w zamkniętej instalacji, jest procesem wywoływanym przez mikroorganizmy obecne w biologicznie czynnych odpadach. Na efektywność tego procesu wpływa mają przede wszystkim: jakość przygotowanego wsadu, warunki prowadzenia procesu oraz monitorowanie i sterowanie procesem.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu parametrów procesu takich jak: napowietrzanie, nawadnianie, mechaniczne przerzucanie materiału w reaktorze i czas prowadzenia procesu na efektywność stabilizacji tlenowej frakcji biologicznej wydzielonej ze zmieszanych odpadów komunalnych.

Do przeprowadzenia planu eksperymentu i analizy wariancji ANOVA wykorzystano moduł Statystyki Przemysłowe, Planowanie Doświadczeń (DOE) programu STATISTICA StatSoft, ver. 10. Materiał poddawany stabilizacji pochodził z frakcji odpadów komunalnych wydzielanej w jednej z Regionalnych Instalacji Przetwarzania Odpadów Komunalnych na terenie Dolnego Śląska. Zastosowano plan eksperymentu ( $2^4$ ) ze zmiennymi: X1- napowietrzanie, X2- nawadnianie, X3- mechaniczne przerzucenie, X4- czas procesu, których wartości wynikały z planu. Stopień stabilizacji oceniano na podstawie zdolności kompostu do samonagrzewania się. Wykorzystując program STATISTICA wyznaczono optymalne wartości badanych parametrów, aby osiągnąć najlepszą stabilizację odpadów.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że analizowane parametry mają wpływ na efektywność procesu stabilizacji tlenowej odpadów, dokładne ich określenie pozwoli na ekonomiczne prowadzenie procesu kompostowania. Zważywszy na koszty kompostowania, generowane przez użycie zamkniętych bioreaktorów i ich zasilanie, konieczne jest utrzymanie odpowiednich zakresów parametrów procesu.

## ZALETY APLIKACJI DO GLEBY GRZYBÓW *TRICHODERMA* NA NOŚNIKACH ORGANICZNYCH

Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Magdalena Szczech, Waldemar Kowalczyk

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
urszula.smolinska@inhort.pl

W ostatnich latach na świecie coraz powszechniej wykorzystuje się wyselekcjonowane mikroorganizmy w uprawach roślin. Wiąże się to z powszechną tendencją do zmniejszania stosowania syntetycznych środków ochrony w celu ograniczenia zanieczyszczenia środowiska naturalnego. Szczególnie interesujące są grzyby z rodzaju *Trichoderma*, charakteryzujące się m.in. szybkim wzrostem, zdolnościami antagonistycznymi w stosunku do wielu patogenów czy stymulacji wzrostu roślin. Wprawdzie badania nad tymi grzybami prowadzone są od wielu lat, ale niewiele jest skutecznych komercyjnych preparatów wprowadzonych do produkcji ogrodniczej. Związane jest to ze skomplikowanymi interakcjami zachodzącymi w glebie, wynikającymi ze zmiennych czynników biotycznych (inne organizmy) i abiotycznych (temperatura, wilgotność).

Badania prowadzone w ramach projektu pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych” wykazały, że wprowadzenie do gleby grzybów *Trichoderma* na nośnikach, skomponowanych z materiałów odpadowych z przemysłu rolno-spożywczego, ma wiele korzyści. Drobnoustroje wprowadzane w postaci szczepionek są zwykle szybko eliminowane, ponieważ gleba zasiedlona jest przez ogromną liczbę rodzimych mikroorganizmów. Stosowanie nośników organicznych wraz z *Trichoderma*, pozwala na utworzenie dodatkowej „niszy”, umożliwiającej utrzymanie się populacji grzyba na wysokim poziomie przez dłuższy czas. Inne korzyści zastosowania nosników z materiałów odpadowych to utylizacja odpadów. Ze względu na sezonowość i specjalizację produkcji ogrodniczej, problem ten staje się coraz bardziej istotny. Zastosowanie grzybów *Trichoderma* na tych nośnikach pozwoli wzbogacić glebę w dodatkowy materiał organiczny. Stymuluje on rozwój także innych grup mikroorganizmów glebowych (m.in. bakterii *Pseudomonas*, promieniowców, *Bacillus*), korzystnie wpływając na supresyjne właściwości gleby. Niektóre specyficzne kompozycje materiałów organicznych, wraz z zasiedlonymi na nich grzybami *Trichoderma*, pozwalają na zmniejszenie w glebie ilości form propagacyjnych patogenów glebowych, np. sklerocjów *Sclerotinia sclerotiorum*.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## ZASTOSOWANIE ANTAGONISTYCZNEGO GRZYBA *TRICHODERMA* W INTEGROWANEJ OCHRONIE OGÓRKA PRZED MĄCZNIAKIEM RZEKOMYM

Jan Sobolewski, Kazimierz Felczyński, Agnieszka Włodarek, Danuta Witkowska,  
Regina Stempniewicz, Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Magdalena Szczech

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
jan.sobolewski@inhort.pl

W Polsce najgroźniejszą chorobą na ogórkach w uprawie polowej jest mączniak rzekomy dyniowatych. Sprawca choroby, organizm grzybopodobny *Pseudoperonospora cubensis*, należy do pasożytów bezwzględnych. Aktualnie obowiązujący system integrowanej uprawy wymaga stosowania środków pochodzenia naturalnego przemiennie z konwencjonalnymi fungicydami wraz z innymi metodami ochrony w tym systemie uprawy. Z uwagi na brak środków pochodzenia naturalnego dopuszczonych w ochronie ogórka, poszukiwane są alternatywne metody ochrony m.in. wykorzystujące mikroorganizmy antagonistyczne w stosunku do patogenów lub pobudzające odporność w roślinach. Grzyby z rodzaju *Trichoderma* są znane z antagonistycznego działania w stosunku do licznych gatunków patogenów roślin uprawnych. Celem pracy było określenie skuteczności wybranych izolatów grzybów z rodzaju *Trichoderma* w ochronie ogórka przed *Pseudoperonospora cubensis*. Izolaty pochodziły z Pracowni Mikrobiologii Instytutu Ogrodnictwa, Oddział Warzywnictwa. W doświadczeniach przeprowadzonych w latach 2013 – 2014 w warunkach polowych zastosowano dwa izolaty *Trichoderma* (A i B), które aplikowano pojedynczo lub w mieszance, metodą zaprawiania nasion, opryskiwania roślin oraz doglebowo na nośnikach organicznych. W trakcie wegetacji, co 7 dni, od momentu pojawienia się pierwszych symptomów mączniaka, oceniano stopień porażenia ogórka odmiany Śremski przez *Pseudoperonospora cubensis* w skali 0-7, gdzie 0 – oznacza brak objawów choroby zaś 7- 100 % porażonej powierzchni liści. W roku 2013 nasilenie choroby było mniejsze niż w roku 2014.

Wykazano, że po użyciu obu izolatów zarówno doglebowo jak i do zaprawiania nasion nastąpiło zmniejszenie nasilenia mączniaka rzekomego na ogórkach w porównaniu do roślin kontrolnych. Mniej skuteczne okazało się opryskiwanie roślin. Najlepszą ochronę uzyskano na roślinach opryskiwanych zalecanym fungicydem Infinito 687,5 SC. Zaobserwowano korzystny wpływ mieszaniny izolatów A i B stosowanych doglebowo, gdzie uzyskano zmniejszenie porażenia roślin porównywalną do wariantu z przedsięwzięciem zaprawianiem nasion tiuramem. Wyniki wskazują na celowość prowadzenie dalszych badań nad możliwością opracowania integrowanego systemu ochrony ogórka przed mączniakiem rzekomym dyniowatych, gdyż przemiennie stosowanie fungicydów oraz grzybów *Trichoderma* może podwyższyć skuteczność ich działania.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.



## AKTYWNOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA KOMPOSTÓW SPORZĄDZONYCH NA BAZIE KORY SOSNOWEJ

Justyna Starzyk, Jacek Czekala

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

[jstarzyk@up.poznan.pl](mailto:jstarzyk@up.poznan.pl)

Wykorzystanie odpadów z rolnictwa, sadownictwa, leśnictwa oraz z przetwórstwa drewna cieszy się w Polsce coraz większym zainteresowaniem ze względu na możliwości ich przetworzenia i wtórnego, racjonalnego zagospodarowania w rolnictwie, ogrodnictwie oraz leśnictwie. Odpady pochodzenia roślinnego mogą być z powodzeniem wykorzystane jako cenne źródło substancji organicznej do produkcji wysokiej jakości kompostu. W procesie kompostowania wiodącą rolę spełniają mikroorganizmy, co związane jest z ich aktywnością metaboliczną w procesie syntezy próchnicy. W procesie produkcji nawozu głównym celem jest optymalizacja warunków procesu kompostowania. Celem przeprowadzonych badań było określenie dynamiki zmian liczebności wybranych grup bakterii właściwych, promieniowców oraz poziomu aktywności fosfataz kwaśnych i zasadowych, zachodzących podczas kompostowania kory sosnowej, w zależności od zastosowania różnych dodatków organicznych i preparatu mikrobiologicznego oraz zmian wartości pH i temperatury.

Kompostowanie przeprowadzono w siedmiu stosach kory sosnowej z dodatkiem różnych dawek zielonej masy roślin strączkowych, Efektywnych Mikroorganizmów i mocznika. Na mikrobiologicznych podłożach wybiórczych, metodą płytkową, oznaczano liczebność jednostek tworzących kolonie (jtk) bakterii koptroficznych i oligotroficznych oraz promieniowców. Ponadto, badano aktywność enzymatyczną mikroorganizmów, określając aktywności fosfataz, stosując metodą spektrofotometryczną z PNP (p-nitrophenyl) jako substratem. Analizowano również wpływ składu kompostu, pH i temperatury na liczebność analizowanych drobnoustrojów. Badania przeprowadzono w czterech kolejnych terminach.

Liczebność oznaczanych grup drobnoustrojów ulegała istotnym zmianom w kolejnych terminach analiz. Stwierdzono, że dodatki do kompostowanej kory sosnowej mają stymulujący wpływ na wzrost populacji bakterii koptroficznych i oligotroficznych oraz promieniowców. Dla stymulacji rozwoju promieniowców szczególnie korzystna okazała się kombinacja z dodatkiem mocznika, powodując istotne zwiększenie ich liczebności. Natomiast najlepszy rozwój bakterii koptroficznych i oligotroficznych obserwowano w kombinacjach z dodatkiem zielonej masy roślin oraz zielonej masy roślin w połączeniu z preparatem Efektywnych Mikroorganizmów. Na zmiany liczebności analizowanych grup drobnoustrojów miały wpływ również zmiany temperatury podczas procesu kompostowania. Aktywność fosfataz wzrastała wraz ze wzrostem liczebności badanych grup mikroorganizmów.

Praca oraz udział w Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej „Mikroorganizmy w prawie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych” finansowane w ramach projektu badawczego NR 3055/B/P01/2011/40 61/2011/GW „Kompostowanie kory sosnowej z zieloną masą roślin, jako alternatywnym źródłem azotu w warunkach ograniczonego dostępu do odpadów biodegradowalnych” 2011-2014.

## ZASTOSOWANIE PREPARATU FUNGILITIC W UPRAWIE TRUSKAWKI

Małgorzata Statkiewicz, Danuta Czernomysy-Furowicz, Piotr Chełpiński, Grzegorz Mikiciuk

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
statkiewicz@interia.pl

Celem przeprowadzonych w roku 2014 badań było określenie wpływu preparatu Fungilitic na jakość owoców truskawki odmiany 'Elsanta' oraz zawartość mikroorganizmów w glebie wokół ich systemu korzeniowego. W doświadczeniu wykorzystano owoce pochodzące z dwuletniej plantacji założonej z sadzonek frigo. Badania nad wpływem preparatu Fungilitic na jakość owoców truskawki odmiany 'Elsanta' i zawartość mikroorganizmów w glebie będą prowadzone do 2016 r.

Doświadczenie jednoczynnikowe założono w układzie bloków losowych, w trzech powtórzeniach. Jedno powtórzenie stanowiło 230 roślin.

Czynnikiem doświadczalnym było dogłębne zastosowanie preparatu Fungilitic w trzech wariantach: kontrola, rozcieńczenie 1:100, rozcieńczenie 1:50.

W przeprowadzonych badaniach określono: masę jednego owocu oraz jego średnicę poprzeczną (minimalną i maksymalną) i podłużną, zawartość ekstraktu, witaminy C, azotanów i azotynów w owocach oraz kwasowość ogólną owoców.

Glebę do badań mikrobiologicznych pobrano jałowo z pól objętych doświadczeniem. Ilość mikroorganizmów oznaczano w 10 g gleby. Zawiesinę wylewano na podłoża Bunta i Roviry. Do obliczeń wybierano hodowle, na których liczba bakterii mieściła się w granicach 30-300, grzybów do 50.

Uzyskane dane liczbowe poddano jednoczynnikowej analizie wariancji, w układzie bloków losowych. W celu określenia istotności różnic między średnimi obliczono półprzedziały ufności Duncana, przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

Badania wstępne wykazały, że preparat Fungilitic stosowany dogłębno w rozcieńczeniu 1:50 spowodował zmniejszenie liczebności grzybów w glebie przy jednoczesnym zwiększeniu bakterii autochtonicznych oraz wpłynął istotnie na zwiększenie masy jednego owocu. Fungilitic nie wpłynął na wielkość owoców i zawartość ekstraktu, witaminy C i azotynów w owocach oraz nie modyfikował ich kwasowości ogólnej. Zastosowanie preparatu Fungilitic w rozcieńczeniu 1:50 wpłynęło istotnie na zmniejszenie zawartości azotanów w owocach truskawki.

**WPLYW CZASU PRZECHOWYWANIA NA ŻYWOTNOŚĆ  
I AKTYWNOŚĆ ENZYMATYCZNĄ SZCZEPU  
*T. ATROVIRIDE SK25* W SUSZONYCH BIOPREPARATACH**

Regina Stempniewicz<sup>1</sup>, Anna Kancelista<sup>1</sup>, Marta Paślawska<sup>1</sup>, Wojciech Łaba<sup>1</sup>, Michał Piegza<sup>1</sup>,  
Magdalena Szczech<sup>2</sup>, Danuta Witkowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

<sup>2</sup>Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

regina.stempniewicz@up.wroc.pl

Celem badań była ocena przeżywalności, dynamiki wzrostu i aktywności enzymatycznej szczepu *T. atroviride* SK 25 w biopreparatach po ich rocznym przechowywaniu.

Biomasę na dwóch ligninocelulozowych podłożach: trójskładnikowym WOW skomponowanym na bazie wysłodków buraczanych, otrąb pszennych i wyłoków jabłkowych (1:1:1) oraz jednoskładnikowym SŁP, którego komponentem była słoma pszenna utrwalono w procesie suszenia fontannowego w temperaturze 60°C. Otrzymane biopreparaty przechowywano przez 12 miesięcy w hermetycznie zamkniętych woreczkach foliowych w temperaturze pokojowej. Żywotność i dynamikę wzrostu badanego szczepu kontrolowano po 3, 6 i 12 miesiącach przechowywania preparatów, a jego uzdolnienia do biosyntezy enzymów po 12 miesiącach. Przeżywalność badano wykorzystując metodę płytkową Kocha z zastosowaniem podłoża PDA z różem bengalskim. Dynamikę wzrostu szczepu oceniano na podstawie analizy krzywych wzrostu wyznaczonych w mikrohodowlach w podłożu PDB w aparacie Bioscreen C, a biosyntezę enzymów w SSF hodowlach na podłożach WOW i SŁP z zastosowaniem jako inokulum preparatów na nośnikach WOW i SŁP.

Wykazano, że szczep *T. atroviride* SK25 charakteryzował się efektywnym i bardzo podobnym plonem biomasy na obu stosowanych podłożach. Na trójskładnikowej kompozycji WOW wykrywano  $2,40 \times 10^9$  jtk/g sm, a na jednoskładnikowym podłożu SŁP  $2,94 \times 10^9$  jtk/g sm. Suszenie fontannowe otrzymanej biomasy zredukowało liczbę żywych konidiów na nośniku SŁP do poziomu 19,18% ( $5,64 \times 10^8$  jtk/g sm) początkowej ich liczby wykrywanej w SSF hodowlach, natomiast nie miało wpływu na przeżywalność szczepu na nośniku WOW, na którym pozostało 100% aktywnych wzrostowo konidiów ( $2,40 \times 10^9$  jtk/g sm). W czasie przechowywania utrwalonych biopreparatów obserwowano sukcesywną redukcję liczby żywych komórek oraz obniżenie wartości parametrów kinetyki wzrostu opisujących dynamikę wzrostu badanego szczepu. Lepszym czynnikiem ochronnym okazała się słoma pszenna, na której pozostało od 48,75% ( $2,75 \times 10^8$  jtk/g sm) do 13,49% ( $7,61 \times 10^7$  jtk/g sm) po 12 miesiącach przechowywania, a na nośniku WOW od 27,13% ( $6,51 \times 10^8$  jtk/g sm) do 1,22% ( $2,93 \times 10^7$  jtk/g sm) początkowej liczby żywych komórek wykrywanych w utrwalonych biopreparatach. Odnotowano obniżenie tempa wzrostu badanego szczepu, z wartości  $\mu_{\max}=0,174 \text{ h}^{-1}$  do wartości  $\mu_{\max}=0,079 \text{ h}^{-1}$ . Efektem tego był niższy plon biomasy szczepu o około 7% - 29% ( $OD_{\max}=1,421 - 1,136$ ) w odniesieniu do plonu biomasy w preparatach kontrolnych ( $\Delta OD_{\max}=1,530 - 1,600$ ). Badany szczep po 12 miesiącach przechowywania biopreparatów, niezależnie od nośnika jego biomasy, zachował zdolność do biosyntezy enzymów, a nawet charakteryzował się większymi aktywnościami celulaz (0,81 - 2,16 U/g podłoża) i ksylanaz (4,86 - 5,72 U/g podłoża), a jedynie niższymi aktywnościami poligalakturonaz (0,14 - 4,26 U/g podłoża) niż w kontrolnych SSF hodowlach (odpowiednio celulazy - 0,86 U/g WOW i 0,62 U/g SŁP, ksylanazy - 1,26 U/g WOW i 0,83 U/g SŁP i poligalakturonazy - 12,52 U/g WOW i 8,71 U/g SŁP). Efektywniejszym podłożem i induktorem do

biosyntezy celulaz i poligalakturonaz okazała się mieszanina WOW, natomiast dla ksylanaz słoma pszena.

Podsumowując otrzymane wyniki stwierdzono, że po 12 miesiącach przechowywania, biopreparaty niezależnie od nośnika biomasy charakteryzowały się dobrymi cechami, wysoką przeżywalnością ( $10^7 - 10^8$  jtk/g sm) szczepu *T. atroviride* SK25 wyrażoną jako liczba żywych konidiów (jtk), stosunkowo dobrą dynamiką jego wzrostu i efektywną biosyntezą celulaz i ksylanaz, a jedynie obniżoną aktywnością poligalakturonaz, enzymów o mniejszym znaczeniu w biokontroli roślin.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## ARBUSKULARNE GRZYBY MIKORYZOWE (*GLOMEROMYCOTA*) ZWIĄZANE Z KORZENIAMI ROŚLIN SADOWNICZYCH OKOLIC BIESZCZADZKIEGO PARKU NARODOWEGO

Beata Sumorok, Lidia Sas Paszt, Edyta Derkowska, Sławomir Głuszek

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

[beata.sumorok@inhort.pl](mailto:beata.sumorok@inhort.pl)

Arbuskularne grzyby mikoryzowe (AMF) zasiedlają korzenie dzikich jabłoni np. *Malus communis* L. i *Malus sylvestris* Mill., gruszy np. *Pyrus communis* subsp. *pyraster* Burgsd. i *Pyrus cordata* Desv., śliwy np. *Prunus domestica* L., czereśni *Prunus avium* L., poziomki *Fragaria vesca* L., truskawki *Fragaria* × *ananassa* Duchesne, maliny *Rubus idaeus* L. (Harley i Harley 1987).

W celu określenia jakie gatunki AMF zasiedlały korzenie roślin sadowniczych okolic Bieszczadzkiego Parku Narodowego zebrano próbki gleby z miejscowości Bereżki, Brzegi Górne, Kalnica, Pszczeliny, Tarnawa Niżna, Wetlina, Wołosate.

W próbkach gleby z okolic Bieszczadzkiego Parku Narodowego odnotowano osiemnaście gatunków AMF w tym pięć gatunków z rodzaju *Acaulospora*: *Acaulospora capsicula*, *Acaulospora cavernata*, *Acaulospora paulinae*, *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora* sp. 1, jeden gatunek *Claroideoglomus claroideum*, jeden gatunek *Entrophospora infrequens*, trzy gatunki z rodzaju *Funneliformis*: *Funneliformis caledonium*, *Funneliformis geosporus*, *Funneliformis mosseae*, dwa gatunki należące do *Gigaspora*: *Gigaspora margarita*, *Gigaspora* sp. 1., trzy gatunki z rodzaju *Glomus*: *Glomus macrocarpum*, *Glomus pansihalos*, *Glomus* sp. 1, po jednym gatunku: *Rhizophagus fasciculatus*, *Scutellospora dipurpurescens*, *Septoglomus constrictum*. Gatunkiem grzyba AMF, który stwierdzono u wszystkich badanych gatunków roślin sadowniczych (jabłoni, gruszy, czereśni, śliwie, truskawce i poziomce, malinie) był *Claroideoglomus claroideum*. *Septoglomus constrictum* i *Funneliformis mosseae* nie stwierdzono tylko na malinie na pozostałych pięciu gatunkach roślin sadowniczych były obecne. *Acaulospora cavernata* stwierdzono na czterech gatunkach, na jabłoni, czereśni, truskawce i poziomce i na malinie. *Acaulospora paulinae* stwierdzono również na czterech gatunkach roślin sadowniczych, na jabłoni, gruszy, czereśni i śliwie. *Rhizophagus fasciculatus* i *Scutellospora dipurpurescens* odnotowano u trzech gatunków: jabłoni, gruszy i czereśni. *Entrophospora infrequens* stwierdzono u jabłoni i gruszy, a *Acaulospora* sp. 1 u jabłoni i śliwy. *Acaulospora capsicula* odnotowano tylko u jabłoni, *Acaulospora scrobiculata* tylko u gruszy, *Funneliformis caledonium* i *Glomus macrocarpum* tylko u śliwy, *Funneliformis geosporus*, *Glomus pansihalos*, *Gigaspora* sp. 1, *Gigaspora margarita* i *Glomus* sp. 1 tylko u jabłoni.

Największą różnorodność spośród 18 gatunków AMF odnotowanych u roślin sadowniczych stwierdzono u jabłoni (15 gatunków), następnie u czereśni (9 gatunków), u gruszy (8 gatunków). Najmniejszą różnorodność odnotowano dla śliwy (5 gatunków), truskawki i poziomki (4 gatunki) i maliny (2 gatunki).

Badania wykonano w ramach projektu 'Opracowanie innowacyjnych produktów i technologii dla ekologicznej uprawy roślin sadowniczych', współfinansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka.

## EFEKTY ZASTOSOWANIA GRZYBÓW *TRICHODERMA* W UPRAWIE ZIEMNIAKA

Magdalena Szczech, Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Kazimierz Felczyński,  
Jan Sobolewski, Agnieszka Włodarek

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
magdalena.szczech@inhort.pl

Doświadczenia w uprawie ziemniaka wykonywano w latach 2012 – 2014 w gospodarstwach indywidualnych. Badania realizowano w czterech lokalizacjach, w woj. łódzkim i woj. mazowieckim, w różnych warunkach glebowo-klimatycznych. Grzyby *Trichoderma* na nośnikach organicznych aplikowano do gleby przed sadzeniem ziemniaków. W każdym z gospodarstw doświadczenia prowadzono według tego samego schematu. Do inokulacji zastosowano dwa izolaty *Trichoderma* oraz mieszkankę tych izolatów. Podczas wzrostu roślin stosowano zalecane dla uprawy ziemniaków zabiegi agrotechniczne, w tym niszczenie chwastów za pomocą herbicydów oraz zwalczanie chorób za pomocą fungicydów. Oceniano stopień porażenia części nadziemnych przez patogeny oraz zasiedlenie gleby w poszczególnych wariantach przez grzyby *Trichoderma*. Podczas zbiorów określano plon ogólny, plon handlowy ziemniaków oraz porażenie bulw przez mikroorganizmy chorobotwórcze.

Stwierdzono, że zastosowanie grzybów *Trichoderma* opóźniało i znacznie ograniczało porażenie roślin przez *Phytophthora infestans* - sprawcę zarazy ziemniaka. *Trichoderma* utrzymywały się w glebie, gdzie zastosowano preparaty, na poziomie ok.  $10^5$  jtk/ 1 g gleby. Preparaty z *Trichoderma* w większości doświadczeń pozytywnie wpływały na plonowanie roślin zwiększając istotnie plon ogólny. Wzrost plonu był związany ze zwiększeniem ilości oraz masy bulw. Stwierdzono również pozytywny wpływ na strukturę plonu: uzyskiwano większy procent materiału handlowego i obserwowano mniejsze porażenie bulw przez patogeny.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## NAWOZOWE WYKORZYSTANIE MINERALNYCH SORBENTÓW OTRZYMANYCH PO PROCESIE ODBARWIANIA WYWARU GORZELNICZEGO

Aniceta Ślęczka, Marta Wilk, Przemysław Seruga, Małgorzata Krzywonos M., Daniel Borowiak

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu; aniceta.sleczka@ue.wroc.pl

Mineralne sorbenty znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach przemysłu, rolnictwie, ochronie środowiska a nawet w medycynie. Jednymi z takich sorbentów są bentonity, należące do grupy minerałów ilastych z grupy smektytów. W swym składzie zawierają montmorylonit oraz zanieczyszczenia, tj. żwir, łupki ilaste, wapień. Charakteryzują się budową pakietową typu 2:1 (trójwarstwową), wysoko rozwiniętą powierzchnią właściwą, a w ich budowę wchodzi tlenu krzemu, glinu, żelaza, magnezu, wapnia, sodu, potasu, itd. Bentonity wyróżniają się m.in. zdolnością sorbowania jonów i substancji organicznych, podatnością na dyspergowanie wód, zdolnością pęcznienia oraz tworzeniem zawiesin tiksotropowych. Te ostatnie stanowią nowoczesny sposób nawożenia, dzięki którym aplikuje się substancje odżywcze niezbędne do uprawy. Dzięki silnie rozwiniętej powierzchni właściwej, bentonity znalazły zastosowanie jako doskonały materiał adsorbujący m.in. metale ciężkie, bakterie, toksyczne substancje, barwniki, jak również dostarczają wiele mineralnych substancji w postaci pasz dla zwierząt, a także jako nośniki substancji mineralnych w postaci nawozów. Na podstawie tych cech podjęto próbę wykorzystania bentonitów do dekoloryzacji wywaru melasowo-kukurydzianego, który jest głównym produktem ubocznym w produkcji etanolu. Wywar ten charakteryzuje wysokie biologiczne zapotrzebowanie na tlen (BZT5 35 - 60 g O<sub>2</sub>/l) oraz chemiczne zapotrzebowanie na tlen (ChZT 60 - 100 g O<sub>2</sub>/l), a także stosunkowo niskie pH (4,0-5) i ciemnobrązowy kolor. Ciemne zabarwienie spowodowane jest obecnością substancji barwnych, takich jak: produkty alkalicznego rozkładu inwertu, karmele i melanoidyny.

Celem pracy jest wskazanie możliwości zastosowania mineralnych sorbentów, tj. bentonitu po dekoloryzacji wywarów gorzelnicznych, do nawożenia roślin.

Do badań zastosowano bentonit firmy Certech po procesie dekoloryzacji wywaru w kolbach wstrząsanych w optymalnych warunkach tj. stężenia (100%) i pH wywaru (4,86), ilości nośnika (10 g/100 ml) oraz czasu reakcji (3 h). Efektywność dekoloryzacji oceniano poprzez stopień dekoloryzacji oraz pochłanianie ChZT [mg ChZT/g nośnika]. Możliwość wykorzystania bentonitów po procesie dekoloryzacji oceniano poprzez testy kiełkowania z wykorzystaniem rzeżuchy (*Cardamine L.*). Testy kiełkowania przeprowadzono poprzez 6 d inkubacji ziaren rzeżuchy w temperaturze pokojowej, w 5 wariantach, tj. przy zastosowaniu tylko wody wodociągowej, tylko wody demineralizowanej (WD), bentonitu z wodą demineralizowaną (BWD), bentonitu po procesie dekoloryzacji (BD) oraz z wykorzystaniem wywaru melasowo-kukurydzianego. Efektywność procesu oceniano poprzez zawartość chlorofilu całkowitego, chlorofilu a i b oraz średniej długości korzenia.

Wywar melasowo-kukurydziany, hamował proces kiełkowania. Najdłuższą średnią długość korzenia (9,05 cm) osiągnięto gdy do testu kiełkowania użyto WD, a najkrótszą przy zastosowaniu BD (1,53 cm). W obu przypadkach osiągnięto zbliżone wyniki zawartości chlorofilu całkowitego (WD 563,48 mg/kg, BD 552,77 mg/kg), chlorofilu a (WD 411,43 mg/kg, BD 399,09 mg/kg) i b (WD 152,19 mg/kg, BD 153,81 mg/kg). Najwyższą zawartość chlorofilu całkowitego (744,36 mg/kg), chlorofilu a (536,04 mg/kg) oraz b (208,51 mg/kg) osiągnięto dla BWD, średnia długość korzenia wyniosła 6,97 cm. Uzyskane wyniki sugerują, że wywar gorzelniczny jest toksyczny dla roślin, zaś wywar dokoloryzowany na nośniku mineralnym, może być z powodzeniem stosowany wraz z nośnikiem (bentonit) do nawożenia roślin, nie powodując znacznego pogorszenia plonu i zawartości chlorofilu.

## ODDZIAŁYWANIE GRZYBNI *PIRIFORMOSPORA INDICA* NA GATUNKI RODZAJU *PHYTOPHTHORA*

Aleksandra Trzewik, Katarzyna Nowak, Teresa Orlikowska

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
[aleksandra.trzewik@inhort.pl](mailto:aleksandra.trzewik@inhort.pl)

*Piriformospora indica* to endofityczny grzyb, należący do rzędu *Sebacinales*, gromady *Basidiomycota*. W przeciwieństwie do większości arbuskularnych grzybów mykoryzowych *P. indica* może być rozmnażany *in vitro*, zarówno na pożywkach stałych jak i płynnych. Endofit kolonizuje korzenie wnikając do wnętrza komórek, a także do przestrzeni międzykomórkowych, tworząc w tkankach korka spory, o kształcie gruszki (stąd nazwa *Piriformospora*). Początkowo prace nad *P. indica* skupiały się przede wszystkim na jego dobroczynnym wpływie na rozwój roślin, zwłaszcza podczas ich aklimatyzacji. Wykazano korzystny wpływ *P. indica* na zwiększenie biomasy rośliny: długość i liczbę korzeni, średnicę i wysokość pędu, liczbę oraz wielkość liści. Natomiast w ostatnich kilku latach w doświadczenia włączony jest także aspekt wykorzystania *P. indica* jako bioprotektora. Dotychczas badano wpływ *P. indica* w bioochronie przeciwko *Blumeria graminii* f. sp. *graminis* oraz *B. graminii* f. sp. *tritici*, wywołujących mączniaka prawdziwego u odpowiednio jęczmienia i pszenicy, *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. verticillioides* i *F. oxysporum* powodujących fuzariozę u jęczmienia, pszenicy, kukurydzy i pomidora, *Verticillium dahliae* i Pepino Mosaic Virus na pomidorze. W literaturze brak jest informacji o wykorzystaniu *P. indica* w ochronie przed fytoftorozą wywoływaną przez gatunki rodzaju *Phytophthora*, które wśród patogenów występujących w szkółkach pojemnikowych oraz w uprawie roślin pod osłonami są najgroźniejszymi czynnikami chorobotwórczymi, powodującymi zgniliznę podstawy pędu i korzeni oraz zarazę wierzchołków pędów.

Pierwszym etapem badań nad rolą *P. indica* w ochronie przeciwko fytoftorozie było określenie wzajemnego oddziaływania izolatów *Phytophthora* i *P. indica* w kulturach szalkowych. W tym celu, obserwowano zaszczepione na płytkach Petriego, na pożywkach PDA i KM pary *P. indica* z jednym z 8 gatunków *Phytophthora* (*Ph. cactorum*, *Ph. cambivora*, *Ph. cinnamomi*, *Ph. citrophthora*, *Ph. cryptogea*, *Ph. multivora*, *Ph. ramorum*, *Ph. plurivora*). Badano następujące parametry: tempo wzrostu, wzajemne ograniczanie wzrostu, wpływ na morfologię plechy, wpływ na liczbę zarodników i chlamydospor oraz zdolność do tworzenia organów generatywnych (w przypadku *Phytophthora* spp.). Kontrolą były kombinacje, w których wyszczepiono parę tych samych izolatów.

Izolat *P. indica* nie ograniczał tempa wzrostu badanych gatunków *Phytophthora* na pożywkach PDA i KM. Zauważono natomiast stymulację wzrostu grzybni *P. indica* przez gatunki *Phytophthora*, zwłaszcza przez *Ph. ramorum*, *Ph. plurivora*, *Ph. cambivora* oraz *Ph. cinnamomi*. Poza tym nie zanotowano tworzenia się stref zahamowania wzrostu, zarówno pomiędzy *P. indica* i badanymi gatunkami *Phytophthora*, jak i na szalkach, gdzie wyszczepiano parę tych samych izolatów. W przypadku szalek zaszczepionych przez *P. indica* i jeden z gatunków *Phytophthora* zaobserwowano wzajemne zarastanie się grzybni. Zjawiska tego nie obserwowano na kontrolnych szalkach. Izolat *P. indica* nie wpływał ograniczająco na tworzenie się zarodni, chlamydospor oraz organów generatywnych, a także badane gatunki *Phytophthora* nie ograniczały tworzenia się chlamydospor u *P. indica*.



## DEKOLORYZACJA BURACZANEGO WYWARU MELASOWEGO Z WYKORZYSTANIEM BAKTERII *LACTOBACILLUS PLANTARUM* - WPŁYW PARAMETRÓW PROCESU ORAZ STOPNIA ROZCIĘNCZENIA WYWARU

Marta Wilk, Małgorzata Krzywonos, Przemysław Seruga, Aniceta Ślęczka, Daniel Borowiak

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu  
marta.wilk@ue.wroc.pl

Wywar uzyskiwany w produkcji alkoholu etylowego charakteryzuje się złożonym składem chemicznym, a wśród jego składników znajdują się substancje szkodliwe dla środowiska oraz zdrowia człowieka. Niektóre z tych związków mogą należeć do grupy karmeli, melanoidyn lub produktów alkalicznego rozkładu inwertu, czyli ciemnobrunatnych substancji zawartych w wywarze. Jedną z metod oczyszczania wywaru z substancji barwnych może być poddanie go działaniu mikroorganizmów.

Celem pracy był dobór optymalnych parametrów temperatury, pH oraz stopnia rozcieńczenia surowca do procesu dekoloryzacji melasowego wywaru buraczanego z wykorzystaniem bakterii fermentacji mlekowej *Lactobacillus plantarum* MiLAB093.

Do optymalizacji procesu wykorzystano metodę planowania eksperymentu, z zastosowaniem planu Boxa-Behnkena z trzema wielkościami wejściowymi. Do przeprowadzenia planu eksperymentu i analizy wariancji ANOVA wykorzystano moduł Statystyki Przemysłowe, Planowanie Doświadczeń (DOE) programu STATISTICA StatSoft, ver. 10. Zgodnie z planem eksperymentu wartości wejściowe temperatury i pH testowano na poziomie odpowiednio 23, 30 i 37°C oraz 4,0; 5,5 i 7,0, a stężenie melasowego wywaru buraczanego wynosiło 5, 25 i 45%. Podłoże hodowlane wzbogacano ekstraktem drożdżowym (3,37 g/l) oraz źródłem węgla w postaci glukozy (18,09 g/l). Hodowlę prowadzono metodą wstrząsarkową (120 obr./min), w kolbach stożkowych (250 ml) przez 4 doby. Próby pobierano co 24 h. Efektywność dekoloryzacji wywaru oceniano spektrofotometrycznie przy długości fali 475 nm, a stopień redukcji stężenia substancji barwnych metodą Iwanowa-Sapronowa. Stopień biodegradacji wywaru oceniano przez oznaczenie chemicznego zapotrzebowania na tlen (ChZT) metodą dwuchromianową z wykorzystaniem testów kuwetowych Hach-Lange. Stężenie kwasów organicznych oraz cukrów oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Statystycznie istotny wpływ ( $p \leq 0,05$ ) na stopień dekoloryzacji wywaru w procesie z wykorzystaniem szczepu bakterii *L. plantarum* MiLAB093 miało stężenie wywaru oraz temperatura procesu. Wartość pH nie była statystycznie istotna. Na podstawie uzyskanych wyników stworzono model ( $R^2=0,7865$ ) opisujący zależność stopnia dekoloryzacji wywaru (Y) od zmiennych wejściowych tj. temperatury ( $x_1$ ) i stężenia wywaru ( $x_2$ ):  $Y = -22,9255 + 53,3933x_1 + 16,1645x_1^2 + 11,3242x_2^2$ . Maksymalizując wartość uzyskanej funkcji celu, wyznaczono optymalne wartości  $x_1$  i  $x_2$ , które wyniosły odpowiednio 30% i 35,8°C.

Maksymalny stopień dekoloryzacji w zadanych warunkach wyniósł 45%. Najwyższy stopień redukcji stężenia melanoidyn, karmeli i inwertu był równy odpowiednio ok. 50, 6 i 35%. W żadnym z wariantów eksperymentu stopień redukcji ChZT nie był większy niż 14 %. Analiza wywaru po procesie dekoloryzacji metodą HPLC potwierdziła homofermentatywność stosowanego szczepu bakterii, który syntezował kwas mlekowy w ilości do 10 g/l. Niemal we wszystkich wariantach eksperymentu glukoza została całkowicie zasymilowana.

Badania prowadzono w ramach realizacji projektu N N312 421940 finansowanego przez NCN.

**WPLYW PRE-INOKULACJI ANTAGONISTYCZNYMI GRZYBAMI *TRICHODERMA*  
NA ZASIEDLENIE ROŚLIN GROCHU SIEWNEGO (*PISUM SATIVUM L.*)  
PRZEZ PATOGENICZNE IZOLATY *FUSARIUM***

Karolina Wilman, Łukasz Stępień, Lidia Błaszczuk, Judyta Strakowska, Piotr Kachlicki

Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań  
kwil@igr.poznan.pl

Groch siewny jest stale narażone na działanie czynników chorobotwórczych w tym grzybów patogenicznych. Porażenie może nastąpić we wczesnej fazie rozwoju rośliny, okresie wegetacji i wytwarzania nasion. Porażone nasiona często stanowią źródło infekcji plonów w następnym roku. Dane literaturowe dostarczają informacji o podatności tych roślin na porażenie przez grzyby z rodzaju *Fusarium*. Różne gatunki *Fusarium* produkują szereg związków toksycznych względem roślin, zwierząt i ludzi, tzw. mykotosyn. Mykotosyny są metabolitami drugorzędowymi, które charakteryzują się długim okresem półtrwania, co wpływa na ich sukcesywną akumulację w organizmie żywym. Z kolei rodzaj *Trichoderma* wykazujący właściwości nadpasożytnicze m.in. względem izolatów z rodzaju *Fusarium*, wspomaga wzrost i rozwój roślin. Ze względu na zdolność do produkcji enzymów litycznych szybko i skutecznie hamuje rozwój patogena. Zastosowanie grzybów z rodzaju *Trichoderma* w biologicznej ochronie roślin może mieć wpływ na zwiększenie plodów rolnych a także poprawę jakości pasz.

Celem doświadczenia było określenie wpływu izolatu *Trichoderma* na rozwój infekcji grochu siewnego spowodowanej przez wybrane izolaty trzech gatunków *Fusarium*. Badania prowadzone były w warunkach szklarniowych w okresie wegetacyjnym roślin. Izolaty *Fusarium* wybrano na podstawie częstości występowania ich na nasionach siedmiu odmian grochu siewnego w doświadczeniu prowadzonym w latach 2011-2013. Izolat *Trichoderma atroviride* (AN 182, kolekcja Instytutu Genetyki Roślin PAN w Poznaniu) wyselekcjonowano na podstawie zależności antagonistycznych z wybranymi izolatami *Fusarium*. Odmianę odporną i wrażliwą grochu siewnego inokulowano dogłębowo zawiesiną zarodników *Trichoderma* po trzech tygodniach od wschodu roślin. Po kolejnych siedmiu dniach podano zawiesiny zarodników *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* i *F. avenaceum*. Zmiany w wyglądzie roślin rejestrowano przez kolejne dwa tygodnie po ostatniej inokulacji.

## ZASTOSOWANIE ANTAGONISTYCZNEGO GRZYBA *TRICHODERMA* W INTEGROWANEJ OCHRONIE MARCHWI PRZED ALTERNARIOZĄ

Agnieszka Włodarek, Jan Sobolewski, Kazimierz Felczyński, Danuta Witkowska, Michał Piegza, Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Magdalena Szczech

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
agnieszka.wlodarek@inhort.pl

Alternarioza jest jedną z groźniejszych chorób marchwi w Polsce. Sprawcą choroby jest grzyb *Alternaria dauci*. Aktualnie obowiązujący system integrowanej uprawy marchwi wymaga stosowania środków pochodzenia naturalnego przemiennie z fungicydami chemicznymi oraz włączania innych metod dopuszczonych w tym systemie uprawy. W ochronie marchwi przed alternariozą brak jest alternatywnych metod, dlatego też pojawiła się potrzeba ich poszukiwania.

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* wykazują antagonistyczne działanie w stosunku do wielu patogenów różnych gatunków roślin. W polowej uprawie marchwi oceniano skuteczność wybranych izolatów grzybów z rodzaju *Trichoderma* w ochronie marchwi przed *A. dauci*. Szczepy pochodziły z Pracowni Mikrobiologii Instytutu Ogrodnictwa. *Trichoderma* aplikowano w formie zaprawiania nasion bezpośrednio przed siewem, opryskiwania roślin w trakcie wegetacji, w odstępach co 2 tygodnie, zawieszając zarodników *Trichoderma* przemiennie z fungicydem Amistar Opti 480 SC lub doglebowo na nośnikach organicznych. W czasie wegetacji oceniano stopień porażenia powierzchni liści marchwi przez *A. dauci* według skali 0-7, gdzie 0 – brak objawów, 7 – liść w 100% porażony.

Wyniki wskazują, że grzyby *Trichoderma* skutecznie obniżały porażenie roślin przez *A. dauci*. Korzystnym systemem ochrony marchwi przed alternariozą okazało się zaprawianie nasion grzybami *Trichoderma*, a w okresie wegetacji opryskiwanie zarodnikami grzyba przemiennie z fungicydem.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## **ANALIZA WPLYWU PREPARATU MIKROBIOLOGICZNEGO NA PARAMETRY ENZYMATYCZNE TORFU I CECHY MORFOLOGICZNE AKSAMITKI ROZPIERZCHLEJ**

Agnieszka Wolna-Maruwka, Anita Schroeter-Zakrzewska, Agnieszka Mocek-Plóćiniak,  
Justyna Starzyk, Alicja Niewiadomska, Dorota Swędrzyńska,  
Donata Kosicka, Agnieszka Pilarska

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
[amaruwka@interia.pl](mailto:amaruwka@interia.pl)

Jedną z alternatyw chemicznej ochrony roślin są preparaty mikrobiologiczne. Obecnie dużym zainteresowaniem cieszą się dostępne na rynku preparaty oznaczone symbolem EM (Efektywne Mikroorganizmy), przeznaczone zarówno do uprawy roślin w rolnictwie, jak i ogrodnictwie. Z danych literaturowych wynika, że wspólne działanie różnych grup mikroorganizmów wchodzących w skład EM w praktyce rolniczej i ogrodniczej wpływa korzystnie na lepsze użyczenie gleby, polepszając warunki dla rozwoju roślin poprzez m.in. ułatwienie pobierania składników pokarmowych, wspomaganie wzrostu rośliny, stymulację rozwoju sadzonek dzięki produkcji substancji hormonalnych, jak również zapobieganie rozwojowi roślinnych patogenów oraz stopniowe odbudowanie podłoża.

Ze względu na kontrowersyjne postawy naukowców wobec szerokiego spektrum zastosowań preparatu EM, jak również szeregu pozytywnych efektów deklarowanych przez producenta, a związanych z zastosowaniem wyżej wymienionej szczepionki w uprawie roślin celem niniejszej pracy była ocena wpływu preparatu EM na parametry enzymatyczne podłoża torfowego oraz cechy morfologiczne aksamitki rozpierschlej.

Analizy enzymatyczne polegały na określeniu metodą spektrofotometryczną poziomu aktywności dehydrogenaz, ureazy i fosfatazy kwaśnej w podłożu torfowym pod uprawą aksamitki, po inokulacji preparatem EM, zastosowanym doglebowo lub/i dolistnie, w stężeniach 1:10, 1:50, 1:100.

Ponadto w badaniach przeprowadzono analizy morfologiczne roślin, takie jak wysokość roślin, liczba i długość pędów, liczba pąków i kwiatostanów.

Wykazano, że głównym czynnikiem determinującym poziom aktywności badanych enzymów była faza rozwojowa roślin. Preparat EM korzystnie wpływał na poziom aktywności fosfatazy kwaśnej. Nie wykazano jednakże jego stymulującego wpływu na aktywność ureazy, czy dehydrogenaz.

Dolistne i doglebowe zastosowanie preparatu EM o stężeniu 1:100 przyczyniło się do tworzenia na roślinach większej liczby liści o ciemniejszym zabarwieniu, a także liczby kwiatostanów. Preparat EM niezależnie od dawki i sposobu aplikacji nie miał wpływu na wysokość roślin i średnicę kwiatostanów.

Badania finansowane w ramach grantu N N305 036140 (2011-2014) „Zastosowanie preparatów mikrobiologicznych w celu optymalizacji metod uprawy roślin rabatowych”

**MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA KOMPOSTÓW Z POUŻYTKOWYCH TWORZYW  
DRZEWNYCH Z DODATKIEM SZCZEPIONEK MIKROBIOLOGICZNYCH  
W UPRAWIE CHRYZANTEMY WIELKOKWIATOWEJ  
(*CHRYSANTHEMUM X GRANDIFLORUM* RAMAT./KITAM.)**

Hanna Wróblewska<sup>1</sup>, Anita Schroeter-Zakrzewska<sup>2</sup>, Piotr Zakrzewski<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Technologii Drewna w Poznaniu

<sup>2</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

h\_wroblewska@itd.poznan.pl

Celem przeprowadzonego doświadczenia była ocena wpływu kompostów z użytkowych tworzyw drzewnych na wzrost i kwitnienie chryzantemy wielkokwiatowej (*Chrysanthemum x grandiflorum* Ramat./Kitam.) ‘Stellar Time’. Kompostowaniu poddano rozdrobnione do frakcji poniżej 10 mm materiały pochodzące ze zużytych mebli kuchennych wykonanych głównie z płyty pilśniowej lakierowanej, zmieszane z dojrzałym kompostem z płyt pilśniowych, preparatem Protohumowit, wodą oraz substancjami inicjującymi i wspomagającymi rozwój mikroorganizmów (węglowodany i tłuszcze) a także z dostępnymi na rynku szczepionkami mikrobiologicznymi jak Activit Las (AL), Efektywne Mikroorganizmy (EM) oraz preparat Bio-Best (kurzeniec) (BB). Proces prowadzono w reaktorach o pojemności 160 litrów. Sporządzono cztery warianty kompostów z mikroorganizmami – AL, AL+BB, EM, EM+BB oraz wariant kontrolny bez dodatku mikroorganizmów. Rośliny uprawiano w podłożach składających się z kompostów zmieszanych z torfem wysokim w stosunkach objętościowych 15% i 30%.

Analizując uzyskane wyniki stwierdzono, że rodzaj użytego podłoża wywarł istotny wpływ na badane cechy takie jak: wysokość i średnica roślin, liczba kwiatostanów, liczba pąków kwiatostanowych, świeża masa części nadziemnej oraz indeks zazielenienia liści. Nie miały natomiast wpływu na średnicę kwiatostanów.

## WPLYW SZCZEPÓW *TRICHODERMA* I METOD ICH APLIKACJI NA JAKOŚĆ SENSORYCZNĄ ŚWIEŻYCH I PRZECHOWYWANYCH KORZENI MARCHWI

Anna Wrzodak, Kazimierz Felczyński, Urszula Smolińska, Beata Kowalska, Magdalena Szczech

Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice  
anna.wrzodak@inhort.pl

Grzyby *Trichoderma* są związane ze strefą korzeniową. Mogą wpływać na stymulację wzrostu i plonowania roślin, na zwiększone pobieranie składników pokarmowych oraz odporność na abiotyczne i biotyczne stresy min. ochronę przed organizmami chorobotwórczymi.

Celem badań przeprowadzonych w sezonie 2013/2014 była ocena jakości sensorycznej korzeni marchwi świeżej i przechowywanej pochodzących z uprawy z zastosowaniem grzybów *Trichoderma*. Marchew odmiany Nerac F<sub>1</sub> pochodziła z pola doświadczalnego Zakładu Uprawy i Nawożenia Roślin Warzywniczych Instytutu Ogrodnictwa. W doświadczeniu zastosowano 5 kombinacji (w tym kontrola) pojedynczych szczepów *Trichoderma*, które były aplikowane doglebowo na nośniku organicznym, w formie oprysku roślin, naprzemiennie z fungicydem oraz zaprawiania nasion marchwi.

Bezpośrednio po zbiorze i po 8 miesiącach przechowywania w optymalnych warunkach (w temperaturze 0-1°C i wilgotności względnej powietrza na poziomie 95-98%) przeprowadzono ocenę sensoryczną korzeni marchwi z wykorzystaniem metody ilościowej analizy opisowej QDA (Quantitative Description Analysis). Zespół oceniający składający się z 10 przeszkolonych degustatorów wytypował 13 wyróżników jakości sensorycznej, opisujących zapach, barwę, teksturę i smak korzeni marchwi.

Zaobserwowano pewne tendencje związane z wpływem zastosowanych preparatów na cechy jakościowe korzeni marchwi oceniane bezpośrednio po zbiorze. Porównując uzyskane wyniki oceny sensorycznej obiektów z dodatkiem grzybów *Trichoderma* różniących się metodą aplikacji, można sądzić, że grupa obiektów, w których stosowano oprysk zarodnikami *Trichoderma* naprzemiennie z fungicydem, charakteryzowała się najwyższą intensywnością większości wyróżników zapachu i smaku, wysokimi notami tekstury oraz uzyskała najwyższe noty jakości ogólnej, w porównaniu do kontroli, obiektów w których stosowano *Trichoderma* doglebowo oraz zaprawianych nasion zarodnikami *Trichoderma*. Korzenie marchwi kombinacji, których nasiona były zaprawiane zarodnikami *Trichoderma* charakteryzowały się intensywnym ciemnoczerwonym zabarwieniem skórki oraz miąższu, były bardziej kruche, chrupliwe i soczyste, o wysokiej intensywności smaku słodkiego. Ponadto kombinacja ta uzyskała najwyższe noty oceny ogólnej jakości (8,03 j.u. – jednostek umownych), w porównaniu do pozostałych obiektów. Marchew kontrolna uzyskała najniższe noty oceny ogólnej jakości (6,93 j.u.), charakteryzowała się niską kruchością, korzenie były wyraźnie gorzkie w smaku, o jasnopomarańczowym zabarwieniu skórki zewnętrznej.

Stwierdzono także różnice pod względem niektórych cech sensorycznych w korzeniach marchwi po kilkumiesięcznym okresie przechowania, w zależności od zastosowanych szczepów *Trichoderma* i metod ich aplikacji.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego pt. „Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych”, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 1.3. Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1., nr projektu: UDA-POIG.01.03.01-00-129/09-07.

## WPLYW ANTAGONISTYCZNYCH BAKTERII *PSEUDOMONAS* SP. NA PORAZENIE FASOLI PRZEZ MIKROORGANIZMY GLEBOWE

Mieczysław Żurek

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny, Siedlce

[zurek@uph.edu.pl](mailto:zurek@uph.edu.pl)

Badania zostały wykonane na odmianie fasoli „Piękny Jaś”. Nasiona wysterylizowano powierzchniowo w celu wyeliminowania patogenów na okrywie owocowo-nasiennej. W sterylnych szalkach Petriego, na wilgotnej bibule filtracyjnej umieszczono 100 nasion, a po ich skielkowaniu badano siłę kiełkowania i obecność patogenów. Następnie glebę ogrodniczą o pH 6-6,5 sterylizowano w autoklawie oraz mieszano ją z roztworem bezwodnego siarczanu kadmu ( $\text{CdSO}_4$ ) w stężeniach 5 mM, 1 mM i 100  $\mu\text{M}$  na 1 kg gleby. Do każdego pojemnika wypełnionego wysterylizowaną glebą, posadzono po 10 sterylnych nasion, a następnie zainokulowano ją zawiesiną z kultur antagonistycznej bakterii z rodzaju *Pseudomonas* sp. szczep PSFZ-22 (po 20ml zawiesiny/pojemnik). Doświadczenie założono w 5 powtórzeniach i 8 kombinacjach: **1-3** – gleba skażona  $\text{CdSO}_4$  (5mM-, 1mM i 100 $\mu\text{M}$ ), **4** – gleba zainokulowana *Pseudomonas* sp., **5 -7** – gleba zainokulowana *Pseudomonas* sp. i skażona  $\text{CdSO}_4$  w stężeniach (5 mM, 1 mM i 100  $\mu\text{M}$ ), **8** – kontrola. Fasolę hodowano w mikroszklarni. Po 26 dniach analizowano długość roślin i ich zdrowotność. Pierwszą i pozostałe analizy powtórzono po 40 dniach. Nadziemne części roślin wazono, określano obecność i skład gatunkowy patogenów a następnie suszono do uzyskania powietrznie suchej masy.

W wyniku badań nie stwierdzono obecności patogenów na nasionach w szalkach Petriego, a ilość nasion, które skielkowały wynosiła 98%. W doświadczeniu wazonowym, w kontroli po 26 dniach 20% roślin wykazywała wyraźne objawy chorobowe, a po 40 dniach - 69%. Sprawcą ich zamierania był grzyb *Alternaria alternata*, zimujący w nasionach. Zaobserwowano ochronne działanie bakterii *Pseudomonas* w stosunku do *A. alternata*. Po 26 dniach nie stwierdzono roślin z objawami chorobowymi, lecz po 40 dniach działanie ochronne bakterii zmalało w porównaniu z kontrolą. Średnia wysokość roślin była zbliżona do kontrolnych, zwiększyła się natomiast o 20% ich zielona masa w stosunku do kontroli. Zawartość suchej masy praktycznie pozostała bez zmian.

Pod wpływem samego kadmu zwiększyła się liczba nasion, które nie skielkowały, a toksyczny wpływ był wprost proporcjonalny do jego stężenia w glebie. Toksycznym okazał się również dla *A. alternata*. Roślin nie porażonych pozostało średnio ponad 2,5-krotnie więcej w porównaniu z kontrolą. Kadm, wraz ze wzrostem stężenia, silnie hamował wzrost zdrowych roślin. Średnia wysokość roślin zmniejszyła się do 45 % przy stężeniu 5 mM. Przy stężeniu najniższym po 40 dniach zaobserwowano jego działanie stymulujące. Podobne zależności zaobserwowano w stosunku do masy części nadziemnych roślin, zarówno świeżych jak i suchych.

W obecności *Pseudomonas* sp. PSFZ-22 zmniejszył się toksyczny wpływ kadmu na siłę kiełkowania nasion, a liczba nasion, które skielkowały wzrosła do 83% przy stężeniu najwyższym. Liczba roślin zdrowych zmniejszyła się ze 100% średnio do 60% po 40 dniach hodowli. Wysokość roślin nieco zmalała w porównaniu z kombinacją, w której kadm zastosowano w stężeniu najwyższym. W stężeniach niższych kadm w obecności bakterii nieznacznie stymulował wzrost roślin. We wszystkich trzech kombinacjach hamował dodatni wpływ bakterii na przyrost masy roślin, która zmniejszyła się w porównaniu z kontrolą, oraz kombinacją zawierającą *Pseudomonas* sp. Spadek ten był wprost proporcjonalny do stężenia kadmu w podłożu.