

**SPRAWOZDANIE**  
z badań podstawowych prowadzonych w 2020 roku  
na rzecz rolnictwa ekologicznego

**Kierownik Projektu: dr Regina Janas**

**Warzywnictwo ekologiczne, w tym uprawa ziół: badania w celu usprawnienia ekologicznej produkcji nasiennej polegające na określeniu dobrych praktyk, standardów postępowania oraz opracowanie przewodnika wraz z wytycznymi w zakresie prowadzenia produkcji nasiennej upraw warzywniczych w systemie rolnictwa ekologicznego. Opracowanie technologii produkcji nasiennej cebuli w systemie rolnictwa ekologicznego z uwzględnieniem zasad dobrej praktyki oraz możliwości zwiększenia potencjału plonotwórczego roślin nasiennych.**

na podstawie § 8 ust.1 pkt 2, ust.2 pkt 2 i ust.10 rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. poz. 1170, z 2016 r. poz. 1614, z 2017 r. poz.1470 oraz z 2019 r. poz. 901 i poz. 1522)

decyzja Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi  
z dnia 08.04.2020 r., nr JPR.re.027.1.2020

DYREKTOR  
INSTYTUTU OGRODNICTWA  
INSTYTUTU OGRODNICTWA  
*Dorota Konopacka*  
.....  
prof. dr hab. Dorota Konopacka  
Prof. dr hab. Dorota Konopacka

**Wykonawcy:** dr Regina Janas, prof. hab. Lidia Sas-Paszt, prof. dr hab. Mieczysław Grzesik, dr Anna Lisek, mgr Paweł Trzeciński, mgr inż. Renata Górska

**Skierniewice, 2020**



## WSTĘP

**Celem badań** było opracowanie ekologicznej, kompleksowej metody produkcji cebuli nasiennej w dwuletnim cyklu uprawy ze wskazaniem zaleceń dobrej praktyki i możliwości zwiększenia potencjału plonotwórczego roślin w systemach ekologicznych.

W ramach projektu, zgodnie z założeniami, opracowano innowacyjne metody osłony biologicznej nasion cebuli przed patogenami oraz produkcji wysokiej jakości materiału rozmnożeniowego (wysadków) w systemie ekologicznym dla I roku uprawy cebuli nasiennej. Zdrowy materiał siewny i rozmnożeniowy jest podstawą uzyskania dobrego plonowania roślin nasiennych i wysokiej jakości nasion w drugim roku uprawy. Natomiast wysiew nasion porażonych czy skontaminowanych patogenami, zapoczątkowuje w sprzyjających warunkach porażenie systemiczne lub lokalne rośliny – gospodarza, a cykl chorobowy kończy się u roślin nasiennych porażeniem kwiatów i wytwarzanych nasion.

Opracowana technologia I roku produkcji cebuli uprawianej na nasiona uwzględnia najnowsze metody, oparte na elementarnych zasadach dobrej praktyki - ochronie środowiska, gleby i powietrza oraz zachowanie równowagi biologicznej. Jej nadrzędnym celem i zasadą było zbilansowanie stosowanych zabiegów uprawy i ochrony tak, by głównym celem wszystkich zabiegów pozostawała roślina uprawna, jej właściwości genetyczne, jej reakcja na zasiedlające ją organizmy i powiązania między nią i środowiskiem.

W badaniach oceniono przydatność i skuteczność działania środków komercyjnych dopuszczonych do stosowania w ekologicznej produkcji warzyw o zróżnicowanych mechanizmach działania (ulepszaczy glebowych, biostymulatorów, biologicznych środków ochrony), wybranych środków pochodzenia naturalnego (serwatka, drożdże), preparatów biotechnicznych, jak również konsorcjów mikroorganizmów pożytecznych zgromadzonych w SYMBIO BANKU Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach oraz możliwości mikrobiologicznego wzbogacenia wybranych środków naturalnych bakteriami antagonistycznymi, wyizolowanymi w Zakładzie Mikrobiologii i Ryzosfery.

W pierwszym etapie badań określono wpływ nowo opracowanych metod biologicznej osłony na poprawę jakości i zdrowotności nasion cebuli, metabolizm nasion, procesy starzenia materiału siewnego oraz wschody i wzrost roślin w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych, a następnie zweryfikowano uzyskane wyniki w warunkach polowych. Otrzymany w doświadczeniach materiał wysadkowy cebuli poddano po zbiorze selekcji negatywnej, zaprawiono uzyskanymi bioproduktami i umieszczono w przechowalni IO celem reprodukcji nasion w kolejnym sezonie wegetacyjnym.

Opracowano nowatorską technologię biologicznego zaprawiania nasion cebuli, wykorzystującą właściwości i synergię oddziaływania środków pochodzenia naturalnego oraz mikroorganizmów pożytecznych wyizolowanych w SYMBIO BANKU IO przy zachowaniu ich wysokiej skuteczności ochronnej i poprawie jakości nasion. Wzbogacenie środków naturalnych w mikroorganizmy antagonistyczne stwarza możliwość kompleksowej osłony nasion oraz indukcji odporności roślin cebuli na stres biotyczny i abiotyczny w pełnym cyklu I roku uprawy roślin wysadkowych - od nasion do dojrzałości zbiorczej wysadków (materiału rozmnożeniowego). Nowo opracowane metody i technologie, w których zastosowano środki naturalne wzbogacone w pożyteczne mikroorganizmy, usprawnią i zoptymalizują proces produkcji nasiennej oraz otwierają innowacyjną linię produkcji nasiennej w systemach ekologicznych.

Nowo opracowane technologie i bioprodukty mikrobiologiczne będą testowane w drugim roku uprawy cebuli, na roślinach nasiennych i przekształcone w produkty komercyjne. Ze względu na niedobór skutecznych zapraw biologicznych i środków biologicznych do ochrony plantacji nasiennych, istnieje pilna potrzeba wprowadzenia do obrotu tego typu

bioproduktów, które są konkurencyjne i bardziej skuteczne od istniejących na rynku preparatów pochodzenia zagranicznego. Oczekują tego zarówno ekologiczna produkcja towarowa warzyw (tzw. konsumpcyjnych), jak i polski sektor nasienny.

Realizacja zadania umożliwi zastosowanie bioproduktów mikrobiologicznych do poprawy zdrowotności i wigoru nasion wybranych gatunków roślin warzywnych oraz ochrony roślin nasiennych w ekologicznej produkcji ogrodniczej. Zwiększenie asortymentu środków biologicznych, wzbogaconych mikroorganizmami pożytecznymi, o szerokim spektrum właściwości ochronnych i stymulujących odporność roślin oraz możliwość zastępowania nimi standardowego zaprawiania i ochrony chemicznej, zmniejszy skażenie środowiska pestycydami, ograniczy liczbę chemicznych zabiegów ochrony, co przyczyni się do efektywnej ochrony agroekosystemów, szybszej regeneracji tzw. zmęczonych i wyjałowionych gleb, a finalnie - poprawy potencjału plonotwórczego roślin i jakości plonów.

### **Podzadanie 1. Identyfikacja i selekcja szczepów pożytecznych mikroorganizmów oraz opracowanie biopreparatów wzbogaconych mikrobiologicznie, przydatnych w uprawach cebuli nasiennej w systemach ekologicznych**

#### **Wstęp**

Konsorcja pożytecznych mikroorganizmów są jednym z najnowszych rozwiązań mających na celu zwiększenie efektywności produkcji roślinnej, zarówno ogrodniczej jak i rolniczej, mikroorganizmy również przyczyniają się do ograniczania skutków stresu suszy. Konsorcja pożytecznych mikroorganizmów oraz preparaty wzbogacone mikrobiologicznie są już stosowane w produkcji ogrodniczej i materiału szkółkarskiego. W skład takich konsorcjów wchodzi bakterie, promieniowce, grzyby strzępkowe i mykoryzowe. Z powodu korzystnych oddziaływań pożytecznych mikroorganizmów na wzrost i plonowanie roślin są one komponentami preparatów biologicznych, w tym biostymulatorów, bionawozów i środków ochrony roślin. Dlatego też, są skuteczną alternatywą dla nawożenia mineralnego.

Bionawozy zawierają substancję organiczną oraz jeden lub kilka biologicznie aktywnych związków organicznych (aminokwasy, witaminy, enzymy, hormony roślinne), jak również makro i mikroelementy stymulujące wzrost i plonowanie roślin. Dostarczają one roślinom niezbędnych substancji, które są naturalnie syntetyzowane w wielu skomplikowanych procesach biochemicznych, powodując oszczędności energii, która może być wykorzystana do innych przemian w roślinie. Z powodu korzystnych oddziaływań pożytecznych mikroorganizmów na wzrost i plonowanie roślin są one komponentami preparatów biologicznych, w tym biostymulatorów, bionawozów itp. Zwiększenie efektywności pobierania i przyswajania składników mineralnych z biopreparatów przyczynia się do ograniczenia stosowania nawozów i innych chemicznych środków produkcji roślin. Pożyteczne mikroorganizmy wytwarzają biologicznie aktywne związki (witaminy, regulatory wzrostu, antybiotyki, siderofory, substancje odżywcze dla roślin), poprawiające jakość gleb uprawnych oraz wzrost i plonowanie roślin. W intensywnej produkcji ogrodniczej i rolniczej w celu uzyskania wysokich plonów powszechnie stosowane jest wysokie nawożenie mineralne, z aplikacją środków ochrony roślin. Powoduje to utratę potencjału biologicznego i erozję gleb, co prowadzi do pogorszenia jakości i żyzności gleb uprawnych. Alternatywą dla takiej produkcji jest stosowanie obornika, wprowadzanie słomy do gleby oraz naturalnych bioproduktów t.j. bionawozów, biostymulatorów, kompostów wzbogaconych mikrobiologicznie. Dotyczy to zwłaszcza pól użytkowanych rolniczo, przygotowywanych pod nowe nasadzenia oraz w rejonach o dużej intensywności upraw roślin ogrodniczych, gdzie brak jest możliwości przeprowadzenia powszechnie zalecanego zmianowania.

Badania przeprowadzone w Zakładzie Mikrobiologii i Ryzosfery Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach z wykorzystaniem pożytecznych mikroorganizmów pozwoliły na

wyselekcjonowanie najbardziej wartościowych szczepów bakterii ryzosferowych, grzybów mykoryzowych i grzybów strzępkowych. Badania nad wpływem mikrobiologicznych technologii nawożenia i ochrony roślin obejmowały testy szklarniowe, doświadczenia w Sadzie Doświadczalnym oraz u prywatnych producentów warzyw i owoców.

W Zakładzie Mikrobiologii i Ryzosfery Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach opracowano konsorcja pożytecznych mikroorganizmów do zastosowań specjalnych oraz komponenty mikrobiologiczne nawozów organicznych dla upraw roślin ogrodniczych, m.in. inokulum do stymulacji kiełkowania nasion roślin warzywnych, konsorcja przeciwko patogenom glebowym, konsorcja do rozkładu materii organicznej, konsorcja do stymulacji wzrostu i plonowania roślin ogrodniczych, konsorcja mikroorganizmów do ograniczania skutków stresu suszy w uprawie roślin sadowniczych. Opracowane technologie wdrożono do praktyki ogrodniczej i rolniczej. Zaproponowane innowacyjne technologie są przełomowe w kraju i w skali międzynarodowej. Opracowane technologie znajdują m.in. zastosowanie na glebach zakwaszonych, o dużej intensywności upraw roślin ogrodniczych, gdzie brak jest możliwości przeprowadzenia powszechnie zalecanego zmianowania, w sytuacji wystąpienia choroby replantacyjnej, a także na glebach przygotowywanych pod nowe uprawy.

Badania przeprowadzone w Zakładzie Mikrobiologii i Ryzosfery wykazały dużą skuteczność pożytecznych mikroorganizmów zgromadzonych w SYMBIO BANK-u Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach w stymulacji wzrostu i plonowania roślin ogrodniczych, a także w poprawie jakości gleb uprawnych i zdegradowanych. Przeprowadzone doświadczenia wykazały skuteczność mikrobiologicznych technologii nawożenia roślin w ograniczaniu negatywnych skutków stresu suszy w ekologicznej uprawie roślin warzywnych i drzew owocowych. Aplikacja konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów w warunkach stresu suszy w uprawie roślin warzywnych wpłynęła na zwiększenie wzrostu i plonowania roślin, statusu wodnego gleby i roślin oraz stanu odżywienia roślin w składniki mineralne. Stwierdzono, że rośliny traktowane bionawozami sprawniej pobierają substancje odżywcze z gleby dzięki zwiększonej objętości i poprawie struktury systemu korzeniowego. Poza zwiększaniem dostępności i wspomaganiem pobierania substancji odżywczych z gleby przez rośliny, bionawozy mogą także zwiększyć tolerancję roślin zarówno na stresy biotyczne (choroby powodowane przez patogeny odglebowe) jak i abiotyczne, t.j. susza czy zasolenie gleby.

W badaniach przeprowadzonych przez Zakład Mikrobiologii i Ryzosfery wykazano korzystne działanie bioproduktów wzbogaconych mikrobiologicznie stosowanych w uprawie ekologicznej na występowanie zarodników grzybów mykoryzowych w ryzosferze roślin marchwi i ogórka. Aplikacja biowęgla wzbogaconego mikrobiologicznie wpłynęła na formowanie największej liczby zarodników arbuskularnych grzybów mykoryzowych w ryzosferze roślin marchwi i ogórka rosnących w uprawie ekologicznej, w porównaniu do liczby zarodników w ryzosferze roślin z produkcji integrowanej. Zastosowanie inokulum bakteryjno-mykoryzowego i kwasów humusowych wzbogaconych mikrobiologicznie wpłynęło na lepsze formowanie mykoryz i zwiększenie stopnia frekwencji mykoryzowej w korzeniach roślin ogórka i marchwi, w porównaniu do mykoryz roślin z produkcji integrowanej.

W biologicznej ochronie warzyw i owoców wykorzystywane są szczepy i gatunki mikroorganizmów antagonistycznych. Preparaty o działaniu fungicydalnym są zalecane głównie dla upraw roślin sadowniczych, warzywnych i na plantacje szkółkarskie. Bionawozy o właściwościach nawozowo-ochronnych oparte są głównie na bazie substancji organicznej i olejów parafinowych. Stosowane są również preparaty oparte na wyciągach roślinnych, np. z czosnku, drzewa herbacianego, wrotycza, skrzypu polnego, pokrzywy. Dodanie biopreparatów mikrobiologicznych do roztworów olejowych lub wyciągów roślinnych umożliwia obniżenie ich koncentracji, a tym samym stosowanie ich we wczesnych fazach

rozwojowych roślin ogrodniczych. Wobec tego w zabiegach ochrony roślin wykorzystywana jest mniejsza ilość preparatów oraz ograniczona zostanie liczba ich aplikacji, co również wiąże się ze zmniejszeniem pracochłonności. Z dotychczasowych badań wynika, że przedzbiornicze stosowanie biopreparatów mikrobiologicznych w uprawach roślin, a także w przechowywaniu warzyw i owoców wpływa na poprawę jakości przechowalniczej i przetwórczej tych plonów, zwiększa ich walory prozdrowotne oraz eliminuje stosowanie fungicydów chemicznych.

Zwiększenie efektywności pobierania i przyswajania składników mineralnych z biopreparatów mikrobiologicznych przyczyni się do ograniczenia stosowania chemicznych środków produkcji roślin w uprawach roślin. Ponadto, mikroorganizmy glebowe biodegradują w strefie ryzosfery zanieczyszczenia związkami toksycznymi dla roślin i gleby, co poprawia bio-fizyko-chemiczne właściwości systemu glebowego.

**W ramach podzadania opracowano następujące formułacje mikrobiologiczne do traktowania nasion, o wysokiej skuteczności w stymulacji kiełkowania nasion i poprawy jakości materiału siewnego**

- Wodną zawiesinę komórek bakterii bakterii Ps118AA (*Pseudomonas* sp.) i X58AD (*Pantoea* sp.),
- Wodną zawiesinę komórek bakterii bakterie Ps118AA (*Pseudomonas* sp.) i X58AD (*Pantoea* sp.) z dodatkiem kwasów humusowych 'TotalHumus'.
- Wodną zawiesinę komórek bakterii bakterii: Pi119AC, Pi72ED (*Enterobacter* sp.),
- Wodną zawiesinę komórek bakterii bakterie Ps118AA (*Pseudomonas* sp.) i X58AD (*Pantoea* sp.) z dodatkiem kwasów drożdży *Yarrowia lipolytica*.

### **Izolacja, charakterystyka i identyfikacja pożytecznych mikroorganizmów (komponentów konsorcjów mikrobiologicznych)**

#### Pobór próbek roślin i gleby w celu izolacji pożytecznych mikroorganizmów

W celu izolacji mikroorganizmów z ryzosfery roślin cebuli i innych roślin warzywnych, pobrano reprezentatywne próbki gleby i roślin z następujących gospodarstw ekologicznych: Zbigniew Kałdonek, Drzewce 98A, 24-150 Nałęczów oraz Piotr Osik (Polskie Towarzystwo Rolników Ekologicznych), Wola Skromowska 1, 21-150 Kock.

#### Izolacja, selekcja i identyfikacja pożytecznych mikroorganizmów (Tabela 1)

Z gleby ryzosferowej oraz z korzeni izolowano bakterie, które następnie oceniono pod kątem: syntezy kwasu indoliloctowego (hodowla w pożywce tryptonowo sojowej z dodatkiem 5mM l-tryptofanu), udostępniania związków fosforu (hodowla na pożywce wg Pikovskiej przez 10-14 dni), syntezy metabolitów toksycznych dla *V. dahliae* (hodowla na pożywce ziemniaczano-glukozowej) oraz degradacji chityny (pożywka z chityną koloidalną). Bakterie, o największym potencjale stymulacji wzrostu roślin wyizolowano z ryzosfery pietruszki AF2020HAAA (*Bacillus* sp.) i ryzosfery pora Sp2020GYAD (*Enterobacter* sp./*Pantoea* sp.), AF2020GYAB (*Bacillus* sp.), charakteryzujące się właściwościami syntezy auksyn i metabolitów toksycznych przeciwko *V. dahliae*. Szczep CH2020GYBA (*Flavobacterium* sp.) wyizolowany z ryzosfery pora charakteryzuje się zdolnością do degradacji chityny i syntezą metabolitów toksycznych przeciwko *V. dahliae*. Wyselekcjonowane szczepy o dużym potencjale działania biostymulującego i ochronnego mogą być stosowane do stymulacji kiełkowania nasion pora, pietruszki, cebuli i brokuła oraz w uprawach roślin warzywnych.

**Tabela 1. Właściwości szczepów bakterii o największym potencjale stymulacji wzrostu roślin**

<b>Izolat</b>	<b>Gatunek roślin</b>	<b>Synteza IAA</b>	<b>Udostępnianie fosforu (z Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>)</b>	<b>Degradacja chityny</b>	<b>Antagonizm do <i>V. dahliae</i> (szczep AA)</b>	<b>Antagonizm do <i>V. dahliae</i> (szczep AN)</b>
<u>Sp2020GYAE</u>	Ryzosfera Pora	=	=	=	±	=
<u>CH2020HHAC</u>	Ryzosfera Pietruszki	=	=	=	±	=
<u>Sp2020GYBB</u>	Ryzosfera Pora	=	=	±	±	=
<u>CH2020GWAB</u>	Ryzosfera Cebuli	=	=	±	=	=
<u>CH2020HAAE</u>	Ryzosfera Pietruszki	=	=	±	±	=
<u>Sp2020HAAB</u>	Ryzosfera Pietruszki	±	=	=	=	=
<u>AF2020HAAA</u>	Ryzosfera Pietruszki	±	=	=	±	±
<u>Sp2020GYAB</u>	Ryzosfera Pora	±	=	=	±	=
<u>Sp2020GYAD</u>	Ryzosfera Pora	±	=	=	±	±
<u>Sp2020GYBA</u>	Ryzosfera Pora	=	=	=	=	=
<u>AF2020HAAB</u>	Ryzosfera Pietruszki	±	=	=	±	±
<u>CH2020HAAF</u>	Ryzosfera Pietruszki	=	=	±	=	=
<u>Sp2020HAAA</u>	Ryzosfera Pietruszki	±	=	=	=	=
<u>Sp2020HCAA</u>	Ryzosfera Pietruszki	=	±	=	=	=
<u>AF2020HAAC</u>	Ryzosfera Pietruszki	=	=	=	±	=
<u>Sp2020HAAC</u>	Ryzosfera Pietruszki	±	±	=	=	=
<u>Sp2020GYBC</u>	Ryzosfera Pora	±	=	=	=	=
<u>Sp2020HEAB</u>	Ryzosfera Brokuł	±	±	=	=	=
<u>CH2020GWAA</u>	Ryzosfera Cebuli	=	=	±	=	=
<u>Sp2020GYAG</u>	Ryzosfera Pora	±	=	=	=	±
<u>AF2020HAAD</u>	Ryzosfera Pietruszki	=	=	=	=	±
<u>Sp2020GWAD</u>	Ryzosfera Cebuli	±	=	=	=	=
<u>Sp2020GWAA</u>	Ryzosfera Cebuli	=	±	=	=	=
<u>Sp2020HCAB</u>	Ryzosfera Marchew	=	=	=	=	=
<u>CH2020GYAA</u>	Ryzosfera Pora	=	=	±	±	=
<u>Sp2020GYAA</u>	Ryzosfera Pora	=	=	=	=	±
<u>Sp2020GYAC</u>	Ryzosfera Pora	=	=	=	=	=
<u>AF2020GYAA</u>	Ryzosfera Pora	±	=	=	±	±
<u>CH2020GYBA</u>	Ryzosfera Pora	=	=	±	±	±
<u>Sp2020GYAF</u>	Ryzosfera Pora	=	=	=	=	=
<u>Sp2020HEAA</u>	Ryzosfera Brokuł	±	±	=	=	=
<u>AF2020GYAB</u>	Ryzosfera Pora	±	=	=	±	±

Oceniono także liczebność bakterii i grzybów mikroskopowych zasiedlających ryzosferę badanych gatunków roślin warzywnych (Tabela 2).

**Tabela 2. Liczebność bakterii i grzybów mikroskopowych zasiedlających ryzosferę roślin warzywnych**

<u>Próbka</u>	Ogólna liczebność bakterii (x 10 <sup>8</sup> jtk x g <sup>-1</sup> S.M.P.)	Ogólna liczebność grzybów mikroskopowych (x 10 <sup>5</sup> jtk x g <sup>-1</sup> S.M.P.)
Cebula 1 Wola Skromowska	8,23 ± 0,3	21,46 ± 3,1
Cebula 2 Wola Skromowska	6,4 ± 0,21	14,13 ± 0,81
Por Wola Skromowska	5,61 ± 0,7	8,92 ± 0,41
Marchew Wola Skromowska	4,03 ± 0,07	17,4 ± 0,91
Pietruszka Wola Skromowska	3,88 ± 0,23	22,12 ± 1,3
Marchew Drzewce	2,61 ± 0,04	13,44 ± 1,8
Brokuł Drzewce	7,72 ± 0,8	8,6 ± 0,1

\* – Jtk – jednostki tworzące kolonie, \*\* – S.M.P. – suchej masy podłoża

### Wyniki

Ogólna liczebność bakterii i grzybów mikroskopowych zależna była od gatunku roślin, typu gleby i lokalizacji miejsca uprawy. Największa liczebność bakterii występowała w ryzosferze Cebuli 1 Wola Skromowska i Brokuł Drzewce. Ogólna liczebność grzybów mikroskopowych największa była w ryzosferze Cebuli 1 Wola Skromowska i pietruszki Wola Skromowska. Największą ogólną liczebność bakterii i grzybów mikroskopowych odnotowano w ryzosferze roślin Cebula 1 z Woli Skromowskiej, w porównaniu do obiektu Cebula 2 i pozostałych gatunków roślin.

### Molekularna identyfikacja bakterii wykazujących właściwości stymulacji wzrostu roślin

Identyfikację izolatów bakterii wykazujących właściwości pożyteczne dla roślin przeprowadzono na podstawie analizy sekwencji genu rybosomalnego 16S rRNA (Qian i in. 2009, Charbonneau et al., 2012).

DNA izolowano z kolonii bakteryjnych przy użyciu zestawu komercyjnego GeneMatrix Bacterial & Yeast Genomic DNA Purification Kit (EURx) do izolacji DNA z bakterii i drożdży. Koncentrację DNA zmierzono spektrofotometrycznie przy długości fali 260 nm. Do dalszych analiz próby DNA rozcieńczono do koncentracji 10ng/μl DNA.

Amplifikację genu 16S rRNA przeprowadzono z użyciem starterów 27F/1492R (Lane 1991) Reakcje przeprowadzono w mieszaninie reakcyjnej (20μl) składającej się z buforu do PCR (1x), 0,2 mM każdego nukleotydu, 0,2 μM każdego startera, 0,5U polimerazy Thermo Scientific™ DreamTaq™ DNA oraz 20 ng DNA. Reakcje przeprowadzono w 35 cyklach (94°C x 1 min, 55°C x 1 min, 72°C x 2 min.).

Elektroforezę produktów amplifikacji genu 16S rRNA przeprowadzono w 1,4% żelu agarozowym. Żele wybarwiano w bromku etydyny i wizualizowano w świetle UV. Wielkość produktów oceniano przy użyciu markera Thermo Scientific™ GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder. Uzyskane produkty amplifikacji genów poddano sekwencjonowaniu w Genomed S.A.

Sekwencje uzyskane ze starterami 'forward' i 'reverse' składano z użyciem programu BioEdit 7.2. Do analizy wybierano fragment sekwencji o najwyższej jakości. Sekwencje DNA porównano z danymi w bazie NCBI (National Center for Biotechnology Information) [https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE\\_TYPE=BlastSearch&LINK\\_LOC=blasthome](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome).

### Wyniki

W wyniku analizy i porównania sekwencji genu 16S rRNA z bazą NCBI stwierdzono przynależność izolatów bakterii do rodzajów: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter*,

*Cellvibrio, Flavobacterium, Chryseobacterium, Enterobacter sp./Pantoea sp., Klebsiella, Kurthia i Raoultella* (Tabela 3).

Tabela 3. Identyfikacja izolatów bakterii wyizolowanych z ryzosfery roślin warzywnych i wykazujących korzystne dla roślin właściwości biostymulujące i ochronne.

Lp.	Nazwa izolatu	Długość sekwencji (pz)	Rodzaj/gatunek o największym podobieństwie	Nr sekwencji NCBI	Stopień podobieństwa (%)	Identyfikacja
1.	Sp2020G YBC	708	<i>Pseudomonas allopuntida</i>	MT605453.1	100	<i>Pseudomonas</i> sp.
			<i>Pseudomonas putida</i>	CP045551.1	100	
			<i>Pseudomonas taiwanensis</i>	MT435052.1	100	
2.	AF2020G YAA	672	<i>Bacillus cereus</i>	MN691529.1	100	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus thuringiensis</i>	MN128554.1	100	
			<i>Bacillus anthracis</i>	JX294305.1	99,85	
3.	AF2020G YAB	723	<i>Bacillus cereus</i>	KY218868.1	99,17	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus thuringiensis</i>	MT641245.1	99,03	
			<i>Bacillus toyonensis</i>	MT605503.1	99,03	
4.	AF2020H AAA	664	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MT641245.1	99,85	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus toyonensis</i>	MT605503.1	99,85	
			<i>Bacillus pacificus</i>	MT605498.1	99,85	
5.	AF2020H AAB	668	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MT641245.1	99,85	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus cereus</i>	MT611946.1	99,85	
			<i>Bacillus toyonensis</i>	MT605503.1	99,85	
6.	Sp2020G YAF	643	<i>Bacillus mycoides</i>	MT509769.1	99,84	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus pseudomycoides</i>	MK855402.1	99,84	
			<i>Bacillus paralicheniformis</i>	MT436105.1	99,84	
7.	Sp2020G YAG	566	<i>Bacillus paramycoides</i>	MT647568.1	100	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus cereus</i>	MT642947.1	100	
			<i>Bacillus thuringiensis</i>	MT641245.1	100	
8.	Sp2020G YBA	589	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MT641245.1	99,83	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus cereus</i>	MT611946.1	99,83	
			<i>Bacillus toyonensis</i>	MT605503.1	99,83	
9.	Sp2020H AAB	636	<i>Bacillus proteolyticus</i>	MK110484.1	100	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus cereus</i>	MN647516.1	100	
			<i>Bacillus toyonensis</i>	MK287637.1	100	
10.	Sp2020G WAA	689	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	MT436393.1	100	<i>Acinetobacter</i> sp.
			<i>Acinetobacter pittii</i>	MT150630.1	100	
			<i>Acinetobacter</i>	MG011566.1	100	



			<i>rhizosphaerae</i>			
11.	Sp2020G YAA	706	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	MT436393.1	99,72	<i>Acinetobacter</i> sp.
			<i>Acinetobacter pittii</i>	MT150630.1	99,72	
12.	Sp2020G YAC	672	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	MT436393.1	100	<i>Acinetobacter</i> sp.
			<i>Acinetobacter pittii</i>	MT150630.1	100	
			<i>Acinetobacter oleivorans</i>	KU350618.1	100	
13.	Sp2020G YBB	640	<i>Acinetobacter seifertii</i>	MT632639.	100	<i>Acinetobacter</i> sp.
			<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	MT436393.1	100	
			<i>Acinetobacter pittii</i>	MT378403.1	100	
14.	Sp2020H CAB	668	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	MT436393.	100	<i>Acinetobacter</i> sp.
			<i>Acinetobacter pittii</i>	MT150630.1	100	
			<i>Acinetobacter rhizosphaerae</i>	MG011566.1	100	
15.	Sp2020H CAA	484	<i>Acinetobacter seifertii</i>	MT632639.1	100	<i>Acinetobacter</i> sp.
			<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	MT436393.1	100	
			<i>Acinetobacter pittii</i>	MT378403.1	100	
16.	Sp2020H EAB	577	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	MT436393.1	100	<i>Acinetobacter</i> sp.
			<i>Acinetobacter rhizosphaerae</i>	MG011566.1	100	
17.	CH2020 GWAA	742	<i>Cellvibrio fibrivorans</i>	MN540796.1	99,19	<i>Cellvibrio</i> sp.
			<i>Cellvibrio ostraviensis</i>	NR_025552.1	99,19	
			<i>Cellvibrio mixtus</i>	KC329916.1	99,06	
18.	CH2020 GWAB	603	<i>Cellvibrio fibrivorans</i>	MN540796.1	99,50	<i>Cellvibrio</i> sp.
			<i>Cellvibrio mixtus</i>	KC329916.1	99,50	
			<i>Cellvibrio fontiphilus</i>	NR_157755.1	98,68	
19.	CH2020 GYAA	725	<i>Flavobacterium johnsoniae</i>	DQ530073.1	99,72	<i>Flavobacterium</i> sp.
			<i>Flavobacterium plurextorum</i>	MN758819.1	98,90	
			<i>Flavobacterium oncorhynchi</i>	MN758817.1	98,90	
20.	CH2020 GYBA	653	<i>Flavobacterium johnsoniae</i>	DQ530073.1	100,00	<i>Flavobacterium</i> sp.
			<i>Flavobacterium plurextorum</i>	MN758819	99,23	
			<i>Flavobacterium oncorhynchi</i>	MN758817.1	99,23	
21.	Sp2020G YAE	692	<i>Chryseobacterium rhizosphaerae</i>	MT435050.1	100	<i>Chryseobacterium</i> sp.
			<i>Chryseobacterium culicis</i>	MN733109.1	99,57	
			<i>Chryseobacterium</i>	CP033923.1	99,57	

			<i>nakagawai</i>			
22.	Sp2020H AAA	587	<i>Chryseobacterium culicis</i>	MN733109.1	99,83	<i>Chryseobacteriu m</i> sp.
			<i>Chryseobacterium lactis</i>	CP033924.1	99,83	
			<i>Chryseobacterium jejuense</i>	MF280133.1	99,83	
23.	Sp2020G YAD	582	<i>Enterobacter cloacae</i>	MT636553.1	100	<i>Enterobacter sp./Pantoea</i> sp.
			<i>Pantoea agglomerans</i>	MT585395.1	100	
24.	Sp2020H AAC	668	<i>Enterobacter huaxiensis</i>	MT557013.1	100	<i>Enterobacter sp./Pantoea</i> sp.
			<i>Pantoea agglomerans</i>	MT507236.1	100	
25.	Sp2020G YAB	560	<i>Klebsiella oxytoca</i>	MT572937.1	100	<i>Klebsiella</i> sp.
			<i>Klebsiella grimontii</i>	MT435036.1	100	
			<i>Klebsiella michiganensis</i>	MT023382.1	100	
26.	Sp2020G WAD	668	<i>Kurthia gibsonii</i>	MT192444.1	100	<i>Kurthia</i> sp.
			<i>Kurthia huakuii</i>	KY616642.1	100	
27.	Sp2020H EAA	637	<i>Raoultella terrigena</i>	MT545123.1	100	<i>Raoultella</i> sp.
			<i>Raoultella ornithinolytica</i>	MH185873.1	100	

- Opracowano formułacje mikrobiologiczne do traktowania nasion cebuli, o wysokiej skuteczności w stymulacji kiełkowania nasion i poprawy jakości materiału siewnego.
- Najliczniejsze grupy bakterii zidentyfikowanych w ryzosferze roślin warzywnych należały do rodzaju *Bacillus* (8 izolatów) i *Acinetobacter* (7 izolatów). Ponadto, zidentyfikowano po 2 izolaty z rodzajów t.j.: *Cellvibrio*, *Flavobacterium*, *Chryseobacterium* i *Enterobacter/Pantoea*. Zidentyfikowano także pojedyncze izolaty bakterii z rodzajów takich jak *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Kurthia* i *Raoultella*.
- Ogólna liczebność bakterii i grzybów mikroskopowych zależna była od gatunku roślin, typu gleby i lokalizacji miejsca uprawy. Największa liczebność bakterii występowała w ryzosferze Cebuli 1 Wola Skromowska i Brokuł Drzewce. Ogólna liczebność grzybów mikroskopowych największa była w ryzosferze Cebuli 1 Wola Skromowska i pietruszki Wola Skromowska.
- Największą ogólną liczebność bakterii i grzybów mikroskopowych odnotowano w ryzosferze roślin Cebula 1 z Woli Skromowskiej, w porównaniu do obiektu Cebula 2 i pozostałych gatunków roślin.
- Uzyskane wyniki badań posłużą do opracowania bionawozów wzbogaconych pożytecznymi mikroorganizmami, przeznaczonych do zaprawiania nasion i upraw roślin warzywnych.

### Podsumowanie

W praktyce ogrodniczej i rolniczej można zauważyć tendencję zwiększonego zainteresowania naturalnymi metodami produkcji, w tym mikrobiologicznymi technologiami nawożenia i ochrony roślin uprawnych. Istnieje ku temu wiele powodów, wśród których wymienić można: obawy konsumentów o pozostałości szkodliwych substancji w owocach i innych płodach rolnych, obecne trendy w ustawodawstwie i zmniejszanie ilości dopuszczonych do użytku pestycydów, pojawianie się nowych odpornych ras szkodników oraz niszczenie pożytecznej

fauny, w tym owadów zapylających oraz wzrost świadomości o wpływie konsumpcji owoców na zdrowie.

Opracowanie i wdrożenie innowacyjnych technologii jest odpowiedzią na oczekiwania konsumentów żywności oraz na problemy producentów roślin ogrodnich w systemie ekologicznym i integrowanym. Zastosowanie nowych technologii mikrobiologicznych podniesie jakość i wielkość plonów roślin, zwiększy zawartość materii organicznej w glebie, zapewni wysokie plony przy znacznej oszczędności nakładów finansowych oraz przyczyni się do rozwoju firm sektora produkcji ogrodnich i rolniczej w Polsce. Technologie mikrobiologiczne uprawy roślin stwarzają możliwość poprawy jakości gleb oraz rozwoju przyjaznych dla środowiska i zdrowia człowieka zrównoważonych metod produkcji roślin ogrodnich i rolniczych.

### **Literatura**

- Charbonneau D.M., F. Meddeb-Mouelhi, M. Boissinot, M. Sirois and M. Beauregard. 2012. Identification of thermophilic bacterial strains producing thermotolerant hydrolytic enzymes from manure compost. *Indian J. Microbiol.* 52: 41–47.
- Lane D.J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing, pp. 115–175. In: Stackebrandt E. and M. Goodfellow (eds). *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, United Kingdom.
- Qian, G. L., Hu, B. S., Jiang, Y. H., & Liu, F. Q. 2009. Identification and characterization of *Lysobacter* enzymogenes as a biological control agent against some fungal pathogens. *Agricultural Sciences in China*, 8(1), 68-75.

### **Podzadanie 2. Badania nad opracowaniem ekologicznych metod produkcji wysokiej jakości materiału siewnego cebuli oraz prowadzenia nasiennej produkcji zgodnie z zasadami dobrej praktyki rolniczej**

#### **Wstęp**

**Produkcja nasion dla gospodarstw ekologicznych jest zagadnieniem zasadniczej wagi. Wskazuje na to dynamika rozwoju ekologicznej produkcji ogrodnich, wzrastająca liczba gospodarstw ekologicznych i co za tym idzie wzrastający popyt na nasiona produkowane w systemach ekologicznych.** Materiał siewny o wysokiej jakości, w tym zdrowotności, jest jednym z ważniejszych czynników plonotwórczych, wpływających na zwiększenie produkcji roślinnej. Zgodnie z wymogami Ustawy o rolnictwie ekologicznym (Dz.U. 2004), gospodarstwa ekologiczne są zobowiązane do stosowania w produkcji roślinnej materiału siewnego wyprodukowanego w systemach ekologicznych. Ważnym czynnikiem na który należy zwrócić uwagę w ekologicznej produkcji nasiennej dwuletnich roślin warzywnych jest również odmiana. Właściwy dobór odmiany z preferencją odmian o wysokiej odporności na choroby i czynniki środowiskowe panujące w rejonie uprawy w znacznym stopniu decyduje o stanie zdrowotnym roślin uprawianych na nasiona i może ograniczyć straty plonu wysadków (w I roku uprawy) i nasion (II rok uprawy).

Materiał siewny dla plantacji ekologicznych powinien spełniać szereg kryteriów m.in. być mikrobiologicznie czysty i genetycznie odporny na choroby. Jednocześnie uprawy, w których nie stosuje się chemicznych środków ochrony roślin, mogą być potencjalnym źródłem zakażonych nasion, pełniących bardzo ważną rolę w rozprzestrzenianiu chorób roślin. Silnie zainfekowany materiał siewny stanowi poważne zagrożenie i źródło infekcji dla przyszłych roślin, co powoduje wzrastające z roku na rok straty plonu i obniżenie jakości reprodukowanych nasion. Jednocześnie brak jest badań dotyczących wartości siewnej nasion

roślin ogrodniczych, wyprodukowanych w systemach ekologicznych i informacji, czy spełniają one wymagania standardów jakości zamieszczone w Ustawie o nasiennictwie. Z doniesień literatury i badań własnych wynika, że jakość nasion uzyskanych z gospodarstw ekologicznych nie jest zadawalająca, co wynika z ograniczonych możliwości stosowania biologicznych środków ochrony i ograniczonego asortymentu tych środków. Należy przypuszczać, że wysiew materiału siewnego o niskiej jakości i zdrowotności wpłynie negatywnie na wschody polowe, zdrowotność roślin w czasie wegetacji, powodując relatywny spadek plonów. Stosowanie wysokiej jakości materiału siewnego staje się priorytetem, gdyż jest to ważny czynnik wpływający na wielkość plonu i jego jakość oraz rentowność produkcji. Wymaga to jednak stosowania zabiegów przedsięwziętych pozwalających na poprawę jakości mikrobiologicznej nasion. Technologia przygotowania nasion do siewu jest rozwijającą się nauką, w której stosuje się metody fizyczne, fizykochemiczne, chemiczne i biologiczne. **W celu poprawy zdrowotności i jakości ekologicznego materiału siewnego oraz wobec braku środków biologicznej ochrony i zapraw nasiennych, coraz częściej nasiona poddaje się przedsięwziętemu uszlachetnianiu.** Wymienione uwarunkowania i problemy związane z pozyskiwaniem ekologicznego materiału siewnego, zwłaszcza roślin dwuletnich, wytwarzających nasiona w drugim roku uprawy (cebula) narzucają konieczność opracowania kompleksowych technologii produkcji nasion i ochrony upraw w systemie ekologicznym.

## **Metodyka**

Doświadczenia prowadzono w warunkach laboratoryjnych, szklarniowych oraz polowych zlokalizowanych na Certyfikowanym Ekologicznym Polu Doświadczalnym Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach. Badania prowadzono na komercyjnych ekologicznych nasionach cebuli odmiany Density4-Bio, wybranej do doświadczeń zgodnie z zasadami obowiązującymi w ekologicznej produkcji warzyw - z prowadzonego przez Główny Inspektorat Ochrony Roślin i Nasiennictwa „Wykazu materiału siewnego wyprodukowanego metodami ekologicznymi”. Certyfikowane, ekologiczne nasiona cebuli zakupiono w jednej z renomowanych firm nasiennych Plantico-Zielonki. Materiałem do badań były **nasiona cebuli, otrzymane z nich rośliny i materiał rozmnożeniowy (wysadki)**, przeznaczony do reprodukcji nasion cebuli w II roku uprawy oraz **mikroorganizmy antagonistyczne wyizolowane w SymbioBanku Instytutu Ogrodnictwa, komercyjne środki biologiczne i biotechniczne (Polyversum, Serenade, Contans, BlackJak, Limoncide, Dipel WG, Nordox 75 WG), środki pochodzenia naturalnego (serwatka, drożdże) oraz środki pochodzenia naturalnego (wymienione wyżej) wzbogacone mikrobiologicznie szczepami bakterii antagonistycznych pochodzącymi z Symbio Banku.** Wybór ekologicznych środków do traktowania nasion i roślin uwzględniał specyfikę uprawy cebuli na nasiona, jej podatność na choroby infekcyjne, zasiedlenie nasion mikroflorą i źródła infekcji pierwotnej, ale również skład i szkodliwość entomofauny specyficznej dla tego gatunku rośliny. **Nasiona uszlachetniano również metodą fizyczną – przy pomocy gorącej wody (hydrotermoterapia).**

**Uprawę cebuli w warunkach polowych prowadzono w dwóch rozstawach – kwadratowej 30 x 30 cm oraz 30 x 45 cm**, celem określenia wpływu zagęszczenia roślin na parametry jakości wysadków cebuli (materiału rozmnożeniowego). Powierzchnia poletka przy rozstawie kwadratowej wynosiła 43,2 m<sup>2</sup>, przy rozstawie prostokątnej 70,2 m<sup>2</sup> (13 rzędów = kombinacji po 40 roślin w rzędzie). Doświadczenia prowadzono w czterech powtórzeniach, w układzie bloków losowanych. Łączna powierzchnia doświadczenia wynosiła 550 m<sup>2</sup>. Traktowane nasiona cebuli (13 kombinacji) wysiewano ręcznie w polu zgodnie z wymogami agrotechnicznymi dla tego gatunku.

Wybrane środki biologiczne stosowano w uprawach polowych cebuli wysadkowej w formie :

a) doglebowej aplikacji preparatu mikrobiologicznego Contans WG (zawierający  $1 \times 10^9$  w 1 g oospor grzyba pasożytniczego *Coniothyrium minitans*), ograniczającego porażenie roślin przez grzyby z rodzaju *Sclerotinia* odpowiedzialne za zgniliznę twardzikową - stosowany na 15 dni przed planowanym siewem nasion.

b) podlewania roślin po wschodach w fazie 3 – 4 liści (wg skali BBCH 13-14) Polyversum,

c) dolistnej aplikacji w okresie zaawansowanego stadium rozwoju roślin cebuli - biologicznych środków stosowanych naprzemiennie (Prestop WP, Serenade ASO 8,0 l/ha) oraz środków naturalnych wzbogaconych mikroorganizmami pochodzącymi z Symbio Banku. Terminy zabiegów dostosowane były do aktualnego zagrożenia chorobami powodowanymi przez grzyby z rodzaju *Botrytis*, *Sclerotinia*, *Alternaria*,

d) doglebowej aplikacji mikroorganizmów pożytecznych oraz bioproduktów wzbogaconych antagonistycznymi bakteriami z Symbio Banku, ograniczającymi porażenie roślin cebuli przez grzyby z rodzaju *Fusarium* i *Sclerotinia*,

e) aplikacji wybranych środków biotechnicznych – użyźniaczy glebowych, poprawiających miąższość i strukturę gleb (Apol-Humus, Zumsil).

Zbiór wysadków cebuli przeprowadzono 16.09. 2020 r., ręcznie. Wysadki wykopywano gdy około 80% roślin na plantacji miało załamany szczypior. Opóźnianie terminu zbioru, aż do zupełnego zaschnięcia szczypioru, może powodować ponowne ukorzenie się cebuli, przerwanie spoczynku, a w konsekwencji skrócenie okresu przechowania oraz wcześniejsze wyrastanie szczypioru. Wysadki cebuli po ogławianiu (usunięciu szczypioru), dosuszano w polu a następnie w szklarni aż do całkowitego wysuszenia zewnętrznych łusek (dwa tygodnie), co zapobiega jej gniciu podczas przechowywania. Następnie usunięto luźne łuski, skrócono korzenie i przycięto nadmiar liści do 4-5 cm. Kolejnym zabiegiem przed przechowywaniem cebuli była selekcja negatywna. Polegała ona na eliminacji wysadków uszkodzonych, z objawami porażenia przez patogeny, zdeformowanych, nietypowych. Tak przygotowane do składowania wysadki cebuli zaprawiono bioproduktami otrzymanymi w doświadczeniach i umieszczono w kabinach przechowalni IO w kontrolowanych warunkach temperatury i wilgotności do wiosny 2021 roku, kiedy zgodnie z założeniami projektu, będą wysadzone w polu celem reprodukcji nasion.

## **Wykonano następujące analizy, pomiary i diagnostyki**

### **Badania laboratoryjne**

#### **Analizy i ocena zdolności kiełkowania nasion**

**Celem oceny nasion jest możliwie ściśle określenie tych cech wartości siewnej, które mają istotny wpływ na ilość i jakość wschodów oraz plon roślin.** Obowiązująca ustawa o nasiennictwie nakłada obowiązek stosowania w ocenie nasion zasad i metod określonych w przepisach ISTA zarówno w międzynarodowym jak i krajowym obrocie nasiennym.

Zgodnie z przepisami ISTA analizę zdolności kiełkowania przeprowadzono na 400 nasionach cebuli odmiany Densite4 – Bio, wydzielonych z frakcji nasion czystych i przechłodzonych. Nasiona nietraktowane (kontrola) i traktowane z poszczególnych kombinacji wysiewano równomiernie na uwilgotnionych bibułach filtracyjnych w szalkach Petriego w 4 powtórzeniach po 100 nasion. Następnie inkubowano je w termostatach w temperaturze 20°C przez 12 dni. Ocena kiełkowania przeprowadzono po 6 dniach (energia kiełkowania) a końcowe liczenie kiełkujących nasion (zdolność kiełkowania) po 12 dniach, zgodnie z aktualnie obowiązującymi przepisami Międzynarodowego Związku Oceny Nasion (ISTA).

Obliczono ponadto odsetek siewek z objawami chorobowymi, siewek zdeformowanych, nasion martwych oraz zdrowych niekiełkujących, co było pomocne przy ocenie fitotoksyczności stosowanych do traktowania nasion środków.

#### Ocena dynamiki kiełkowania nasion

W celu określenia wpływu traktowania nasion w poszczególnych kombinacjach na szybkość kiełkowania oceniono dynamikę kiełkowania. Nasiona kontrolne (nie traktowane) i traktowane z poszczególnych 13 kombinacji wysiano w szalkach Petri'ego na bibułę nawilżoną wodą destylowaną a następnie codziennie przez 28 dni liczono skiełkowane nasiona. Dynamikę mierzono na podstawie codziennej liczby skiełkowanych zarodków.

#### Ocena zdrowotności - analizy mikologiczne materiału siewnego.

Oceniono zdrowotność ekologicznych, komercyjnych nasion cebuli, przed zabiegami uszlachetniania oraz po traktowaniu (13 kombinacji). Przeprowadzono diagnostykę jakościową (przynależność mikopatogenów do rodzaju lub gatunku) i ilościową mikoflory zasiedlającej nasiona oraz ocenę procentowego porażenia nasion w poszczególnych kombinacjach. Zdrowotność nasion cebuli oceniano za pomocą testu agarowego. Nasiona umieszczono w płytkach Petriego o średnicy 9 cm (10 nasion na płytce), na zestalonej pożywce dekstrozowo-ziemniaczanej (PDA) z dodatkiem streptomycyny eliminującej bakterie. Następnie inkubowano je przez 10 dni w temperaturze 20°C, w warunkach przemiennego oświetlenia światłem NUV. Podstawą identyfikacji był wygląd kolonii grzybów oraz ich zarodnikowanie [Mathur i Kongsdal 2003]. Patogeny identyfikowano przy użyciu mikroskopii świetlnej (wysokiej czułości mikroskop elektronowy Leica).

#### Ocena fitotoksyczności testowanych środków

Ocenę prowadzono przy pomocy testu Phytotoxkit – szybkiego testu fitotoksyczności z bezpośrednim pomiarem długości siewek i korzeni zarodkowych (pierwotnych) metodą analizy obrazu. Oznaczenie jest przeprowadzane w specjalnych, przezroczystych pojemnikach, które umożliwiają bezpośrednią obserwację kiełkowania nasion i wczesnego wzrostu roślin. Traktowane nasiona cebuli z poszczególnych kombinacji wykładano na płytkach Phytotoxkit, inkubowano w temperaturze optymalnej dla kiełkowania nasion i wzrostu siewek (20°C) w ciągu 21 dni. Następnie oceniono wzrost siewek i korzeni pierwotnych oraz ich zdrowotność a także liczbę skiełkowanych nasion i masę siewek.

#### Ocena ogólnej aktywności dehydrogenaz w nasionach

Celem pomiaru ogólnej aktywności dehydrogenaz w nasionach cebuli było określenie stanu wydajności oddechowej enzymów łańcucha oddechowego, zlokalizowanych w różnych organellach komórkowych, a szczególnie w mitochondriach. Badanie aktywności dehydrogenaz (enzymów oddechowych) uznawane jest często jako indeks/ współczynnik oddechowy i metabolizmu komórek w nasionach, co pośrednio także określa ich wigor. Wykonano ją zgodnie z opracowaną metodyką: nasiona cebuli traktowano przez 20 minut wymienionymi środkami biologicznymi, naturalnymi i mikroorganizmami pożytecznymi z SymbioBanku oraz bioproduktami wzbogaconymi bakteriami antagonistycznymi SymbioBanku. Kultury inkubowano 16 godzin w szalkach Petri'ego o średnicy 90 mm w temperaturze 25 °C na bibule olejowej (pH 7,0 i gramatura 250 g x m<sup>-2</sup>) nasyconej 6.5 ml wody destylowanej. Napęczniałe i przesuszone powierzchniowo nasiona w ilości 0,2 g umieszczano w czterech probówkach Eppendorfa (powtórzenia) o pojemności 2.2 ml. Probówki zalewano 1 ml 0.1 M buforem fosforanowym (pH 7.2) zawierającym 0.7% (w/v) TTC (chlorku trifenylotetrazoliowego). Zmielone nasiona w probówkach Eppendorfa inkubowano w 25°C. Po 24 godzinach homogenat odwirowywano przez 5 min przy 5000 obr. x min<sup>-1</sup>. Znajdujący się w nasionach, zredukowany przez dehydrogenazy i nierozpuszczalny w wodzie, formazan poddano wielokrotnej ekstrakcji w acetonie aż do całkowitego odbarwienia

się nasion. Otrzymane frakcje supernatantu zlewano po odwirowaniu przez 2 min. przy 5000 obr. x min<sup>-1</sup> do cylindrów miarowych, które w końcowej fazie dopełniano acetonem do stałej objętości. Zawartość formazanu (podaną w mg formazanu na g napęczniałych nasion; mg x g nasion<sup>-1</sup>) określono na podstawie porównania absorpcji badanego ekstraktu oraz roztworu wzorcowego. Absorbancję ekstraktu odczytywano przy 480 nm.

### **Badania w warunkach szklarniowych**

W warunkach szklarniowych oceniono:

**Dynamikę wschodów i wzrostu roślin cebuli** otrzymanych z uszlachetnionych nasion. Nasiona wysiewano w szklarni do skrzynek wypełnionych standardowym substratem. Dynamikę określono na podstawie wielokrotnych pomiarów liczby wzeszłych roślin. Pomiary były prowadzone co kilka dni w zależności od intensywności wschodów.

**Pomiary biometryczne roślin** – prowadzone od wschodów do formowania cebul.

**Indeks zawartości chlorofilu w roślinach** otrzymanych z traktowanych nasion - mierzony aparatem Minolta SPAD-502, Konica Minolta,

**Aktywność wymiany gazowej w roślinach:** fotosynteza netto, transpiracja, przewodność szparkowa i stężenie międzykomórkowego CO<sub>2</sub>, mierzone były przy pomocy analizatora wymiany gazowej TPS-2, PP Systems, USA.

**Monitoring i ocena zdrowotności roślin cebuli z poszczególnych 13 kombinacji traktowanych nasion.**

### **Badania i obserwacje w warunkach polowych**

Badania wykonano analogicznie, jak w metodyce opisanej przy doświadczeniach szklarniowych

- ✓ Ocena dynamiki wschodów
- ✓ Pomiary biometryczne roślin
- ✓ Indeks zawartości chlorofilu w roślinach
- ✓ Ocena aktywności oddechowej roślin
- ✓ Monitoring wzrostu i rozwoju roślin.
- ✓ Monitoring i ocena zdrowotności roślin
- ✓ Monitoring pojawu szkodników i ochrona

## **Wyniki**

W ramach projektu opracowano metody i zasady uprawy cebuli w I roku produkcji materiału rozmnożeniowego (wysadków), przeznaczonych do reprodukcji nasion w II roku uprawy. Wyniki zestawiono w tabelach 1-3 oraz na rysunkach 1-61.

### **Zdrowotność nasion**

Wyniki analiz mikologicznych **ekologicznych, komercyjnych, nie traktowanych nasion cebuli** wskazują na ich **niską zdrowotność** wyrażoną procentowym porażeniem (tab. 1-2 kontrola). Stwierdzono, że podobnie, jak w przypadku nasion pochodzących z upraw konwencjonalnych, najczęściej były one zasiedlane przez grzyby saprotroficzne, zwłaszcza gatunki *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Epicoecum purpurascens*. Największy jednak udział w ogólnej populacji grzybów miał gatunek *Alternaria alternata*, uznawany za potencjalnie niebezpieczny ze względu na możliwość produkowania mykotoksyn, które mogą powodować spadek zdolności kiełkowania i opóźnianie rozwoju siewek. Wśród patogenów wyizolowano grzyby z rodzaju

*Botrytis*, *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Stemphylium* i *Colletotrichum*. Ze względu na dużą szkodliwość i częste występowanie w materiale roślinnym, wymienione mikopatogeny należą do ważnych gospodarczo patogenów roślin cebuli, **które mogą obniżać kiełkowanie nasion w warunkach polowych nawet o 20 - 35%, a z zainfekowanych nasion mogą wyrastać chore i słabe siewki**. Ponieważ większość z nich przenosi się z materiałem siewnym, często są izolowane z roślin w różnych fazach rozwojowych, a zwłaszcza w latach sprzyjających rozwojowi infekcji (ciepła i wilgotna pogoda). Przedstawione dane (kontrola tab.2-3) wskazują jednoznacznie, że badany materiał siewny cebuli przed wysiewem w polu powinien być poddany zaprawianiu, bądź uszlachetnianiu metodami fizycznymi.

**Zastosowanie ekologicznej osłony nasion niezależnie od rodzaju środka i metody, zwiększyło zdrowotność nasion, wyeliminowało lub znacznie zredukowało występowanie grzybów *A. alternata*, *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. i *Stemphylium botryosum***. Po traktowaniu nasion cebuli środkami biologicznymi (z użyciem biopreparatów, naturalnych substancji, mikroorganizmów pożytecznych SymbioBanku oraz bioproduktów wzbogaconych mikrobiologicznie) i fizycznymi (odkazywanie w gorącej wodzie) odnotowano więcej nasion wolnych od grzybów saprofitycznych i patogenów. **Najlepsze efekty mierzone redukcją mikoflory izolowanej z nasion uzyskano w kombinacjach, gdzie nasiona inokulowano bioproduktami naturalnymi wzbogaconymi mikroorganizmami pożytecznymi Symbio Banku (tab. 1-2). Mikroorganizmy antagonistyczne zastosowane w kompleksie z serwatką i drożdżami Skotan zintensyfikowały efekty ochronne i w rezultacie otrzymano ponad czterokrotny spadek porażenia nasion w porównaniu z kontrolą i dwukrotnie niższy w odniesieniu do pozostałych kombinacji (tab. 2)**. Ich fungistatyczne oddziaływanie utrzymywało się również na etapie wschodów roślin w podłożach glebowych w doświadczeniach szklarniowych oraz w warunkach polowych.

Poprawę zdrowotności nasion cebuli odnotowano również po **odkazywaniu nasion w gorącej wodzie (45-50°C) przez 20-30 minut** (hydrotermoterapia). Wysoka skuteczność zabiegu polegała na eliminacji patogenów kontaminujących okrywą nasienną (porażających nasiona zewnętrznie), przez co zapobiegał ich wnikaniu w głąb nasion i uszkodzaniu zarodka (tab.2). Metoda ta pozwala na uzyskanie zdrowego materiału siewnego bez ingerencji środków chemicznych. Woda może także usuwać inhibitory kiełkowania nasion z okrywy nasiennej. Jest to metoda nieinwazyjna, stosunkowo prosta, przyjazna środowisku, a więc ważna i przydatna w produkcji nasion w systemach ekologicznych. Może się ona także stać alternatywną metodą do zaprawiania, co przy ograniczonym asortymencie zapraw biologicznych ma niebagatelne znaczenie.

### **Kiełkowanie nasion, wschody i aktywność fizjologiczna**

Wysoka zdrowotność nasion poddanych uszlachetnianiu przekładała się na poprawę kiełkowania i wschody zarówno w warunkach laboratoryjnych, szklarniowych, jak i polowych. Najlepsze efekty mierzone wzrostem energii kiełkowania, zdolności kiełkowania oraz szybkimi i wyrównanymi wschodami uzyskano po traktowaniu nasion **bioproduktami naturalnymi wzbogaconymi mikroorganizmami pożytecznymi SymbioBanku**. Jest to nowo opracowana, perspektywiczna metoda o wysokiej skuteczności ochronnej. Stosowanie **produktów naturalnych (serwatka+drożdże Skotan) wzbogaconych mikrobiologicznie w bakterie probiotyczne z rodzaju *Enterobacter* oraz mikroorganizmy o dużej aktywności działania antybiotycznego, wyizolowane z rizo sfery cebuli w SymbioBanku Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach, zapewnia kompleksową osłonę nasion. Potwierdzono, że chronią one nasiona przed patogenami ale także mają pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion (nie są fitotoksyczne i nie obniżają zdolności kiełkowania), przyspieszają wschody i zwiększają zdrowotność roślin. Spośród efektywnych środków stosowanych w osłonie nasion**



cebuli wyróżniał się komercyjny preparat mikrobiologiczny Polyversum (zawiera oospory grzyba antagonistycznego *Pythium oligandrum*), chroniący siewki cebuli przed zgorzelą, szarą pleśnią powszechnie występującą w uprawach (przenoszona z nasionami) i wpływający na poprawę kiełkowania i wschodów roślin. Przydatne i poprawiające kiełkowanie i wschody okazały się również produkty naturalne serwatka, drożdże (*Yarrowia lipolytica*) a także płukanie nasion cebuli w gorącej wodzie (45 - 50° C). Wymienione metody i środki stosowane w osłonie nasion wpływały także na wzrost aktywności fizjologicznej roślin, co stwierdzono na podstawie indeksu zawartości chlorofilu w liściach rys. 1-12) . W badaniach wykazano, że stosowane środki biologiczne istotnie zwiększyły wzrost hypokotyli oraz korzeni pierwotnych (zarodkowych) siewek cebuli w porównaniu do kontroli (testy Phytotoxkit). Najkorzystniejszy wpływ miało 20 minutowe traktowanie nasion produktami naturalnymi oraz łączne stosowanie tych produktów z mikroorganizmami pożytecznymi SymbioBanku. Produkty naturalne wzbogacone mikrobiologicznie wpływały również korzystnie na masę uzyskanych siewek (tab.3). Pod wpływem aplikacji donasiennej środków mikrobiologicznych zarówno komercyjnych (Polyversum), jak i wyizolowanych w SymbioBanku i stosowanych do zintensyfikowania właściwości ochronnych i stymulujących w ramach wzbogacania naturalnych produktów, następował 45 % wzrost aktywności dehydrogenaz w nasionach w porównaniu do nasion kontrolnych (nie traktowanych). Wskazuje to na stymulację aktywności procesów oddechowych w nasionach cebuli.

### **Wzrost i plonowanie roślin**

Wyniki badań uzyskanych w warunkach szklarniowych i polowych potwierdziły trafność doboru środków mikrobiologicznych i naturalnych stosowanych do traktowania nasion cebuli. W kombinacjach gdzie nasiona inokulowano bioproduktami naturalnymi i wzbogaconymi mikrobiologicznie otrzymano bardziej wyrównane i liczniejsze wschody oraz mniej siewek cebuli z objawami zgorzeli. Wschody i wzrost korzeni stymulował również preparat BlackJak (wodna zawiesina leonardytu), aplikowany dogłębowo, we wczesnych fazach rozwojowych cebuli (8-10 cm wzrostu). Zastosowanie we właściwych fazach wzrostu i rozwoju roślin biologicznych środków ochrony Contans, Serenade, Prestop, Polyversum (wymienionych w metodyce doświadczeń) oraz dogłębowej aplikacji mikroorganizmów pożytecznych i bioproduktów wzbogaconych antagonistycznymi bakteriami z Symbio Banku (m.in. TotalHumus ograniczyło porażenie roślin cebuli przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Botrytis* i *Alternaria*. Wykazano także, że stosowanie w uprawach cebuli wysadkowej naturalnych, organicznych stymulatorów wzrostu roślin, jak **Totalhumus wzbogaconych mikrobiologicznie szczepami bakterii ryzosferowych oraz grzybami mikoryzowymi o działaniu synergistycznym, zwiększa ich aktywność biostymulującą, ochronną i plonotwórczą. Jak wykazały badania, wskazane jest również stosowanie** użyźniaczy glebowych, poprawiających miąższość i strukturę gleb (Apol-Humus, Zumsil). Preparaty krzemowe (Zumsil) wspomagają dodatkowo reakcje obronne roślin. W rezultacie w kombinacjach wzbogaconych mikroorganizmami pożytecznymi SymbioBanku otrzymano istotny wzrost plonów wysadków i lepszą ich jakość, niż w kombinacjach gdzie aplikowano wyłącznie produkty naturalne lub preparaty komercyjne. Najlepszej jakości wysadki o parametrach wymaganych w produkcji nasion, otrzymano w uprawach cebuli w rozstawie kwadratowej 30 x 30 cm (rys. 44-49 i 56-61). Charakteryzowały się one wyrównaniem, średnicą w granicach 4-5 cm oraz bardzo dobrą zdrowotnością, ocenioną podczas selekcji negatywnej wykonanej przed ich przechowywaniem.

Tabela 1. Wpływ traktowania nasion cebuli środkami biologicznymi na zasiedlenie mikoflorą (% w stosunku do ogółu izolatów)

Mykoflora	Kontrola	S	D	M2	S+ M2	S+D+M2
<i>Alternaria alternata</i>	46,5	15,5	17,0	16,3	12,0	9,0
<i>Alternaria porri</i>	4,2	2,6	3,0	2,5	2,0	1,3
<i>Aspergillus sp.</i>	4,7	2,5	3,0	2,7	2,5	2,0
<i>Botrytis alli</i>	1,5	0,5	0,5	0,8	0,0	0,0
<i>Botrytis cinerea</i>	2,2	0,7	1,0	1,0	0,7	0,5
<i>Colletotrichum sp.</i>	1,4	0,8	0,6	0,8	0,0	0,0
<i>Cladosporium spp.</i>	5,0	1,5	2,3	2,0	1,2	0,5
<i>Epicoccum purpurascens</i>	4,5	2,0	1,6	1,5	1,0	0,0
<i>Fusarium spp.</i>	1,8	1,2	1,0	0,5	0,5	0,0
<i>Penicillium sp.</i>	6,5	2,0	2,5	2,5	1,6	1,0
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	2,0	0,6	0,8	1,0	0,4	0,0
<i>Stemphylium sp.</i>	2,5	1,9	1,4	1,6	1,5	0,8
<b>Porażenie nasion (%)</b>	<b>59,0</b>	<b>23,0</b>	<b>25,1</b>	<b>20,5</b>	<b>16,0</b>	<b>12,5</b>

S- serwatka, D-drożdże; M2- bakterie antagonistyczne; S+M2 - serwatka + bakterie antagonistyczne; S+D+M2- serwatka +drożdże + bakterie antagonistyczne

Tabela 2. Wpływ traktowania nasion cebuli środkami biologicznymi na zasiedlenie mikoflorą (% w stosunku do ogółu izolatów)

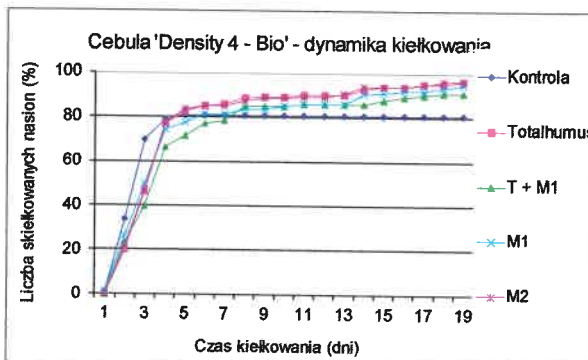
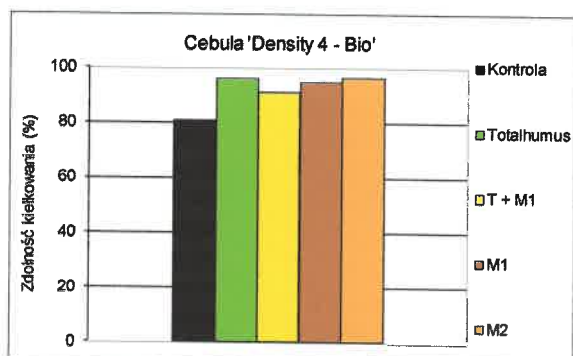
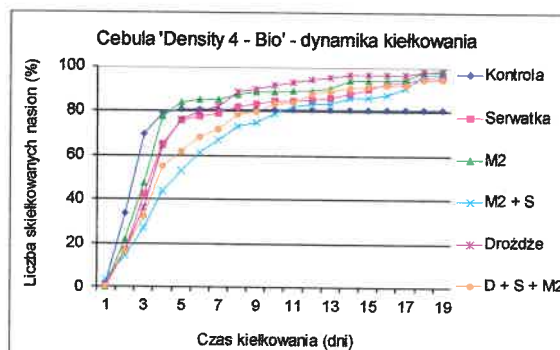
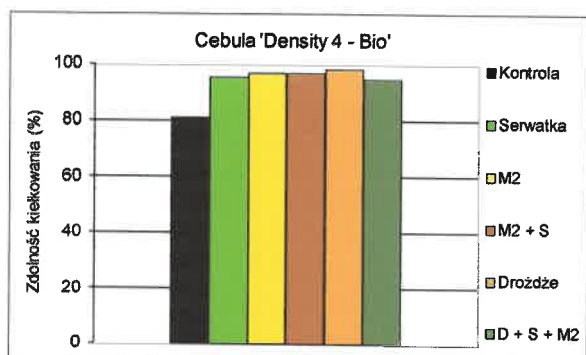
Mikoflora	Kontrola	T	M1	T+M1	P	Sd	H <sub>2</sub> O 50°C
<i>Alternaria alternata</i>	46,5	31,0	25,0	23,5	24,0	17,0	13,5
<i>Alternaria porri</i>	4,2	3,5	2,5	2,1	2,6	1,8	3,5
<i>Aspergillus sp.</i>	4,7	3,0	2,0	1,4	2,0	2,8	2,5
<i>Botrytis alli</i>	1,5	1,1	1,0	0,8	0,5	0,0	1,0
<i>Botrytis cinerea</i>	2,2	1,6	1,0	0,8	1,5	0,5	1,4
<i>Colletotrichum sp.</i>	1,4	1,0	0,7	0,0	1,0	0,8	1,2
<i>Cladosporium spp.</i>	5,0	3,5	1,5	1,0	1,8	2,0	0,8
<i>Epicoccum purpurascens</i>	4,5	2,6	1,9	1,2	2,0	2,5	1,9
<i>Fusarium spp.</i>	1,8	1,5	0,6	0,3	1,0	0,9	1,6
<i>Penicillium spp.</i>	6,5	5,2	4,0	3,0	3,5	4,0	4,5
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	2,0	1,1	0,5	0,0	0,5	0,8	1,0
<i>Stemphylium botryosum</i>	2,5	2,0	1,6	1,0	1,3	0,6	1,8
<b>Porażenie nasion (%)</b>	<b>59,0</b>	<b>38,5</b>	<b>26,5</b>	<b>22,2</b>	<b>24,0</b>	<b>26,0</b>	<b>29,0</b>

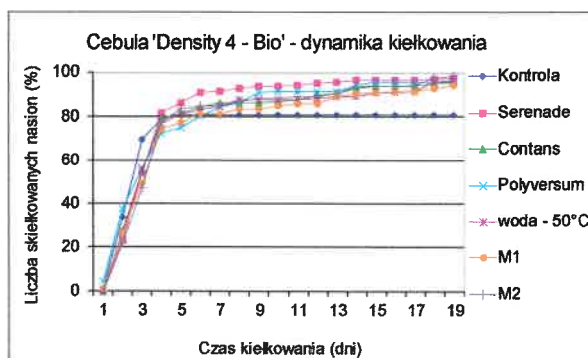
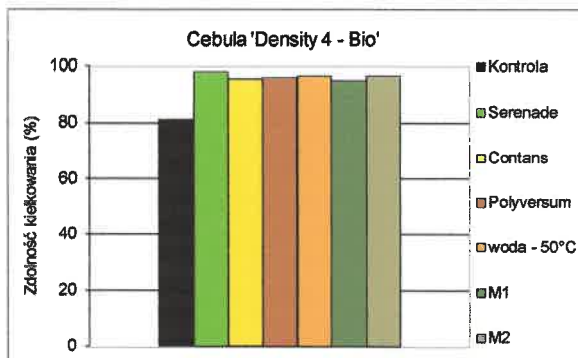
T- Totalhumus; M1 - bakterie antagonistyczne; T+M1 – Totalhumus + bakterie antagonistyczne; P – Polyversum Sd – Serenade ;

Tabela 3. Wpływ traktowania nasion cebuli na kiełkowanie nasion i masę siewek w testach Phytotoxkit

Metoda traktowania nasion	Liczba skielkowanych nasion w płytce Phytotoxkit (10 szt.) – średnia z 4 powtórzeń	Masa siewek (mg)
<b>Kontrola</b>	<b>6,50</b>	<b>443,50</b>
Serwatka (S)	7,50	554,25
Drożdże (D)	7,50	596,75
Polyversum (P)	8,50	624,50
Totalhumus (T)	7,25	544,00
<b>H<sub>2</sub>O 50° C</b>	<b>8,00</b>	<b>523,25</b>
M1	7,20	587,50
M2	7,50	615,25
<b>S+D+M2</b>	<b>9,75</b>	<b>750,75</b>
S+M2	9,25	730,00
D + M2	9,00	715,75
T+M1	8,50	623,25

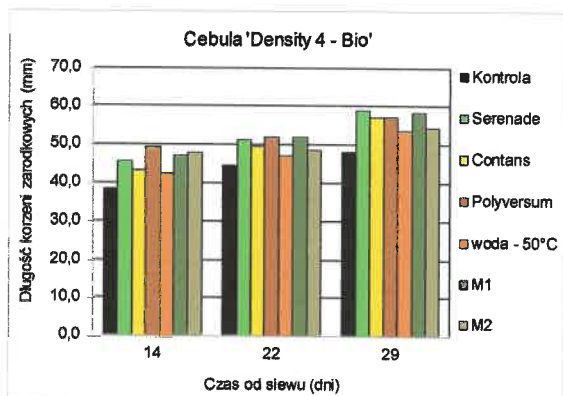
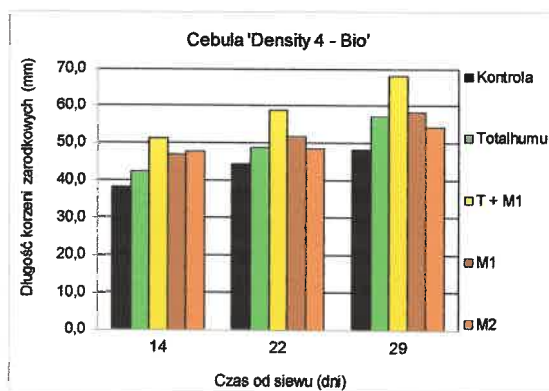
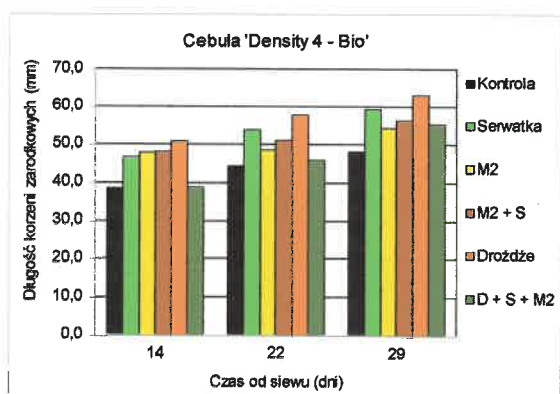
### Doświadczenia laboratoryjne



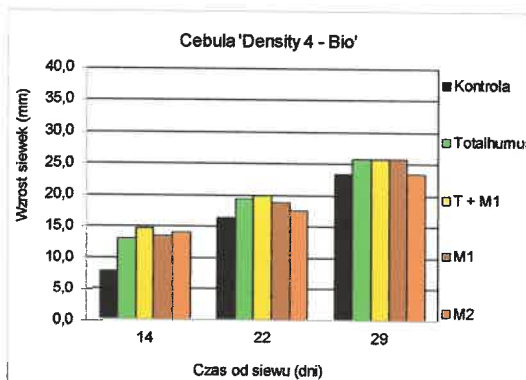
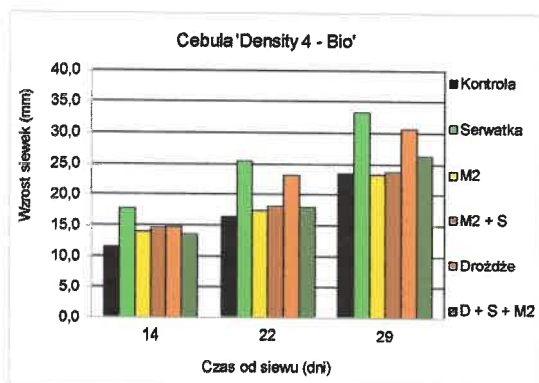


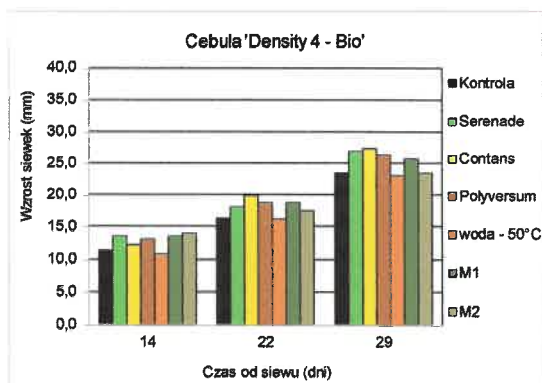
(M1) Bakterie 1 – X58AD, PS 118AA; (M2) Bakterie 2 – Pi 119AC, Pi 72ED;  
 (T+M1) Totalhumus+ bakterie – Ps118AA i X58AD; (M2+S) Bakterie 2 + serwatka;  
 (D+S+M2) Drożdże + serwatka + bakterie – Pi 119AC, Pi 72ED)

Rys. 1-6. Wpływ traktowania nasion cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na zdolność i dynamikę kiełkowania nasion.



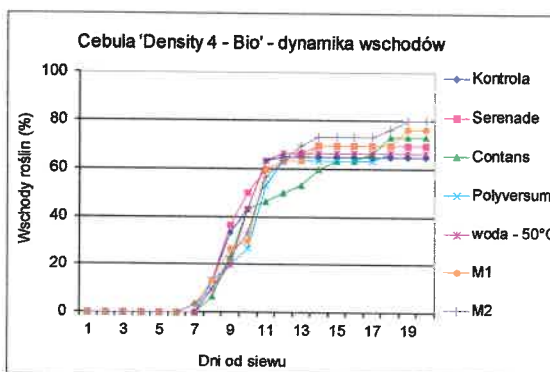
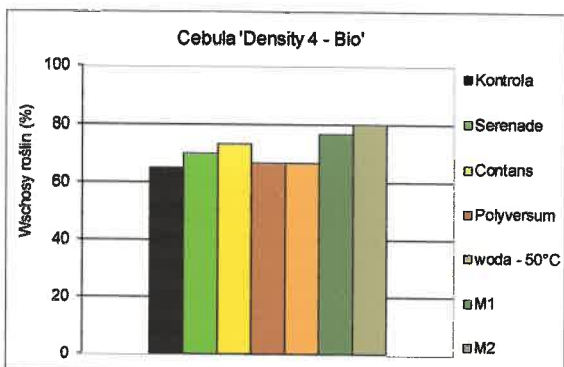
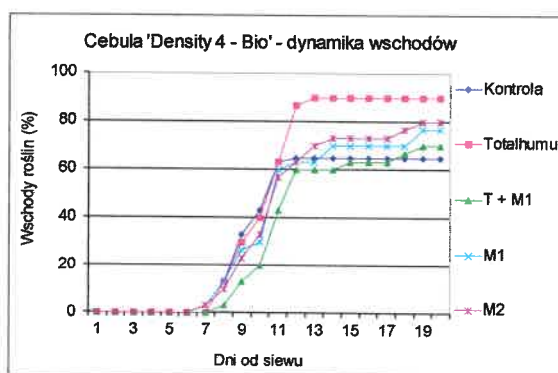
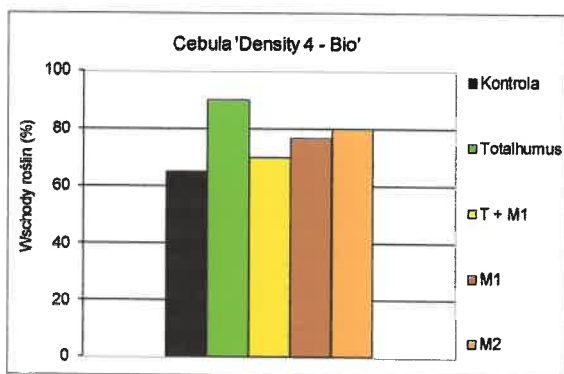
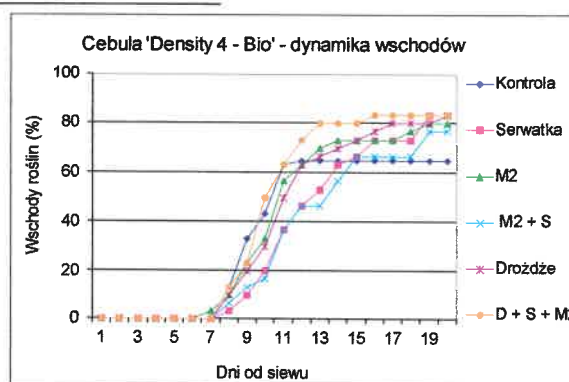
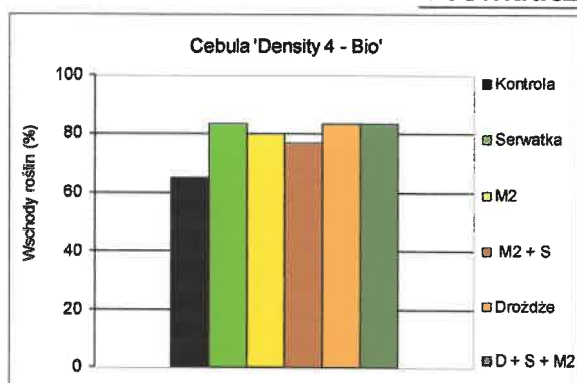
Rys. 7-9. Wpływ traktowania nasion cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na wzrost korzeni zarodkowych w testach Phytotoxkit



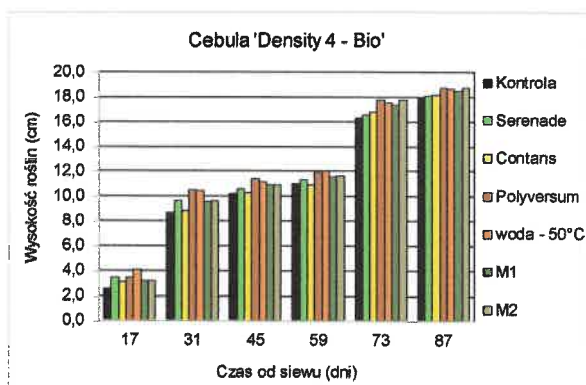
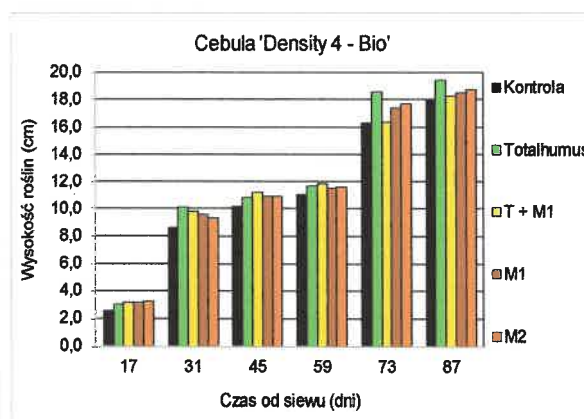
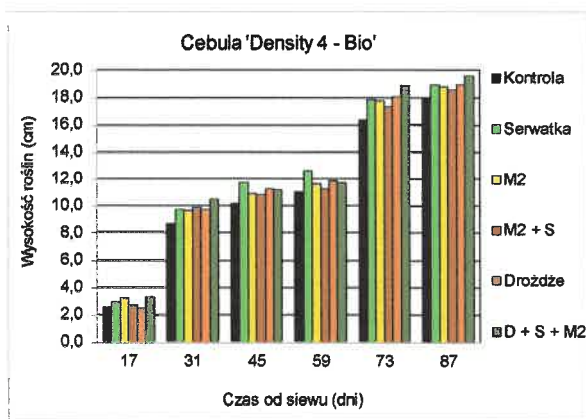


Rys. 10-12. Wpływ traktowania nasion cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na wzrost siewek w testach Phytotoxkit

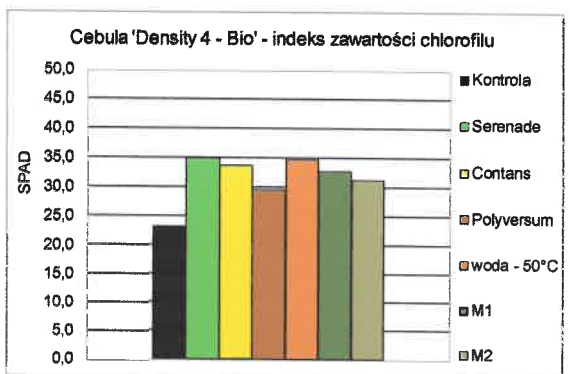
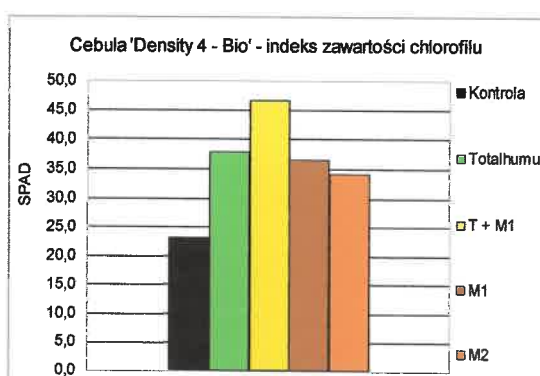
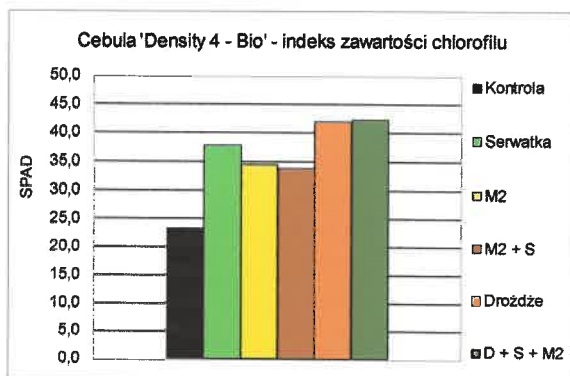
### Doświadczenia szklarniowe



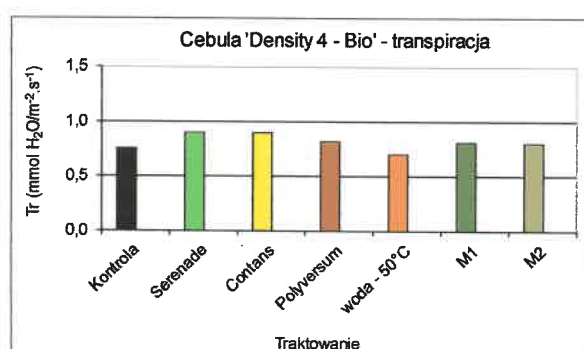
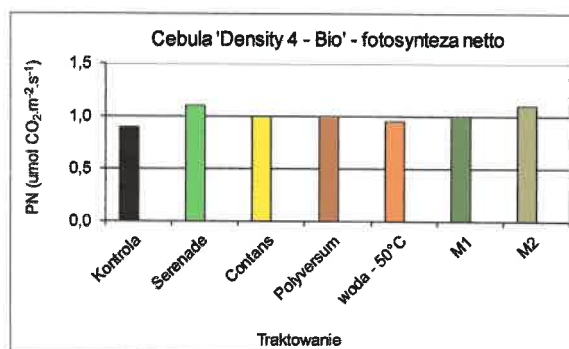
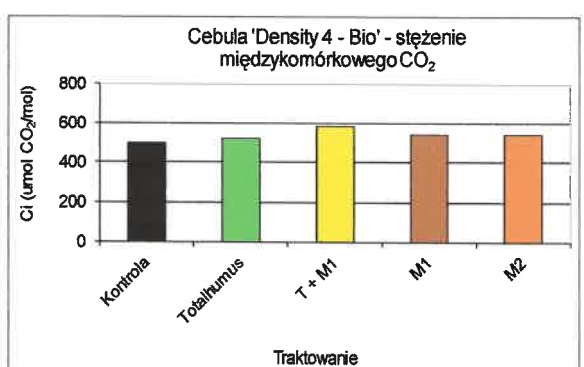
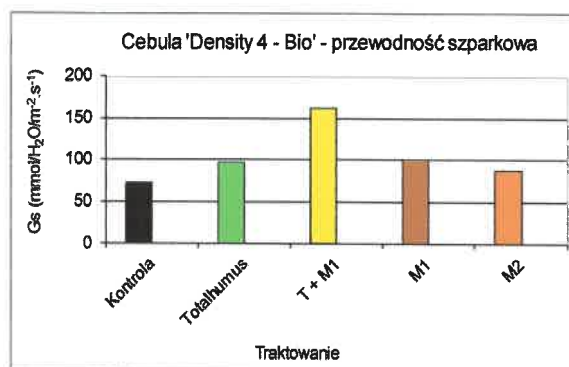
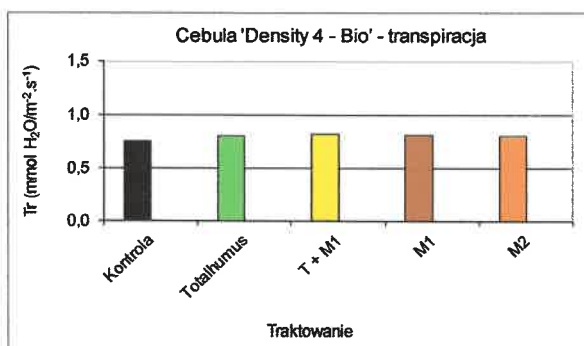
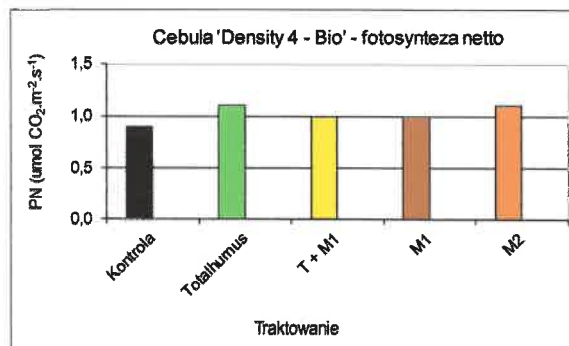
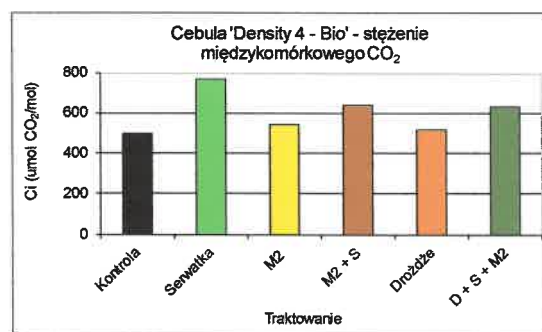
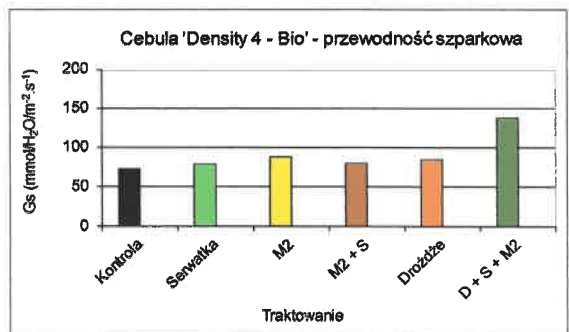
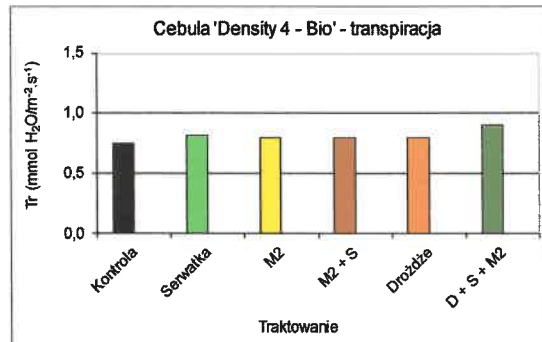
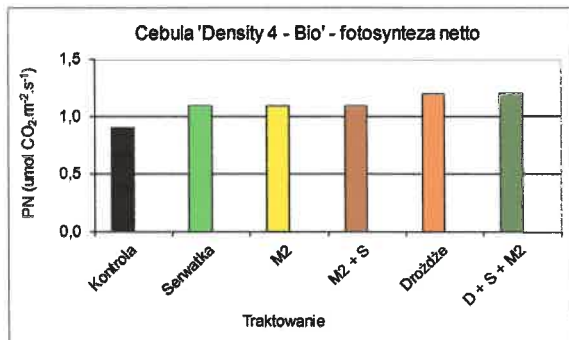
Rys. 13-18. Wpływ traktowania nasion cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na liczbę i dynamikę wschodów roślin w szklarni

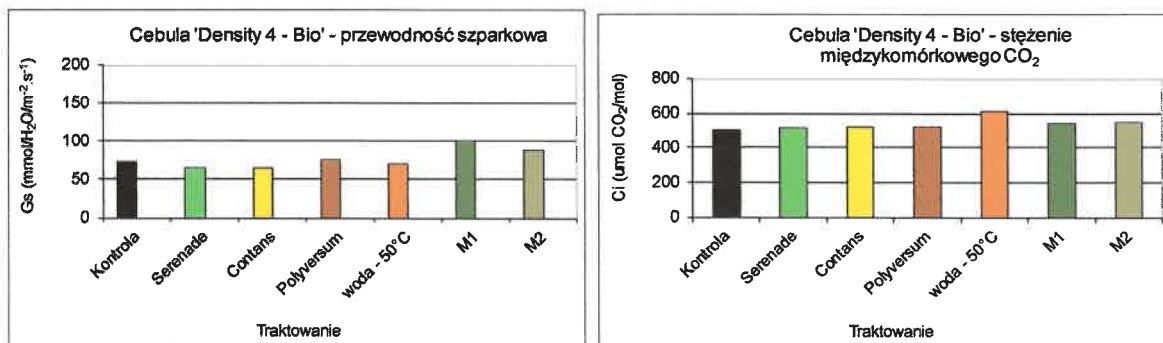


Rys. 19-21. Wpływ traktowania nasion cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na wzrost roślin w szklarni



Rys. 22-24. Wpływ traktowania nasion cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na index zawartości chlorofilu (szklarnia)

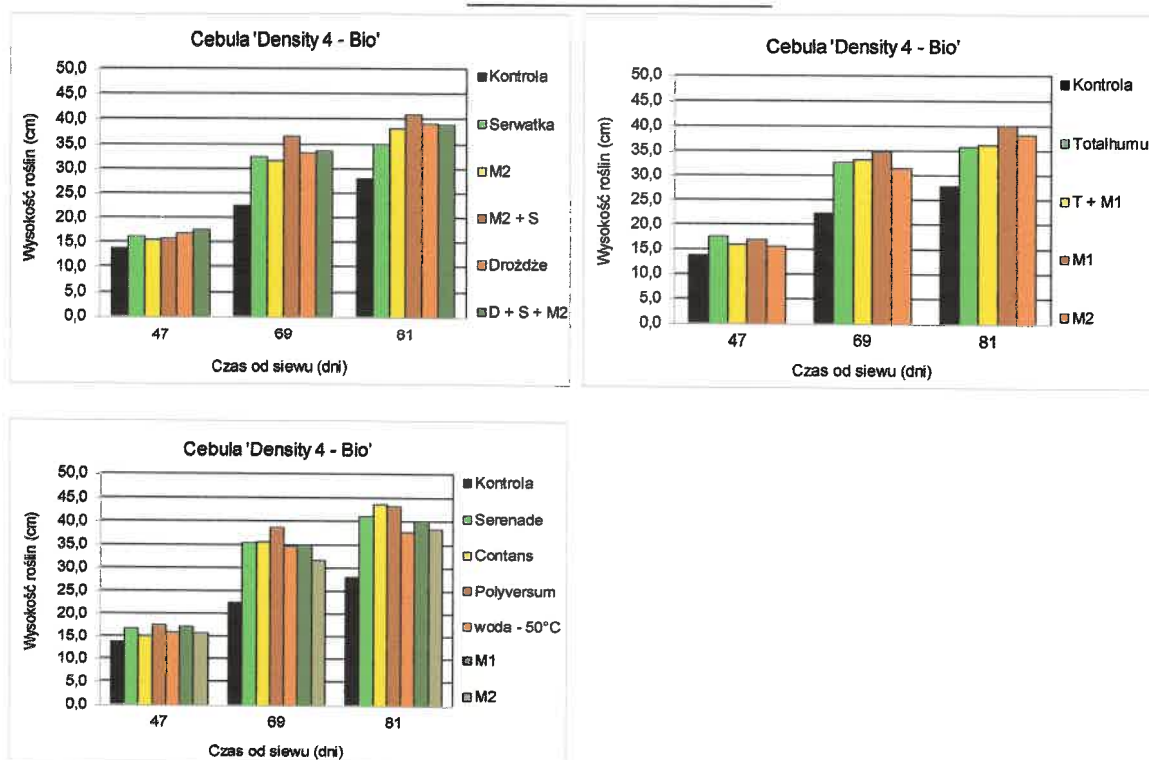




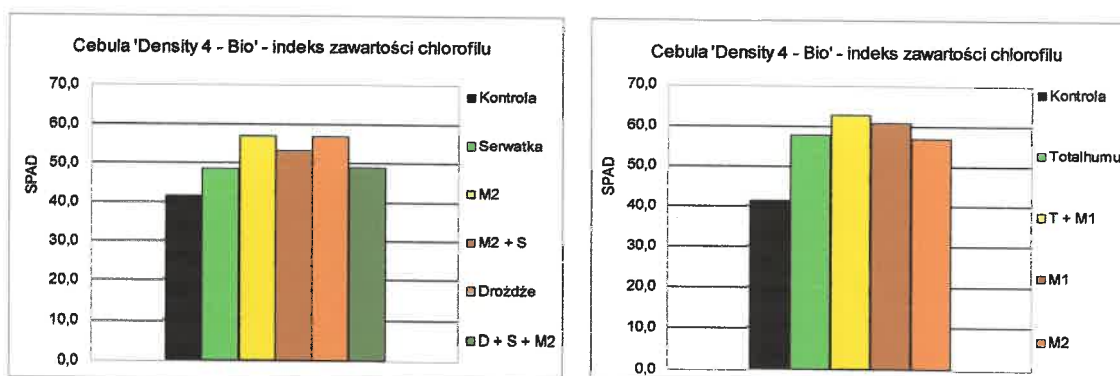
Rys. 25-36. Wpływ traktowania nasion cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na wymianę gazową roślin (szklarnia)

## Doświadczenia polowe prowadzone w dwóch rozstawach

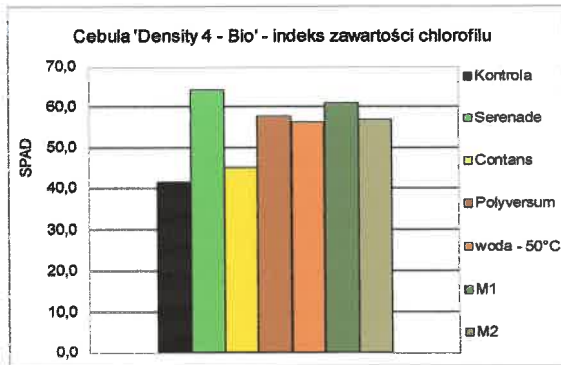
### Rozstawa 30 x 30 cm



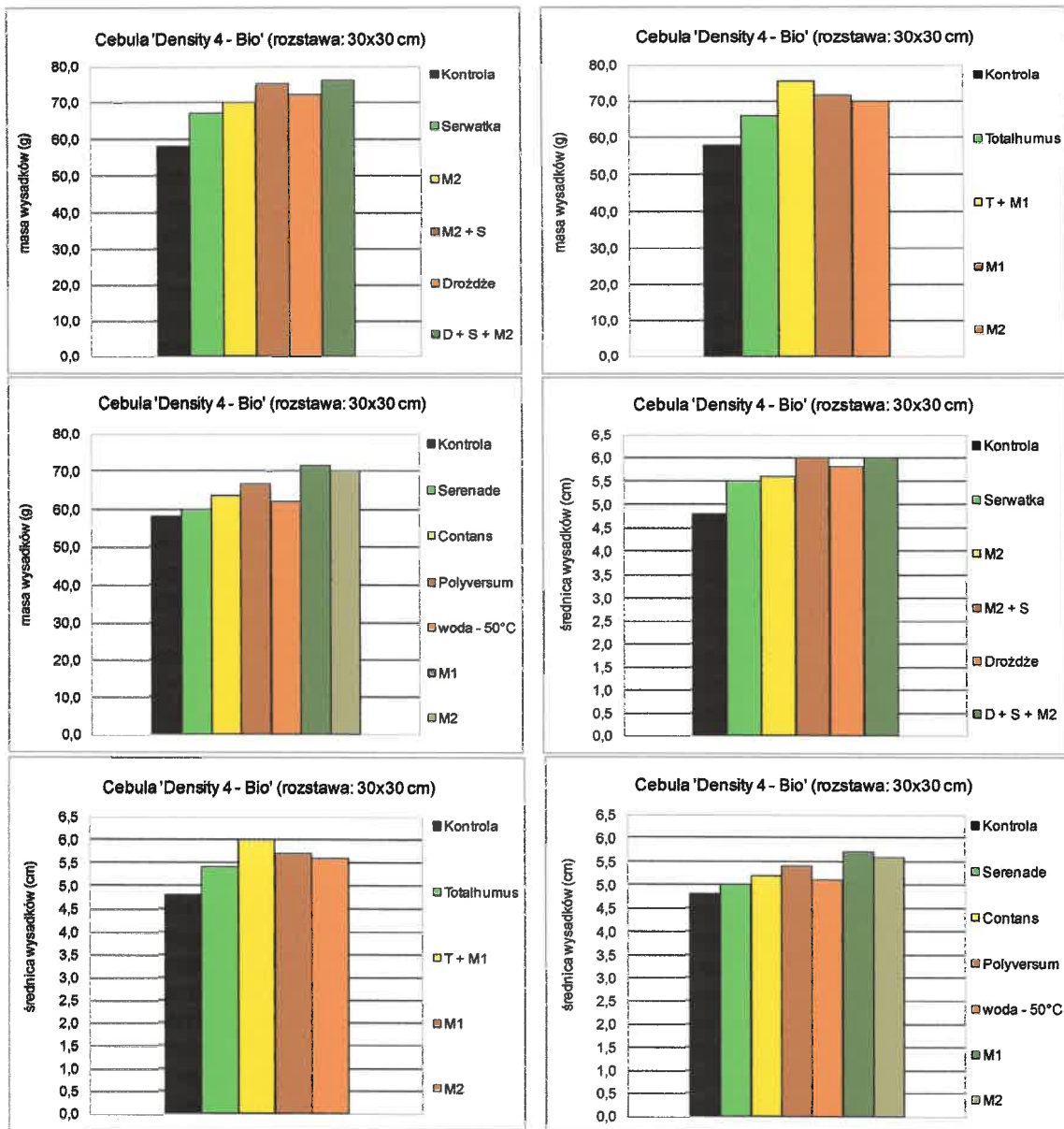
Rys. 37-39. Wpływ traktowania nasion cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na wzrost roślin w polu (rozstawa roślin 30 x 30 cm)



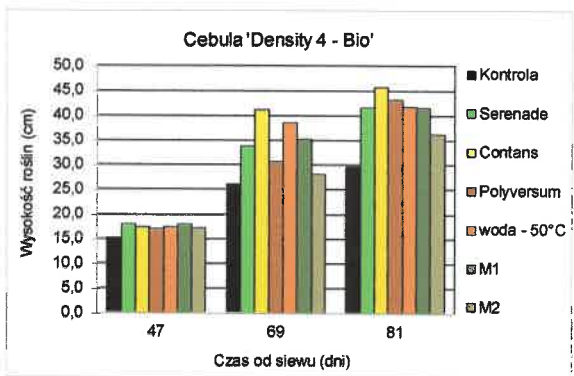
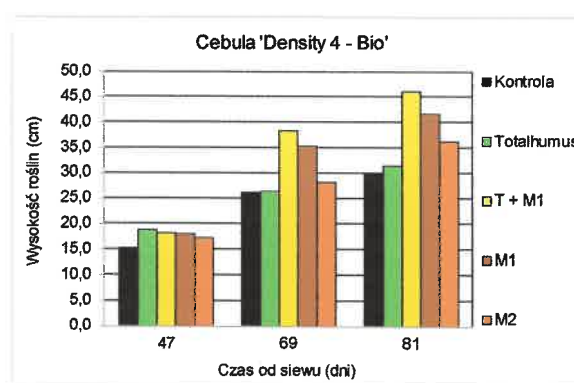
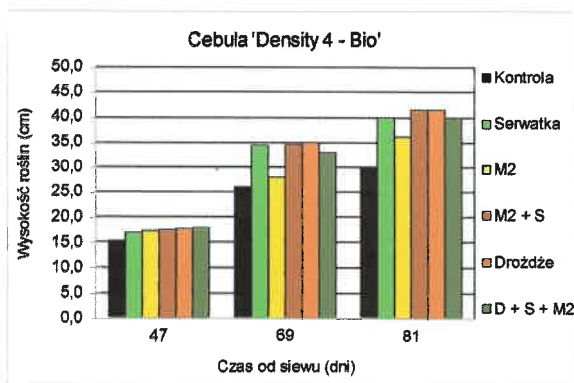




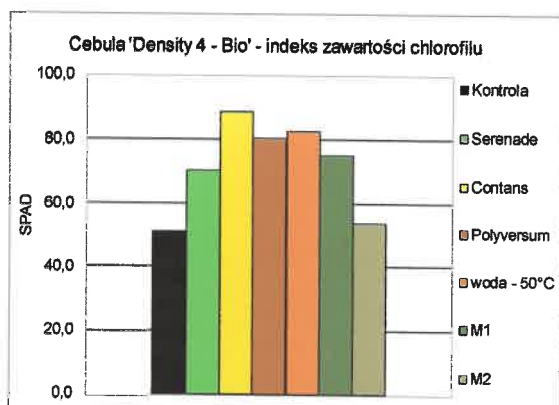
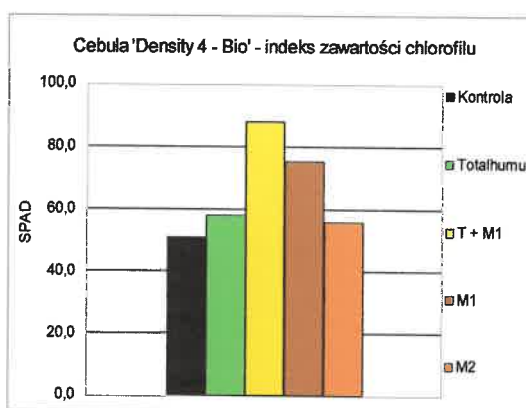
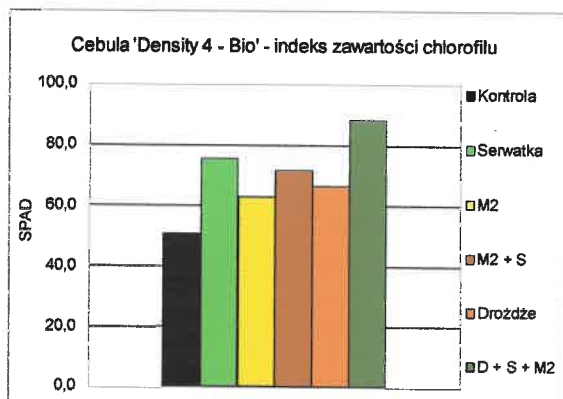
Rys. 40-43. Wpływ traktowania nasion cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na index zawartości chlorofilu w liściach (rozstawa roślin 30 x 30 cm)



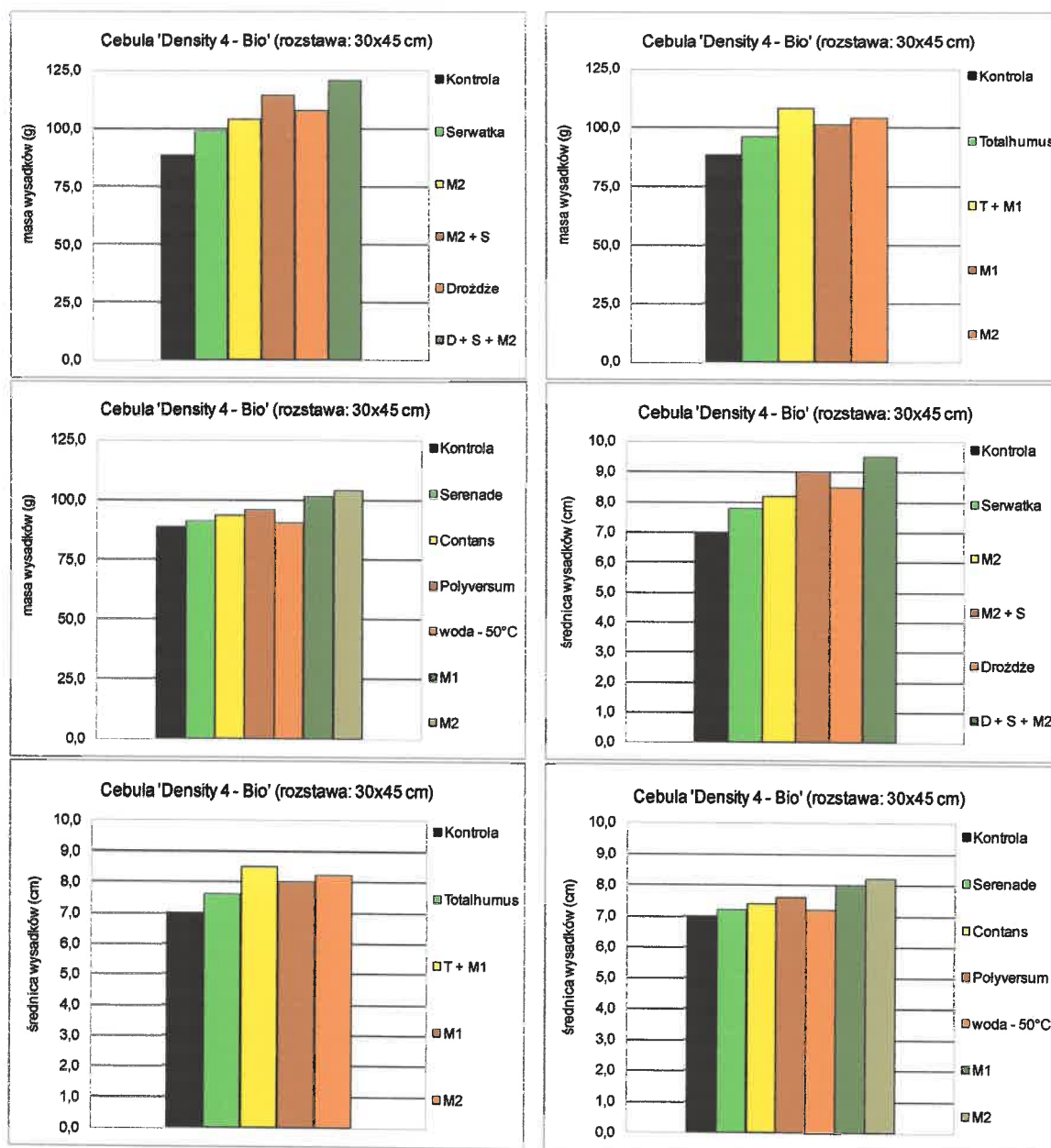
Rys. 44-49. Wpływ traktowania nasion i roślin cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na masę i średnicę wysadków.



Rys. 50 - 52. Wpływ traktowania nasion cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na wzrost roślin w polu (rozstawa roślin 30 x 45 cm)



Rys. 53 - 55. Wpływ traktowania nasion cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na index zawartości chlorofilu w liściach (rozstawa roślin 30 x 45 cm)



Rys. 56- 61. Wpływ traktowania nasion i roślin cebuli odmiany Density 4 środkami biologicznymi na masę i średnicę wysadków (rozstawa roślin 30 x 45 cm)

## Podsumowanie

**Wymagania technologiczne dla materiału siewnego wynikające z obowiązujących w tym zakresie przepisów prawa europejskiego oraz odnośnych dyrektywy, rozporządzeń i ustaw m.in. Dyrektywy Rady 202/55/WE z dnia 13 czerwca 2002 (w sprawie obrotu materiałem siewnym warzyw) – określają minimalne zdolności kiełkowania nasion dopuszczonych do obrotu. Rozporządzenie Rady (WE) 834/2007 (w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania z dnia 28 czerwca 2007 r., art. 12, poz.1) – nakłada obowiązek stosowania ekologicznego materiału siewnego i wegetatywnego materiału nasadzeniowego w produkcji ekologicznej. Wymienione Rozporządzenie oraz Ustawa o Nasiennictwie z dnia 9 listopada 2012 r. (Dz. U. z dnia 28.12.2012 poz.1512., z późn. zm.) i rozporządzenia wykonawcze – jednoznacznie precyzują**

przepisy dotyczące wymagań obowiązujących w produkcji nasiennej i przestrzegania zasad dotyczących wytwarzania, jakości i obrotu materiałem siewnym.

Kraje członkowskie UE zobligowane są do transpozycji w/w przepisów międzynarodowych i unijnych tak, by utrzymać standardy i normy wspólnotowego reżimu nasiennego. Materiał siewny wytwarzany w produkcji ekologicznej podlega tym samym wymogom co wytworzony w produkcji konwencjonalnej i musi spełniać wszystkie kryteria zawarte w przepisach i dyrektywach WE. Do chwili obecnej nie wprowadzono żadnych łagodniejszych przepisów dla nasion ekologicznych, które charakteryzują się niższą jakością, w porównaniu z nasionami uzyskanymi w produkcji konwencjonalnej.

Niska jakość nasion ekologicznych i problemy związane z ekologiczną ochroną roślin cebuli w dwuletnim systemie produkcji na nasiona były przesłanką do podjęcia badań.

W ramach projektu opracowano najważniejsze aspekty ekologicznej produkcji (uprawy i ochrony) cebuli wysadkowej w I roku uprawy na nasiona. Wytypowano metody i środki o potwierdzonej, wysokiej skuteczności (ochronnej, plonotwórczej oraz stymulacji wzrostu, rozwoju i odporności), które będą częścią składową kompleksowej technologii produkcji nasion cebuli w systemach ekologicznych oraz przewodnika dla producentów po II roku uprawy (w zakresie reprodukcji nasion).

#### **Wymiernym rezultatem badań jest**

1. **Poprawa zdrowotności nasion cebuli** oraz ograniczenie zasiedlenia saprofityczną i patogeniczną mikoflorą w granicach 50-80% w porównaniu z kontrolą (nasiona nie traktowane), co istotnie zwiększyło zdolność kiełkowania i wigor nasion. Najlepszą skuteczność w tym zakresie odnotowano stosując metody:

- ✓ biologiczne – inokulacja nasion mikroorganizmami pożytecznymi izolowanymi w SymbioBanku IO, traktowanie środkami pochodzenia naturalnego (serwatka i drożdże Skotan) oraz produktami naturalnymi wzbogaconymi mikrobiologicznie szczepami bakterii antagonistycznych z SymbioBanku Instytutu Ogrodnictwa
- ✓ fizyczne – odkażanie nasion wodą o temperaturze 40-50°C (hydrotermoterapia) - eliminacja mikoflory kontaminującej okrywę nasienną (porażenie zewnętrzne) głównie grzybów saprofitycznych.

#### **2. Poprawa wzrostu, rozwoju i plonowania oraz zdrowotności roślin cebuli**

Wykazano, że podstawą skutecznej ochrony cebuli przed patogenami zagrażającymi uprawom roślin cebuli jest stosowanie różnych metod aplikacji środków ochrony w uprawach ekologicznych: biologiczne zaprawianie nasion, wprowadzanie środków biologicznych do gleby przed siewem, podlewanie roślin cebuli we wczesnych fazach wzrostu (BBCH 13), opryskiwanie siewek biostymulatorami wzrostu w celu odporności na niekorzystne warunki agrometeorologiczne i patogeny, opryskiwanie roślin w zaawansowanym stadium rozwoju w okresie zagrożenia mączniakiem rzekomym (zgodnie z sygnalizacją i własnymi lustracjami sąsiednich plantacji cebuli), stosowanie wymienionych środków w okresie przedzbiorczym w celu zabezpieczenia cebuli przed patogenami z rodzaju *Botrytis* i *Burkholderia*. Poprawę wzrostu i plonowania cebuli uzyskuje się stosując w uprawach wzbogacone mikrobiologicznie bioprodukty naturalne (serwatka i drożdże) oraz TotalHumus.

3. **Poprawa właściwości biologicznych i żyzności gleb oraz utrzymania jej w dobrej strukturze** poprzez zastosowanie mikroorganizmów antagonistycznych zwalczających patogeny glebowe, poprawiających właściwości biologiczne gleb i zwiększających przyswajalność składników pokarmowych niezbędnych roślinom.

4. **Opracowanie szczegółowego przewodnika uprawy cebuli wysadkowej w systemach ekologicznych w I roku produkcji na nasiona** z uwzględnieniem zasad dobrej praktyki,

wymagań agrotechnicznych gatunku, biologicznej ochrony przed agrofagami oraz możliwości uszlachetniania nasion.

**Podjęte badania wpisują się w strategię rozwoju rolnictwa ekologicznego, zwiększenia potencjału plonotwórczego roślin nasiennych oraz poprawę jakości materiału siewnego reprodukowanego w systemach ekologicznych. Realizacja zadania zoptymalizuje technologię pozyskiwania nasion cebuli, zwiększy rentowność produkcji nasiennej i konkurencyjność na rynku nasiennym.**

## **Literatura**

Domoradzki M., Dzieńciecki P. 2008. Odporność termiczna wybranych nasion warzyw. Poszukiwanie nowych rozwiązań w ochronie upraw ekologicznych. Monografia. Instytut Ochrony Roślin. Poznań: 291–306.

Dorna, H., Tylkowska, K., Wenyan, S., Szopińska, D. (2004). Effects of plant origin preparations on onion (*Allium cepa* L.) seed health, germination, vigour and seedling emergence. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis* 2004, Agricultura, 239, 95, 69-74.

Dorna, H., Tylkowska, K., Wei Yahong, Marcinek, R. (2005). Germination and health of onion (*Allium cepa* L.) seeds after priming combined with chemical or biological treatments. *Phytopathol. Pol.*, 37, 69-81.

Janas R., Robak J., Sobolewski J. 2005. Skuteczność wybranych środków pochodzenia roślinnego i biostymulatorów w ochronie cebuli nasiennej przed patogenami grzybowymi. *Progress in Plant Prot/ Postępy w Ochronie Roślin* 45, 1: 742-744

Janas R., Grzesik M. 2005. Zastosowanie środków biologicznych do poprawy jakości nasion roślin ogrodnich. *Progress in Plant Prot/ Postępy w Ochronie Roślin* 45, 1: 739-741

Mathur S. B., Kongsdal O. 2003. *Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi*. International Seed Testing Association, Basserdorf, Switzerland

Nega E., Roswitha U., Sigrid W., Marga J., 2003. Hot water treatment of vegetable seed – an alternative seed treatment method to control seed borne pathogens in organic farming. *Journal of Plant Diseases and Protection* 110 (3): 220–234.

Rumpel J. 2003. Uprawa cebuli. Hortpress: 1-107

Sadowski C., L Lenc L., A Łukanowski A. Phytopathological aspect of onion seed production in organic farm. *Journal of Research and Application in Agriculture Engineering* 2009, Vol. 54(4):80-84

## **Załącznik**

**Przewodnik** - Janas R. Uprawa cebuli (*Allium cepa* L.) na nasiona w systemach ekologicznych I rok uprawy - produkcja wysadków