

SPRAWOZDANIE

z badań prowadzonych w 2024 roku na rzecz rolnictwa ekologicznego

Kierownik projektu: Prof. dr hab. Lidia Sas-Paszt

Sadownictwo metodami ekologicznymi: Badania w zakresie możliwości zastosowania dopuszczonych w rolnictwie ekologicznym środków do celów zaprawiania nasion ekologicznych upraw sadowniczych oraz jako nawozów o działaniu dolistnym;

Ocena wpływu nalistnej aplikacji nawozowych produktów mikrobiologicznych na wzrost i plonowanie roślin truskawki w polowej uprawie ekologicznej.

Na podstawie § 8 ust. 6 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 późn. zm.)

decyzja Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi
z dnia 18.04.2024 r., nr DEJ.re.765.4.2024

Wykonawcy:

Prof. dr hab. Lidia Sas-Paszt, dr Anna Lisek, dr Paweł Trzcíński, dr Beata Sumorok, dr Krzysztof Górnik, dr Edyta Derkowska, dr Sławomir Głuszek, mgr Michał Przybył, mgr inż. Mateusz Frąć, mgr inż. Krzysztof Weszczak, mgr inż. Anna Pałeczka, Anna Polit



Celem badań prowadzonych w 2024 roku było opracowanie dwóch nowych nawozowych produktów mikrobiologicznych, optymalizacja terminu ich nalistnej aplikacji oraz ocena ich skuteczności w stymulacji wzrostu wegetatywnego i plonowania roślin truskawki w polowej uprawie systemem ekologicznym.

W Polsce istnieje duży popyt na proekologiczne technologie i polskie nawozowe produkty mikrobiologiczne, które są konkurencyjne i bardziej skuteczne, w porównaniu do istniejących na rynku bioproduktów pochodzenia zagranicznego. Uzasadnia to potrzebę opracowania i wdrożenia innowacyjnych polskich biopreparatów mikrobiologicznych do stosowania w ekologicznej uprawie truskawki. Aktualnie większość nawozowych produktów mikrobiologicznych jest stosowana doglebowo w formie stałej lub płynnej. Natomiast na rynku brakuje tego typu preparatów do stosowania nalistnego. Taka aplikacja płynnych nawozowych produktów mikrobiologicznych ma dużą perspektywę na plantacjach z wykorzystaniem ściółek pochodzenia naturalnego, dopuszczonych do stosowania w rolnictwie ekologicznym, np. słomy, którą stosuje się w uprawie roślin truskawki. Ściółki są stosowane do przyspieszenia plonowania i ograniczania zachwaszczenia, do ochrony roślin przed przymrozkami, utratą wody i szkodliwym promieniowaniem słonecznym. Dlatego istnieje pilna potrzeba opracowania i wdrożenia do ekologicznej i integrowanej uprawy roślin truskawki nawozowych produktów mikrobiologicznych do nalistnej aplikacji. Dotychczasowe badania wykazały, że nawozy doglebowe i nalistne istotnie podwyższają pH w ryzosferze roślin truskawki. Stwierdzono, że zastosowanie nawozów nalistnych stymuluje wzrost wegetatywny i plonowanie roślin truskawki oraz procesy zachodzące w ryzosferze roślin. Jednakże, istniejące dane są nieliczne. Realizacja zadania pt: „Ocena wpływu nalistnej aplikacji nawozowych produktów mikrobiologicznych na wzrost i plonowanie roślin truskawki w polowej uprawie ekologicznej” umożliwiła przeprowadzenie badań nad wpływem nalistnych, polskich mikrobiologicznych produktów nawozowych na wzrost i plonowanie roślin truskawki oraz na jakość gleby.

W 2024 roku badania były prowadzone w ramach trzech podzadań:

- 1. Identyfikacja i selekcja szczepów pożytecznych mikroorganizmów oraz opracowanie nalistnej aplikacji nawozowych produktów mikrobiologicznych stymulujących wzrost i plonowanie roślin truskawki w uprawie ekologicznej.**
- 2. Określenie skuteczności nowo opracowanych nawozowych produktów mikrobiologicznych w stymulacji wzrostu i plonowania roślin truskawki w polowej uprawie ekologicznej.**
- 3. Wdrożenie nowo opracowanych nawozowych produktów mikrobiologicznych do praktyki ogrodniczej oraz opracowanie instrukcji wdrożeniowej dla ekologicznej uprawy roślin truskawki.**

PODZADANIE 1

Identyfikacja i selekcja szczepów pożytecznych mikroorganizmów oraz opracowanie nalistnej aplikacji nawozowych produktów mikrobiologicznych stymulujących wzrost i plonowanie roślin truskawki w uprawie ekologicznej.

Wstęp

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie rozwojem zrównoważonych metod uprawy i nawożenia roślin, z wykorzystaniem naturalnych komponentów biosfery, tj. pożytecznych mikroorganizmów oraz nawozowych produktów mikrobiologicznych, kompostów i biopestycydów wzbogaconych mikrobiologicznie. Identyfikacja i charakterystyka szczepów drożdży i bakterii umożliwiła poznanie różnorodności biologicznej naturalnych symbiontów biosfery gleby oraz ich zdeponowanie w kolekcji SYMBIO BANK-u Zakładu Mikrobiologii i Ryzosfery Instytutu Ogrodnictwa - PIB w Skierniewicach. Opracowanie nawozowych produktów mikrobiologicznych do nalistnej aplikacji w uprawie truskawki i ich wdrożenie do praktyki ogrodniczej przyczyni się do rozwoju ekologicznych metod nawożenia i ochrony roślin ogrodniczych, poprawy żyzności gleby, jakości wód i gleb oraz do ochrony zdrowia człowieka i środowiska naturalnego. Identyfikacja i charakterystyka szczepów pożytecznych mikroorganizmów glebowych z upraw roślin sadowniczych umożliwiła opracowanie innowacyjnych konsorcjów mikrobiologicznych oraz ocenę ich skuteczności w ekologicznej uprawie roślin truskawki. Realizacja zadania umożliwi wdrożenie mikrobiologicznych technologii poprawy żyzności gleb oraz nawożenia roślin sadowniczych w uprawach ekologicznych.

Cel badania

Celem badania było opracowanie nawozowych produktów mikrobiologicznych na bazie konsorcjów drożdży i bakterii ryzosferowych, na organicznym nośniku kwasów humusowych, korzystnie wpływających na wzrost i plonowanie roślin truskawki. Zidentyfikowane, scharakteryzowane i wyselekcjonowane zostały najbardziej wartościowe szczepy i gatunki drożdży oraz bakterii dla stymulacji wzrostu i plonowania roślin truskawki w uprawie ekologicznej.

Metodyka badań

Przeprowadzono identyfikacje do gatunku lub rodzaju szczepy drożdży i bakterii z ryzosfery roślin truskawki, rosnących w uprawie ekologicznej. Pożyteczne mikroorganizmy wyizolowano z gleby ryzosferowej metodą posiewu kolejnych rozcieńczeń na pożywki agarowe. Identyfikacja drożdży i bakterii została przeprowadzona metodami biochemicznymi, z zastosowaniem systemu identyfikacji mikroorganizmów BIOLOG oraz molekularnymi na podstawie sekwencji 16S rRNA lub ITS. Mikroorganizmy pozyskane w ramach realizacji zadania zostały zgromadzone w SYMBIO BANK-u Instytutu Ogrodnictwa - PIB. Szczepy pożytecznych mikroorganizmów zostały scharakteryzowane, zidentyfikowane i włączone w skład konsorcjów mikrobiologicznych. W ramach zadania opracowany został skład nowych nawozowych produktów mikrobiologicznych stymulujących wzrost i plonowanie truskawki.

Metody przeprowadzania analiz w zadaniu

1. Izolacja szczepów drożdży i bakterii z gleby ryzosferowej roślin truskawki

Pożyteczne mikroorganizmy wyizolowano z gleby ryzosferowej truskawki metodą posiewu kolejnych rozcieńczeń na pożywki agarowe.

2. Identyfikacja szczepów drożdży i bakterii z gleby ryzosferowej roślin truskawki

Identyfikacja drożdży i bakterii została przeprowadzona metodami biochemicznymi oraz molekularnymi. Identyfikacja biochemiczna drożdży i bakterii została przeprowadzona na podstawie metabolizmu związków węgla przy użyciu systemu identyfikacji mikroorganizmów

BIOLOG. Identyfikację molekularną drożdży przeprowadzono w oparciu o analizę sekwencji regionu ITS, natomiast identyfikację bakterii przeprowadzono w oparciu o analizę sekwencji 16S rRNA.

3. Wytypowanie szczepów pożytecznych mikroorganizmów oraz opracowanie składu konsorcjów mikrobiologicznych do nalistnej aplikacji roślin truskawki

Pojedyncze szczepy mikroorganizmów zgromadzone w SYMBIO-BANK-u Instytutu Ogrodnictwa - PIB oraz nowe mikroorganizmy, pozyskane w ramach realizacji zadania, po ich scharakteryzowaniu i zidentyfikowaniu zostały włączone w skład biopreparatów. W ramach zadania opracowano skład konsorcjów mikrobiologicznych do nalistnej aplikacji jako nawozowe produkty mikrobiologiczne do stymulacji wzrostu i plonowania roślin truskawki w polowej uprawie ekologicznej.

Wyniki

Identyfikacja molekularna szczepów mikroorganizmów

W Podzadaniu 1 przeprowadzono identyfikację molekularną wyselekcjonowanych szczepów drożdży i bakterii, w celu opracowania nowych nawozowych produktów mikrobiologicznych do poprawy wzrostu i plonowania roślin truskawki w uprawach ekologicznych.

Material i metody

Materiałem biologicznym do identyfikacji były 24 izolaty drożdży: 1Dr, 2Dr, 3Dr, 4Dr, 5Dr, 6Dr, 8Dr, 10Dr, 11Dr, 12Dr, 14Dr, 15Dr, 16Dr, 18Dr, 19Dr, 20Dr, 23Dr, 24Dr, 25Dr, 27Dr, 28Dr, 29Dr, 30Dr, 32Dr oraz 4 izolaty bakterii: 2G-3F, 380XA, 23AA, 28OY, hodowane na pożywkach mikrobiologicznych. Ekstrakcję DNA przeprowadzono z użyciem zestawu komercyjnego Bacterial & Yeast Genomic DNA Purification Kit (EURx) do izolacji DNA z bakterii i drożdży. Identyfikację szczepów mikroorganizmów przeprowadzono w oparciu o analizę sekwencji fragmentu genu kodującego małą podjednostkę rybosomalną (16S rRNA) bakterii lub regionu ITS drożdży. Zastosowano także technikę rep-PCR, polegającą na analizie profili sekwencji powtarzalnych w genomie, która umożliwia identyfikację mikroorganizmów na poziomie gatunku lub szczepu (Ishii i Sadowsky 2009). W celu amplifikacji fragmentu genu 16S rRNA zastosowano startery 27F/1492R (Lane, 1991), natomiast do amplifikacji regionu ITS zastosowano startery ITS4/ITS6 (White et al., 1990). Amplifikację DNA przeprowadzono w 35 cyklach termicznych (94°C x 1 min, 55°C x 1 min, 72°C x 2 min) (Tabela 1).

Tabela 1. Startery zastosowane do identyfikacji izolatów bakterii i drożdży.

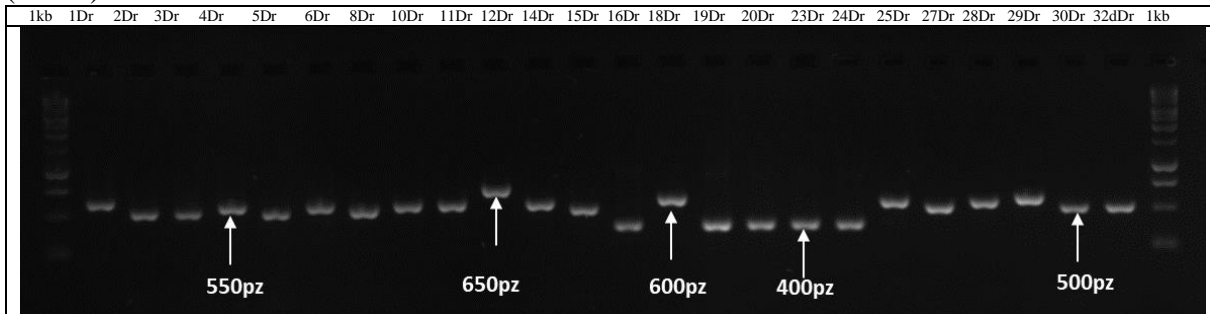
Lp.	Gen/region	Startery	Źródło
1.	ITS	ITS4/ITS6	White i in. 1990
2.	16SrRNA	27F/1492R	Lane, 1991
3.	Sekwencje powtarzalne	BOXA1R	Louws i in. 1994
4.	Sekwencje powtarzalne	ERIC1R/ERIC2	Louws i in. 1994

Reakcje ze starterem BOXA1R przeprowadzono w 37 cyklach (94 °C x 1 min, 40 °C x 2 min, 72 °C x 2 min), natomiast reakcje ze starterami ERIC1R/ERIC2 przeprowadzono w 42 cyklach (94 °C x 1 min, 52 °C x 1.5 min, 65 °C x 8 min) (Louws i in. 1994). Produkty amplifikacji przeznaczone do sekwencjonowania Sanger rozdzielano w 1,6% żelu agarozowym, natomiast profile rep-PCR rozdzielano w 2% żelu agarozowym. Żele agarozowe barwiono bromkiem etydydny i wizualizowano w świetle UV. Identyfikację szczepów bakterii i drożdży na podstawie uzyskanych sekwencji przeprowadzono poprzez porównanie z danymi zgromadzonymi w bazie NCBI (National Center for Biotechnology Information, NIH, Bethesda, MD 20894, USA, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Wyniki

Identyfikacja izolatów drożdży

W wyniku amplifikacji regionu ITS uzyskano produkty PCR wielkości od 400 do 650 pz (Fot. 1).



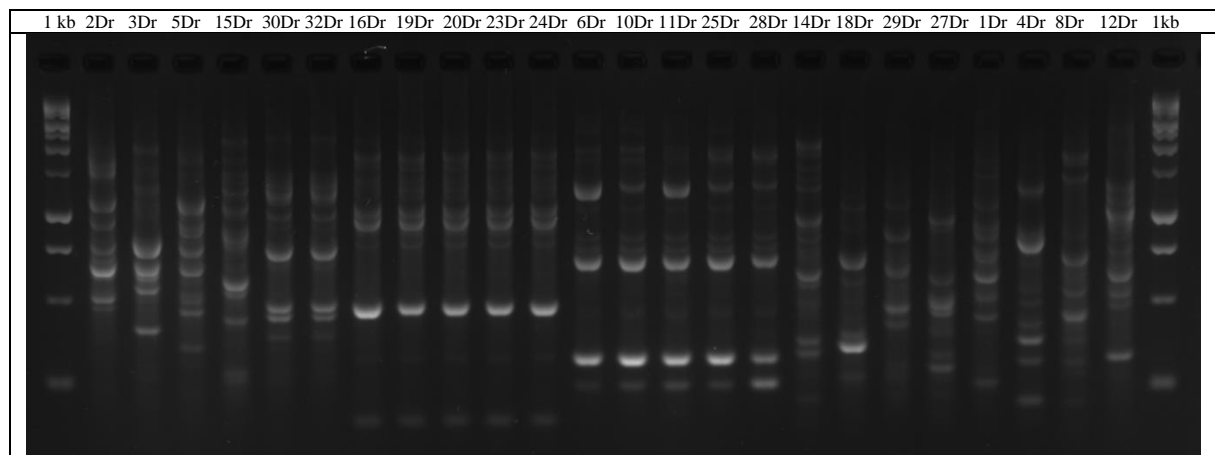
Fot. 1. Produkty amplifikacji regionu ITS izolatów drożdży: 1Dr *Erythrobasidium hasegawianum*, 2Dr *Vishniacozyma* sp., 3Dr *Vishniacozyma* sp., 4Dr *Cystobasidium pinicola*, 5Dr *Vishniacozyma* sp., 6Dr *Kwoniella pini*, 8Dr *Bullera alba*, 10Dr *Kwoniella pini*, 11Dr *Kwoniella pini*, 12Dr *Kalmanozyma fusiformata*, 14Dr *Aureobasidium* sp., 15Dr *Vishniacozyma* sp., 16Dr *Metschnikowia* sp., 18Dr *Curvibasidium* sp., 19Dr *Metschnikowia* sp., 20Dr *Metschnikowia* sp., 23Dr *Metschnikowia* sp., 24Dr *Metschnikowia* sp., 25Dr *Kwoniella pini*, 27Dr *Apiotrichum* sp., 28Dr *Kwoniella pini*, 29Dr *Filobasidium* sp., 30Dr *Vishniacozyma* sp., 32Dr *Vishniacozyma* sp. 1 kb – marker wielkości.

W oparciu o analizę sekwencji regionu ITS, do rodzaju *Vishniacozyma* przyporządkowano sześć testowanych izolatów drożdży (2Dr, 3Dr, 5Dr, 15Dr, 30Dr) (Tabela 2). Pięć izolatów drożdży zidentyfikowano do rodzaju *Metschnikowia* (16Dr, 19Dr, 20Dr, 23Dr, 24Dr), a 5 izolatów do gatunku *Kwoniella pini* (6Dr, 10Dr, 11Dr, 25Dr, 28Dr). Pozostałe izolaty zidentyfikowano jako rodzaje/gatunki: 14Dr *Aureobasidium* sp., 18Dr *Curvibasidium* sp., 29Dr *Filobasidium* sp., 27Dr *Apiotrichum* sp., 1Dr *Erythrobasidium hasegawianum*, 4Dr *Cystobasidium pinicola*, 8Dr *Bullera alba*, 12Dr *Kalmanozyma fusiformata*.

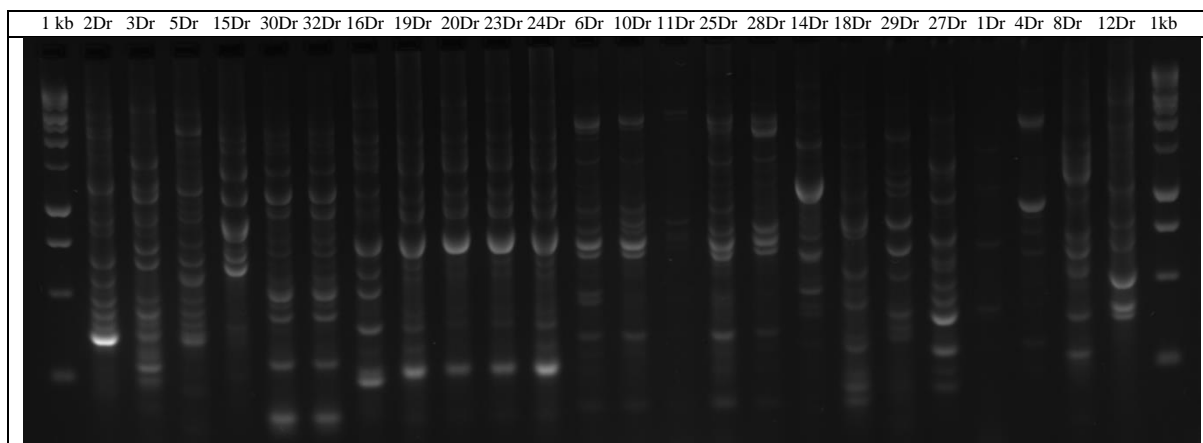
Tabela 2. Identyfikacja izolatów drożdży na podstawie porównania sekwencji z danymi w bazie NCBI.

Lp.	Izolat	Długość sekwencji (pz)	Rodzaj/gatunek o największym podobieństwie do uzyskanej sekwencji	Stopień podobieństwa (%)	(Nr sekwencji NCBI)	Identyfikacja
1.	2Dr	447	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	98.94%	NR_073260.1	<i>Vishniacozyma</i> sp.
			<i>Vishniacozyma carnescens</i>	98.17%	NR_130695.1	
2.	3Dr	447	<i>Vishniacozyma vicotiae</i>	98.67%	NR_073260.1	<i>Vishniacozyma</i> sp.
			<i>Vishniacozyma carnescens</i>	98.17%	NR_130695.1	
3.	5Dr	447	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	98,94	NR_073260.1	<i>Vishniacozyma</i> sp.
			<i>Vishniacozyma carnescens</i>	98,17%	NR_130695.1	
4.	15Dr	449	<i>Vishniacozyma tephrensensis</i>	97.77	NR_144812.1	<i>Vishniacozyma</i> sp.
			<i>Vishniacozyma carnescens</i>	95.66	NR_130695.1	
5.	30Dr	445	<i>Vishniacozyma carnescens</i>	98,12	NR_130695.1	<i>Vishniacozyma</i> sp.
			<i>Vishniacozyma victoriae</i>	97,3	NR_073260.1	
6.	16Dr	240	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	99,12	NR_164379.1	<i>Metschnikowia</i> sp.
			<i>Metschnikowia chrysoperlae</i>	98,25	NR_111376.1	
7.	19Dr	325	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	94,55	NR_164379.1	<i>Metschnikowia</i> sp.
			<i>Metschnikowia pimensis</i>	89,9	NR_111377.1	
8.	20Dr	324	<i>Metschnikowia chrysoperlae</i>	98,25	NR_111376.1	<i>Metschnikowia</i> sp.

			<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	93,29	NR_164379.1	
9.	23Dr	325	<i>Metschnikowia chrysoperlae</i>	99,54	NR_111376.1	<i>Metschnikowia</i> sp.
			<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	93,31	NR_164379.1	
10.	24Dr	328	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	93.31	NR_164379.1	
			<i>Metschnikowia pimensis</i>	89.35	NR_111377.1	
11.	6Dr	513	<i>Kwoniella pini</i>	99,42	NR_111269.1	<i>Kwoniella pini</i>
12.	10Dr	516	<i>Kwoniella pini</i>	99,42	NR_111269.1	<i>Kwoniella pini</i>
13.	11Dr	517	<i>Kwoniella pini</i>	99,42	NR_111269.1	<i>Kwoniella pini</i>
14.	25Dr	513	<i>Kwoniella pini</i>	99.42	NR_111269.1	<i>Kwoniella pini</i>
15.	28Dr	505	<i>Kwoniella pini</i>	99,41	NR_111269.1	<i>Kwoniella pini</i>
16.	1Dr	542	<i>Erythrobasidium hasegawianum</i>	99.63	NR_111008.1	<i>Erythrobasidium hasegawianum</i>
17.	4Dr	505	<i>Cystobasidium pinicola</i>	100	NR_154834.1	<i>Cystobasidium pinicola</i>
18.	8Dr	478	<i>Bullera alba</i>	99,7	NR_111083.1	<i>Bullera alba</i>
19.	12Dr	692	<i>Kalmanozyma fusiformata</i>	99,71	NR_154094.1	<i>Kalmanozyma fusiformata</i>
20.	14Dr	519	<i>Aureobasidium insectorum</i>	98,84	NR_189919.1	<i>Aureobasidium</i> sp.
			<i>Aureobasidium leucospermi</i>	98,27	NR_156246.1	
21.	18Dr	545	<i>Curvibasidium nothofagi</i>	99.82	NR_073292.1	<i>Curvibasidium</i> sp.
			<i>Curvibasidium cygneicollum</i>	98.53	NR_111077.1	
22.	27Dr	463	<i>Apiotrichum porosum</i>	100.00	NR_073209.1	<i>Apiotrichum</i> sp.
			<i>Apiotrichum xylopinii</i>	99.78	NR_111547.1	
23.	29Dr	566	<i>Filobasidium magnum</i>	100,0	NR_130655.1	<i>Filobasidium</i> sp.
			<i>Filobasidium floriforme</i>	99,43	NR_119429.1	
24.	32Dr	445	<i>Vishniacozyma carnescens</i>	98,12	NR_130695.1	<i>Vishniacozyma</i> sp.
			<i>Vishniacozyma victoriae</i>	97,3	NR_073260.1	



Fot. 2. Profile DNA izolatów drożdży uzyskane techniką rep-PCR ze starterem BOXA1R. Matryce: 2Dr *Vishniacozyma* sp., 3Dr *Vishniacozyma* sp., 5Dr *Vishniacozyma* sp., 15Dr *Vishniacozyma* sp., 30Dr *Vishniacozyma* sp., 32Dr *Vishniacozyma* sp., 16Dr *Metschnikowia* sp., 19Dr *Metschnikowia* sp., 20Dr *Metschnikowia* sp., 23Dr *Metschnikowia* sp., 24Dr *Metschnikowia* sp., 6Dr *Kwoniella pini*, 10Dr *Kwoniella pini*, 11Dr *Kwoniella pini*, 25Dr *Kwoniella pini*, 28Dr *Kwoniella pini*, 14Dr *Aureobasidium* sp., 18Dr *Curvibasidium* sp., 29Dr *Filobasidium* sp., 27Dr *Apiotrichum* sp., 1Dr *Erythrobasidium hasegawianum*, 4Dr *Cystobasidium pinicola*, 8Dr *Bullera alba*, 12Dr *Kalmanozyma fusiformata*. 1 kb – marker wielkości.

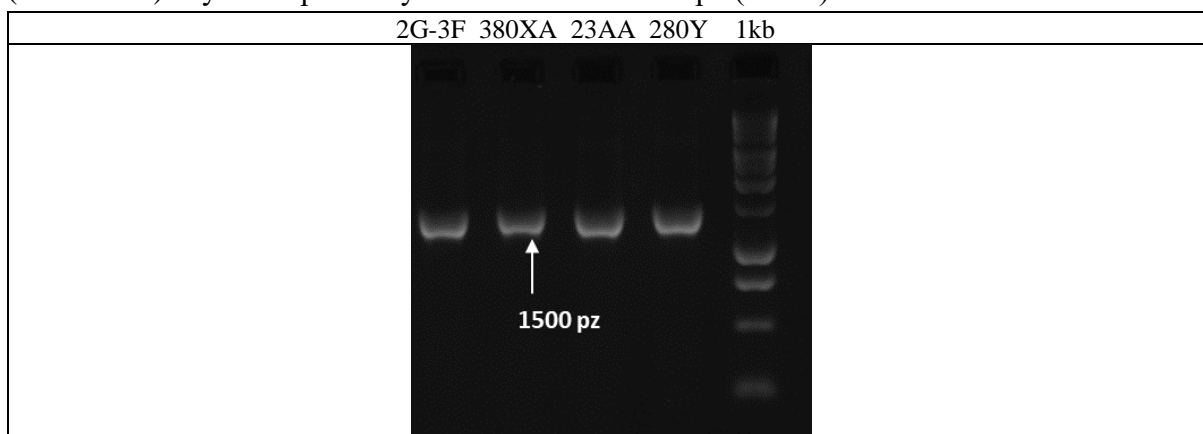


Fot. 3. Profile DNA izolatów drożdży uzyskane techniką rep-PCR ze starterami ERIC1R/ERIC2. Matryce: 2Dr *Vishniacozyma* sp., 3Dr *Vishniacozyma* sp., 5Dr *Vishniacozyma* sp., 15Dr *Vishniacozyma* sp., 30Dr *Vishniacozyma* sp., 32Dr *Vishniacozyma* sp., 16Dr *Metschnikowia* sp., 19Dr *Metschnikowia* sp., 20Dr *Metschnikowia* sp., 23Dr *Metschnikowia* sp., 24Dr *Metschnikowia* sp., 6Dr *Kwoniella pini*, 10Dr *Kwoniella pini*, 11Dr *Kwoniella pini*, 25Dr *Kwoniella pini*, 28Dr *Kwoniella pini*, 14Dr *Aureobasidium* sp., 18Dr *Curvibasidium* sp., 29Dr *Filobasidium* sp., 27Dr *Apiotrichum* sp., 1Dr *Erythrobasidium hasegawianum*, 4Dr *Cystobasidium pinicola*, 8Dr *Bullera alba*, 12Dr *Kalmanozyma fusiformata*. 1 kb – marker wielkości.

Analiza profili DNA uzyskanych techniką rep-PCR ze starterami BOXA1R i ERIC1R/ERIC2 wykazała, że takie same profile DNA uzyskano dla dwóch izolatów drożdży 30Dr *Vishniacozyma* sp. i 32Dr *Vishniacozyma* sp. (Fot. 2, 3). Takie same profile DNA uzyskano także dla czterech izolatów drożdży 19Dr *Metschnikowia* sp., 20Dr *Metschnikowia* sp., 23Dr *Metschnikowia* sp., 24Dr *Metschnikowia* sp. Wynik ten wskazuje na bardzo duże podobieństwo genetyczne oraz na możliwość przynależności tych izolatów do tego samego szczepu drożdży.

Identyfikacja izolatów bakterii

W wyniku amplifikacji fragmentu genu kodującego małą podjednostkę rybosomalną (16S rRNA) uzyskano produkty PCR wielkości 1500 pz (Fot. 4).



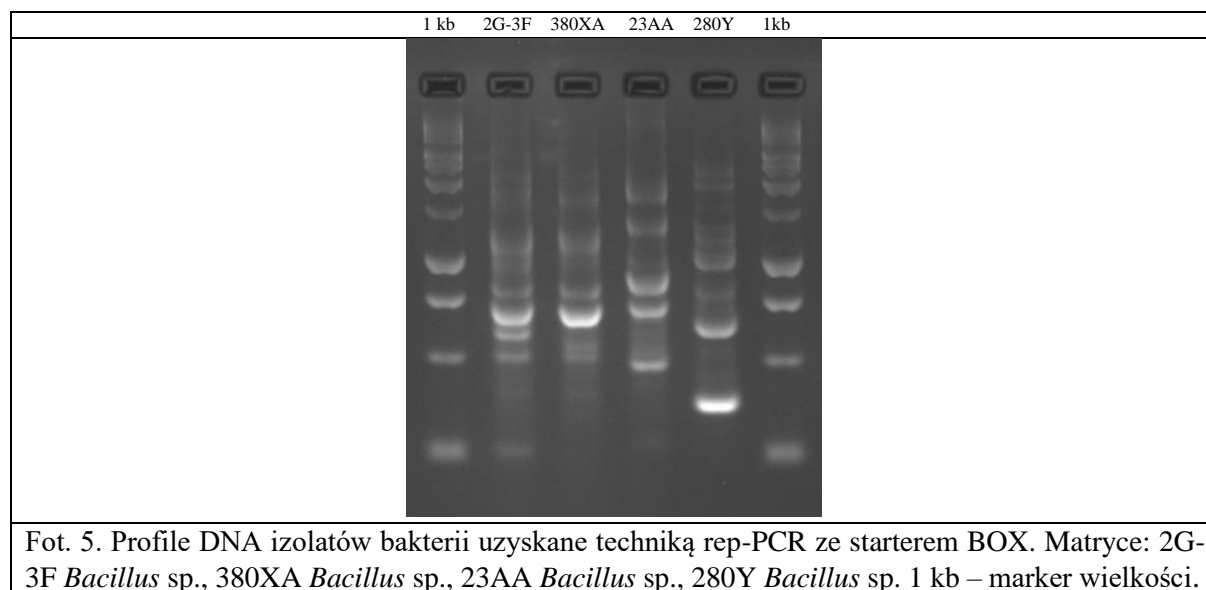
Fot. 4. Produkty amplifikacji genu 16S rRNA izolatów bakterii 2G-3F *Bacillus* sp., 380XA *Bacillus* sp., 23AA *Bacillus* sp., 280Y *Bacillus* sp. 1 kb – marker wielkości.

Na podstawie analizy sekwencji 16S rRNA stwierdzono przynależność izolatów bakterii do rodzaju *Bacillus* (Tabela 3).

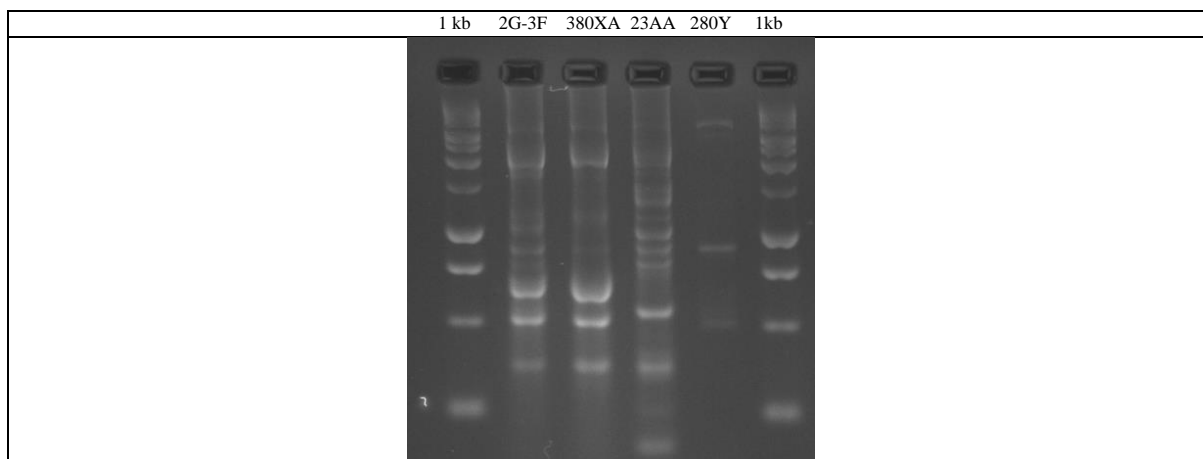
Tabela 3. Identyfikacja izolatów bakterii na podstawie porównania sekwencji genu 16S rRNA z danymi w bazie NCBI.

Lp.	Izolat	Długość sekwencji (pz)	Rodzaj/gatunek o największym podobieństwie do uzyskanej sekwencji	Stopień podobieństwa (%)	(Nr sekwencji NCBI)	Identyfikacja
1.	2G-3F	823	<i>Bacillus velezensis</i>	100	NR_075005.2	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	100	NR_117946.1	
2.	380XA	898	<i>Bacillus velezensis</i>	100	NR_075005.2	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	100	NR_117946.1	
3.	23AA	779	<i>Bacillus stercoris</i>	100	NR_181952.1	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus rugosus</i>	100	NR_181236.1	
4.	280Y	874	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100	NR_152692.1	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus proteolyticus</i>	100	NR_157735.1	

Analiza profili DNA uzyskanych techniką rep-PCR ze starterami BOXA1R i ERIC1R/ERIC2 wykazała, że profile DNA izolatów bakterii różnią się między sobą, co wskazuje, że należą one do różnych szczepów (Fot. 5, 6).



Fot. 5. Profile DNA izolatów bakterii uzyskane techniką rep-PCR ze starterem BOX. Matryce: 2G-3F *Bacillus* sp., 380XA *Bacillus* sp., 23AA *Bacillus* sp., 280Y *Bacillus* sp. 1 kb – marker wielkości.



Fot. 6. Profile DNA izolatów bakterii uzyskane techniką rep-PCR ze starterami ERIC1R/ERIC2. Matryce: 2G-3F *Bacillus* sp., 380XA *Bacillus* sp., 23AA *Bacillus* sp., 280Y *Bacillus* sp. 1 kb – marker wielkości.

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych analiz zidentyfikowano 24 izolaty drożdży (Tabela 2) oraz 4 izolaty bakterii (Tabela 3). Izolaty drożdży zidentyfikowano do rodzajów: *Vishniacozyma* (6 izolatów), *Metschnikowia* (5 izolatów), *Aureobasidium* (1 izolat), *Curvibasidium* (1 izolat), *Filobasidium* (1 izolat) i *Apiotrichum* (1 izolat) lub gatunków: *Kwoniella pini* (5 izolatów), *Erythrobasidium hasegawianum* (1 izolat), *Cystobasidium pinicola* (1 izolat), *Bullera alba* (1 izolat), *Kalmanozyma fusiformata* (1 izolat). W wyniku przeprowadzonej analizy z użyciem techniki rep-PCR uzyskano takie same profile DNA dla dwóch grup izolatów: dwóch izolatów drożdży z rodzaju *Vishniacozyma* oraz dla czterech izolatów drożdży z rodzaju *Metschnikowia*. Wynik ten wskazuje na bardzo duże podobieństwo genetyczne izolatów w obrębie każdej z grup oraz na możliwość przynależności tych izolatów do tego samego szczepu drożdży. W wyniku przeprowadzonych analiz uzyskano odmienne profile DNA czterech testowanych izolatów bakterii. Izolaty te zidentyfikowano do rodzaju *Bacillus*.

Zidentyfikowane szczepy bakterii i drożdży włączono w skład konsorcjów mikrobiologicznych i zastosowano jako komponenty nawozowych produktów mikrobiologicznych do stymulacji wzrostu i plonowania roślin truskawki.

Literatura

- Ishii S. and M.J. Sadowsky. 2009. Applications of the rep-PCR DNA fingerprinting technique to study microbial diversity, ecology and evolution. *Environ. Microbiol.* 11: 733–740.
- Lane D.J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt, E, Goodfellow, M. (Eds), *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, United Kingdom, pp. 115-175.
- Louws F.J., Fulbrught D.W., Stephens C.T., de Bruijn F.J. 1995. Differentiation of genomic structure by rep-PCR fingerprinting to rapidly classify *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology* 85: 528-536.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal 8 ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protoc. Guide Methods Appl.* 18, 315–322. doi: 10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1.

>10dr_ITS_516bp_ *Kwoniella pini*

tacctgattgaggtcagagtcataaaaagttggtttatgagcaagccgaagaggaagacccaaggccagcgaacttattacgccaggctgacaggtt
atccaccgtctcactaacacttttaaggcgagccgaacggcgagccgaggcaacacccaatccaagtcaccggctcgttaaaaaaccggaggattga
ggttttcatgacactcaaacaggtatgcccttcggaataccaaaggcgcaaggtgcttcaaagactcgatgattcactgattctgcaattacattactatcg
catttcgctcgttcttcatcgatgtgggagccaagagatccgttggaaagttttttttgtaaaataaactaatgacgttcatgactgttacagatgtttgt
aaagtagccttcgggccgaagccgtcagacataaaaacggttcacaggtgtgtgtgggtagatcggatccgaagatccagttttcttactg

>11dr_ITS_517bp_ *Kwoniella pini*

ctacctgattgaggtcagagtcataaaaagttggtttatgagcaagccgaagaggaagacccaaggccagcgaacttattacgccaggctgacaggtt
tatccaccgtctcactaacacttttaaggcgagccgaacggcgagccgaggcaacacccaatccaagtcaccggctcgttaaaaaaccggaggattg
aggtttcatgacactcaaacaggtatgcccttcggaataccaaaggcgcaaggtgcttcaaagactcgatgattcactgattctgcaattacattactatc
gcatttcgctcgttcttcatcgatgtgggagccaagagatccgttggaaagttttttttgtaaaataaactaatgacgttcatgactgttacagatgtttt
gtaaagtagccttcgggccgaagccgtcagacataaaaacggttcacaggtgtgtgtgggtagatcggatccgaagatccagttttcttactg

>12dr_ITS_692bp_ *Kalmanozyma fusiformata*

gtcctaccaatctgaggccgatgaattataaaatccaatttctacaaaaggcggggttcagaagcaatccaaccagcaagtcggtgcgtccagctcgtgcct
cttcgaccgtccgaagtcctgatattataaaacccggcagggaaagaaaggacgaaagagtgagccttcgctcgttctcctatcaaatggatgcgctaagt
atctcgaggagccacgatgaatggcaagaccctcactaccgatccgtcagctctttgtgaaaaagctgcttccgaaacaatccggccctcaaacaggca
tgctcccagattagatcgcgggagcgcaaggtgcttcaaagattcgatgattcacttctgcaattacattactatcgcaattcgtcgttcttcatcgatg
ggagaaccaagagatccgttccaaaagttgtttctatagatttagacgaccgattaccagtcggttccatcacaataaagaacttattcaaatcctgatca
tcaaaagttgtgtgaaagtcgagcccttctcgttagcttgcgctactgacgggacccaaccgatgcaaccgtgtttaaataaggtagctcaatttagtta
gacaggtgcgagccacacctcagaaaaaggttttcatcgaatgatccatctgcag

>14dr_ITS_519bp_ *Aureobasidium insectorum*

cctacctgatccgaggtcaacctgtaaaaaataaagttttagtcggcagaagtcctcctcattgacagacgttcgaataaatttactacgcctaagccggtg
aggcctcgcgaggtctttaaaggcgcccaactaaggacgacccaataccaagcatagcttgagtggtgtaatgacgctcgaacaggcatgccctcggga
ataccaagggcgcaatgtcgttcaaagattcgatgattcactgaatttcaattacattactatcgcaattcgtcgttcttcatcgatgcgagaaccaag
agatccgttgtgaaagttttgatttataaaatcttaactcagacgaccggtttaaatacaagagtttggttactctggcgggactcgcctgggagcaatcc
ccagcggtcggaaaccgagcgtccgccaagcaacaaggtgattttaaacaacaagggttgagggtcgggctgagcacccttactttaaag

>15dr_ITS_449bp_ *Vishniacozyma tephrensii*

atgtgaggccagatcatgagatgtggggttattagccaccagaaggtgaaacgtattacatccaaggtgcttattctttaaaggcgagccttgcaaggca
acaccaatacactaccactcaggcaaaaacccaagtgagtgagggttcatgacactcaaacaggcatgcccttcggaatacacaaggcgcaaggtgctt
caaagattcgatgattcactgaattctgcaattcacttactatcgcaattcgtcgttcttcatcgatgcgagagccaagagatccgttgttaaagtttttt
gttatgatattacattactaataatgttggatggccaagccacaggttcacggtgtgtgtggatggccaactccgaagagaaggcacacattgaaccaata
gaccgaagtcaaaggcattattaa

>16dr_ITS_bp_forward_ *Metschnikowia pulcherrima*

tattctagcgcgttgatattagccgaagcaggaccaaaccggaggttgagagtaaatatcgctcaccacgcatgccctggggaataccccggggcgcaat
gtcgttcaaagattcaatgattcacgtctgcaagtcattacgtatcgcaattcgtcgttcttcatcgatgcgagaaccaagagatccgttgtgaaagtttt
twattgwtattgaarwwaarattta

>18dr_ITS_545bp_ *Curvibasidium nothofagi*

ctgcctgatctgaggtctaatctaaagtgactaataagaagcttctactttacaaaactcggccactcccgaagagcgtcctcagcgaatgcttatta
cactgagtcactccgattttcgaatatgagatgtaattacgaacgagcttcgcaataaaggccagcagcgttcagaatccaacactaatccgattta
ctagaaccggtaggtgaaagattcatgacactcaaacagacatgctctccggaataccagagagcgcaaggtgcttcaaagattcgatgattcactgaatt
ctgcaattcacttactatcacatttcgctcgttcttcatcgatgcgagagccaagagatccgttgtgaaagttttttttgtttttttttacatactttaa
aatgtttaaagtagcgcgagactgaatagcaattgcttactctcagtcgccaatagtcacagaggttgaaaaatgaaggttgagctaacgaagttacgctc
taaattcactaatg

>19dr_ITS_325bp_forward_ *Metschnikowia pulcherrima*

Tattctagcgcgttgatattagccgaagcaggaccaaaccggaggttgagagtaaatatcgctcaccacgcatgccctggggaataccccggggcgcaat
gtcgttcaaagattcaatgattcacgtctgcaagtcattacgtatcgcaattcgtcgttcttcatcgatgcgagaaccaagagatccgttgtgaaagtttt

twatwggwtattgamggwwaaratttaragtttgccccaaaagggtgtaaaaaawttttaagakccttccccagggtcmctacrgaaacctgttw
cracwtycctt

>20dr_ITS_324bp_forward_*Metschnikowia pulcherrima*

ttattctagcgccttgatattaggccgaagcaggaccaaaccggaggttgagagtaaatatcgctcaccacgcatgccctggggaataccccggggcgca
tgtgcgttcaaagattcaatgattcacgtctgcaagtcatattacgtatcgcaattcgctgcttctcatcgatcgagaaaccaagagatccgttgtgaaagttt
ttwattwggwtattgaargwwaaratttarattttgtgccccwaaarggtgtaaaaaattttaagawccttccccarggtcmctacsghaaacctgttw
macytycc

>23dr_ITS_325bp_forward_*Metschnikowia pulcherrima*

cttattctagcgccttgatattaggccgaagcaggaccaaaccggaggttgagagtaaatatcgctcaccacgcatgccctggggaataccccggggcgca
atgtgcgttcaaagattcaatgattcacgtctgcaagtcatattacgtatcgcaattcgctgcttctcatcgatcgagaaaccaagagatccgttgtgaaagtt
ttttwattwggwtattgamrgwwaaratttaraktttgtgccccaaaarggtgtaaaaaattttaagawccttccccarggtcmctacsghaaacctgttw
wcracwtycc

>24dr_ITS_328bp_forward_*Metschnikowia pulcherrima*

cttattctagcgccttgatattaggccgaagcaggaccaaaccggaggttgagagtaaatatcgctcaccacgcatgccctggggaataccccggggcgca
atgtgcgttcaaagattcaatgattcacgtctgcaagtcatattacgtatcgcaattcgctgcttctcatcgatcgagaaaccaagagatccgttgtgaaagtt
ttttwattwggwtattgaargwaaagatttarattttgtgccccaaaarggtgtaaaaaattttaagawccttccccarggtcmctacsghaaacctgttw
cmacytycctt

>25dr_ITS_513bp_*Kwoniella pini*

ctgatttgaggtcagagcatagaaagttggttggttatgagcaagccgaagaggaagacccaagggccagcgaacttattacgccaggctgacaggttacc
caccgtctcactaacacttttaaggcgagccgaacggcgagccgcgcaacacccaatccaagccaaccggttcgtaaaaaaccggaggattgaggt
ttcatgacactcaaacaggcatgcccttcggaatacacaaggcgcaaggtcgcttcaaaagactcgatgattcactgattctgcaattcacattactatcgat
ttcgtcgcttctcatcgatgtggagccaagagatccgttgtgaaagttttttttgtaaaaataaactaatgacgttcatgactgttacagatgtttgtaa
agtagccttcgggccaagccgtcagacataaaacggttcacaggtgtgtgtgggtagatcgatccgaagatccagtttctactg

>27dr_ITS_463bp_*Apiotrichum* sp.

tacgtgatttgaggccagagcaagtaattgtccgaagacgattagaagcaacttcacaagcttaccagcgaacttattacgccagacgacattgttaaac
tcgtaactccttaaggcgagccagagactggcaacacccaatccaagccattaagaaacctaatggttgagatttcatgacactcaaacaggcatgctctc
cggaaataccagagagcgcaagttgcttcaaagattcgatgattcactgaattctgcaattcacattactatcgatttcgctgcttctcatcgatcgagagc
caagagatccgttgtgaaagttttttttgtataataactgactttctttacattgtttgtaaaatcaacacagagtgatcaaacaggttcacaggtgtaa
atggatatagttttaagccactagggaatcactaatg

>28dr_ITS_505bp_*Kwoniella pini*

tgaggtcagagcatagaaagttggttggttatgagcaagccgaagaggaagacccaagggccagcgaacttattacgccaggctgacaggttaccaccg
tctcactaacacttttaaggcgagccgaacggcgagccgcaacacccaatccaagccaaccggttcgtaaaaaaccggaggattgaggtttcat
gacactcaaacaggcatgcccttcggaatacacaaggcgcaaggtcgcttcaaaagactcgatgattcactgattctgcaattcacattactatcgatttcgct
gcgttctcatcgatgtggagccaagagatccgttgtgaaagttttttttgtaaaaataaactaatgacgttcatgactgttacagatgtttgtaaagtagc
cttcgggccaagccgtcagacataaaacggttcacaggtgtgtgtgggtagatcgatccgaagatccagtttctactg

>29dr_ITS_566bp_*Filobasidium* sp.

gtcctacttgatttgaggccagatgtcaaagttacacaatgagtaaacatcaaagatgacttaagtgatggttagtttagcagacagtagtctaggtcctggcc
atccgaagatgtcctcagcaaaatacttattatccaagtaaacaggatcatatagacagatccaagctaatacttttaagatgagtcggttcatcaccggcaaa
catcacaatccaactcaagcatggatcgaaatcacaactgggtttgaggtttcatgacactcaaacaggcatgctcctcggaataccaaggagcgcaagg
tgcgttcaaagattcgatgattcactgaattctgcaattcacattactatcgatttcgctgcttctcatcgatcgagagccaagagatccgttgtgaaagtt
ttattatgtataataagactacattgttacaataatggttagtttaaaagtgatgcaagatccaacagtgcaaggtgttatggatgaaagaagaccac
tggcttgcctatggttcaatctaaattcattaatg

>30dr_ITS_445bp_*Vishniacozyma* sp.

Tgaggccagatcatgaatgtgggttatcagccaccagaaggatgaaacgtattacatccaaggtccttatactttaaggcgagccttagcaaggcaaa
caccaatacaccacgcttaggcaaaaacctaagtggggtgaggtttcatgacactcaaacaggcatgcccttcggaataccaaggcgcaaggtgcgttc
aaagattcgatgattcactgaattctgcaattcacattactatcgatttcgctgcttctcatcgatcgagagccaagagatccgttgttaaaagttttttt
gttatgatattacattactaactaacgattgtgatggccaagccacaggttcacggttatatggaagcctcatcttcgataaggcgagatcaaccaatga
tttgcataatgggactattaa

>32dr_ITS_445bp_Vishniacozyma sp.

Tgaggccagatcatgaatatgtggggtatcagccaccagaaggatgaaacgtattacatccaaggtcttatctttaaggcgagccttagcaaggcaaacaccaatacaccaccgcttaggcaaaaacctaagtggggtgaggttcatgacactcaaacaggcatgcccttcggaataccaaaggcgcaaggtgcgttcaagattcagatgattcactgaattctgcaattcacattacttatcgatttcgctgcgttctcatcgatgagagccaagagatccgttgtaaaagtttgtttgttatgatattacattacttaacagtttgatggccaagccacagttcacgggtatataggaagccctcatcttcgataaggcgagatctaaccaatgatttgcacatgggcaactataa

Bakterie

>2G3F_16SrRNA_823bp_Bacillus sp.

tgagtgatgaaggttttcggatcgtaaagctctgtttagggaagaacaagtgcggttcaaataggcgccaccttgacggtaacctaccagaaagccacggc taactacgtgccagcagccggttaatacgtaggtggcaagcgtgtccggaattattggcgtaaaggctcgcaggcggtttcttaagctgatgtgaaagcc cccggctcaaccggggagggcattggaactggggaacttgatgacagaagaggagagtggaattccacgtgtagcggtaaatgctgtagatgtggagg aacaccagtggcgaaggcgactctctggtctgtaactgacgctgaggagcgaagcgtggggagcgaacaggattagataccctggtagtcacgcccgtaac gatgagtctaagtgttaggggtttccccccttagtctgcagtaacgcattaagcactccgctggggagtagcggtcgcaagactgaaactcaaaggaatt gacggggcccgcacaagcgggtggagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaatcctagagataggacgtc ccttcggggcagagtgacaggtggtgatggttgcctgctgagctctgctgtagatgtgggttaagtcccgaacgagcgaaccccttgatcttagttgccag cattcagttgggcaactaaagtgactgcccgtgacaacccggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatcatgcccttatgactgggctac

>23AA_16SrRNA_779bp_Bacillus sp.

tgagtgatgaaggttttcggatcgtaaagctctgtttagggaagaacaagtaccgttcgaaataggcggtaccttgacggtaacctaccagaaagccacggc aactacgtgccagcagccggttaatacgtaggtggcaagcgtgtccggaattattggcgtaaaggctcgcaggcggtttcttaagctgatgtgaaagccc cccggctcaaccggggagggcattggaactggggaacttgatgacagaagaggagagtggaattccacgtgtagcggtaaatgctgtagatgtggaggga acaccagtggcgaaggcgactctctggtctgtaactgacgctgaggagcgaagcgtggggagcgaacaggattagataccctggtagtcacgcccgtaaac gatgagtctaagtgttaggggtttccccccttagtctgcagtaacgcattaagcactccgctggggagtagcggtcgcaagactgaaactcaaaggaattg acggggcccgcacaagcgggtggagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaatcctagagataggacgtc ccttcggggcagagtgacaggtggtgatggttgcctgctgagctctgctgtagatgtgggttaagtcccgaacgagcgaaccccttgatcttagttgccag attcagttgggcaactaaagtgactgcccgtgacaacccggaggaagg

>280Y_16SrRNA_874bp_Bacillus sp.

tcctacgggagcagcagtagggaatctccgcaatggacgaaagtctgacggagcaaccccgctgagtgatgaaggcttccggctgtaaaactctgttgtt agggagaacaagtctagttaataagctggcaccttgacggtaacctaccagaaagccacggcctaactacgtgccagcagccggttaatacgtaggtggc aagcgttatccggaattattggcgtaaagcgcgcaggtggtttcttaagctgatgtgaaagcccacggctcaaccgtggagggtcattggaactgggag acttgatgacagaagagaaagtggaattccatgtgtagcggtaaatgctgtagatagagggaacaccagtggcgaaggcgacttctggtctgtaactg acactgaggcgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagtcacgcccgtaaacgatgagtgtaagtgttagagggtttccccccttagtg ctgaagtaacgcattaagcactccgctggggagtagcggcgaaggctgaaactcaaaggaattgacggggcccgcacaagcgggtggagcatgtggtta attcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgaaaaccttagagatagggtctccttcgggagcagagtgacaggtggtgatggttgc gtcagctctgctgtagatgtgggttaagtcccgaacgagcgaaccccttgatcttagttgccatcattaagttgggcaactaaagtgactgcccgtgaca accggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatcatgccctt

>380XA_16SrRNA_898bp_Bacillus sp.

ctgggactgagacagcccagactcctacgggagcagcagtagggaatctccgcaatggacgaaagtctgacggagcaaccccgctgagtgatgaagg ttttcggatcgtaaagctctgtttagggaagaacaagtgcggttcaaataggcgccaccttgacggtaacctaccagaaagccacggcctaactacgtgccag cagcccggttaatacgtaggtggcaagcgtgtccggaattattggcgtaaaggctcgcaggcggtttcttaagctgatgtgaaagccccggctcaaccgg gagggtcattggaactggggaacttgatgacagaagaggagagtggaattccacgtgtagcggtaaatgctgtagatgtggggaacaccagtggcga aggcgactctctggtctgtaactgacgctgaggagcgaagcgtggggagcgaacaggattagataccctggtagtcacgcccgtaaacgatgagtgtaagt gttagggtttccccccttagtctgcagtaacgcattaagcactccgctggggagtagcggtcgcaagactgaaactcaaaggaattgacggggcccgc acaagcgggtggagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaatcctagagataggacgtcccttcggggcag agtgacaggtggtgatggttgcctgctgagctctgctgtagatgtgggttaagtcccgaacgagcgaaccccttgatcttagttgccagcattcagttgggc acttaaggtgactgcccgtgacaacccggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatcatgccctt

PODZADANIE 2

Określenie skuteczności nowo opracowanych nawozowych produktów mikrobiologicznych w stymulacji wzrostu i plonowania roślin truskawki w polowej uprawie ekologicznej.

Wstęp

Niniejsze zadanie obejmowało opracowanie mikrobiologicznych technologii stymulacji wzrostu i plonowania roślin truskawki w uprawie ekologicznej. Badania prowadzone w Zakładzie Mikrobiologii i Ryzosfery Instytutu Ogrodnictwa - PIB w Skierniewicach wskazują na dużą skuteczność pożytecznych mikroorganizmów w stymulacji wzrostu i plonowania roślin ogrodniczych oraz poprawie jakości gleb. Dotychczas przeprowadzone badania wykazały wysoką skuteczność nawozowych produktów mikrobiologicznych w stymulacji wzrostu, plonowania i ochronie roślin truskawki i maliny w ekologicznej uprawie oraz roślin warzywnych i drzew owocowych (cebula, ziemniak, pietruszka, jabłoń, brzoskwinia, nektaryna). Realizacja zadania obejmowała opracowanie i przygotowanie do wdrożenia do praktyki sadowniczej nawozowych produktów mikrobiologicznych na bazie innowacyjnych konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów i kwasów humusowych, w celu poprawy wzrostu i plonowania roślin oraz walorów prozdrowotnych owoców w ekologicznej uprawie truskawki.

Cel badania

Celem podzadania było opracowanie innowacyjnych konsorcjów mikrobiologicznych do nalistnej aplikacji oraz określenie ich skuteczności w stymulacji wzrostu i plonowania roślin w ekologicznej uprawie truskawki.

Metody przeprowadzania analiz

1. Ocena wzrostu wegetatywnego i plonowania roślin truskawki

Określenie parametrów wzrostu wegetatywnego i plonowania roślin truskawki

Analiza obejmowała pomiary świeżej i suchej masy systemu korzeniowego i części nadziemnej roślin, wykonane po zakończeniu doświadczenia. Badania wzrostu wegetatywnego truskawki polegały na ocenie intensywności zielonej barwy, liczby oraz pola powierzchni liści, masy i długości rozłogów, liczby i masy sadzonek rozłogowych oraz ocenie wielkości i jakości plonowania roślin. Analiza biomasy systemu korzeniowego roślin została przeprowadzona na podstawie pomiarów świeżej i suchej masy korzeni, pola powierzchni korzeni, długości korzeni, średnicy korzeni, objętości korzeni oraz liczby wierzchołków korzeni, przy wykorzystaniu skanera korzeniowego i zestawu obrazującego. W ramach oceny plonowania roślin truskawki określono plon ogólny, masę jednego owocu i masę 100 owoców.

Analiza cech wzrostu liści roślin truskawki

Analizę wykonano przy użyciu skanera EPSON EXPRESSION 10000 XL. Liście z każdej rośliny truskawki, układano na tacy, a następnie skanowano. Po zakończeniu skanowania określono pole powierzchni liści za pomocą oprogramowania WinRhizo. Pomiar świeżej i suchej masy liści wykonano przy użyciu wagi laboratoryjnej (RADWAG WLC 3/A2/C/2). Następnie materiał roślinny suszono w temperaturze 55°C przez ok. 3 dni i na podstawie pomiarów wagowych określono suchą masę liści.

Analiza cech wzrostu korzeni roślin truskawki

System korzeniowy umieszczano na sicie, oczyszczono z gleby poprzez delikatne opłukanie. Po osuszeniu korzeni zważono ich świeżą masę, a następnie skanowano je przy użyciu skanera EPSON EXPRESSION 10000 XL. Cechy wzrostu korzeni roślin truskawki (długość korzeni, pole powierzchni korzeni, średnicę korzeni, objętość korzeni i liczbę wierzchołków korzeni)

określono za pomocą oprogramowania WinRhizo. Następnie korzenie suszono w temperaturze 55°C przez ok. 3 dni i na podstawie pomiarów wagowych określono suchą masę korzeni.

2. Analiza składu mineralnego roślin truskawki

Przygotowanie materiału roślinnego do oznaczeń

Próbki materiału roślinnego suszono do stanu powietrznie suchego, w temperaturze nie przekraczającej 65°C. Wysuszone próbki homogenizowano z użyciem młynka udarowego, z sitem o średnicy oczek ok. 1 mm. Rozdrobniona masa roślinna została przeniesiona do plastikowego opakowania, zamknięta i oznaczona.

Oznaczanie zawartości składników mineralnych w materiale roślinnym

Oznaczanie zawartości składników mineralnych w materiale roślinnym metodami chemicznymi wymagało przeprowadzenia ich do roztworu. Spalanie substancji roślinnej na mokro polegało na całkowitym utlenieniu za pomocą ciekłych utleniaczy, tj. stężonych kwasów: siarkowego, azotowego i nadchlorowego (pojedynczo lub w różnych proporcjach). W celu oznaczenia zawartości składników mineralnych w uzyskanych roztworach, wykonano pomiary techniką atomowej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-OES). Zawartość azotu ogólnego w materiale roślinnym, została oznaczona wg Dumas'a, metodą konduktometryczną, z użyciem aparatu TruSpec CNS.

Metodyka doświadczenia

Doświadczenie polowe na roślinach truskawki odmiany Rumba założono wiosną 2024 roku w Sadzie Doświadczalnym Instytutu Ogrodnictwa - PIB w Skierniewicach. Sadzonki truskawki typu frigo, klasy A, posadzono w rozstawie 0,9 m x 0,2 m. Przed posadzeniem roślin zastosowano kurzak, w dawce 200 g na poletko (3m²). Doświadczenie zaplanowano w układzie bloków losowych. W doświadczeniu zastosowano 5 kombinacji. Każda kombinacja składała się z 3 powtórzeń, a każde powtórzenie z 15 roślin.

W celu wyselekcjonowania mikroorganizmów do aplikacji nalistnej, izolaty analizowano pod kątem: wytwarzania metabolitów toksycznych dla grzybów (badania przeprowadzone tylko dla bakterii, hamowanie wzrostu grzyba *Botrytis cinerea*), patogeniczności względem truskawki (test nadwrażliwości) oraz zróżnicowania morfologicznego.

W doświadczeniu polowym na roślinach truskawki zastosowano 2 nowo opracowane nawozowe produkty mikrobiologiczne wzbogacone: Konsorcjum 1 bakteryjne i Konsorcjum 2 na bazie drożdży. Pożyteczne mikroorganizmy jako komponenty nawozowych produktów mikrobiologicznych izolowano z ryzosfery roślin truskawki oraz pozyskano z zasobów bakterii i drożdży zdeponowanych w SYMBIO-BANK-u Instytutu Ogrodnictwa - PIB:

Konsorcjum 1 (bakterie): *Bacillus* sp. (nr szczepu 2G-3F), *Bacillus* sp. (nr szczepu 380XA), *Bacillus* sp. (nr szczepu 23AA), *Bacillus* sp. (nr szczepu 280Y).

Konsorcjum 2 (drożdże): *Erythrobasidium hasegawianum* (nr szczepu 1), *Vishniacozyma* sp. (nr szczepu 2), *Aureobasidium* sp. (nr szczepu 14), *Curvibasidium* sp. (nr szczepu 18), *Metschnikowia* sp. (nr szczepu 19), *Metschnikowia* sp. (nr szczepu 23), *Apiotrichum* sp. (nr szczepu 27), *Kwoniella pini* (nr szczepu 28), *Filobasidium* sp. (nr szczepu 29), *Vishniacozyma* sp. (nr szczepu 32).

Preparaty komercyjne zastosowane w doświadczeniu polowym na roślinach truskawki zarejestrowane do stosowania w rolnictwie ekologicznym:

Preparat mikrobiologiczny BlueN® (Firmy CORTEVA AGRISCIENCE) - składa się z bakterii *Methylobacterium symbioticum* SB23 w formie proszku do sporządzania zawiesiny według zaleceń producenta (333 g/ha). Preparat jest zarejestrowany do stosowania w rolnictwie ekologicznym pod nr SE/65/2022.

Kwasy humusowe **Naturvital-Plus (Firmy Chemirol Sp. z o.o.)**. Produkt jest zarejestrowany do stosowania w rolnictwie ekologicznym pod nr SE/20/2018.

Doświadczenie obejmowało następujące kombinacje doświadczalne:

1. Kontrola - kwasy humusowe Naturvital-Plus
2. Konsorcjum 1 + kwasy humusowe Naturvital-Plus
3. Konsorcjum 2 + kwasy humusowe Naturvital-Plus
4. Preparat BlueN® + kwasy humusowe Naturvital-Plus + Konsorcjum 1
5. Preparat BlueN® + kwasy humusowe Naturvital-Plus + Konsorcjum 2

Aplikację dolistną kwasami humusowymi z Konsorcjum 1 i Konsorcjum 2 oraz preparatem BlueN® wykonano w następujących terminach:

I termin aplikacji - 23 i 24 maja 2024

II termin aplikacji - 6 i 7 czerwca 2024

III termin aplikacji - 26 i 27 czerwca 2024

Kwasy humusowe Naturvital-Plus stosowano w dawce 2 l/ha 300 l wody; 20 ml/3 l wody/60 roślin.

Konsorcjum 1 i Konsorcjum 2 stosowano w dawce po 5l każdego Konsorcjum/60 roślin.

Preparat mikrobiologiczny BlueN® stosowano w dawce 6,66g/4l wody/60 roślin.

Analizę statystyczną wykonano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji z zastosowaniem testu Tukeya, $\alpha=0.05$, z zastosowaniem programu statystycznego Statistica 13.3.

Wyniki

Tabela 1. Wpływ nawozowych produktów mikrobiologicznych na cechy wzrostu liści roślin truskawki odmiany Rumba (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).

Kombinacja	Intensywność zielonej barwy liści [SPAD/roślinę]	Liczba liści [szt. /roślinę]	Świeża masa liści [g/roślinę]	Sucha masa liści [g/roślinę]	Pole powierzchni liści [cm²/roślinę]
Kontrola – kwasy humusowe	31,5 a	18 a	52,4 a	15,2 a	2310,5 a
Konsorcjum 1 + kwasy humusowe	30,2 a	21 a	49,4 a	16,0 a	2495,3 a
Konsorcjum 2 + kwasy humusowe	29,9 a	20 a	54,5 a	17,2 ab	2989,5 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 1	29,9 a	22 a	<u>71,0 b</u>	<u>22,6 b</u>	2971,1 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 2	29,6 a	22 a	<u>71,5 b</u>	<u>23,3 b</u>	2984,6 a

W doświadczeniu polowym przeprowadzonym na roślinach truskawki, odnotowano istotne zwiększenie świeżej i suchej masy liści pod wpływem aplikacji Konsorcjum 1, kwasów

humusowych i preparatu BlueN® oraz Konsorcjum 2, kwasów humusowych i preparatu BlueN®. Aplikacja produktów mikrobiologicznych nie wpłynęła istotnie na zróżnicowanie intensywności zielonej barwy liści, liczby liści i pola powierzchni liści.

Tabela 2. Wpływ nawozowych produktów mikrobiologicznych na formowanie rozłogów i sadzonek rozłogowych przez rośliny truskawki odmiany Rumba – czerwiec 2024 (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).

Kombinacja	Masa rozłogów [g/roślinę]	Długość rozłogów [cm/roślinę]	Liczba sadzonek rozłogowych [szt./roślinę]	Masa sadzonek rozłogowych [g/roślinę]
Kontrola – kwasy humusowe	25,5 a	444,7 a	4 ab	8,1 a
Konsorcjum 1 + kwasy humusowe	30,0 a	514,3 a	3 a	10,9 a
Konsorcjum 2 + kwasy humusowe	30,2 a	451,7 a	3 a	8,5 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 1	27,7 a	463,5 a	<u>6 b</u>	<u>13,3 b</u>
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 2	27,5 a	465,4 a	4 ab	10,3 a

W porównaniu do kombinacji kontrolnej, istotnie większą liczbę i masę sadzonek rozłogowych odnotowano w kombinacji po zastosowaniu preparatu BlueN® łącznie z kwasami humusowymi i Konsorcjum 1 (pierwszy termin oceny, czerwiec 2024r.).

Tabela 3. Wpływ nawozowych produktów mikrobiologicznych na formowanie rozłogów i sadzonek rozłogowych przez rośliny truskawki odmiany Rumba, lipiec 2024 (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).

Kombinacja	Masa rozłogów [g/roślinę]	Długość rozłogów [cm/roślinę]	Liczba sadzonek rozłogowych [szt./roślinę]	Masa sadzonek rozłogowych [g/roślinę]
Kontrola – kwasy humusowe	24,7 a	470,4 a	5 a	9,5 a
Konsorcjum 1 + kwasy humusowe	29,1 a	530,4 a	6 ab	10,4 a
Konsorcjum 2 + kwasy humusowe	31,2 a	554,2 a	<u>8 b</u>	15,0 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 1	25,1 a	469,7 a	6 ab	9,4 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 2	30,4 a	511,2 a	<u>8 b</u>	13,1 a

W drugim terminie oceny (lipiec 2024 r.) wpływu nawozowych produktów mikrobiologicznych na formowanie rozłogów i sadzonek rozłogowych odnotowano największy wpływ aplikacji Konsorcjum 2 z kwasami humusowymi oraz preparatu BlueN® łącznie z kwasami humusowymi i Konsorcjum 2 na zwiększenie liczby sadzonek rozłogowych, w porównaniu do roślin kontrolnych traktowanych kwasami humusowymi.

Tabela 4. Wpływ nawozowych produktów mikrobiologicznych na suchą masę oraz zawartość makroelementów w liściach truskawki odmiany Rumba (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).

Kombinacja	P	K	Mg	Ca	N _{og}	sm
	% sm					% sm
Kontrola – kwasy humusowe	0,27 a	1,13 a	0,29 b	1,54 a	1,46 ab	96,4 a
Konsorcjum 1 + kwasy humusowe	0,30 b	1,21 ab	0,28 b	1,58 a	1,40 ab	95,8 a
Konsorcjum 2 + kwasy humusowe	0,28 ab	1,25 ab	0,28 b	1,54 a	1,31 ab	96,4 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 1	0,29 ab	<u>1,37 b</u>	0,25 a	1,49 a	1,28 a	96,2 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 2	<u>0,33 c</u>	<u>1,35 b</u>	0,28 b	1,38 a	<u>1,53 b</u>	96,1 a

W porównaniu do kontroli, aplikacja preparatu BlueN® łącznie z kwasami humusowymi i Konsorcjum 2 wpłynęła na istotne zwiększenie zawartości fosforu, potasu i azotu ogólnego w liściach truskawki. Aplikacja preparatu BlueN® łącznie z kwasami humusowymi i Konsorcjum 1 wpłynęła na istotne zwiększenie zawartości potasu w liściach truskawki, w porównaniu do pozostałych kombinacji. Sucha masa oraz zawartość magnezu i wapnia w liściach roślin truskawki kształtowała się na zbliżonym poziomie we wszystkich kombinacjach.

Tabela 5. Wpływ nawozowych produktów mikrobiologicznych na zawartość mikroelementów w liściach truskawki odmiany Rumba (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).

Kombinacja	B	Cu	Fe	Mn	Na	Zn
	mg/kg sm					
Kontrola – kwasy humusowe	33,6 a	3,82 a	125 a	24,5 a	16,7 a	8,2 a
Konsorcjum 1 + kwasy humusowe	33,3 a	4,30 a	<u>188 c</u>	23,0 a	17,1 a	10,2 ab
Konsorcjum 2 + kwasy humusowe	35,3 a	4,04 a	<u>197 e</u>	18,5 a	15,8 a	10,4 ab
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 1	34,3 a	3,61 a	<u>191 d</u>	17,5 a	16,2 a	<u>11,7 b</u>
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 2	32,0 a	4,33 a	<u>166 b</u>	21,7 a	16,4 a	<u>11,8 b</u>

W porównaniu do kontroli, zastosowanie preparatu BlueN®, kwasów humusowych oraz Konsorcjum 1 i 2, wpłynęło na istotne zwiększenie zawartości cynku w liściach roślin truskawki. Nie odnotowano istotnych różnic w zawartości boru, miedzi, manganu i sodu w liściach truskawki pod wpływem zastosowanych nawozowych produktów mikrobiologicznych. W porównaniu do kontroli (kwasy humusowe) odnotowano istotne zwiększenie zawartości żelaza w liściach roślin truskawki po aplikacji nawozowych produktów mikrobiologicznych.

Tabela 6. Wpływ nawozowych produktów mikrobiologicznych na świeżą i suchą masę korzeni truskawki odm. Rumba (Doświad. polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).

Kombinacja	Świeża masa korzeni [g/roślinę]	Sucha masa korzeni [g/roślinę]
Kontrola – kwasy humusowe	16,1 a	7,5 a
Konsorcjum 1 + kwasy humusowe	19,0 ab	8,3 ab
Konsorcjum 2 + kwasy humusowe	38,2 a-c	15,2 a-c
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 1	<u>44,3 c</u>	<u>19,3 c</u>
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 2	43,2 bc	18,9 bc

W porównaniu do roślin kontrolnych, aplikacja nawozowych produktów mikrobiologicznych wpłynęła na zwiększenie świeżej i suchej masy korzeni roślin truskawki. Łączna aplikacja preparatu BlueN®, kwasów humusowych i Konsorcjum 1 w największym stopniu wpłynęła na istotne zwiększenie świeżej i suchej masy korzeni roślin truskawki.

Tabela 7. Wpływ nawozowych produktów mikrobiologicznych na cechy wzrostu korzeni roślin truskawki odmiany Rumba (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).

Kombinacja	Długość korzeni [cm/roślinę]	Pole powierzchni korzeni [cm ² /roślinę]	Średnica korzeni [mm/roślinę]	Objętość korzeni [cm ³ /roślinę]	Liczba wierzchołków korzeni [szt./roślinę]
Kontrola – kwasy humusowe	935,6 a	204,6 a	0,68 a	3,6 a	3742 a
Konsorcjum 1 + kwasy humusowe	1618,3 b	319,8 ab	0,68 a	5,3 ab	6172 b
Konsorcjum 2 + kwasy humusowe	1565,2 b	<u>421,8 b</u>	0,86 ab	9,1 b	5134 ab
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 1	1442,2 b	<u>435,0 b</u>	0,77 ab	8,4 b	4512 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 2	<u>1792,4 c</u>	<u>435,2 b</u>	<u>0,94 b</u>	<u>10,8 c</u>	<u>6465 b</u>

Aplikacja nawozowych produktów mikrobiologicznych wpłynęła na zwiększenie cech wzrostu korzeni roślin truskawki, w porównaniu do kontroli. Zastosowanie preparatu BlueN®, kwasów humusowych oraz Konsorcjum 2 w największym stopniu wpłynęło na istotne statystycznie zwiększenie długości korzeni, pola powierzchni korzeni, średnicy korzeni, objętości korzeni i liczby wierzchołków korzeni.

Tabela 8. Wpływ nawozowych produktów mikrobiologicznych na plonowanie roślin truskawki odmiany Rumba (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).

Kombinacja	Plon ogólny [g/roślinę]	Masa 1 owocu [g]	Masa 100 owoców [g]
Kontrola – kwasy humusowe	438,0 ab	23,4 a	2124 a
Konsorcjum 1 + kwasy humusowe	<u>466,5 b</u>	21,0 a	2044 a
Konsorcjum 2 + kwasy humusowe	383,0 a	20,9 a	2015 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 1	383,8 a	22,9 a	2092 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 2	399,0 a	21,0 a	1896 a

Przymrozki wiosenne miały istotny wpływ na wielkość plonowania roślin truskawki i znacząco ograniczyły wielkość plonowania roślin truskawki. Nie odnotowano istotnego wpływu aplikacji biopreparatów na masę 100 owoców i średnią masę 1 owocu. Plon ogólny owoców był najwyższy po zastosowaniu Konsorcjum 1 łącznie z kwasami humusowymi.

OCENA ZASIEDLANIA KORZENI ROŚLIN TRUSKAWKI ODMIANY RUMBA PRZEZ ARBUSKULARNE GRZYBY MIKORYZOWE

Material i metody

Fragmety korzeni roślin truskawki odmiany Rumba wybarwiono według metody opracowanej w Zakładzie Mikrobiologii i Ryzosfery Instytutu Ogrodnictwa - PIB (Derkowska i in. 2015). Z tak przygotowanych korzeni wykonano preparaty mikroskopowe wybierając po 30 fragmentów o długości około 1 cm, które układano równolegle na szkiełku podstawowym zawierającym glicerynę i rozgniatano szkiełkiem nakrywkowym. Przygotowane preparaty histologiczne analizowano przy użyciu mikroskopu Nikon 50i (obiektywy o powiększeniu: 20x, 40x, 60x, 100x) i wykonano dokumentację fotograficzną zaobserwowanych struktur mikoryzowych. Ocenę stopnia kolonizacji korzeni roślin truskawki przez arbuskularne grzyby mikoryzowe wykonano metodą (Trouvelot 1986). Na podstawie uzyskanych wyników obliczano frekwencję mikoryzową (F%), intensywność kolonizacji korzeni (M%, m%) oraz obfitość arbuskul (a%, A%) przy wykorzystaniu programu komputerowego MYCOCALC, dostępnego na stronie internetowej: <http://www2.dijon.inra.fr/mychintec-MycoCalcprg/download.html>

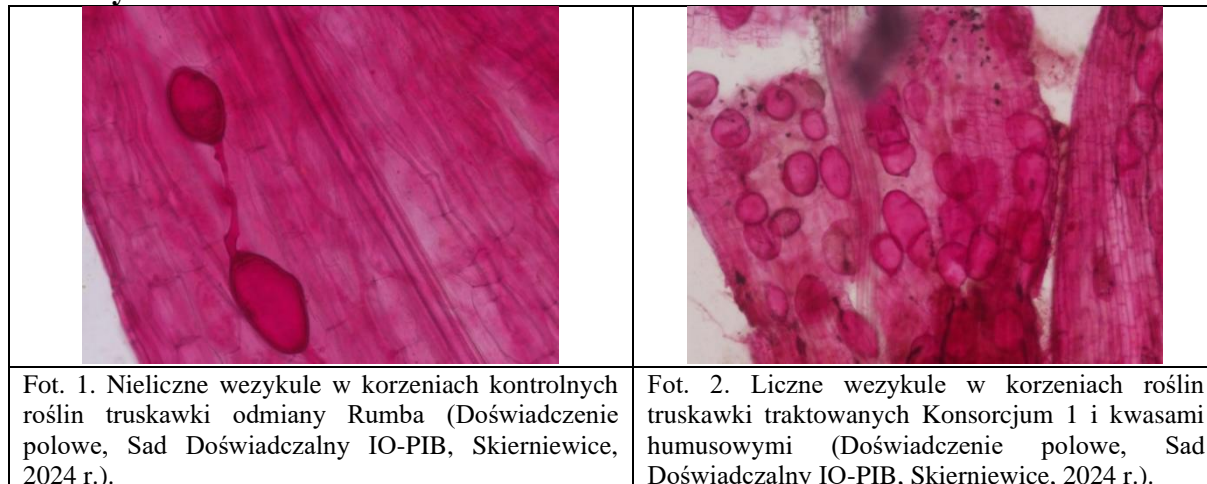
Wyniki

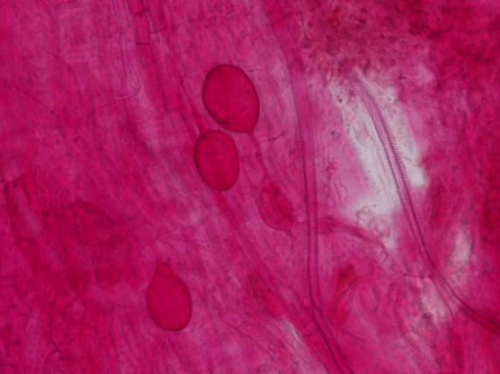
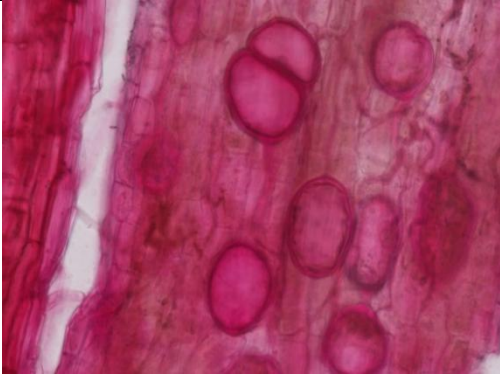
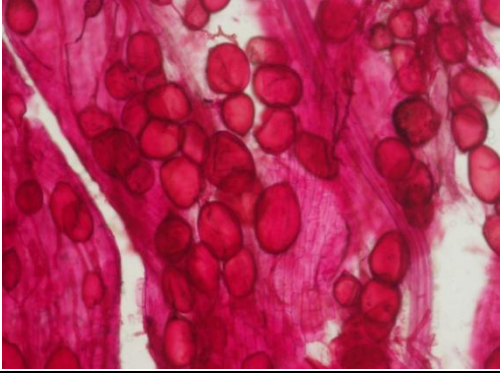
Tabela 9. Wpływ nawozowych produktów mikrobiologicznych na zasiedlanie korzeni roślin truskawki odmiany Rumba przez arbuskularne grzyby mikoryzowe (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).

Kombinacja	F%	M%	m%
Kontrola – kwasy humusowe	27.78 a	1.51 a	5.48 a
Konsorcjum 1 + kwasy humusowe	51.11 c	3.62 bc	7.08 a
Konsorcjum 2 + kwasy humusowe	30.0 a	2.63 ab	8.60 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 1	40.0 b	3.51 bc	8.74 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 2	64.45 d	4.26 c	6.61 a

W porównaniu do kontroli, zastosowanie Konsorcjum 2 łącznie z kwasami humusowymi i preparatem BlueN®, wpłynęło na istotne statystycznie zwiększenie stopnia frekwencji mikoryzowej i liczby arbuskul AGM w korzeniach truskawki. Wysoki stopień zasiedlania korzeni przez arbuskularne grzyby mikoryzowe odnotowano również po zastosowaniu kwasów humusowych łącznie z Konsorcjum 1 oraz kombinacji z preparatem BlueN®.

Zaobserwowane struktury grzybów mikoryzowych w korzeniach roślin truskawki odmiany Rumba:



	
<p>Fot. 3. Wezykule w korzeniach roślin truskawki traktowanych Konsorcjum 2 i kwasami humusowymi (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).</p>	<p>Fot. 4. Liczne wezykule w korzeniach roślin truskawki traktowanych preparatem BlueN®, kwasami humusowymi i Konsorcjum 1 (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).</p>
	
<p>Fot. 5. Bardzo liczne wezykule w korzeniach roślin truskawki traktowanych preparatem BlueN®, kwasami humusowymi i Konsorcjum 2 (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).</p>	

Wnioski

Zastosowanie konsorcjów mikrobiologicznych w połączeniu z kwasami humusowymi i preparatem komercyjnym BlueN® wpłynęło korzystnie na zwiększenie zasiedlania korzeni roślin truskawki odmiany Rumba przez arbuskularne grzyby mikoryzowe.

Literatura

Derkowska E., Sas Paszt L., Dyki B., Sumorok B. 2015a. Assessment of mycorrhizal frequency in the roots of fruit plants using different dyes. *Adv. in Microbiol.*, 5(1): 54-64. DOI: [10.4236/aim.2015.51006](https://doi.org/10.4236/aim.2015.51006)

Trouvelot A., Kough J.L., Gianinazzi-Pearson V., 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un systeme racinaire. Recherche de methods d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Gianinazzi-Pearson V., Gianin.

OCENA LICZBY ZARODNIKÓW ARBUSKULARNYCH GRZYBÓW MYKORYZOWYCH (AGM) W 100 G GLEBY RYZOSFEROWEJ ROŚLIN TRUSKAWKI ODMIANY RUMBA

Metodyka

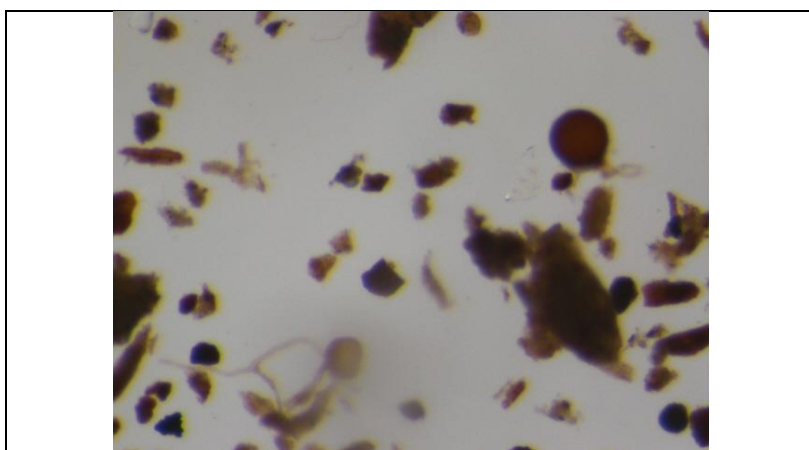
Z pobranych próbek gleby, ze strefy korzeni roślin truskawki odmiany Rumba, odważono do dalszych analiz po 100 g gleby. Próbkę gleby umieszczano w plastikowych butelkach o pojemności 1 litra i zalano wodą kranową (0,5-1 L). Materiał dokładnie wymieszano przez około 5 minut i wstawiono do lodówki (na okres 24h, w temperaturze 4 °C). Po 24 h godzinach mieszaninę przelano przez kolumnę sit o porach, o średnicy: 1 mm; 0,5 mm; 0,125 mm; 0,063 mm i 0,045 mm. Następnie uzyskany osad/materiał, z każdego sita, przeniesiono na szalki Petriego (120mm), polewając sito wodą kranową. Do każdej szalki dodano sacharozę (5g na szalkę), aby zarodniki wypłynęły na powierzchnię. Przygotowane próbki były obserwowane przy użyciu mikroskopu stereoskopowego Nikon SMZ 800. Obecne w wodzie zarodniki (chlamydospory) AGM policzono.

Wyniki

Tabela 10. Wpływ nawozowych produktów mikrobiologicznych na liczbę zarodników w 100 g gleby ryzosferowej roślin truskawki odmiany Rumba (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).

Kombinacja	Liczba zarodników w 100 g gleby
Kontrola – kwasy humusowe	19 a
Konsorcjum 1 + kwasy humusowe	32 bc
Konsorcjum 2 + kwasy humusowe	30 b
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 1	41 c
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 2	33 bc

W doświadczeniu polowym przeprowadzonym na roślinach truskawki odmiany Rumba, w porównaniu do kombinacji kontrolnej, odnotowano istotne zwiększenie liczby zarodników w 100 g gleby ryzosferowej po aplikacji preparatu BlueN® łącznie z kwasami humusowymi i Konsorcjum 1 i Konsorcjum 2 oraz po aplikacji Konsorcjum 1 i Konsorcjum 2 z kwasami humusowymi.



Fot. 6. Zarodniki AGM w glebie ryzosferowej – morfotyp M1 (brązowy) i morfotyp M2 (słomkowy ze strzępką grzybni) po zastosowaniu preparatu mikrobiologicznego BlueN®, kwasów humusowych i Konsorcjum 1.

OCENA WPLYWU STOSOWANIA NAWOZOWYCH PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH NA WYDAJNOŚĆ FOTOSYNTETYCZNA FOTOSYSTEMU II NA PODSTAWIE POMIARÓW FLUORESCENCJI CHLOROFILU W LIŚCIACH TRUSKAWKI ODMIANY RUMBA

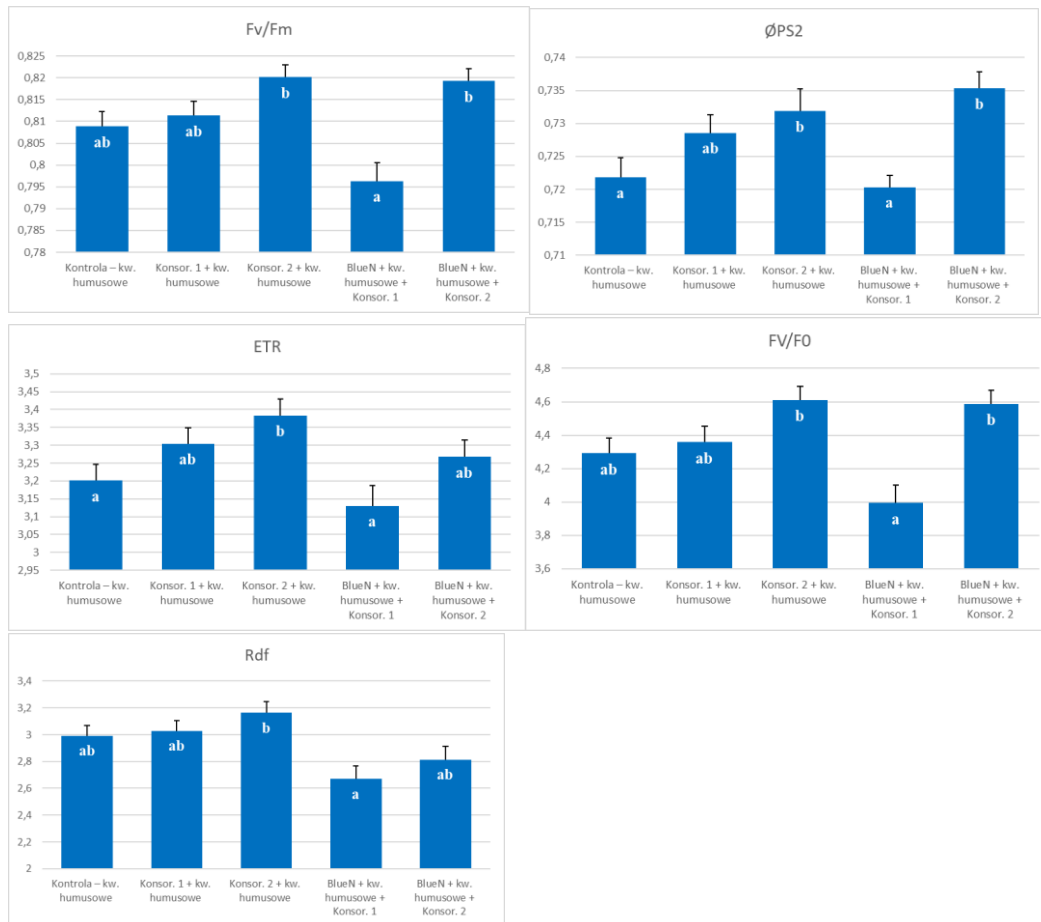
Metodyka

Pomiar fluorescencji wykonano na liściach truskawki odmiany Rumba przy pomocy aparatu FMS 1 Pulse-Modulated Chlorophyll Fluorescence Monitoring System firmy Hansatech Instruments Ltd. Pomiar prowadzono na 10 reprezentatywnych liściach. Pomiar wykonano w czterech powtórzeniach. Pomiar wykonano po 30 minutowej adaptacji do ciemności. Przy pomocy tego fluorymetru określano:

- a) F_V/F_M - maksymalną wydajność reakcji fotochemicznej w PS II (wyznaczona po adaptacji ciemniowej). Parametr ten jest uznany za wiarygodny miernik aktywności fotochemicznej aparatu fotosyntetycznego.
- b) Φ_{PSII} – *Yield* - pozwala ocenić wydajność kwantową reakcji fotochemicznej w PSII. Określa stosunek kwantów wykorzystywanych w przemianach fotochemicznych do całkowitej liczby zaabsorbowanych kwantów. Wskazuje na aktualną ilość elektronów w PS II w warunkach przystosowania do światła.
- c) $qP = (F_M' - F_T)/(F_M' - F_0)$ - wygaszanie fotochemiczne. Parametr ten określa proporcję energii świetlnej zaabsorbowanej przez PSII do energii wykorzystanej przez otwarte centra do reakcji fotosyntezy.
- d) ETR – określa szybkość przepływu elektronów przez fotoukłady, efektywność transportu elektronów w PS II.
- e) F_V/F_0 - maksymalną efektywność rozkładu wody po donorowej stronie PSII. Parametr jest wyznaczany po adaptacji ciemniowej. Charakteryzuje on efektywność rozszczepiania wody (wydzielania tlenu) w PS II. Kompleks ten jest uważany za bardzo wrażliwy element w fotosyntetycznym łańcuchu transportu elektronów.
- f) $Rfd = (F_M - F_T)/F_T$ - wskaźnik vitalności, miernik potencjalnej aktywności fotosyntetycznej w danych warunkach świetlnych oraz współdziałania reakcji fazy świetlnej z reakcjami biochemicznymi w fazie ciemnej fotosyntezy

Aktywność fluorescencyjna stosowana jest do identyfikacji oraz monitorowania stanu fizjologicznego roślin. Jest pomiarem nieinwazyjnym, ekonomicznym i bardzo precyzyjnym. Charakteryzuje zarówno stan aparatu fotosyntetycznego i przebieg procesu fotosyntezy. Dotyczy to wszystkich etapów procesu fotosyntezy: utleniania wody, transportu elektronów, rozwoju gradientu pH w transbłonach, syntezy TP i serii reakcji enzymatycznych, od redukcji CO₂ do syntezy cukrów. Metoda ta określa stan zdrowotny roślin i umożliwia ocenę wpływu stresowych czynników biotycznych i abiotycznych na procesy fizjologiczne roślin.

Wyniki



Wykres 1. Ocena wpływu nawozowych produktów mikrobiologicznych na wydajność fotosyntetyczną fotosystemu II na podstawie pomiarów fluorescencji chlorofilu w liściach w uprawie ekologicznej roślin truskawki odmiany Rumba.

Badania wykazały, że najkorzystniejszy wpływ na wydajność fotosyntetyczną chlorofilu w liściach truskawki w uprawie ekologicznej miała łączna aplikacja Konsorcjum 2 i kwasów humusowych. Korzystny wpływ miało również łączne zastosowanie preparatu komercyjnego BlueN® z Konsorcjum 2 i kwasami humusowymi.

Korzystny wpływ tych aplikacji potwierdzony był przez:

- maksymalną wydajności reakcji fotochemicznej w PS II (F_v/F_M),
- wydajność kwantową reakcji fotochemicznej w PSII (Φ_{PSII}),
- szybkość przepływu elektronów przez fotoukłady tj. efektywności transportu elektronów w PS II (ETR),
- maksymalną efektywność rozkładu wody po donorowej stronie PSII (F_v/F_0)
- wskaźnik vitalności (Rfd).

Wnioski

- Najkorzystniejszy wpływ na wydajność fotosyntetyczną w liściach truskawki miała łączna aplikacja Konsorcjum 2 i kwasów humusowych.
- Pozytywny efekt uzyskano również przy łącznym zastosowaniu preparatu BlueN® z Konsorcjum 2 i kwasami humusowymi.

- Zwiększona wydajność fotosyntetyczna chlorofilu w liściach truskawki wyrażona jest wyższymi wartościami takich wskaźników fluorescencji jak: F_v/F_m , Φ_{PSII} , ETR, F_v/F_0 i wskaźnik Rfd.

Analiza mikrobiologiczna gleby

W ramach prac Podzadania 2 zgromadzono 32 izolaty drożdży wyizolowane z liści truskawki oraz 16 izolatów bakterii wytwarzających przetrwalniki wyizolowanych z gleby. W celu wyselekcjonowania mikroorganizmów do aplikacji nalistnej, izolaty analizowano pod kątem: syntezy metabolitów toksycznych dla grzybów (badania przeprowadzone tylko dla bakterii - hamowanie wzrostu grzybów oszacowano dla grzyba *Botrytis cinerea*), testu na patogeniczność względem truskawki (test nadwrażliwości) oraz zróżnicowanie morfologiczne. Wytypowane do dalszych prac drożdże poddano wstępnej identyfikacji na podstawie fenotypu, przy użyciu systemu do identyfikacji mikroorganizmów Biolog, w celu uniknięcia stosowania izolatów patogennych dla ludzi (Tabela 11).

Do celów nalistnej aplikacji w uprawie ekologicznej truskawki wybrano płynną formulację na bazie ekologicznej melasy trzcinowej (certyfikat ekologiczny DE-KO-005). W pożywkach, w których hodowano bakterie, ustalono pH do poziomu $7 \pm 0,2$ przy użyciu 10% KOH. Parametry hodowli: pożywka 2% melasa trzcinowa, czas hodowli 72h, temperatura hodowli 22°C, szybkość mieszania; 120 rpm, aeracja około 1 VVM. Średnia koncentracja drożdży w inokulum wynosiła $3,9 \times 10^8$ jtk x ml⁻¹, natomiast w przypadku bakterii średnia liczebność wynosiła $1,8 \times 10^8$ jtk x ml⁻¹.

W celu oszacowania liczebności bakterii i grzybów w badanych próbkach gleby zastosowano metodę posiewów kolejnych rozcieńczeń gleby na pożywki agarowe. Badania aktywności i różnorodności funkcjonalnej przeprowadzono przy użyciu systemu Biolog oraz testów EcoPlate.

Tabela 11. Właściwości i identyfikacja mikroorganizmów stosowanych w badaniach.

Nr szczepu	Antagonizm (w stosunku do <i>B. cinerea</i>)	Patogeniczność w stosunku do roślin truskawki	Identyfikacja na podstawie fenotypu	Identyfikacja na podstawie sekwencji ITS
1	nb.	Brak	<i>Debratomyces</i> sp. / <i>Cryptococcus</i> sp. (nie <i>neoformans</i>)	<i>Erythrobasidium hasegawianum</i>
2	nb.	Brak	<i>Bulleromyces albus</i> / <i>Candida edax</i>	<i>Vishniacozyma</i> sp.
14	nb.	Brak	<i>Bulleromyces albus</i>	<i>Aureobasidium</i> sp.
18	nb.	Brak	<i>Rhodotorulla aurantiaca</i>	<i>Curvibasidium</i> sp.
19	nb.	Brak	<i>Pichia</i> sp. / <i>Candida intermedia</i> / <i>Debratomyces hansenii</i>	<i>Metschnikowia</i> sp.
23	nb.	Brak	<i>Pichia etcheusi</i>	<i>Metschnikowia</i> sp.
27	nb.	Brak	<i>Candida edax</i>	<i>Apiotrichum</i> sp.
28	nb.	Brak	<i>Rhodospiridium diobovatum</i> / <i>Sporidiobolus pararoseus</i>	<i>Kwoniella pini</i>
29	nb.	Brak	<i>Candida edax</i>	<i>Filobasidium</i> sp.
32	nb.	Brak	<i>Candida edax</i>	<i>Vishniacozyma</i> sp.
2G-3F	+	Brak	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.
380XA	+	Brak	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.
23AA	+	Brak	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.
280Y	+	Brak	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.

1. Identyfikacja na podstawie fenotypu: Użyty system Biolog, profile fenotypowe, uzyskane z testów typu YT, zostały zinterpretowane przez oprogramowanie Microlog3 (wersja 5.2.01), wyposażone w bazę danych (wersja 2.7.1).
2. Antagonizm w stosunku do *B. cinerea* oceniono na agarowej pożywce ziemniaczano-glukozowej.
3. Patogeniczność bakterii i drożdży oceniono na skaryfikowanych liściach truskawki (test nadwrażliwości). Koncentracja zawiesiny mikroorganizmów użytych w badaniu zawierała się w przedziale 1×10^8 — $1,5 \times 10^9$ jtk x ml⁻¹.

Metoda identyfikacji na podstawie sekwencji ITS jest powszechnie uznawana za bardziej specyficzną i wiarygodną na poziomie gatunkowym, szczególnie w kontekście badań filogenetycznych i systematyki grzybów. Analiza ITS bazuje na zmiennych regionach genomowych, co pozwala na precyzyjną identyfikację, nawet dla grzybów (drożdży) o podobnych cechach fenotypowych. Z kolei identyfikacja fenotypowa przy użyciu systemu BIOLOG, oparta na profilach metabolicznych, może nie być równie dokładna w odniesieniu do przynależności gatunkowej. Warto podkreślić, że ten sam gatunek drożdży może wykazywać różne fenotypy, a różne gatunki drożdży mogą wykazywać podobne fenotypy, szczególnie jeśli ich profile metaboliczne są zbliżone, co może wprowadzać niejednoznaczność w identyfikacji na podstawie fenotypu. Taka zmienność fenotypowa sprawia, że wyniki BIOLOG mogą nie zawsze jednoznacznie odzwierciedlać prawdziwą tożsamość genotypową charakteryzowanych szczepów. Ze względu na wyższą specyficzną i dokładność analizy ITS, za główną identyfikację należy przyjąć wynik identyfikacji uzyskany na podstawie sekwencji ITS. Rezultaty uzyskane z BIOLOG można jednak traktować jako dodatkową informację dotyczącą zdolności metabolicznych charakteryzowanych szczepów (charakterystykę fenotypową).

Określenie liczebności mikrobiologicznej gleby

Tabela 12. Wpływ nawozowych produktów mikrobiologicznych na liczebność mikroorganizmów zasiedlających glebę oraz ich różnorodność funkcjonalną i aktywność. (Doświadczenie polowe, Sad Doświadczalny IO-PIB, Skierniewice, 2024 r.).

Kombinacja	Maj 2024				Lipiec 2024			
	Populacja bakterii x 10 ⁷ jtk x g s.m.g.	Populacja grzybów mikroskopowych x 10 ⁴ jtk x g s.m.g.	Aktywność bakterii (AWCD)	Różnorodność funkcjonalna (Index H)	Populacja bakterii x 10 ⁷ jtk g s.m.g.	Populacja grzybów mikroskopowych x 10 ⁴ jtk x g s.m.g.	Aktywność bakterii (AWCD)	Różnorodność funkcjonalna (Index H)
Kontrola – kwasy humusowe	5,5 ± 0,45	24 ± 1,04	1,35 ± 0,03	3,22 ± 0,06	9,07 ± 1,51 c	44 ± 8 b	1,45 ± 0,1 cd	3,19 ± 0,06 ab
Konsorcjum 1 + kwasy humusowe					7,8 ± 0,87 bc	49,33 ± 14,47 b	1,4 ± 0,02 bc	3,21 ± 0,01 b
Konsorcjum 2 + kwasy humusowe					7,2 ± 0,92 a-c	40,63 ± 10,07 ab	1,53 ± 0,02 d	3,26 ± 0,01 b
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 1					5,4 ± 0,72 a	25,33 ± 3,06 a	1,1 ± 0,01 a	3,14 ± 0,06 a
Preparat BlueN® + kwasy humusowe + Konsorcjum 2					5,6 ± 1,73 ab	40,67 ± 1,15 ab	1,34 ± 0,01 b	3,2 ± 0,01 ab

Wyniki analiz zweryfikowano jednoczynnikową analizą wariancji, test Duncana, dla $\alpha=0.05$, przy użyciu programu Statistica 13. Średnie oznaczone tą samą literą nie różniły się statystycznie.

- Analizy mikrobiologiczne: metoda analizy: posiew wglębny kolejnych rozcieńczeń, użyta pożywka: 10%TSA (liczebność bakterii), Rose Bengal Lab Agar (BTL, P-0527); Temperatura inkubacji: 26°C; Czas inkubacji: 5-7 dni (grzyby) lub 10-14 dni (bakterie); jtk– jednostki tworzące kolonie.
- Aktywność bakterii (AWCD) wyznaczono przy użyciu wzoru $\sum OD_i/31$, gdzie OD_i jest gęstością optyczną każdej studzienki. Różnorodność funkcjonalna oszacowano przy użyciu wskaźnika Shannona-Wienera (H) $H = -\sum p_i(\ln p_i)$, gdzie p_i aktywnością bakterii w każdej studzienki (OD_i) podzieloną przez sumę aktywności bakterii we wszystkich studzienkach ($\sum OD_i$).

Opis wyników

Wszystkie z wytypowanych mikroorganizmów nie wykazywały patogeniczności w stosunku do roślin truskawki. Wytypowane bakterie należały do rodzaju *Bacillus* i wykazywały zdolność do ograniczania wzrostu *B. cinerea* (Tabela 11). W próbkach gleby pobranych w lipcu zaobserwowano zróżnicowaną liczebność mikroorganizmów oraz aktywność i różnorodność bakterii zasiedlających glebę w kombinacjach traktowanych nawozowymi produktami mikrobiologicznymi (Tabela 12). Odnotowano istotnie większą populację bakterii w glebie, aktywność bakterii i różnorodność funkcjonalną po aplikacji kwasów humusowych oraz kwasów humusowych z Konsorcjum 1 i Konsorcjum 2, w porównaniu do kombinacji z preparatem BlueN®. Populacja grzybów mikroskopowych była największa po aplikacji kwasów humusowych oraz kwasów humusowych z Konsorcjum 1, w porównaniu do pozostałych kombinacji.

Wnioski:

1. W próbkach gleby pobranych w lipcu zaobserwowano zróżnicowaną liczebność mikroorganizmów oraz aktywność i różnorodność bakterii zasiedlających glebę w kombinacjach traktowanych nawozowymi produktami mikrobiologicznymi (Tabela 12).
2. Odnotowano istotnie większą populację bakterii w glebie, aktywność bakterii i różnorodność funkcjonalną po aplikacji kwasów humusowych oraz kwasów humusowych z Konsorcjum 1 i Konsorcjum 2, w porównaniu do kombinacji z preparatem BlueN®.
3. Populacja grzybów mikroskopowych była największa po aplikacji kwasów humusowych oraz kwasów humusowych z Konsorcjum 1, w porównaniu do pozostałych kombinacji.

Identyfikacja molekularna szczepów mikroorganizmów wyizolowanych z gleby

W celu sprawdzenia obecności aplikowanych bakterii w glebie, w ekologicznej uprawie truskawki, w Podzadaniu 2 przeprowadzono identyfikację molekularną szczepów bakterii wyizolowanych z gleby po aplikacji nawozowych produktów mikrobiologicznych.

Material i metody

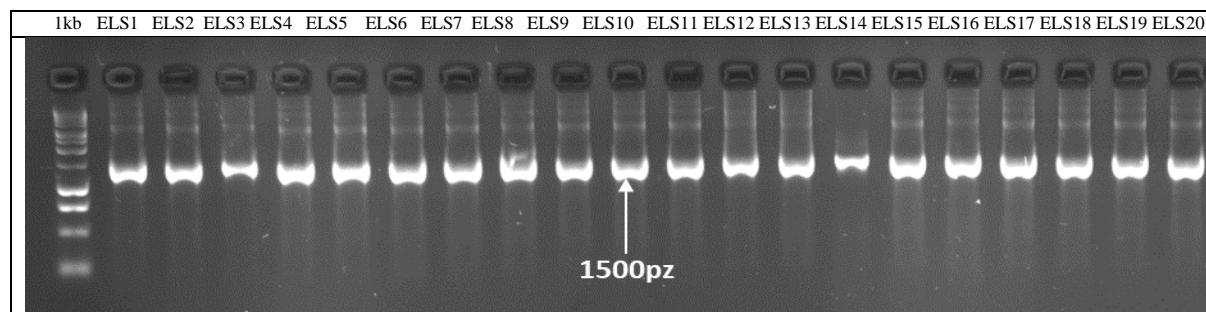
Materiałem biologicznym było 20 izolatów bakterii pozyskanych z gleby i wytwarzających zarodniki: ELS1, ELS2, ELS3, ELS4, ELS5, ELS6, ELS7, ELS8, ELS9, ELS10, ELS11, ELS12, ELS13, ELS14, ELS15, ELS16, ELS17, ELS18, ELS19, ELS20, kultywowanych na pożywkach mikrobiologicznych. Ekstrakcję DNA przeprowadzono z użyciem zestawu komercyjnego Bacterial & Yeast Genomic DNA Purification Kit (EURx) do izolacji DNA z bakterii i drożdży. Identyfikację szczepów bakterii przeprowadzono w oparciu o analizę sekwencji genu 16SrRNA. W celu porównania profili DNA szczepów bakterii pozyskanych z gleby z profilami DNA szczepów bakterii aplikowanych na rośliny truskawki, zastosowano technikę rep-PCR. Jako kontrolę zastosowano DNA czterech szczepów bakterii aplikowanych na rośliny truskawki: 2G-3F *Bacillus* sp., 380XA *Bacillus* sp., 23AA *Bacillus* sp., 280Y *Bacillus* sp.

Amplifikację genu 16S rRNA przeprowadzono z użyciem starterów 27F/1492R (Lane, 1991) w 35 cyklach (94°C × 1 min., 55°C × 1 min., 72°C × 2 min.). Reakcje ze starterem BOX przeprowadzono w 37 cyklach (94 °C x 1 min, 40 °C x 2 min, 72 °C x 2 min), natomiast reakcje ze starterami ERIC1R/ERIC2 przeprowadzono w 42 cyklach (94 °C x 1 min, 52 °C x 1.5 min, 65 °C x 8 min) (Louws i in. 1994). Produkty amplifikacji genów rozdzielano w 1,6% żelu agarozowym, natomiast produkty reakcji rep-PCR rozdzielano w 2% żelu agarozowym. Żele agarozowe barwiono w bromku etydydy i wizualizowano w świetle UV. Identyfikację

szczepów bakterii na podstawie uzyskanych sekwencji przeprowadzono przez porównanie z danymi zgromadzonymi w bazie NCBI (National Center for Biotechnology Information, NIH, Bethesda, MD 20894, USA, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Wyniki

W wyniku amplifikacji genu 16S rRNA uzyskano produkty PCR wielkości 1500 pz (Fot. 7.).



Fot. 7. Produkty amplifikacji genu 16S rRNA testowanych izolatów bakterii ELS1 *Priestia* sp., ELS2 *Priestia* sp., ELS3 *Priestia* sp., ELS4 *Priestia* sp., ELS5 *Priestia* sp., ELS6 *Priestia* sp., ELS7 *Priestia* sp., ELS8 *Priestia* sp., ELS9 *Priestia* sp., ELS10 *Priestia* sp., ELS11 *Priestia* sp., ELS12 *Priestia* sp., ELS13 *Priestia* sp., ELS14 *Paenibacillus* sp., ELS15 *Priestia* sp., ELS16 *Bacillus* sp., ELS17 *Peribacillus* sp., ELS18 *Priestia* sp., ELS19 *Priestia* sp., ELS20 *Priestia* sp. 1 kb – marker wielkości.

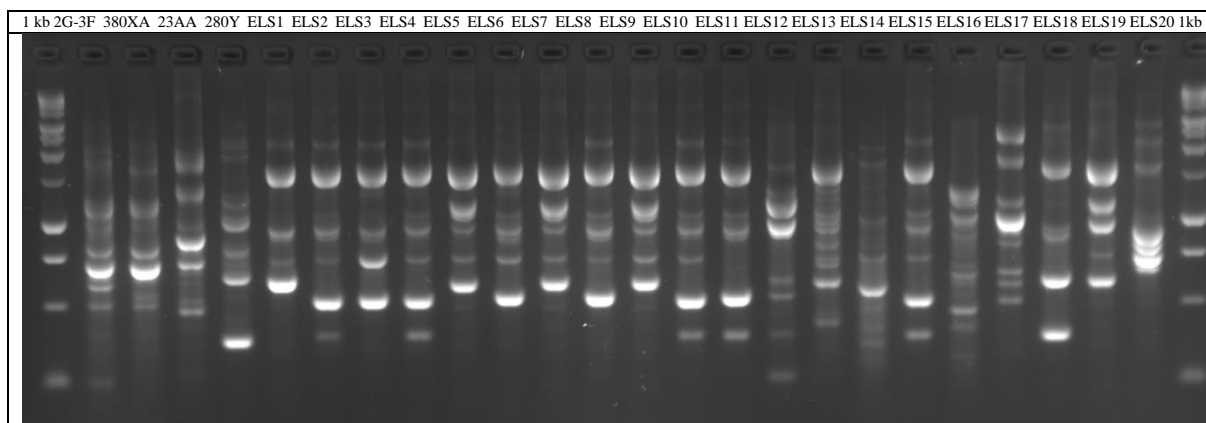
Na podstawie analizy sekwencji genu 16S rRNA stwierdzono przynależność 17 izolatów bakterii ELS1, ELS2, ELS3, ELS4, ELS5, ELS6, ELS7, ELS8, ELS9, ELS10, ELS11, ELS12, ELS13, ELS15, ELS18, ELS19, ELS20 do rodzaju *Priestia* (Tabela 4). Pozostałe izolaty bakterii zidentyfikowano jako *Bacillus* sp. (ELS16), *Paenibacillus* sp. (ELS14), *Peribacillus* sp. (ELS17).

Tabela 13. Identyfikacja izolatów bakterii na podstawie porównania sekwencji genu 16S rRNA z danymi w bazie NCBI.

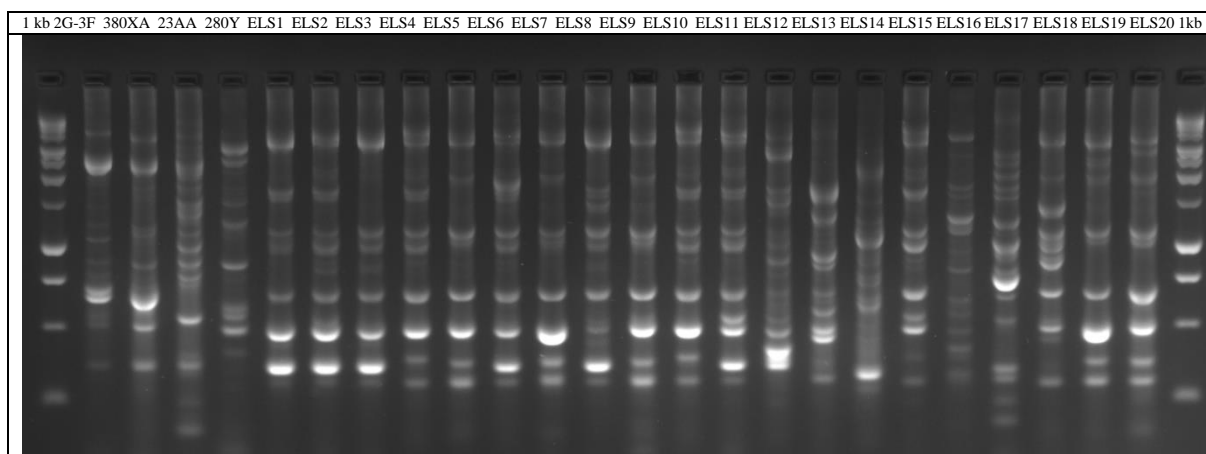
Lp.	Izolat	Długość sekwencji (pz)	Rodzaj/gatunek o największym podobieństwie do uzyskanej sekwencji	Stopień podobieństwa (%)	(Nr sekwencji NCBI)	Identyfikacja
1.	ELS1	734	<i>Priestia aryabhatai</i>	100	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia flexa</i>	100	NR_115953.1	
2.	ELS2	801	<i>Priestia megaterium</i>	99,75	NR_117473.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia aryabhatai</i>	99,75	NR_118442.1	
3.	ELS3	807	<i>Priestia aryabhatai</i>	99,75	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia flexa</i>	99,5	NR_113800.1	
4.	ELS4	799	<i>Priestia flexa</i>	100	NR_113800.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia megaterium</i>	100	NR_117473.1	
5.	ELS5	821	<i>Priestia aryabhatai</i>	100	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia flexa</i>	99,8	NR_113800.1	
6.	ELS6	679	<i>Priestia aryabhatai</i>	99,8	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia flexa</i>	99,7	NR_113800.1	
7.	ELS7	738	<i>Priestia aryabhatai</i>	100	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia flexa</i>	99,7	NR_113800.1	
8.	ELS8	743	<i>Priestia aryabhatai</i>	100	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.

			<i>Priestia flexa</i>	99,7	NR_113800.1	
9.	ELS9	734	<i>Priestia aryabhatai</i>	100	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia flexa</i>	99,7	NR_113800.1	
10.	ELS10	623	<i>Priestia aryabhatai</i>	99,8	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia flexa</i>	99,8	NR_113800.1	
11.	ELS11	799	<i>Priestia aryabhatai</i>	100	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia flexa</i>	99,7	NR_113800.1	
12.	ELS12	697	<i>Priestia megaterium</i>	93,1	NR_117473.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia aryabhatai</i>	93,1	NR_115953.1	
13.	ELS13	608	<i>Priestia aryabhatai</i>	100	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia flexa</i>	99,7	NR_113800.1	
14.	ELS14	663	<i>Paenibacillus mucilaginosus</i>	98,5	NR_116536.1	<i>Paenibacillus</i> sp.
			<i>Paenibacillus solanacearum</i>	97,9	NR_159229.1	
15.	ELS15	734	<i>Priestia aryabhatai</i>	99,9	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia flexa</i>	99,9	NR_113800.1	
16.	ELS16	850	<i>Bacillus hominis</i>	100	NR_175557.1	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus mycoides</i>	100	NR_113996.1	
17.	ELS17	797	<i>Peribacillus frigoritolerans</i>	100	NR_117474.1	<i>Peribacillus</i> sp.
			<i>Peribacillus simplex</i>	100	NR_112726.1	
18.	ELS18	743	<i>Priestia flexa</i>	100	NR_113800.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia megaterium</i>	100	NR_116873.1	
19.	ELS19	821	<i>Priestia aryabhatai</i>	100	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia flexa</i>	99,8	NR_113800.1	
20.	ELS20	830	<i>Priestia aryabhatai</i>	99,9	NR_118442.1	<i>Priestia</i> sp.
			<i>Priestia flexa</i>	99,6	NR_113800.1	

Analiza profili DNA uzyskanych techniką rep-PCR ze starterami BOX i ERIC1R/ERIC2 wykazała, że profile DNA izolatów bakterii pozyskanych z gleby różnią się od profili DNA kontrolnych szczepów bakterii, aplikowanych na rośliny truskawki: 2G-3F *Bacillus* sp., 380XA *Bacillus* sp., 23AA *Bacillus* sp., 280Y *Bacillus* sp. (Fot. 8, 9). Wyizolowane z gleby nowe szczepy bakterii będą zdeponowane w SYMBIO-BANK-u IO-PIB oraz scharakteryzowane i wysekcjonowane w celu opracowania nowych formułacji nawozowych produktów mikrobiologicznych.



Fot. 8. Profile DNA izolatów bakterii uzyskane techniką rep-PCR ze starterem BOX. Matryce: 2G-3F *Bacillus* sp., 380XA *Bacillus* sp., 23AA *Bacillus* sp., 280Y *Bacillus* sp., ELS1 *Priestia* sp., ELS2 *Priestia* sp., ELS3 *Priestia* sp., ELS4 *Priestia* sp., ELS5 *Priestia* sp., ELS6 *Priestia* sp., ELS7 *Priestia* sp., ELS8 *Priestia* sp., ELS9 *Priestia* sp., ELS10 *Priestia* sp., ELS11 *Priestia* sp., ELS12 *Priestia* sp., ELS13 *Priestia* sp., ELS14 *Paenibacillus* sp., ELS15 *Priestia* sp., ELS16 *Bacillus* sp., ELS17 *Peribacillus* sp., ELS18 *Priestia* sp., ELS19 *Priestia* sp., ELS20 *Priestia* sp. 1 kb – marker wielkości.



Fot. 9. Profile DNA izolatów bakterii uzyskane techniką rep-PCR ze starterami ERIC1R/ERIC2. Matryce: 2G-3F *Bacillus* sp., 380XA *Bacillus* sp., 23AA *Bacillus* sp., 280Y *Bacillus* sp., ELS1 *Priestia* sp., ELS2 *Priestia* sp., ELS3 *Priestia* sp., ELS4 *Priestia* sp., ELS5 *Priestia* sp., ELS6 *Priestia* sp., ELS7 *Priestia* sp., ELS8 *Priestia* sp., ELS9 *Priestia* sp., ELS10 *Priestia* sp., ELS11 *Priestia* sp., ELS12 *Priestia* sp., ELS13 *Priestia* sp., ELS14 *Paenibacillus* sp., ELS15 *Priestia* sp., ELS16 *Bacillus* sp., ELS17 *Peribacillus* sp., ELS18 *Priestia* sp., ELS19 *Priestia* sp., ELS20 *Priestia* sp. 1 kb – marker wielkości.

Podsumowanie

Zidentyfikowano metodami molekularnymi kolejne 20 izolatów bakterii w próbach gleb z kombinacji doświadczalnych, które zdeponowano w kolekcji pożytecznych mikroorganizmów SYMBIO-BANK-u Instytutu Ogródnictwa - PIB, Skierniewice. Przeprowadzone będą dalsze analizy biochemiczne, molekularne i doświadczenia polowe w celu oceny ich przydatności do zastosowania w konsorcjach mikrobiologicznych przeznaczonych do ekologicznej uprawy roślin ogrodniczych.

Literatura

Lane D.J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt, E, Goodfellow, M. (Eds), Nucleic acid techniques in bacterial systematics. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, United Kingdom, pp. 115-175.

Louws F.J., Fulbrught D.W., Stephens C.T., de Bruijn F.J. 1995. Differentiation of genomic structure by rep-PCR fingerprinting to rapidly classify *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology* 85: 528-536.

Wykaz sekwencji DNA

>ELS1_16SrRNA_734bp_*Priestia* sp.

Tgagtgatgaaggcttcgggtcgtaaaactctgtttagggaagaacaagtagcagagtaactgctctgacgttacctgacggtacctaaccagaagccacggctaa
ctacgtgccagcagccgcgtaatactaggtggcaagcgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagggcgtttcttaagtctgatgtgaaagcccacg
gctcaaccgtggagggcattggaactggggaacttgagtcagaagagaaaagcggaaattccacgtgtagcgggtaaatgcgtagagatgtggaggaacacc
agtggcgaaggcggcttttggctgtaactgacgctgagggcgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagtccacgccgtaaacgatgagtg
ctaagtgttagaggggttccgccctttagtgctgcagctaaccgtaaacgactccgcctggggagtagcgtgcgaagactgaaactcaaaaggaattgacgggggc
ccgacaagcgggtgagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttccccttcggggg
acagagtgacaggtggtgcatggtgtcgtcagctcgtgctgtagatgttgggtaagtcccgaacgagcgaacccttgatcttagttgccagcatt

>ELS2_16SrRNA_801bp_*Priestia* sp.

Tgagtgatgaaggcttcgggtcgtaaaactctgtttagggaagaacaagtagcagagtaactgctgtacctgacggtacctaaccagaagccacggctaac
tacgtgccagcagccgcgtaatactaggtggcaagcgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagggcgtttcttaagtctgatgtgaaagcccacgg
ctcaaccgtggagggcattggaactggggaacttgagtcagaagagaaaagcggaaattccacgtgtagcgggtaaatgcgtagagatgtggaggaacacca
gtggcgaagcggcttttggctgtaactgacgctgagggcgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagtccacgccgtaaacgatgagtg
taagtgttagaggggttccgccctttagtgctgcagctaaccgtaaacgactccgcctggggagtagcgtgcgaagactgaaactcaaaaggaattgacgggggc
cgacaagcgggtgagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttccccttcggggg
cagagtgacaggtggtgcatggtgtcgtcagctcgtgctgtagatgttgggtaagtcccgaacgagcgaacccttgatcttagttgccagcattcagttggg
actctaagtgactgccggtgacaaaccggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatcatgcc

>ELS3_16SrRNA_807bp_*Priestia* sp.

Tgagtgatgaaggcttcgggtcgtaaaactctgtttagggaagaacaagtagcagagtaactgctctgacgttacctgacggtacctaaccagaagccacggctaa
ctacgtgccagcagccgcgtaatactaggtggcaagcgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagggcgtttcttaagtctgatgtgaaagcccacg
gctcaaccgtggagggcattggaactggggaacttgagtcagaagagaaaagcggaaattccacgtgtagcgggtaaatgcgtagagatgtggaggaacacc
agtggcgaaggcggcttttggctgtaactgacgctgagggcgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagtccacgccgtaaacgatgagtg
ctaagtgttagaggggttccgccctttagtgctgcagctaaccgtaaacgactccgcctggggagtagcgtgcgaagactgaaactcaaaaggaattgacgggggc
ccgacaagcgggtgagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttccccttcgggg
acagagtgacaggtggtgcatggtgtcgtcagctcgtgctgtagatgttgggtaagtcccgaacgagcgaacccttgatcttagttgccagcattcagttggg
cactctaagtgactgccggtgacaaaccggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatcatgcc

>ELS4_16SrRNA_799bp_*Priestia* sp.

Tctacgggagcagcagtagggaatctccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacgccgctgagtgatgaaggcttcgggtcgtaaaactctgtttagg
gggaagaacaagtagtaactgctgtacctgacggtacctaaccagaagccacggctaacctgacgagcagccggttaatactaggtggcaag
cgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagggcgtttcttaagtctgatgtgaaagcccacggctcaaccgtggagggcattggaactggggaactga
gtgcagaagagaaaagcggaaattccacgtgtagcgggtaaatgcgtagagatgtggaggaacaccagtgccgaagcggcgttttggctgtaactgacgctgag
gcccgaagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagtccacgccgtaaacgatgagtgtaagtgttagaggggttccgccctttagtgctgcagctaa
cgcaataagcactccgcctggggagtagcgtgcgaagactgaaactcaaaaggaattgacggggcccgcacaagcgggtgagcatgtggttaattcgaagcaa
cgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttccccttcgggggacagagtgacaggtggtgcatggtgtcgtcagctcgtg
tcgtgagatgttgggtaagtcccgaacgagcgaacccttgatcttagttgccagcatt

>ELS5_16SrRNA_821bp_*Priestia* sp.

Cggcccagactcctacgggagcagcagtagggaatctccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacgccgctgagtgatgaaggcttcgggtcgtaaa
actctgtttagggaagaacaagtagcagagtaactgctgtacctgacggtacctaaccagaagccacggctaacctgacgagcagccggttaatactg
aggtggcaagcgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagggcgtttcttaagtctgatgtgaaagcccacggctcaaccgtggagggcattggaact
ggggaacttgagtcagaagagaaaagcggaaattccacgtgtagcgggtaaatgcgtagagatgtggaggaacaccagtgccgaagcggcgttttggctgtaa
ctgacgctgagggcgaagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagtccacgccgtaaacgatgagtgtaagtgttagaggggttccgccctttag
gctgcagctaaccgtaaacgactccgcctggggagtagcgtgcgaagactgaaactcaaaaggaattgacggggcccgcacaagcgggtgagcatgtggtta
attcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttccccttcgggggacagagtgacaggtggtgcatggtgtc
gtcagctcgtgctgtagatgttgggtaagtcccgaacgagcgaacccttgatcttagttgccagcatttagttgggcact

>ELS6_16SrRNA_679bp_*Priestia* sp.

Tgagtgatgaaggctttcgggtcgtaaaactctgtttagggaagaacaagtacgagagtaactgctygtaccttgacggtacctaaccagaaagccacggctaa
ctacgtgccagcagcccggttaatactagtagtggaagcgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagggcgtttcttaagtctgatgtgaaagcccacg
gtcaaccgtggagggtcattgaaactggggaacttgagtcgagaagagaaaagcggaaftccacgtgtagcgggtaaatgcgtagagatgtggaggaacacc
agtggcgaagcggcgttttggctgtactgacgctgagcgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctgtagtccacgccgtaaacgatgagt
ctaagtgttagagggttccgccctttagtgctgcagctaacgattaagcactccgcctggggagtagcgtcgaagactgaaactcaaaaggaattgacgggggc
ccgcacaagcgggtgagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttcccctcggggg
acagagtgacaggtggtgatggtgtcgtcagctcgtctgtga

>ELS7_16SrRNA_738bp_*Priestia* sp.

Gatgaagcgttcgggtcgtaaaactctgtttagggaagaacaagtacgagagtaactgctgtaccttgacggtacctaaccagaaagccacggctaaactacgt
gccagcagcccggttaatactagtagtggaagcgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagggcgtttcttaagtctgatgtgaaagcccacggctaa
ccgtggagggtcattgaaactggggaacttgagtcgagaagagaaaagcggaaftccacgtgtagcgggtaaatgcgtagagatgtggaggaacaccagtg
cgaaggcggcgttttggctgtactgacgctgagcgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctgtagtccacgccgtaaacgatgagtgtgtaag
tfttagagggttccgccctttagtgctgcagctaacgattaagcactccgcctggggagtagcgtcgaagactgaaactcaaaaggaattgacggggggccgca
caagcgggtgagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttcccctcgggggacaga
gtgacaggtggtgatggtgtcgtcagctcgtctgtgagatgttgggtaagtcccgaacgagcgaaccttgatcttagttgccagcatttagttgggc

>ELS8_16SrRNA_743bp_*Priestia* sp.

tgagtgatgaaggctttcgggtcgtaaaactctgtttagggaagaacaagtacgagagtaactgctgtaccttgacggtacctaaccagaaagccacggctaa
tacgtgccagcagcccggttaatactagtagtggaagcgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagggcgtttcttaagtctgatgtgaaagcccacgg
ctcaaccgtggagggtcattgaaactggggaacttgagtcgagaagagaaaagcggaaftccacgtgtagcgggtaaatgcgtagagatgtggaggaacacca
gtggcgaagcggcgttttggctgtactgacgctgagcgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctgtagtccacgccgtaaacgatgagtgc
taagtgttagagggttccgccctttagtgctgcagctaacgattaagcactccgcctggggagtagcgtcgaagactgaaactcaaaaggaattgacggggggc
cgcacaagcgggtgagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttcccctcggggga
cagagtgacaggtggtgatggtgtcgtcagctcgtctgtgagatgttgggtaagtcccgaacgagcgaaccttgatcttagttgccagcatttagttgggc

>ELS9_16SrRNA_734bp_*Priestia* sp.

Tgagtgatgaaggctttcgggtcgtaaaactctgtttagggaagaacaagtacgagagtaactgctgtaccttgacggtacctaaccagaaagccacggctaa
ctacgtgccagcagcccggttaatactagtagtggaagcgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagggcgtttcttaagtctgatgtgaaagcccacg
gtcaaccgtggagggtcattgaaactggggaacttgagtcgagaagagaaaagcggaaftccacgtgtagcgggtaaatgcgtagagatgtggaggaacacc
agtggcgaagcggcgttttggctgtactgacgctgagcgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctgtagtccacgccgtaaacgatgagt
ctaagtgttagagggttccgccctttagtgctgcagctaacgattaagcactccgcctggggagtagcgtcgaagactgaaactcaaaaggaattgacgggggc
ccgcacaagcgggtgagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttcccctcggggg
acagagtgacaggtggtgatggtgtcgtcagctcgtctgtgagatgttgggtaagtcccgaacgagcgaaccttgatcttagttgccagcatt

>ELS10_16SrRNA_623bp_*Priestia* sp.

Aagaacaagtacgagagtaactgctgtaccttgacggtacctaaccagaaagccacggctaaactacgtgccagcagcccggttaatactagtagtggaagcgtt
atccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagggcgtttcttaagtctgatgtgaaagcccacggctcaaccgtggagggtcattgaaactggggaacttgag
cagaagagaaaagcggaaftccacgtgtagcgggtaaatgcgtagagatgtggaggaacaccagtgccgaagcggcgttttggctgtactgacgctgagc
gcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctgtagtccacgccgtaaacgatgagtgtgtaagtgttagagggttccgccctttagtgctgcagctaac
cattaagcactccgcctggggagtagcgtcgaagactgaaactcaaaaggaattgacggggggccgcacaagcgggtgagcatgtggttaattcgaagcaac
cgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttcccctcgggggacagagtgacaggtggtgatggtgtcgtga

>ELS11_16SrRNA_799bp_*Priestia* sp.

Tcctacgggagcagcagtagggaatctccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacccgcgtgagtgatgaaggctttcgggtcgtaaaactctgtttag
gggaagaacaagtacgagagtaactgctgtaccttgacggtacctaaccagaaagccacggctaaactacgtgccagcagcccggttaatactagtagtggaag
cgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagggcgtttcttaagtctgatgtgaaagcccacggctcaaccgtggagggtcattgaaactggggaacttg
gtcagaagagaaaagcggaaftccacgtgtagcgggtaaatgcgtagagatgtggaggaacaccagtgccgaagcggcgttttggctgtactgacgctgag
gcgcaaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctgtagtccacgccgtaaacgatgagtgtgtaagtgttagagggttccgccctttagtgctgcagctaa
cgattaagcactccgcctggggagtagcgtcgaagactgaaactcaaaaggaattgacggggggccgcacaagcgggtgagcatgtggttaattcgaagcaa
cgcgaagaacctaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttcccctcgggggacagagtgacaggtggtgatggtgtcgtcagctcgt
tctgtgagatgttgggtaagtcccgaacgagcgaaccttgatcttagttgccagcatt

>ELS12_16SrRNA_697bp_Priestia sp.

Ctccaccgacttcgggtgttayaactctcgyggtgtgacggcggtgtgtacaagcccgggaacgtattaccgcggcatgctgatccgcgattactagcratt
crrcttcatgyagcgagttgcagcctreaatccgaactgagamyggyttatrgattggytysacctcgggytygacgcccttgtacckccattgtagy
acgtgtgtagccaggtcataaggggcatgatgattgacgtatccccaccttctccggtttgtaccggcagtcaccttagagtgcccamcyraatksykgsm
amywaaawymarggktskssyysktskssggamytwamccmacmwyymmsammmsarcykrmsammamcmwkcmmccaccyggym
ytctstsyccgaaggaraacgctctatctctaragttswcagagrakkymaaracykgkwarggttyctycsgtkksytycaawtwaamcmmcwtsycycc
accsytggtgcbccckkycawticyttgraktttcagctkscrackctacyccccagcgcaattgcttaakgckttacctgcascactagggggcggaac
cctctaacttasactatcgtttacggcgkgactaccagggkakatctaaycctgtttgtccccacgcttcgcgcctcagctc

>ELS13_16SrRNA_608bp_Priestia sp.

Gttgttaggaagaacaagtacgagagtaactgtctgtaccttgacgtacctaaccagaaagccacggtaactacgtccagcagccggtaatactagtg
ggcaagcgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagcggtttcttaagtctgatgtgaagcccacggctcaaccgtggagggtcattgaaactggg
aacttgatgacagaagagaaaagcgggaattccacgtgtagcgggtgaaatcgtagagatgtggaggaaacaccagtgccgaagcggtttttgtctgtaactga
cgtgagcgcgaaagcgtgggagcaaacagcagattagataccctggtagtccacgccgtaaacgatgagtgtaagtgttagagggtttccgccctttagtgctg
cagtaacgcattaagcactccgctgggagtagcggcgaagactgaaactcaaaggaaatgacggggcccgcaaacggcgtggagcatggtggttaattcg
aagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatccttgacaactctagagatagagcgttcccccttcgggggacagagt

>ELS14_16SrRNA_663bp_Paenibacillus sp.

Gcaagcctgacggagcaacgcgcgtgagtgatgaaggtttcggatcgtaaagctctgttccaggggaagaacgtcgcggagagtaactgctctgcaatgac
ggtacctgagaagaagccccggtaactacgtccagcagccgcgtaatacgtagggggcaagcgttccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagc
ggttttttaagtctggtttaaagccccgggctcaacccccggttcgaccggaaactggaagactgagtgaggagaggaagcgggaattccacgtgtagcggg
aatcgctagagatgtggaggaacaccagtgccgaagcggtttctggactgtaactgacgctgagcgcgaaagcgtgggagcaaacagcagattagatacc
ctggtagtcacgccgtaaacgatgagtgctaggtgttaggggtttcgatacccttggcgaagtaaacacaataagcactccgctggsgagtagctcgcaa
gagtgaaactcaaaaggaattgacggggaccgcacaagcagtgagtagtgggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatccctcgcaa
gycacagagatgtggccctcctcgggacagagga

>ELS15_16SrRNA_734bp_Priestia sp.

Tgagtgatgaaggcttcgggctgtaaaactctgtttagggaagaacaagtagcagagtaactgctygtacctgacggtaactaaccagaaagccacggctaa
ctactgcccagcagcccgtaatacgtaggtggcaagcgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgagcgggtttcttaagtctgatgtgaaagcccacg
gctcaaccgtggagggcattggaactggggaacttgagtcagaagagaaaagcgggaattccacgtgtagcgggtgaaatcgtagagatgtggaggaacacc
agtgccgaagcggcgtttttgtctgtaactgacgctgagcgcgaaagcgtgggagcaaacagcagattagataccctgtagtccacgccgtaaacgatgagtg
ctaagtgttagagggtttccgccctttagtgctgacgtaaacgactccgctgggagtagcgtcgaagactgaaactcaaaaggaattgacggggg
ccgcacaagcggtgagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatccttgacaactctagagatagagcgttcccccttcggggg
acagagtgacaggtggtgatggtgctgtagctgctgagatgtgggttaagtcccgaacgagcgaaccttgatcttagttgccagcatt

>ELS16_16SrRNA_850bp_Bacillus sp.

Actcctacgggagcagcagtagggaattcgcgaatggacgaaagctgacggagcaacgcgcggtgagtgatgaaggctttcgggtcgtaaaactctgtgt
tagggaagaacaagtctgattgaaatagctggcaccttgacggtactaaccagaaagccacggtaactacgtccagcagcccggttaatacgtaggtggca
agcgttatccggaattattggcgtaaaagcgcgcgaggtggtttcttaagtctgatgtgaaagcccacggctcaaccgtggagggcattgaaactgggagactt
gagtcgagaagaggaaagtggaaattcatgtgtagcgggtgaaatcgtagagatagtaggaacaccagtgccgaagcgcactttctgtctgtaactgactg
aggcgcgaaagcgtgggagcaaacagcagattagataccctgtagtccacgcgtaaacgatgagtgtaagtgttagagggtttccgccctttagtgctgaagtt
aacgcaataagcactccgctgggagtagcggcaagcgtgaaactcaaaaggaattgacggggcccgcaaacggtggagcatgtggttaattcgaagc
aacgcgaagaacctaccaggtcttgacatccttgaaaactctagagatagagcttctccttcgggagcagagtgacaggtggtgcatggtgtcgtcagctcgtgt
cgtgagatgtgggttaagtcggcgaacgagcgaaccttgatcttagttgccatcattaagttggcactctaaggtgactgccggtgacaaaccggaggaaggt
ggg

>ELS17_16SrRNA_797bp_Peribacillus sp.

Cgcaatggacgaaagtctgacggagcaacgcgcgtgaacgaagaagccttcgggtcgtaaagtctgtttagggaagaacaagtaccagagtaactgctg
gtaccttgacggtacctaaccagaaagccacggtaactacgtccagcagcccggttaatacgtaggtggcaagcgttccggaattattggcgtaaaagcgc
gcgaggtggttcttaagtctgatgtgaaagcccacggctcaaccgtggagggcattgaaactggggaacttgagtcgagaagaggaaagtggaaattccaag
tgtagcgggtgaaatcgtagagattggaggaacaccagtgccgaagcgcactttctgtctgtaactgactgagcgcgaaagcgtgggagcaaacagga
ttagataccctggtgattccacgccgtaaacgatgagtgtaagtgttagagggtttccgccctttagtgctgacgtaaacgcaataagcactccgctgggagtagc
ggcgaagcgtgaaactcaaaaggaattgacggggcccgcaaacggtggagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtcttgacatc
ctctgacaaccttagagatagggccttcccccttcggggacagagtgacaggtggtgcatggtgtcgtcagctcgtgctgagatgtgggttaagtcggcgaac
gagcgaaccttgatcttagttgccagcattcagttgggcactctaaggtgactgccggtgacaaaccggaggaaggt

>EL18S_16SrRNA_743bp_Priestia sp.

Tgagtgatgaaggctttcgggtcgtaaaactctgtttagggaagaacaagtacaagtaactgcttgacctgacggctacctaaccagaagccacggctaac
tacgtgccagcagccgcgtaatacgtaggtggcaagcgttatccggaattattggcgtaaacgcgcgagcgggtttcttaagtctgatgtgaaagccacgg
ctcaaccgtggagggtcattggaactggggaactgagtgacagaagagaaaagcgaattccacgtgtagcgggaaatgctgtagagatgtggaggaaacaca
gtggcgaaggcggcttttggctgtaactgacgtgagggcgaagcgtggggagcaaacagcagattagataccctggtatgccaccgctaaacgatgagtc
taagtgttagagggtttcccttttagtctgacgtaaacattaagcactccgctggggagtagcgtcgaagactgaaactcaaaggaattgacggggggc
cgcaaacgggtggagcatgtgttaattcgaaacgcgaagaacctaccaggtctgacatcctctgacaactctagagatagagcgttcccttcggggga
cagagtgacaggtggtcatggtgtcgtcagctcgtcgtgagatgttgggtaagtcccgaacgagcgaacccttgatcttagtgcagcatttagtgggc

>ELS19_16SrRNA_821bp_Priestia sp.

Acacggcccagactctacgggagcagcagtagggaatctccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacccgcgtgagtgatgaaggctttcgggtcgt
aaaactctgtttagggaagaacaagtacgagagtaactgctctacctgacggctacctaaccagaagccacggctaacctgaccagcagccgcgtaata
cgtaggtggcaagcgttatccggaattattggcgtaaacgcgcgagcgggtttcttaagtctgatgtgaaagccacggctcaaccgtgagggtcattgga
actggggaactgagtgacagaagagaaaagcgggaattccacgtgtagcgggtaaatgctgtagagatgtggaggaacaccagtgccgaaggcggcttttggctg
taactgacgtgagggcgaagcgtggggagcaaacagcagattagataccctggtagtcacgcgtaaacgatgagtgtaagtgttagagggtttccgcttt
agtgtgcagtaaacgattaagcactccgctggggagtagcgtcgaagactgaaactcaaaggaattgacggggggccgcacaagcgggtggagcatgtggt
tfaatcgaagcaacgcgaagaacctaccaggtctgacatcctctgacaactctagagatagagcgttcccttcgggggacagagtgacaggtggtgcatggt
gtcgtcagctcgtcgtgagatgttgggtaagtcccgaacgagcgaacccttgatcttagtgcagcatttagtgggc

>ELS20_16SrRNA_830bp_Priestia sp.

tctacgggagggcagcagtagggaatctccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacccgcgtgagtgatgaaggctttcgggtcgtaaaactctgtttaggga
agaacaagtacgagagtaactgctctgactctgacggctacctaaccagaagccacggctaacctgaccagcagccgcgtaatacgtaggtggcaagcgttatcc
ggaattattggcgtaaacgcgcgagcgggtttcttaagtctgatgtgaaagccacggctcaaccgtgagggtcattgaaactggggaactgagtgacagaaga
gaaaagcgaattccacgtgtagcgggtaaatgctgtagagatgtggaggaacaccagtgccgaaggcggcttttggctgtaactgacgtgagggcgaagcgtg
gggagcaaacagcagattagataccctggtagtcacgcgtaaacgatgagtgtaagtgttagagggtttccgcttttagtctgacgtaaacgattaagcactccgc
ctggggagtagcgtcgaagactgaaactcaraggaattgacggggggccgcacaagcgggtggagcatgtggttaattcgaagcaacgcgaagaacctaccaggt
ctgacatcctctgacaactctagagatagagcgttcccttcgggggacagagtgacaggtggtgcatggtgtcgtcagctcgtcgtgagatgttgggtaagtccc
caacgagcgaacccttgatcttagtgcagcatttagtgggcaacttaaggtgactgactcgggtga

Wnioski podsumowujące

1. Na podstawie przeprowadzonych analiz molekularnych zidentyfikowano 20 nowych izolatów drożdży oraz 4 izolaty bakterii, które zdeponowano w SYMBIO-BANK-u IO-PIB, Skierniewice.
2. W doświadczeniu polowym wykazano wysoką skuteczność stosowania nawozowych produktów mikrobiologicznych na zwiększenie cech wzrostu liści i biomasy systemu korzeniowego roślin truskawki oraz istotne zwiększenie występowania arbuskularnych grzybów mikoryzowych w korzeniach i liczby formowanych zarodników AGM w glebie ryzosferowej.
3. Zastosowanie konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów wpłynęło biostymulująco na formowanie rozłogów i sadzonek rozłogowych roślin truskawki.
4. Najkorzystniejszy wpływ na wydajność fotosyntetyczną w liściach truskawki miała łączna aplikacja Konsorcjum 2 i kwasów humusowych.

PODZADANIE 3

Wdrożenie nowo opracowanych nawozowych produktów mikrobiologicznych do praktyki ogrodniczej oraz opracowanie instrukcji wdrożeniowej dla ekologicznej uprawy roślin truskawki.

Wstęp

Nowo opracowane technologie uprawy roślin truskawki z zastosowaniem nawozowych produktów mikrobiologicznych zostaną wdrożone do praktyki ogrodniczej, co przyczyni się do zwiększenia wielkości i jakości plonowania roślin sadowniczych oraz poprawy żyzności gleby w uprawach ekologicznych truskawki. W zadaniu opracowano nowe konsorcja pożytecznych mikroorganizmów i określono ich skuteczność w stymulacji wzrostu i plonowania roślin truskawki oraz ich wpływ na mikrobiom korzeni i gleby. Wdrożenie innowacyjnych nawozowych produktów mikrobiologicznych do praktyki umożliwi dalszy rozwój technologii ekologicznej uprawy roślin sadowniczych, w warunkach glebowo-klimatycznych Polski. Nowo opracowane w ramach zadania nawozowe produkty mikrobiologiczne są lepsze od metod konwencjonalnych, gdyż oparte są na naturalnych kwasach humusowych i rodzimych pożytecznych mikroorganizmach. Są skuteczne, ekonomicznie opłacalne i bezpieczne dla zdrowia człowieka, roślin, gleb, wód i powietrza oraz dobrostanu zwierząt. Są to produkty bezpieczne, chroniące zdrowie człowieka i środowisko naturalne.

Cel badania

Głównym celem zadania było opracowanie instrukcji wdrożeniowej dla producentów ekologicznych, w celu wdrożenia do praktyki nowo opracowanych nawozowych produktów mikrobiologicznych oraz technologii ich aplikacji.

Szczegółowy opis badania

W 2025 r. przewiduje się wdrożenie uzyskanych w ramach zadania konsorcjów mikroorganizmów do praktyki ogrodniczej. Pro-środowiskowe cele zadania są zgodne z priorytetami Komisji Europejskiej w zakresie Europejskiego Zielonego Ładu, Programu Horizon Europe oraz rolnictwa ekologicznego i ochrony środowiska naturalnego.

Metody działań i przeprowadzania analiz w zadaniu

1. Wszystkie uzyskane wyniki zostały opracowane statystycznie z użyciem programu Statistica. Określenie istotności różnic lub ich braku umożliwiło wyciągnięcie prawidłowych wniosków z doświadczeń.
2. Na podstawie uzyskanych wyników badań opracowano instrukcję wdrożeniową stosowania nawozowych produktów mikrobiologicznych, co umożliwi wdrożenie wyników do praktyki ogrodniczej.