

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Wybrane zagadnienia z zakresu rolnictwa

Tom 3

Środowisko - Roślina - Zwierzę - Produkt

WUP

Wybrane zagadnienia
z zakresu rolnictwa

Tom 3

Środowisko – Roślina – Zwierzę – Produkt

Wybrane zagadnienia z zakresu rolnictwa

Tom 3

pod redakcją
Marka Babicza
Kingi Kropiwiiec-Domańskiej

Lublin 2023

Recenzenci

dr hab. Marek Gancarz, prof. uczelni
dr hab. Małgorzata Majewska
dr hab. inż. Stefan Stojałowski, prof. uczelni

Redaktor prowadzący
Magdalena Marcewicz

Skład i łamanie
Małgorzata Grzesiak

Opracowanie redakcyjne
Agnieszka Litwińczuk

Projekt okładki
Jacek Pałyszka



Ten utwór jest dostępny na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa –
Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe.

ISBN 978-83-7259-402-0 on-line
<https://doi.org/10.24326/mon.2023.2>

WUP

Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin

<https://up.lublin.pl/nauka/wydawnictwo/>

4,3 ark. wyd.

Spis treści

Tomasz Kondraciuk, Marek Niewęglowski Wykorzystanie naturalnych stymulatorów wzrostu w uprawie ziemniaka jadalnego 7 The use of natural growth promoters in edible potatoes cultivation	7
Angelika Krzysztof, Dorota Jurkowska Wpływ uprawy ekologicznej i konwencjonalnej na plon i konkurencyjność owsa z wyką jara 15 The impact of organic farming and conventional cultivation on the yield and competitiveness of oats with spring vetch	15
Hubert Kulesza, Patrycja Mazur, Magdalena Tomczyńska, Michał Golubiewski, Joanna Toporowska, Sylwia Sowa, Edyta Paczos-Grzęda Ocena polimorfizmu DNA grzybów z gatunku <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>avenae</i> metodą SRAP 24 Assessment of DNA polymorphism of fungi <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>avenae</i> by the SRAP method	24
Mateusz Piejak, Łukasz Wlazło Rola biostymulatorów roślinnych w zrównoważonym rolnictwie 34 The role of plant biostimulants in sustainable agriculture	34
Rafał Ramut The economic significance of biostimulants on the example of orchard production 41 Ekonomiczne znaczenie biostymulatorów na przykładzie produkcji sadowniczej	41
Paulina Wac, Zuzanna Bąk, Nikola Pietruszka, Joanna Toporowska, Sylwia Sowa, Edyta Paczos-Grzęda Analiza różnicowania genetycznego grzybów z gatunku <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>avenae</i> metodą SRAP 49 Analysis of the genetic diversity of <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>avenae</i> by the SRAP method	49
Paulina Wac, Nikola Pietruszka, Zuzanna Bąk, Martyna Krak, Justyna Bohacz, Michał Możejko Ocena aktywności mikrobiologicznej gleby po wprowadzeniu dostępnego na rynku krajowym biopreparatu zawierającego bakterie z rodzaju <i>Bacillus</i> 59 Evaluation of the biological activity of soil after the use of a biopreparation available on the domestic market, containing bacteria of the genus <i>Bacillus</i>	59

Wykorzystanie naturalnych stymulatorów wzrostu w uprawie ziemniaka jadalnego

The use of natural growth promoters in edible potatoes cultivation

Produkcja ziemniaka jest jedną z najważniejszych, dostarczających pożywienia, upraw na świecie. Ziemniak ma również bardzo wysoką wartość odżywczą, co wynika z zasobności w składniki odżywcze, niezbędne do funkcjonowania organizmu, takie jak: węglowodany, białko, błonnik, witamina C, witamina B, potas i żelazo. Popularność ziemniaków na świecie wzrosła m.in. przez łatwość w ich przyrządzaniu, cenę oraz dostępność na rynku [Zarzecka i in. 2022b]. Na plon i jakość ziemniaka oddziałują czynniki agrotechnologiczne, genetyczne i środowiskowe. Do najważniejszych zabiegów agrotechnicznych w uprawie ziemniaka należy zwalczanie chwastów. Zabieg ten można stosować w kombinacji praktyk mechanicznych oraz chemicznych. Wykonywanie zabiegu odchwaszczania ma ogromny wpływ na zwiększenie plonów bulw i poprawę ich jakości [Zarzecka i in. 2021].

Coraz większą rolę w produkcji ziemniaka zaczyna odgrywać zrównoważony system produkcji roślinnej, wykorzystujący odpowiednie biostymulatory, uznawane za innowacyjne narzędzia agronomiczne. Produkty naturalne wchodzące w skład biostymulatorów wpływają korzystnie na efektywność odżywiania, cechy jakościowe bulw oraz zwiększają tolerancję na stres abiotyczny. Produkcja znacznej ilości biostymulatorów opiera się na bazie ekstraktów z alg morskich i kwasów huminowych. Związki bioaktywne, jakie znajdują się w biostymulatorach pochodzących z alg morskich, wpływają korzystnie na wzrost, zwiększają zdolność do wykorzystania dostępnych składników pokarmowych oraz odporność roślin na działanie patogenów i poprawiają plonowanie bulw. Substancje humusowe wpływają zarówno na strukturę roślin, jak też na fizjologiczne zmiany związane z przyswajaniem i dostarczaniem składników pokarmowych. Oddziałują też na zmiany zachodzące w pierwotnym i wtórnym metabolizmie roślin, związanym ze stresem abiotycznym [Wadas i Dziugieł 2020b]. Ekstrakty z alg morskich i substancji humusowych poprawiają również właściwości gleby. Przez poprawę struktury zwiększają rozpuszczalność mikroelementów w glebie, a zmiany fizjologiczne, jakie zachodzą w roślinach, prowadzą do poprawy morfologii korzeni czy wzrostu ich aktywności [Dziugieł i Wadas 2020a].

¹ Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Wydział Agrobioinżynierii i Nauk o Zwierzętach, Studenckie Koło Naukowe Agrobioinżynierii, tomekkondraciuk@poczta.onet.pl

² Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Wydział Agrobioinżynierii i Nauk o Zwierzętach

Zachodzące zmiany klimatu wywołują stres abiotyczny, który wpływa na spadek światowej produkcji ziemniaka – w 2022 r. o 18%, a do 2050 r. prognozowane 35%. Okresy wysokich temperatur i susze stają się coraz częstszym zjawiskiem w Europie Środkowej. W świetle zmian klimatycznych stymulatory wzrostu stają się coraz bardziej popularne. Biostymulatory są używane jako dodatek do nawozów, który ma wspomagać pobieranie składników pokarmowych przez rośliny oraz zwiększać ich odporność na stres abiotyczny [Doberek i in. 2019]. Zawartość w biostymulatorach związków bioaktywnych wpływa korzystnie na wzrost i adaptację do stresu w celu lepszego wykorzystania potencjału produkcyjnego danej odmiany w warunkach środowiskowych panujących na obszarze produkcji [Dziugieł i Wadas 2020b].

Stres klimatyczny i środowiskowy to czynniki ograniczające wzrost i przeżycie roślin. Niemal na całym świecie występują najważniejsze czynniki środowiskowe, wpływające na ograniczenie produkcji. Należą do nich wspomniane wcześniej zmiany klimatyczne, a w szczególności nieoptymalne temperatury, niedobory wody spowodowane suszą, wysokie zasolenie oraz niska żyzność gleb [Bulgari i in. 2019].

Celem pracy jest analiza wyników badań nad wpływem stymulatorów wzrostu w uprawie ziemniaka jadalnego, w połączeniu z zastosowanymi środkami ochrony roślin, nawożeniem dolistnym oraz uzyskanym efektem w postaci plonu handlowego. Materiał stanowią wyniki badań prowadzonych przez krajowych badaczy. Przeprowadzono przegląd literatury dotyczącej wykorzystania i wpływu stymulatorów wzrostu na uprawę ziemniaka jadalnego. Praca ma charakter przeglądowy, zastosowano w niej metodę opisową.

Rola i znaczenie biostymulatorów w uprawie ziemniaka

Główną przyczyną stosowania biostymulatorów w uprawach rolniczych jest ochrona i zabezpieczenie roślin przed stresem oraz przyspieszenie procesów życiowych czy szybsza regeneracja roślin po wystąpieniu stresu. Biostymulatory wspomagają wzrost korzeni, łodyg i liści. Ich stosowanie jest najbardziej skuteczne, gdy rośliny są uprawiane w niekorzystnych warunkach jak susza czy spadki temperatury [Mystkowska 2018]. Za interesowanie biostymulatorami i ich właściwościami regulującymi warunki stresowe zwiększa się wśród producentów nie tylko ziemniaka, lecz i innych roślin [Trawczyński 2020]. Działanie biostymulatorów nie tylko reguluje pokrój roślin po skutkach stresowych, ale również ma zapewnić poprawę masy roślin, czyli powierzchnię asymilacyjną, zwiększyć liczbę bulw oraz zawartość skrobi [Matysiak i Adamczewski 2010]. Biostymulatory pozytywnie oddziałują na procesy metaboliczne roślin przez zwiększenie ich wydajności oraz jakości. Według Du Jardina [2015] zastosowanie biostymulatorów zwiększa wykorzystanie składników pokarmowych i poprawia tolerancję na stres abiotyczny. Biostymulatory wpływają również na wzrost mikroflory glebowej, co sprzyja lepszemu rozwojowi systemu korzeniowego roślin [Ertani i in. 2014]. Badania przeprowadzone przez Dziugieł i Wadas [2020a] wykazały wzrost bulw ziemniaka w przedziale od 37 do 55 g. Stwierdzono, że wielkość plonu bulw zależała od warunków pogodowych.

Badania przeprowadzone na algach morskich wskazały największy przyrost bulw ziemniaka przy bardzo wilgotnej i cieplej pogodzie. Stwierdzono wzrost plonu masy bulw ziemniaka przy zastosowaniu stymulatora wzrostu blisko o 17% względem uprawy bez biostymulatora.

W Instytucie Rolnictwa i Ogrodnictwa w Siedlcach prowadzono badania biostymulatorów, opartych na algach morskich i kwasach humusowych, na ziemniakach odmian Denar, Lord, Miłek, przeznaczonych na wczesny zbiór. Wybrane biostymulatory stosowano według zaleceń producenta. Badania wskazały, że ekstrakty pochodzące z alg morskich posiadają większy potencjał biostymulujący, ponieważ zawierają więcej hormonów roślinnych oraz związków stymulujących wzrost roślin czy zwiększających odporność na warunki stresowe. Natomiast przy niesprzyjających warunkach atmosferycznych, takich jak niedobór opadów i nieoptymalna temperatura, zastosowanie biostymulatora opartego na ekstraktach kwasów humusowych wpłynęło na zwiększenie plonu średnio o 12%, a stosowanie biostymulatorów w optymalnych warunkach wzrostu i rozwoju roślin nie miało znaczącego wpływu na wysokość plonu (tab. 1) [Dziugiel i Wadas 2020b].

Tabela 1. Plon handlowy ziemniaka (t/ha)

Biostymulatory	Warunki termiczne i wilgotnościowe		
	korzystne dla wzrostu roślin	rok ciepły i bardzo wilgotny	rok chłodny i dość suchy
Bez biostymulatora	39,5	29,8	29,3
Biostymulator na ekstraktach z alg morskich	39,0	34,6	30,6
Biostymulator na ekstraktach kwasów huminowych	41,4	31,6	32,8

Źródło: opr. wł. na podst. badań Instytutu Rolnictwa i Ogrodnictwa UPH w Siedlcach [Wadas i Dziugiel 2021]

Spełnienie wymagań konsumenta przy jednoczesnym zwiększeniu plonu handlowego jest pożądanym efektem produkcyjnym każdego plantatora. Dlatego coraz częściej zabiegiem staje się stosowanie regulatorów wzrostu wraz ze środkami ochrony roślin. Stosowanie biostymulatorów poprawia procesy biochemiczne, morfologiczne oraz fizjologiczne, które wpływają na roślinę [Gugała i in. 2017]. Badania przeprowadzone

przez Mystkowską i in. [2022] na odmianie Malaga (tab. 2) wykazały, że stosowanie herbicydów z biostymulatorami wpływa na wielkość uzyskanego plonu. Wielkość plonu bulw względem obiektu kontrolnego (odchwaszczanie mechaniczne) i zwalczania chwastów metodą chemiczną była niższa względem zwalczania chwastów herbicydem w połączeniu z biostymulatorem. Wielkość plonu, zarówno całkowitego, jak i handlowego, zależała od zastosowanego regulatora wzrostu. Mieszanina substancji pochodząca z herbicydu Avatar 293 ZC w dawce 1,5 l/ha i stymulatora wzrostu Agro Sobor Follum 4 l/ha wskazała największy wzrost plonu całkowitego oraz handlowego względem pozostałych obiektów. Wpływ połączenia herbicydu Avatar 293 ZC oraz stymulatora wzrostu Agro Sobor Follum wpłynął na zwiększenie plonu o 9% w plonie całkowitym oraz 12% w plonie handlowym, względem średniego plonowania odmiany Malaga. Na pozostałych obiektach uzyskano zróżnicowany wzrost plonu względem obiektu kontrolnego. Odchwaszczanie mechaniczne zastosowane na obiekcie kontrolnym wpłynęło na spadek plonu względem średniej wielkości plonowania odmiany Malaga o 20% w plonie całkowitym i o 27% względem wielkości plonu handlowego.

Tabela 2. Plonowanie ziemniaków Malaga w latach 2018–2020

Metody aplikacji herbicydów i stymulatorów	Dawka herbicydu /biostymulatora dm ³ /ha	Plon ziemniaków dt/ha		
		całkowity	handlowy	różnica
Obiekt kontrolny – pielenie mechaniczne	–	276,50	220,50	56,00
Zastosowanie herbicydu Avatar 293 ZC	1,5	326,60	277,40	49,20
Avatar 293 ZC + PlonoStart	1,5/2,0	346,20	308,10	38,10
Avatar 293 ZC + Aminoplant	1,5/1,5	332,40	287,50	44,90
Avatar 293 ZC + Agro-Sobr Follum	1,5/4,0	376,50	338,50	38,00
Średnia plonu	–	345,40	302,90	42,60

Źródło: opr. wł. na podst. badań Mystkowskiej i in. [2022]

Wpływ biostymulatorów na zawartość cukrów w ziemniakach

W bulwach ziemniaka znajduje się dużo niezbędnych witamin, ale największe znaczenie ma witamina C, której zawartość mieści się w przedziale 5–30 mg świeżej masy

[Trawczyński i Wierzbička 2012]. Wartość odżywcza ziemniaka zależy od składu chemicznego bulw (skrobia, cukry ogółem, cukry redukcyjne, białka, witaminy, składniki mineralne oraz zawartość azotanów). Jest on uwarunkowany przede wszystkim właściwościami odmianowymi, lecz na jego zawartość wpływają również czynniki zewnętrzne jak warunki środowiskowe oraz stosowane zabiegi agrotechniczne czy wykorzystanie stymulatorów wzrostu [Zarzecka i in. 2022a]. Ważnym elementem w uprawie ziemniaka jest odpowiedni dobór odmian, które bardzo różnią się wymaganiami agrotechnicznymi i wartością użytkową [Nowacki 2020]. Ziemniaki przeznaczone do spożycia powinny posiadać wysokie parametry jakościowe. Największą rolę w nawożeniu mineralnym odgrywają zabiegi dolistne, które są w stanie najszybciej zaspokoić niedobry w składniki pokarmowe w trakcie sezonu wegetacyjnego oraz zwiększyć plon handlowy i poprawić jakość bulw [Barbaś i Sawicka 2009].

Głównym składnikiem ziemniaka jest skrobia. Zawartość skrobi w ziemniaku jadalnym może sięgać do 18% suchej masy. Badania wskazały, że na wpływ zawartości skrobi oddziałują również stosowane biostymulatory, przez zwiększenie średniej zawartości skrobi w bulwach [Mystkowska 2019a]. Dodatkowo badania przeprowadzone przez Trawczyńskiego [2020] polegające na zastosowaniu preparatów krzemianowych wykazały zmniejszenie zawartości azotanów (V) oraz zwiększenie zawartości witaminy C w bulwach, a także potwierdziły wzrost zawartości skrobi w bulwach przy występowaniu niedoboru opadów oraz w okresach z niższą temperaturą (tab. 3). Azotany zawsze występują w bulwach, ich zawartość uzależniona jest od przemian azotu w aminokwasy i białka. Ziemniaki nie magazynują w bulwach wielkiej ilości azotanów, ale stężenie może być zróżnicowane. Na spadek zawartości azotanów ma wpływ witamina C, która zmniejsza ich szkodliwość. Wraz ze zwiększeniem zawartości witaminy C wzrasta wartość pokarmowa bulw. Czynniki, jakie mają na to wpływ, to właściwości odmianowe, warunki atmosferyczne w okresie wegetacji, a w szczególności opady i wysokość temperatury [Trawczyński i Wierzbička 2012].

Tabela 3. Wpływ dolistnego dokarmiania krzemianem na skład chemiczny bulw ziemniaka

Obiekt	Skrobia (g · kg ⁻¹)	Azotany (V) (mg · kg ⁻¹)	Witamina C (mg · kg ⁻¹)	Sucha masa (g · kg ⁻¹)
Obiekt kontrolny	122	94	227	188
Krzemian	132	82	236	198
Obiekt kontrolny 2018 r.	119	108	231	184
Krzemian	119	108	241	184
Obiekt kontrolny 2019 r.	146	56	231	192
Krzemian	146	56	231	213

Źródło: opr. wł. na podst. badań Trawczyńskiego [2020]

Skrobia jest głównym czynnikiem wpływającym na zawartość suchej masy, i może stanowić 75–80% jej masy. W dużej mierze na zawartość suchej masy i skrobi wpływają

warunki agrotechniczne, pogodowe w czasie uprawy i wegetacji oraz, przede wszystkim, czynniki genetyczne danej odmiany. W badaniach wykazano również, że ich zawartość zwiększa stosowanie biostymulatorów [Mystkowska 2019b]. Pogorszenie warunków wilgotnościowych wpływa na zwiększenie suchej masy i zmniejszenie zawartości skrobi. Warunki stresowe wywołane suszą wpływają na zmniejszenie zawartości skrobi zarówno w części przystolonowej, jak i wierzchołkowej [Boguszewska 2007]. Wpływ biostymulatorów na zawartość suchej masy ziemniaka zależy od warunków pogodowych oraz uwarunkowań genetycznych [Mystkowska 2019a]. Odmienne wyniki badań zaprezentowali Krzysztofiak i Skonieczny [2010], którzy wskazali, że odmiany wczesne charakteryzują się mniejszą zawartością suchej masy od odmian średnio wczesnych. Mystkowska [2019a] wykazała, że stosowane biostymulatory przy występujących warunkach pogodowych wpłynęły na zwiększenie średniej zawartości skrobi w bulwach ziemniaka w porównaniu do obiektów kontrolnych. Największe oddziaływanie na wzrost udziału skrobi wykazał preparat Tytanit, Brunatne Bio Złoto, względem preparatów Kelpak SL i GreenOk. Największą zawartość skrobi w bulwach uzyskujemy w warunkach o przeciętnej wilgotności i temperaturze.

Polski konsument ma duże i zróżnicowane wymagania dotyczące ziemniaka. Na czołowej pozycji stawia cechy zewnętrzne, które determinują ładny wygląd ziemniaka, cechy wewnętrzne obejmujące zawartość składników chemicznych oraz cechy sensoryczne. Zastosowanie biostymulatorów nie pogarsza walorów smakowych bulw [Zarzecka i in. 2016].

Parch zwykły ziemniaka jest chorobą skórki ziemniaka, co powoduje zmniejszenie wartości konsumpcyjnej, pogarsza smak oraz zwiększa stopień ciemnienia bulw. Stosowanie biostymulatorów może ograniczyć stopień nasilenia patogenów, lecz warunki atmosferyczne bardzo modyfikują udział i stopień nasilenia wystąpienia choroby. Wzrostowi udziału bulw z objawami parcha zwykłego sprzyjała sucha aura w okresie zawiązywania bulw. Natomiast obfite opady, a także ciepła i wilgotna pogoda w sierpniu zwiększała występowanie ospowatości bulw [Sawicka i Krochmal-Marczak 2009].

Podsumowanie

Stosowanie nawożenia dolistnego w połączeniu z biostymulatorami korzystnie wpływa na plon i jednocześnie ogranicza koszty produkcji. Nawożenie dolistne wpływa na efektywność przyswajania składników odżywczych, zmniejszenie chemicznego i biologicznego uwsteczniania składników mineralnych oraz obniża koszty nawożenia. Zastosowanie biostymulatorów w uprawie ziemniaka jadalnego wpływa na zwiększenie jego plonu handlowego oraz w okresach występowania niekorzystnych warunków atmosferycznych zwiększa jego odporność na stres abiotyczny. Biostymulatory są preparatami naturalnymi, bezpiecznymi dla zdrowia człowieka i zwierząt, nie obciążają też środowiska naturalnego. Wykorzystanie ich w uprawie ziemniaka może przynieść wiele niezależnych korzyści. Najważniejszą z punktu widzenia rolnika jest wzrost plonu handlowego w plonie ogólnym, dzięki czemu rosną zyski. Jednakże należy pamiętać, że biopreparaty są maksymalnie skuteczne w bardzo niskich dawkach. Ich skuteczność zależy też m.in. od fazy wegetatywnej, w jakiej znajdują się rośliny w chwili użycia preparatu. Stosowanie stymulatorów wpływa również na zawartość składu chemicznego w bulwach

ziemniaka. Duże znaczenie w produkcji ziemniaka jadalnego ogrywiają również warunki atmosferyczne, zabiegi agrotechniczne oraz uprawiana odmiana.

Bibliografia

- Barbaś P., Sawicka B., 2009. Zachwaszczenie łanu ziemniaka w warunkach nawożenia dolistnego i stosowania biostymulatora wzrostu. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 542(1), 67–77. <http://doi.org/10.13140/2.1.1723.9681>
- Boguszewska D., 2007. Wpływ niedoboru wody na zawartość wybranych składników chemicznych w bulwach ziemniaka. Żywn. Technol. Jakość 5(54), 93–101.
- Bulgari R., Franzoni G., Ferrante A., 2019. Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. Agronomy 9(6), 306. DOI: 10.3390/agronomy9060306
- Drobnik M., Frąc M., Cybulska J., 2019. Plant biostimulants: importance of the quality and yield of horticultural crops and the improvement of plant tolerance to abiotic stress – A review. Agronomy, 9(6), 335. <http://doi.org/10.3390/agronomy9060335>
- Du Jardin P., 2015. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. Sci. Hort. 196, 3–14. <http://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Dziugiel T., Wadas W., 2020a. Effect of plant biostimulants on macronutrient content in early crop potato tubers. Agronomy 10(8), 1202. <http://doi.org/10.3390/agronomy10081202>
- Dziugiel T., Wadas W., 2020b. Possibility of increasing early crop potato yield with foliar application of seaweed extracts and humic acids. J. Central Eur. Agric. 21(2), 300–310. <http://doi.org/10.5513/JCEA01/21.2.2576>
- Ertani A., Pizzeghello D., Francioso O., Sambo P., Sanchez-Cortes S., Nardi S., 2014. *Capsicum chinensis* L. growth and nutraceutical properties are enhanced by biostimulants in a long-term period: chemical and metabolomic approaches. Front. Plant Sci. 5, 375. <http://doi.org/10.3389/fpls.2014.00375>
- Gugała M., Zarzecka K., Sikorska A., Mystkowska I., Dołęga H., 2017. Wpływ herbicydów i biostymulatorów na ograniczenie zachwaszczenia i plonowanie ziemniaka jadalnego. Frag. Agron. 34(4).
- Krzysztofik B., Skonieczny P., 2010. Wpływ okresu przechowywania na zmiany właściwości fizycznych bulw ziemniaka. Inż. Rol. 4(122), 135–140.
- Matysiak K., Adamczewski K., 2010. Wpływ regulatora wzrostu i rozwoju roślin Moddus 250 EC, Kelpak SL, Algaminoplant, Humiplant i Yeald Plus na plonowanie i wielkość bulw ziemniaka. Ziemniak Pol., 20(1), 28–33.
- Mystkowska I., 2018. Biostymulatory jako czynnik wpływający na plon ziemniaka jadalnego. Acta Agrophys., 25(3), 307–315. <http://doi.org/10.31545/aagr/95109>
- Mystkowska I., 2019a. Biostimulators as factor affecting the dry matter yield and starch content of edible potato tubers. Acta Agrophys. 26(1), 37–45. <http://doi.org/10.31545/aagr/108535>
- Mystkowska I., 2019b. Wpływ stosowania biostymulatorów na zawartość suchej masy i skrobi w bulwach ziemniaka jadalnego. Fragm. Agron. 36(1) 45–53.
- Mystkowska I., Zarzecka K., Gugała M., Sikorska A., 2022. Profitability of using herbicide and herbicide with biostimulators in potato production. J. Ecol. Eng. 23(4), 223–227. <https://doi.org/10.12911/22998993/145460>
- Nowacki W., 2020. Profesjonalna produkcja ziemniaka. Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie, Brwinów.
- Sawicka B., Krochmal-Marczak B., 2009. Wpływ stosowania nawozu dolistnego Insol 7 i bioregulatora Asahi SL na zdrowotność bulw kilku odmian ziemniaka. Agron. Sci. 64(2), 29–39. <https://doi.org/10.24326/as.2009.2.6>

- Trawczyński C., 2020. Wpływ biostymulatorów na plon i jakość bulw ziemniaka uprawianego w warunkach suszy i wysokiej temperatury. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin. 289, 11–19.
- Trawczyński C., Wierzbicka A., 2012. Relacje między zawartością witaminy C i azotanów w bulwach odmian ziemniaka należących do różnych grup wczesności. IHiAR-PIB 266, 143–150.
- Wadas W., Dziugiel T., 2020. Quality of new potatoes (*Solanum tuberosum* L.) in response to plant biostimulants application. Agriculture 10(7), 265. <https://doi.org/10.3390/agriculture10070265>
- Wadas W., Dziugiel T., 2021. Biostymulatory w uprawie ziemniaka na wczesny zbiór. Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Siedlce.
- Zarzecka K., Gugala M., Dołęga H., Mystkowska I., Baranowska A., Zarzecka M., 2016. Wpływ biostymulatorów i herbicydów na smakowitość i ciemnienie miąższu bulw ziemniaka. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 585, 169–177.
- Zarzecka K., Gugala M., Domański Ł., 2022a. Zmiany zawartości cukrów w bulwach ziemniaka pod wpływem herbicydu i biostymulatorów. Agron. Sci., 77(1), 5–13. <http://doi.org/10.24326/as.2022.1.1>
- Zarzecka K., Gugala M., Mystkowska I., Sikorska A., 2021. The leaf greenness index SPAD and selected features of potato following an application of herbicides and biostimulants. J. Ecol. Eng. 22(8), 54–63. <http://doi.org/10.12911/22998993/140330>
- Zarzecka K., Gugala M., Mystkowska I., Sikorska A., Domański Ł., 2022b. Glycoalkaloids in leaves and potato tubers depending on herbicide application with biostimulants. Plant, Soil Environ. 68(4), 180–185. <http://doi.org/10.17221/52/2022-PSE>

Wpływ uprawy ekologicznej i konwencjonalnej na plon i konkurencyjność owsa z wyką jara

The impact of organic farming and conventional cultivation on the yield and competitiveness of oats with spring vetch

Rezultaty wielu badań wskazują na dużą przydatność mieszanek zbożowych i zbożowo-strączkowych do stosowania w rolnictwie ekologicznym [Księżak 2000]. Wynika to m.in. z faktu, iż w systemie ekologicznym, w którym nie można stosować nawozów sztucznie syntetyzowanych, mogą występować niedobory składników pokarmowych w glebie. W sytuacji niedoboru mieszanek i zbożowo-strączkowe nie reagują dużym spadkiem plonu, gdyż zróżnicowane zapotrzebowanie na składniki pokarmowe komponentów mieszanek pozwala na lepsze wykorzystanie dostępnych w glebie związków pokarmowych [Noworolnik 2000]. Inną przyczyną braku znacznego zmniejszenia plonu jest mniejsza konkurencja w łanie komponentów w mieszankach aniżeli w siewach czystych [Wanic i Michalska 2009].

Obecnie coraz większe uznanie w regulacji zachwaszczenia i zwiększenia wydajności plonów zyskują te metody zabiegów agrotechnicznych, które prowadzą do ochrony środowiska. Jedną z takich metod jest metoda siewów mieszanych, która wykorzystuje konkurencyjne zdolności odmian roślin uprawnych wobec chwastów oraz wykorzystanie zjawiska allelopatii. Przedstawiona zaleta mieszanek może być wykorzystana w rolnictwie ekologicznym do regulacji zachwaszczenia.

Mieszanki mają szereg zalet w porównaniu z siewami czystymi: posiadają większe zdolności przystosowawcze, lepsze wykorzystanie wolnej przestrzeni oraz skuteczniej wykorzystują zasoby środowiska dla roślin uprawnych, jak również ograniczają te zasoby dla chwastów [Parylak i in. 2006].

Uzyskany plon ziarna z siewów mieszanych może być w sposób ograniczony wykorzystany w handlu. Zasadniczym sposobem zagospodarowania jest przeznaczenie na cele paszowe. Jest to spowodowane nieznanym składem procentowym poszczególnych składników oraz składem chemicznym zebranego plonu. Składniki procentowe plonu są najczęściej różne od składu procentowego komponentów mieszanek w ziarnie siewnym [Borowiecki i Księżak 2000, Rozbicki 2002].

Zmiany te są spowodowane wzajemnym oddziaływaniem roślin w łanie na siebie, tak w obrębie jednego gatunku, jak i międzygatunkowo. Konkurencja ta dotyczy przede wszystkim dostępności do składników pokarmowych, wody i światła [Sobkowicz 2000, 2003].

¹ Uczelnia Państwowa im. Jana Grodka w Sanoku, Instytut Gospodarki Rolnej i Leśnej, Koło Naukowe „Agroekolog”, angelika-krzysztof@wp.pl

W wielu badaniach nad mieszankami uwzględnione są oddziaływania konkurencji wewnątrzgatunkowej, dwóch lub więcej gatunków w siewach czystych lub w mieszankach. W badaniach tych uwzględnia się najczęściej zagęszczenie roślin na danej jednostce powierzchni lub różne zapotrzebowanie na zasoby środowiska. Badania i uzyskane wyniki sprowadzają się zazwyczaj do określenia wielkości plonu ziarna i struktury plonu badanych gatunków stanowiących rezultat ich oddziaływań na siebie [Oleksy i Szmigiel 2005, Idziak i Michalski 2007]. Konkurencja między roślinami w dostępie do światła, wody i składników pokarmowych przebiega w zmiennym nasileniu przez cały okres wegetacji, a wzajemne oddziaływania konkurencyjne pojedynczych roślin na siebie mają wpływ na ich wielkość i strukturę całej populacji. Duże oddziaływanie na rozkład pionowy i wysokość poszczególnych pięt liści ma zagęszczenie roślin danego gatunku i ich konkurencyjność względem siebie [Park i in. 2003]. Konkurencyjność i jej mechanizmy nie zostały jeszcze do końca rozpoznane, zwłaszcza w odniesieniu do uprawy roślin we współczesnych systemach rolniczych oraz we współczesnych systemach uprawy roli. Jak wynika z wniosków już przeprowadzonych badań, oprócz określenia plonu i pokroju roślin konieczna jest także szczegółowa analiza cech morfologicznych badanych roślin w różnych fazach ich rozwoju. Badania rolnicze prowadzone na roślinach powinny więc uwzględniać oprócz różnych poziomów ilości siewu także zjawisko konkurencyjności między roślinami w całym okresie wegetacji w różnych systemach rolniczych. Umożliwia to wychwycenie i zanalizowanie trendów w zmianach morfologicznych zachodzących w roślinach i populacjach. Badania takie mogą przyczynić się do efekcie końcowym do skorelowania pozytywnych efektów konkurencyjności między roślinami z maksymalnym plonowaniem we współczesnych systemach rolniczych, bez szkody dla środowiska naturalnego.

Celem pracy było porównanie plonu owsa i wyki jarej uprawianych w siewie czystym i w mieszankach oraz określenie ich konkurencyjności, w zależności od uprawy według zasad rolnictwa ekologicznego i konwencjonalnego.

Material i metody

Przedmiotem badań było dwuczynnikowe doświadczenie polowe przeprowadzone w latach 2019–2021 w Górskiej Stacji Doświadczalnej zlokalizowanej w Czynnej k. Krynicy (545 m n.p.m. Beskid Niski, położenie geograficzne: 49°25'N, 20°58'E). Obszar badań położony jest w południowo-zachodniej części Beskidu Niskiego [Kondracki 1977]. Pod względem geomorfologicznym należy do Hańczowskich Gór Rusztowych obejmujących południowo-zachodnią część Gór Grybowskich [Starkel 1972]. Rzeźba zlewni potoku Czynianka o powierzchni 1186 ha, w której znajduje się stok doświadczalny posiada charakter gór średnich. Wysokości bezwzględne sięgają tu od 452 do 754 m n.p.m. a maksymalna deniwelacja względna wynosi 302 m [Klima i in. 1998]. Grunty orne zajmują 251,09 ha, co stanowi 21,2% ogólnej powierzchni zlewni. Przyjmując, że maksymalne nachylenie terenu w przypadku gruntów ornych nie powinno przekraczać 15% [Martini 1965], w obszarze zlewni 111,80 ha (44,52%) gruntów ornych powinno ulec zalesieniu lub zadarnieniu. Poprzecznostokowy układ pól na stokach o nachyleniu do 15% istnieje na 34% powierzchni gruntów ornych, zaś w przedziale nachyleń 15–30% na 67% powierzchni gruntów ornych. Wysoki wskaźnik gęstości sieci

hydrograficznej ($2,695 \text{ km} \cdot \text{km}^2$) wskazuje na bardzo duże zagrożenie obszaru zlewni erozją wodną liniową [Klima i in. 1998].

Pole doświadczalne zlokalizowane jest na południowo-zachodnim wypukło-wklęsłym stoku Banickiej Góry (693,5 m n.p.m.). Część stoku między warstwicami 620–650 m n.p.m. jest lekko wypukła, natomiast niższa partia stoku lekko wklęsła. Całkowita długość stoku od szczytu wzgórza do potoku Czyrnianka (525 m n.p.m.) wynosi 1120 m. Jest to zatem typowy stok beskidzki. Jego część wierzchwinową (od 625 m n.p.m. do szczytu) o średnim nachyleniu 15%, porasta las sosnowo-jodłowy. Obszar pomiędzy warstwicami 570–625 m n.p.m. o nachyleniu średnim 25% zajmują użytki zielone. Poniżej, w przedziale wysokości 540–570 m n.p.m. położone są grunty orne. Średnie nachylenie tej części stoku wynosi 13,5% (11,6–16,6%).

W zlewni Czyrnianki część stoku doświadczalnego (poniżej warstwy 570 m n.p.m.) od wielu lat była użytkowana rolniczo jako grunty orne [Reichert i Klima 1986].

Glebę, na której zlokalizowano pole doświadczalne, określono jako brunatną, wytworzoną ze zwietrzliny skał fliszowych o składzie granulometrycznym gliny średniej szkieletowej. Zaliczono ją do V klasy bonitacyjnej, 12 kompleksu owsiano-ziemniaczanego górskiego. Średnia miąższość poziomu próchnicznego wynosiła 25 cm. Średnia zawartość części spławialnych w warstwie próchnicznej wynosiła 49%. Wskaźnik podatności gleby na zmywanie [Janowski i in. 1968], tj. stosunek frakcji pyłu do ilu koloidalnego wynosił 2,1. Biorąc za podstawę Instrukcję nr 3 Ministrów Rolnictwa oraz Leśnictwa i Przemysłu Drzewnego [Instrukcja... 1973] uwzględniając warunki glebowe, nachylenie stoku oraz ilość opadów uznano, że część stoku na której zlokalizowane było pole doświadczalne zgodnie z pięciostopniową skalą zagrożenia erozją wodną powierzchniową, zagrożona jest erozją w stopniu drugim (erozja umiarkowana). Według komentarza [Józefaciuk i Józefaciuk 1975] do cytowanej instrukcji, grunty z erozją umiarkowaną nie mają wyraźnych form erozyjnych, a podstawowymi zabiegami przeciwoerozyjnymi winny być w takim przypadku płodozmiany glebochronne i orka poprzecznostokowa.

Średnia zawartość w warstwie uprawnej przyswajalnego fosforu była średnia, a potasu wysoka. Skałę macierzystą stanowi flisz karpacki płaszczowiny magurskiej [Klima i in. 1998]. Czynnikiem pierwszym doświadczenia były dwa systemy rolnicze: konwencjonalny i ekologiczny. Czynnikiem drugim były siewy czyste owsa i wyki jarej oraz trzy mieszanki owsa z wyką jarą (tab. 1).

Przyjęto zwiększoną ilość wysiewu z uwagi na niekorzystne górskie warunki klimatyczno-glebowe. Zastosowano metodę losowanych bloków w czterech powtórzeniach. Pojedyncze pole doświadczalne posiadało powierzchnię 22 m^2 . Wysiewano owies oplewiony odmiany Borowiak oraz wykę jarą samokończącą odmiany Ina. Siewy czyste i mieszane uprawiano w obydwu systemach w ogniwie płodozmianowym: 1) ziemniak na oborniku ($33 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$); 2) owies w siewie czystym, 3) wyka jara w siewie czystym oraz mieszanki owsa z wyką jarą. W systemie ekologicznym nie stosowano nawozów mineralnych i pestycydów sztucznie syntetyzowanych. W celu ograniczenia zachwaszczenia stosowano wiosenne bronowanie owsa. W systemie konwencjonalnym stosowano nawozy sztuczne i pestycydy. Wielkość dawek nawozów mineralnych ustalono na podstawie zasobności gleby, wartości nawozowej przedplonu i prognozowanego plonu. W uprawie owsa w systemie konwencjonalnym przed orką przedzimową zastosowano $34 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \text{ P}$ oraz $55,6 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \text{ K}$. Ogólną dawkę azotu wynoszącą $72 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \text{ N}$ podzielono na przedsięwną i pogłówną. Ziarno siewne zaprawiano zaprawą Vitavax 200 FS w dawce

300 ml na 100 kg ziarna. Zachwaszczenie ograniczano w końcu fazy krzewienia, stosując Granstar w dawce $24 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$.

Tabela 1. Siewy czyste i mieszane, ilości wysiewu oraz założona obsada

Lp.	Obiekt	Ilość wysiewu ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$)	Obsada ($\text{szt} \cdot \text{m}^{-2}$)
1	Owies oplewiony	220	650
2	Wyka jara	100	250
3	Owies oplewiony + wyka jara	170 30	502 75
4	Owies oplewiony + wyka jara	150 40	443 100
5	Owies oplewiony + wyka jara	130 50	383 125

W konwencjonalnej uprawie wyki jarej zastosowano przedsięwzięcie startową dawkę $20 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ N azotu. Przed orką przedzimową zastosowano $43,6 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ P oraz $83 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ K. W konwencjonalnej uprawie mieszanek owsa z wyką jarą zastosowano przedsięwzięcie dawkę $30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ N azotu, a przed orką przedzimową zastosowano $43,6 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ P oraz $83 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ K.

Przy opracowaniu wyników wykorzystano współczynnik ekwiwalentu terenowego LER (Land Equivalent Ratio) [Rao i in. 1987, Sobkowicz 2003]. Jest on sumą względnych plonów poszczególnych gatunków uprawianych w mieszankach:

$$\text{LER} = Y_{ij}/Y_i + Y_{ji}/Y_j$$

gdzie:

Y_i – plon gatunku i w siewie czystym,

Y_j – plon gatunku j w siewie czystym,

Y_{ij} – plon gatunku i w mieszańce z gatunkiem j,

Y_{ji} – plon gatunku j w mieszańce z gatunkiem i.

Rezultaty badań opracowano statystycznie z zastosowaniem analizy wariancji. Istotność średnich różnic obiektowych testowano przy pomocy testu Tukey'a na poziomie istotności $p = 0,05$.

Średnia roczna temperatura powietrza dla wielolecia wynosi $6,06^\circ\text{C}$, zaś długość okresu wegetacyjnego 179 dni. Biorąc pod uwagę kryteria opracowane przez Kaczorowską [1962] oraz miesięczne sumy opadów można sezon wegetacyjny w 2020 r. zaliczyć do suchych, sezon w 2019 do przeciętnych, w 2021 r. do mokrych (tab. 1). Przyjmując za podstawę wyniki badań Klimy i Pisulewskiej [2004], Borowieckiego i Księżaka [2000] oraz Szpunar-Krok i in. [2008] można zauważyć, iż najbardziej sprzyjający rozkład opadów dla uprawianych roślin wystąpił w 2021 r.

Tabela 2. Miesięczne sumy opadów atmosferycznych (mm) oraz temperatury powietrza (°C)

Lata	Miesiące					IV–VIII	I–XII
	IV	V	VI	VII	VIII		
	Opady (mm)						
2019	85,3	234,2	26,7	60,6	94,0	500,8	816,3
2020	11,3	98,5	97,0	80,1	46,3	333,2	718,2
2021	52,1	117,0	110,3	143,4	145,1	567,9	819,5
1961–1990	62,0	99,6	118,6	111,2	91,0	482,3	838,9
Temperatura (°C)							
2019	14,9	16,0	18,1	19,3	20,2	17,7	8,62
2020	14,2	15,8	17,9	19,4	19,5	17,3	8,60
2021	13,2	14,9	16,8	19,7	19,9	16,4	8,46
1961–1990	6,2	11,5	14,2	16,0	14,8	12,6	6,06

Wyniki i dyskusja

Rośliny uprawiane w systemie ekologicznym wydały plon mniejszy średnio o 12% w porównaniu do uprawy w systemie konwencjonalnym (tab. 3). Było to spowodowane zastosowaniem w systemie konwencjonalnym nawozów mineralnych i pestycydów. W literaturze można spotkać wyniki, w których średnie zmniejszenie plonu roślin uprawianych w systemie ekologicznym wahało się od 17–31% [Solarska 2007, Tyburski i in. 2010]. Niewielka różnica stwierdzona w przedmiotowych badaniach mogła być spowodowana faktem, iż zarówno w systemie konwencjonalnym, jak i w ekologicznym przedplonem dla owsa był ziemiak nawożony obornikiem. Inną przyczyną było niskie plonowanie nasion wyki jarej i małej różnicy w plonie tej rośliny w badanych systemach rolniczych.

Z danych przedstawionych w tabeli 4 wynika, iż wraz ze zmniejszaniem udziału owsa w mieszankach z wyką jarą wzrastała wartość LER dla wyki jarej (od 0,36 do 0,46 w przypadku systemu konwencjonalnego oraz od 0,35 do 0,45 w systemie ekologicznym). Mogło to wynikać z mniejszego oddziaływania konkurencyjnego roślin owsa w stosunku do roślin wyki jarej w łanie. Uzyskany rezultat potwierdza wyniki badań Sobkowicza [2003], który stwierdził, iż malejący udział w łanie jednego komponentu mieszanki rekompensowany jest przez dominację drugiego komponentu mieszanki.

Biorąc pod uwagę oddziaływania konkurencyjne komponentów mieszanek owsa z wyką jarą (tab. 4) można stwierdzić, iż w przypadku systemu konwencjonalnego wysiew owsa w mieszance z wyką jarą wpłynął korzystniej na plonowanie owsa niż w systemie ekologicznym. Świadczy o tym większa wartość średniej wynoszącej 0,61 dla systemu konwencjonalnego przy 0,59 dla systemu ekologicznego. Być może jedną z przyczyn było lepsze zaopatrzenie owsa w azot pochodzący zarówno z nawożenia mineralnego, jak i z wiązania tego składnika przez bakterie brodawkowe występujące na korzeniach wyki jarej.

Tabela 3. Plony ($t \cdot ha^{-1}$) roślin uprawianych w siewach czystych i w mieszankach w kolejnych latach badań i w systemie konwencjonalnym i ekologicznym

System rolniczy	Lata	Siewy czyste i mieszanki					Średnio
		owies	wyka jara	owies 170 + 30*	owies 150 + 40**	owies 130 + 50***	
Konwencjonalny	2019	3,30	0,485	3,069	2,773	2,735	2,472
	2020	3,37	0,493	3,196	2,852	2,763	2,534
	2021	3,89	0,567	3,626	3,225	2,851	2,831
	średnio	3,52	0,515	3,297	2,950	2,783	2,613
Ekologiczny	2019	2,90	0,444	2,613	2,610	2,401	2,193
	2020	3,02	0,451	2,789	2,670	2,429	2,271
	2021	3,47	0,521	3,127	2,940	2,487	2,509
	średnio	3,13	0,472	2,843	2,740	2,439	2,324
Średnio dla lat							
2019				2,332			
2020				2,402			
2021				2,670			
Średnio				2,468			
NRI $\alpha = 0,05$				0,040			
Średnio dla systemów rolniczych							
Konwencjonalny				2,613			
Ekologiczny				2,324			
Średnio				2,468			
NRI $\alpha = 0,05$				0,025			
Średnio dla siewów czystych i mieszanek							
Owies				3,32			
Wyka jara				0,493			
Owies 170 $kg \cdot ha^{-1}$ + wyka jara 30 $kg \cdot ha^{-1}$				3,070			
Owies 150 $kg \cdot ha^{-1}$ + wyka jara 40 $kg \cdot ha^{-1}$				2,845			
Owies 130 $kg \cdot ha^{-1}$ + wyka jara 50 $kg \cdot ha^{-1}$				2,611			
Średnio				2,468			
NRI $\alpha = 0,05$				0,045			

* owies 170 $kg \cdot ha^{-1}$ + wyka jara 30 $kg \cdot ha^{-1}$

** owies 150 $kg \cdot ha^{-1}$ + wyka jara 40 $kg \cdot ha^{-1}$

*** owies 130 $kg \cdot ha^{-1}$ + wyka jara 50 $kg \cdot ha^{-1}$

Dzięki bakteriom brodawkowym rośliny motylkowate w tym wyka jara wzbogacają glebę w azot. Jak wynika z badań Onkovich i Pate [2000] oraz Vance [1998] przeciętne ilości N₂ związane przez rośliny motylkowate dochodzi do 147 kg/ha, w tym fasola 65 oraz lucerna 180 kg N/ha.

Rezultaty badań Yanbo i in. [2004] dowiodły, iż w okresie wegetacji ma miejsce transferu azotu przyswojonego przez bakterie brodawkowe zasiedlające ryzosferę bobiku, do systemu korzeniowego pszenicy. Przedstawione rezultaty badań świadczą o dużym znaczeniu roślin motylkowatych w rolnictwie ekologicznym.

Biorąc pod uwagę średnie sumaryczne wartości LER można stwierdzić, iż w miarę zmniejszania się udziału owsa w mieszance z wyką jarą zmniejszała się też sumaryczna wartość LER z 1,23 do 1,16. Wynikało to niskich wartości plonu nasion wyki jarej, które były średnio 7-krotnie mniejsze od średniego plonu ziarna owsa. Zatem zmniejszenie udziału owsa w mieszance skutkowało zmniejszeniem wartości LER.

Tabela 4. Plonowanie (t · ha⁻¹) siewów czystych komponentów mieszanek owsa z wyką jarą oraz wartości współczynnika ekwiwalentu terenowego LER w zależności od systemu rolniczego

Siew	Skład mieszanki	Plon ziarna / nasion (t · ha ⁻¹)			LER					
		Systemy rolnicze			Systemy rolnicze				Średnio	Razem
		Konwencyjonalny	ekologiczny	średnio	Konwencyjonalny		ekologiczny			
średnio	razem				średnio	razem				
Czysty	Owies	3,52	3,13	3,32	średnio	razem	średnio	razem	0,88	1,23
	Wyka jara	0,515	0,472	0,493						
Mieszanki	Owies 170 kg · ha ⁻¹	3,11	2,67	2,89	0,88	1,24	0,87	1,22	0,88	1,23
	Wyka jara 30 kg · ha ⁻¹	0,187	0,173	0,180	0,36		0,35		0,35	
	Owies 150 kg · ha ⁻¹	2,72	2,33	2,52	0,77	1,20	0,75	1,18	0,76	1,19
	Wyka jara 40 kg · ha ⁻¹	0,228	0,212	0,220	0,43		0,43		0,43	
	Owies 130 kg · ha ⁻¹	2,54	2,22	2,38	0,72	1,18	0,71	1,16	0,71	1,16
	Wyka jara 50 kg · ha ⁻¹	0,242	0,221	0,231	0,46		0,45		0,45	
	Średnio	1,633	1,424	1,528	0,61	1,21	0,59	1,18	0,60	1,19

Mimo tego we wszystkich mieszankach średnia sumaryczna wartość LER była większa od 1. Oznacza to, że mieszanki owsa z wyką jarą lepiej wykorzystywały warunki siedliskowe niż siewy czyste komponentów mieszanek. Jest to zbieżne z rezultatami badań Rudnickiego i Wasilewskiego [1993] oraz Taylora [1978].

Wnioski

1. Zmniejszenie plonu ziarna i nasion siewów czystych i mieszanek owsa z wyką jarą uprawianych w systemie ekologicznym w porównaniu z uprawą w systemie konwencjonalnym wyniosło 12%.
2. Wraz ze zmniejszaniem udziału w mieszankach owsa zmniejszał się łączny plon ziarna owsa i nasion wyki jarej. Powodem była 7-krotna różnica w plonie ziarna owsa w stosunku do plonu nasion wyki jarej.
3. Sąsiedztwo owsa z wyką jarą w mieszance uprawianej według zasad rolnictwa ekologicznego było mniej korzystne dla owsa, aniżeli w przypadku uprawy według zasad rolnictwa konwencjonalnego.
4. Mieszanki owsa z wyką jarą lepiej wykorzystywały warunki siedliskowe niż siewy czyste komponentów mieszanek.

Bibliografia

- Borowiecki J., Książek J., 2000. Rośliny strączkowe w mieszankach ze zbożami w produkcji pasz. *Post. Nauk Rol.* 2, 89–100.
- Idziak R., Michalski T., 2007. Reakcja roślin jęczmienia jarego i owsa na uprawę w mieszankach. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, z. 516; 45–53.
- Instrukcja nr 3 Ministrów Rolnictwa oraz Leśnictwa i Przemysłu Drzewnego z 6.03.1973 r w sprawie określania gruntów rolnych i leśnych zagrożonych erozją oraz zasad i trybu przeciwdziałania erozji. *Dz.U.* nr 48, poz. 283.
- Janowski B., Koreleski K., Jagła S., Michalczewski M., 1968. Charakterystyka występowania erozji powierzchniowej na terenie województwa rzeszowskiego. *Probl. Zagosp. Ziem Górs.* 6(19), 88–105.
- Józefaciuk C., Józefaciuk A., 1975. Komentarz do instrukcji w sprawie inwentaryzacji gruntów zagrożonych erozją. *Wyd. IUNG, Puławy*, 1–20.
- Kaczorowska Z. 1962. Opady w Polsce w przekroju wieloletnim. *Pr. Geogr. IG PAN*, 33, 1–107.
- Klima K., Pisulewska E., 2004. Reakcja owsa oplewionego i nieoplewionego na warunki opadowo-termiczne w terenach górskich. *Acta Agrophis.* 3(2), 271–280.
- Klima K., Mierzwa W., Zajac T., 1998. Ocena przebiegu granicy rolno-leśnej w zlewni Czarnianki, w południowo-zachodniej części Beskidu Niskiego. *Probl. Zagosp. Ziem Górs.* 44, 103–116.
- Kondracki J., 1977. Regiony fizycznogeograficzne Polski. *Wyd. Uniw. Warszawskiego, Warszawa*.
- Książek J., 2000. Plonowanie mieszanek grochu z jęczmieniem jarym w systemie uprawy ekologicznej. *J. Res. Appl. Agric. Engng.* 3, 200–204.
- Martini Z., 1965. Techniczne możliwości pracy maszyn rolniczych i narzędzi na stokach. *Kom. Zagosp. Ziem Górs.* 9, 133–139.
- Noworolnik K., 2000. Mieszanki zbożowo-strączkowe w systemie rolnictwa zrównoważonego. *Pam. Puł.* 120(2), 325–330.
- Oleksy A., Szmigiel A., 2005. Wielkość i struktura plonu mieszanek pszenżyta z pszenicą ozimą w zależności od udziału komponentów. *Biuletyn IHAR* 236, 65–74.
- Onkovich M.J., Pate J.S., 2000. An appraisal of recent field measurements of symbiotic N₂ fixation by annual legumes. *Field Crop Res.* 65, 211–228. [http://doi.org/10.1016/S0378-4290\(99\)00088](http://doi.org/10.1016/S0378-4290(99)00088)
- Park S.E., Benjamin L.R., Watkinson A.R., 2003. The theory and application of plant competition models: an agronomic perspective. *Ann. Bot.* 92, 741–748. <http://doi.org/10.1093/aob/mcg204>

- Parylak D., Zawieja J., Jędruszczak M., Stupnicka-Rodzinkiewicz E., 2006. Wykorzystanie zasiewów mieszanych, właściwości odmian lub zjawiska allelopatii w ograniczaniu zachwaszczenia. *Post. Ochr. Rośl.* 46(1), 33–44.
- Rao M.R., Rego T.J., Willey R.W., 1987. Response of cereals to nitrogen in solecropping and intercropping with different legumes. *Plant Soil* 101, 167–177. <http://doi.org/doi.org/10.1007/BFO2370641>
- Reichert J., Klima K. 1986. Studia nad systemami zagospodarowania stoku w strefie ekologicznej gruntów ornych w Beskidzie Sądeckim. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie. Sesja Nauk.* 15, 87–117.
- Rozbicki J. (red.), 2002. Produkcja i rynek zbóż. *Wiś Jutra*, Warszawa, 6–9.
- Rudnicki F., Wasilewski P., 1993. Badania nad uprawą jarych mieszanek zbożowych, Część II. Reakcja jęczmienia, owsa i pszenicy na uprawę w mieszanekach. *Roczniki AR w Poznaniu* 243, 65–72.
- Sobkowicz P., 2000. Wpływ konkurencji między jęczmieniem, owsem i pszenżytem w mieszanekach uprawianych w zróżnicowanej ilości wysiewu na plon białka. *Rocz. AR w Poznaniu* 325, *Rolnictwo* 58, 111–123.
- Sobkowicz P., 2003. Konkurencja międzygatunkowa w jarych mieszanekach zbożowych. *Zesz. Nauk. AR Wrocław, ser. Rozprawy* 194, ss. 105.
- Solarska E., 2007. Plonowanie i jakość pszenicy ozimej w zależności od systemu produkcji. W: *Wybrane zagadnienia ekologiczne we współczesnym rolnictwie*, Z. Zbytek (red.). Pr. PIMR Poznań 4, 21–32.
- Starkel L., 1972. Charakterystyka rzeźby polskich Karpat i jej znaczenie dla gospodarki ludzkiej. *Probl. Zagosp. Ziem Górs.*, 10, 75–150.
- Szpunar-Krok E., Bobrecka-Jamro D., Tobiasz-Salach R., 2008. Wpływ sposobu i intensywności uprawy na kształtowanie struktury plonu i plonowanie wyki siewnej (*Vicia sativa* L.). *Acta Sci. Pol. Agricultura* 7(3), 125–134.
- Taylor B.R., 1978. Studies on a barley-oats mixture. *J. Agric. Sci. Camb.* 91(3), 587–592. <https://doi.org/10.1017/S0021859600059979>
- Tyburski J., Rychcik B., Łada M., 2010. Plonowanie wybranych odmian pszenicy ozimej uprawianej w systemie rolnictwa ekologicznego na glebie ciężkiej. *Fragm. Agron.* 1, 186–194.
- Wanic M., Michalska M., 2009. Wpływ oddziaływania konkurencyjnego pomiędzy jęczmieniem jarym a grochem siewnym na zawartość makroelementów w różnych częściach roślin. *Fragm. Agron.* 26(3), 162–174.
- Vance C.P., 1998. Legume symbiotic nitrogen fixation: agronomic aspects. W: *The Rizobiaceae*, H.P. Spaink, A. Kondorosi, P.J.J. Hooykaas (eds). Kluwer Acad. Pub., 509–530. <http://doi.org/10.1046/j.1365-313>
- Yanbo X., Li L., Fusuo Z., 2004. Effect of root contact on interspecific competition and N transfer between wheat and fababean using direct and indirect ¹⁵N techniques. *Plant Soil* 262, 45–54. <http://doi.org/10.1023/B:PLSO.00000370019.34719>

Hubert Kulesza¹, Patrycja Mazur¹, Magdalena Tomczyńska¹, Michał Golubiewski¹,
Joanna Toporowska², Sylwia Sowa^{1,2}, Edyta Paczos-Grzęda^{1,2}

Ocena polimorfizmu DNA grzybów z gatunku *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* metodą SRAP

Assessment of DNA polymorphism of fungi *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*
by the SRAP method

Puccinia graminis jest grzybem należącym do typu *Basidiomycota*, klasy *Urediniomycetes*, rzędu *Uredinales* i rodziny *Pucciniaceae*, która zawiera 17 rodzajów i ok. 4121 gatunków, z których większość należy do rodzaju *Puccinia*. Gatunek ten wywołuje rdzę żdźbłową u co najmniej 365 gatunków zbóż i traw należących do 54 rodzajów [Leonard i Szabo 2005]. Choroba ta występuje w wielu regionach geograficznych, jednak głównie w tych o ciepłym klimacie [Dean i in. 2012]. Migracja zarodników z wiatrem na duże odległości sprawia, że napływ inokulum z odległych silnie zainfekowanych regionów skutkuje wybuchem epidemii w innym regionie [Martens i in. 1985].

P. graminis jest obligatoryjnym biotrofem atakującym części nadziemne roślin. W czasie infekcji głównie na żdźbłach i pochwach oraz blaszkach liściowych pojawiają się rdzawe skupiska grzybni i zarodników. Konsekwencją infekcji wywołanej przez *P. graminis* jest przerywanie dopływu składników odżywczych do rozwijających się wiech, co uniemożliwia prawidłowe wypełnienie ziarniaków. Ponadto żdźbła osłabione przez rdzę są podatne na wyleganie i związana z tym utratę plonu ziarna [Roelfs i in. 1992]. W obrębie gatunku *P. graminis* występuje wiele form specjalnych przystosowanych do infekowania konkretnych żywicieli [Roelfs 1985]. Biorąc pod uwagę gatunek rośliny żywicielskiej początkowo wyodrębniono sześć takich form: *tritici* (pszenica), *secalis* (żyto), *avenae* (owies), *agrostidis* (*Agrostis* spp.), *poae* (*Poa pratensis*) i *airae* (*Aira caespitosa*), a w miarę odnajdowania kolejnych żywicieli dodawano nowe formy specjalne. Na podstawie badań DNA Zambino i Szabo [1993] stwierdzili, że sekwencje ITS rDNA były identyczne dla izolatów ff. spp. *avenae*, *dactylis*, *lolii* i *poae*, ale różniły się od sekwencji DNA ff. spp. *tritici* i *secalis*, co wskazuje na podobieństwa i różnice pomiędzy poszczególnymi formami specjalnymi.

Najbardziej skuteczną metodą walki z rdzą żdźbłową, chorobą wywołaną przez *P. graminis*, jest wprowadzanie odporności warunkowanej genetycznie, a więc tworzenie

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobiotechnologii, SKN Bioinżynierów i Biotechnologów BioGen

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobiotechnologii, Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, edyta.paczos@up.lublin.pl

piramid genów odporności specyficznych dla rasy w nowych odmianach. Do ograniczenia występowania choroby przyczynia się również usunięcie żywiciela pośredniego, którym jest berberys. Tego typu podejście było szczególnie popularne w krajach Europy Północnej [Berlin i in. 2012]. Skuteczność takiego podejścia jest wysoka, gdyż powoduje ograniczenie różnorodności genetycznej i zapobiega pojawianiu się nowych zjadliwych ras w populacjach *P. graminis* [Miller i in. 2021]. Innym sposobem kontroli rozprzestrzeniania *P. graminis* jest stosowanie środków chemicznej ochrony roślin. Jednak w tym przypadku ograniczeniem jest przede wszystkim brak badań fungicydów pod kątem ich zastosowania w owsie, a w konsekwencji brak atestacji na ich zastosowanie w ochronie tego gatunku. Prowadzone badania wykazały, że zastosowanie fungicydów do ochrony wrażliwych na porażenie odmian owsa korzystnie wpływa na ilość i jakość plonu [May i in. 2014]. Jednocześnie wykorzystanie fungicydów na dużą skalę może skutkować pojawieniem się odporności w populacji grzyba [Nazareno i in. 2018, Wu i in. 2020].

Identyfikacji przynależności gatunkowej patogenów można dokonywać nie tylko za pomocą testów fitopatologicznych, ale również poprzez identyfikację markerów molekularnych specyficznych gatunkowo [Zambino i in. 2000]. Jednym ze sposobów na opracowanie takich markerów jest identyfikacja sekwencji specyficznych dla danego gatunku patogenu, a następnie opracowanie specyficznych starterów możliwych do wykorzystania w metodzie PCR (ang. *polymerase chain reaction*) czy real-time PCR. Do identyfikacji sekwencji specyficznych gatunkowo można wykorzystać różne metody, które generują polimorfizm losowy. Jedną z takich metod jest SRAP (ang. *sequence-related amplified polymorphism*) [Li i Quiros 2001]. Jako startery flankujące amplifikowany fragment z jednej strony wykorzystuje się sekwencje oligonukleotydowe bogate w GC, które z założenia hybrydują do egzonów, natomiast startery flankujące amplifikowany fragment ze strony przeciwnej wzbogacane są w zasady AT dzięki czemu mają powinowactwo do sekwencji promotorowych, intronów i regionów międzygenowych. Dla konkretnych gatunków podczas optymalizacji metody ustala się indywidualnie kombinacje starterów *forward* i *reverse* [Piechota i in. 2017]. Startery te zawierają trzy elementy: sekwencję wypełniającą, sekwencję rdzeniową (bogata w GC lub AT) oraz kilka końcowych nukleotydów selekcyjnych. Zaprojektowanie takich starterów nie wymaga znajomości sekwencji genomowej badanego organizmu. Atutem metody jest długość starterów wynosząca ok. 20 nukleotydów, która umożliwia zastosowanie stosunkowo wysokich, jak na startery losowe, temperatur przyłączania starterów w cyklach PCR. Profil termiczny reakcji SRAP obejmuje wstępne 5 cykli w niższej temperaturze w celu umożliwienia dołączenia tylko części 3' końcowej startera, podczas gdy w kolejnych cyklach temperatura przyłączania wzrasta do 50°C. Najczęstszym sposobem oceny produktów amplifikacji jest przeprowadzenie elektroforezy w żelu agarozowym, jednak istnieje możliwość wyznaczenia starterów fluorescencyjnie i zastosowania elektroforezy kapilarnej [Robarts i Wolfe 2014]. Metoda postrzegana jest jako wysoce powtarzalna i wiarygodna, a wyniki uzyskiwane z jej udziałem porównywalne do otrzymywanych w dużo bardziej skomplikowanej metodzie AFLP (ang. *amplified fragment length polymorphism*) [Li i Quiros 2001].

Celem niniejszej pracy była ocena możliwości wykorzystania metody SRAP do analizy polimorfizmu DNA izolatów *P. graminis* f. sp. *avenae*. Wśród uzyskanych frag-

mentów DNA poszukiwano głównie amplikonów monomorficznych, charakterystycznych dla wszystkich badanych genotypów *P. graminis*, które w przyszłości można będzie wykorzystać do opracowania wiarygodnych testów do identyfikacji infekcji tym patogenem w uprawach owsa nawet jeśli objawy infekcji nie są jeszcze widoczne.

Material i metody

Większość izolatów (tab. 1) *P. graminis* f. sp. *avenae* wykorzystanych w badaniach pochodziło z Polski, z miejscowości: Buślary, Czernin, Kołobrzeg, Czesławice i Polanowice, zaś jeden z miejscowości Aberystwyth w Walii (Wielka Brytania). Izolaty wyodrębniono z zebranych populacji metodą pięciokrotnego pasażowania kolonii pochodzących z pojedynczych zarodników. Pasażowanie prowadzono na fragmentach liści 10-dniowych siewek odmiany owsa zwyczajnego Kasztan wyłożonych na szalki Petriego, które wypełniono agarem (0,6%) z dodatkiem benzimidazolu (3,4 mM). Liście na szalkach inokulowano zarodnikami, a następnie umieszczano w fitotronie na 10 dni, w odpowiednich do wzrostu grzybni warunkach: temperaturze 17°C, natężeniu światła 4 klx i wilgotności powietrza 70%.

Tabela 1. Charakterystyka izolatów *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* wykorzystanych do analizy

Lp.	Nazwa	Lokalizacja	Region pochodzenia	Kraj pochodzenia
1	Buślary strig. SR 1	Buślary	woj. zachodniopomorskie	Polska
2	Buślary strig. SR 1/4	Buślary	woj. zachodniopomorskie	Polska
3	Czernin SR 2	Czernin	woj. zachodniopomorskie	Polska
4	Czernin SR 2 8/4	Czernin	woj. zachodniopomorskie	Polska
5	Kołobrzeg 2 strig. SR 2	Kołobrzeg	woj. zachodniopomorskie	Polska
6	Kołobrzeg 2 SR 5	Kołobrzeg	woj. zachodniopomorskie	Polska
7	Cz 2017 SR 3 Pc51	Czesławice	woj. lubelskie	Polska
8	Cz 2017 SR 3/5 Pc51	Czesławice	woj. lubelskie	Polska
9	Pol 2017 SR 7	Polanowice	woj. małopolskie	Polska
10	Pol 2017 SR 7/4	Polanowice	woj. małopolskie	Polska
11	Aber CH SR	Aberystwyth	Walia	Wielka Brytania

Po upływie 10 dni zarodniki zbierano, przy czym namnażanie izolatów przeprowadzano kilkakrotnie aż do uzyskania ok. 50 mg zarodników, z których następnie przeprowadzono izolację całkowitego DNA z wykorzystaniem zestawu Plant & Fungi DNA Purification Kit (EURx, Polska). Materiał izolowano według procedury opisanej przez producenta. Wyizolowane DNA zamrożono w temperaturze -20°C aż do czasu prowadzenia analiz.

Wstępną ocenę jakości wyizolowanych preparatów DNA, mająca na celu określenie stopnia degradacji kwasów nukleinowych przeprowadzano początkowo elektroforezami. Elektroforeza wykonywana była w obecności bromku etydyny ($50 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) w 1-proc. żelu agarozowym, w buforze $1 \times \text{TBE}$ (89 mM Tris-boran, $2,5 \text{ mM}$ EDTA) przez 1 godzinę przy napięciu 120 V z użyciem zestawu do elektroforezy poziomej Agagel Maxi (Biometra). Efekt rozdziału zwizualizowano w świetle UV i udokumentowano przy użyciu aparatu fotograficznego. Stężenie oraz czystość wyizolowanego DNA sprawdzono z wykorzystaniem spektrofotometru Nanodrop 2000 (Thermo Fisher). W kolejnym etapie preparaty DNA doprowadzono do jednakowego stężenia $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$.

Amplifikację przeprowadzono z użyciem metody SRAP z zastosowaniem 8 par starterów (tab. 2). W skład mieszaniny reakcyjnej o objętości $10 \mu\text{l}$ wchodziły: $1 \times$ bufor do PCR (75 mM Tris-HCl pH 8,8; 20 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $0,01\%$ Tween 20) (Thermo Fischer); $200 \mu\text{M}$ każdego dNTP; $0,5 \mu\text{M}$ startera Forward; $5 \mu\text{M}$ startera Reverse; 2 mM MgCl_2 ; 20 ng genomowego DNA; $0,5 \text{ U}$ *Dream Taq* Polymerase (Thermo Fisher). Reakcja PCR przeprowadzona została w termocyklerze TProfessional Basic firmy Biometra®. Zastosowano następujący profil termiczny: wstępna denaturacja przez 3 min. w 94°C , 5 cykli: denaturacja $94^\circ\text{C} - 45 \text{ s}$; przyłączanie starterów $35^\circ\text{C} - 45 \text{ s}$; wydłużanie starterów $72^\circ\text{C} - 1 \text{ min}$; 36 kolejnych cykli: denaturacja $94^\circ\text{C} - 45 \text{ s}$, przyłączanie starterów $50^\circ\text{C} - 45 \text{ s}$, wydłużanie starterów $72^\circ\text{C} - 1 \text{ min}$, z końcową inkubacją 7 min w 72°C .

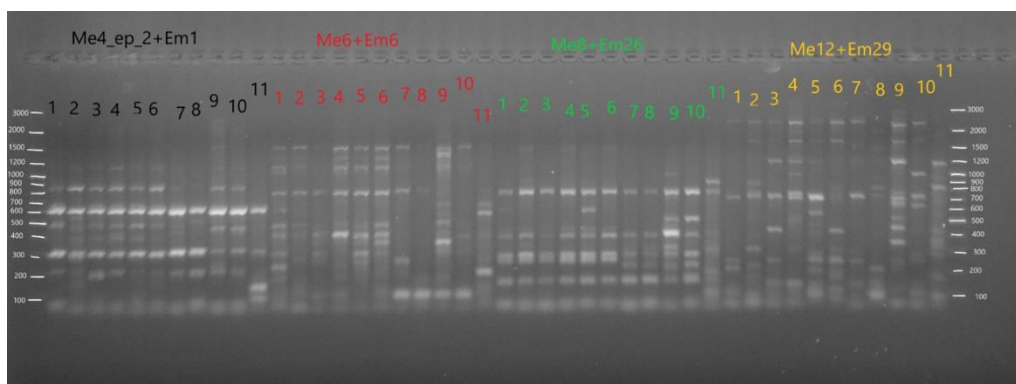
Produkty amplifikacji rozdzielano w 2-proc. żelu agarozowym z $0,01\%$ EtBr w buforze TBE przez 3 godziny przy napięciu 120 V . Efekt rozdziału zwizualizowano w świetle UV i sfotografowano wykorzystując system do dokumentacji żeli. Otrzymane zdjęcia analizowano przekształcając na matrycę binarną. Obecność produktu SRAP oznaczano jako 1, zaś jego brak jako 0. Uzyskaną matrycę poddano analizie statystycznej przy użyciu programu komputerowego Office Excel 2016 (Microsoft, Redmond, USA) oraz w programie PAST 3.19 [Hammer i in. 2001]. Przeprowadzono analizę podobieństwa genetycznego Dice'a [Dice 1945] oraz skonstruowano dendrogram metodą UPGMA (Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean) [Sokal and Michener 1958].

Wyniki i dyskusja

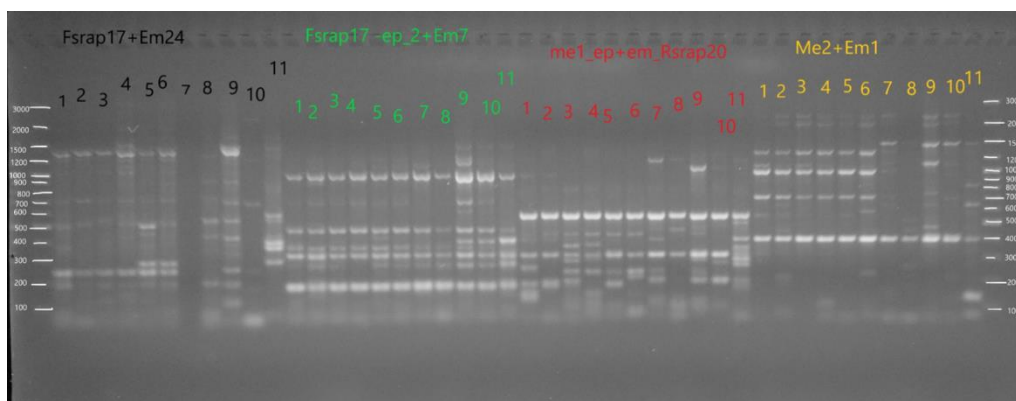
Aby sprawdzić możliwość wykorzystania metody SRAP do analizy polimorfizmu DNA *P. graminis* f. sp. *avenae* przeprowadzono reakcje z DNA izolatów grzyba z wykorzystaniem wyselekcjonowanych we wcześniejszych badaniach ośmiu par starterów, które inicjowały amplifikację największej liczby łatwo rozróżnialnych produktów (ryc. 1–2).

Osiem kombinacji starterów SRAP inicjowało łącznie amplifikację 121 typów amplikonów DNA, z których 103 (84,3%) było polimorficznych, zaś 19 (15,7%) monomorficznych (tab. 2). Średnio na jedną kombinację starterów powstawało 15,1 produktów, w tym 12,7 polimorficznych oraz 2,4 monomorficznych. Największą liczbę amplifikowanych produktów zaobserwowano w kombinacji Me2 + Em1, najmniejszą dla Fsrp17_2 + Em7. Powstanie największej liczby produktów polimorficznych inicjowała kombinacja Me2 + Em1, podczas gdy najmniej takich amplikonów obserwowano dla kombinacji Me8 + Em26. Produkty monomorficzne nie pojawiły się w obecności starterów Fsrp17 + Em24 oraz Me6 + Em6. Syntezę aż pięciu produktów monomorficznych zainicjowały pary:

Fsrp17_2 + Em7 oraz Me8 + Em26, a cztery takie produkty powstały w kombinacji Me4 + Em1. Kombinacje Me1 + Em_Rsrp20 oraz Me12 + Em29 rozpoczynały syntezę dwóch, a para starterów Me2 + Em1 – jednego produktu monomorficznego.



Ryc. 1. Amplifikacja 11 matryc DNA z użyciem starterów SRAP (Me4 + Em1, Me6 + Em6, Me8 + Em26, Me12 + Em29)



Ryc. 2. Amplifikacja 11 matryc DNA z użyciem starterów SRAP (Fsrp17 + Em24, Fsrp17_2 + Em7, Me1 + Em_Rsrp20, Me2 + Em1)

Na podstawie polimorfizmu zidentyfikowanego metodą SRAP dla 11 izolatów *P. graminis* określono dystans genetyczny pomiędzy nimi. Średnia wartość dystansu wynosiła 0,667, wahając się od 0,480 pomiędzy izolatem Buślary strig SR 1, a Aber CH SR do 0,891 pomiędzy Kołobrzeg 2 strig SR, a Kołobrzeg 2 SR 5 (tab. 3). Średnie podobieństwo izolatu z Wielkiej Brytanii do izolatów pochodzących z Polski wyniosło 0,530 i było niższe od średniego podobieństwa wszystkich izolatów. Jednocześnie podobieństwo pomiędzy izolatami pochodzącymi z Polski wyniosło średnio 0,698.

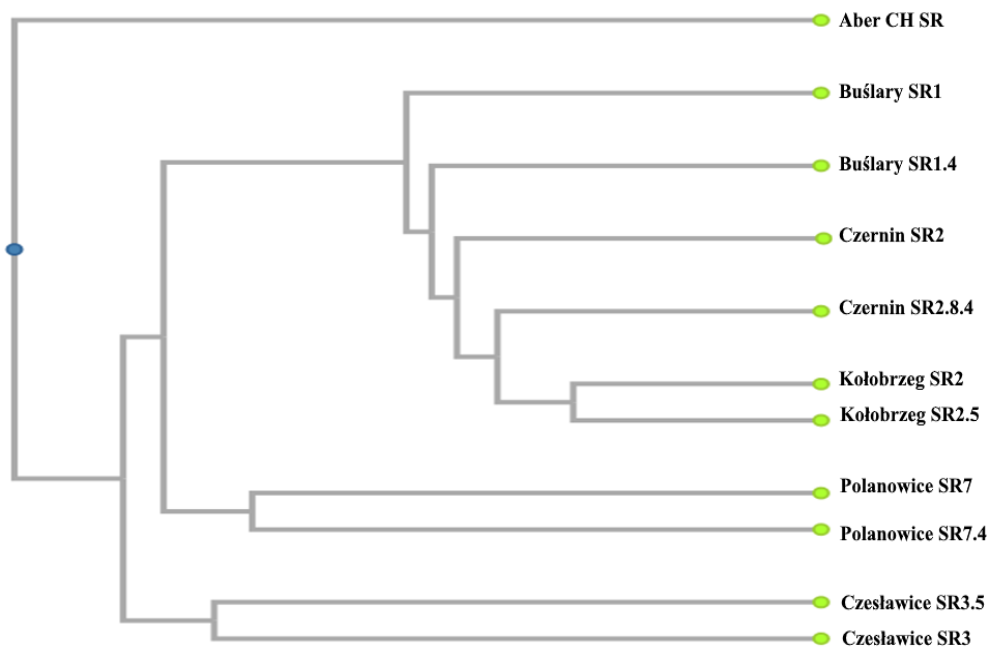
Tabela 2. Charakterystyka polimorfizmu badanych izolatów *Puccinia graminis* f.sp. *avenae* zidentyfikowanego metodą SRAP

Lp.	Starter F	Sekwencja 5' – 3'	Starter R	Sekwencja 5' – 3'	Liczba fragmentów		
					całkowita	polimorficznych	monomorficznych
1	Fsrp17	GATCCAGTTACCGGCAC	Em24	GACTGCGTACGGAATTCAG	15	15	0
2	Fsrp17_2	GATCCAGTTACCATGGCTC	Em7	GACTGCGTACGGAATTCAA	11	6	5
3	Me1	TGAGTCCAAAATGGCGATA	Em_Rstrap20	GACACCGTACGGAATTCAG	18	16	2
4	Me2	GACTGCGTACGGAATTAAT	Em1	GACTGCGTACGGAATTAAT	20	19	1
5	Me4	TGAGTCCAAAACCATGGCTC	Em1	GACTGCGTACGGAATTAAT	15	11	4
6	Me6	TGAGTCCAAAACCGGTAA	Em6	GACTGCGTACGGAATTCGA	13	13	0
7	Me8	TGAGTCCAAAACCGGTGC	Em26	GACTGCGTACGGAATTCGG	12	7	5
8	Me12	TGAGTCCAAAACCGGAGG	Em29	GACTGCGTACGGAATTAAT	17	15	2
Suma					121	103	19
Średnia					15,1	12,7	2,4
%					100	84,3	15,7

Tabela 3. Matryca indeksów dystansu genetycznego Dice'a pomiędzy analizowanymi izolatami *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* określonych na podstawie polimorfizmu identyfikowanego metodą SRAP

	Buślary strig. SR 1/4	Czernin SR 2	Czernin SR 2 8/4	Kołoברzeg 2 strig. SR 2	Kołoברzeg 2 SR 5	Cz2017 SR 3 Pc51	Cz17 SR 3/5 Pc51	Pol 2017 SR 7	Pol 2017 SR 7/4	Aber CH SR
Buślary strig. SR 1	0,811	0,816	0,785	0,830	0,744	0,652	0,607	0,610	0,596	0,480
Buślary strig. SR 1/4		0,804	0,811	0,836	0,818	0,602	0,602	0,639	0,673	0,538
Czernin SR 2			0,835	0,863	0,843	0,635	0,588	0,632	0,644	0,542
Czernin SR 2 8/4				0,811	0,847	0,617	0,596	0,667	0,646	0,495
Kołoברzeg 2 strig. SR 2					0,891	0,645	0,581	0,656	0,653	0,519
Kołoברzeg 2 SR 5						0,645	0,645	0,689	0,673	0,538
Cz2017 SR 3 Pc51							0,684	0,590	0,691	0,552
Cz17 SR 3/5 Pc51								0,590	0,593	0,621
Pol 2017 SR 7									0,709	0,517
Pol 2017 SR 7/4										0,500

Posługując się uzyskanymi wynikami przeprowadzonej reakcji SRAP skonstruowano dendrogram z wykorzystaniem metody UPGMA (ryc. 3). Na dendrogramie wyodrębniono jedną główną grupę skupień obejmujących 10 izolatów z Polski, zaś na obrzeżach dendrogramu usytuował się izolat pochodzący z Wielkiej Brytanii. W obrębie głównej grupy skupień wspólnemu klastrowaniu uległy izolaty z Kołoברzegu: Kołoברzeg 2 strig. SR1 i Kołoברzeg 2 SR5, Czesławic: Cz 2017 SR3 Pc51 i Cz 2017 SR3/5 Pc51, Polanowic: POL 2017 SR7 i POL 2017 SR 7/4. Izolaty zebrane w Kołoברzegu utworzyły podgrupę z pozostałymi izolatami pochodzącymi z Polski północno-wschodniej: Buślary strig. SR 1 i Buślary strig. SR 1/4 oraz Czernin SR 2 i Czernin SR 2 8/4. Zaobserwowane grupowanie odpowiadało pochodzeniu geograficznemu badanych izolatów. Korelacja pomiędzy pochodzeniem geograficznym a podobieństwem genetycznym izolatów obserwowana była również przez innych autorów [Szabo i in. 2014].



Ryc. 3. Dendrogram badanych izolatów *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* uzyskany metodą UPGMA w oparciu o polimorfizm identyfikowany za pomocą metody SRAP

Podsumowanie

W oparciu o uzyskane wyniki można stwierdzić, że wykorzystana w pracy metoda jest wiarygodna do oceny zróżnicowania genetycznego *P. graminis* f. sp. *avenae*, gdyż określone na podstawie polimorfizmu podobieństwo izolatów odpowiadało pochodzeniu geograficznemu badanych materiałów. Ponadto duża liczba fragmentów monomorficznych wskazuje na możliwość uzyskania specyficznych dla *P. graminis* f. sp. *avenae* sekwencji DNA, które można będzie przekształcić do warunków specyficznego PCR. Z uwagi na to, że w amplifikacji metodą SRAP wykorzystywane są dwa różne startery, sekwencjonowanie produktów będzie poprzedzone jedynie izolacją z żelu, bez konieczności ich klonowania. Klonowanie jest metodą stosunkowo drogą i skomplikowaną, a więc możliwość uniknięcia tego etapu dodatkowo wskazuje, że metoda SRAP idealnie nadaje się do pozyskiwania specyficznych gatunkowo produktów amplifikacji. Specyficzne dla gatunku markery zostały z powodzeniem opracowane do identyfikacji fitopatogennych grzybów, takich jak *Bipolaris sorokiniana* [Aggarwal i in. 2011], *Tilletia controversa* [Gao i in. 2011] czy *Fusarium mangiferae* [Wu i in. 2016].

Bibliografia

- Aggarwal R., Gupta S., Banerjee S., Singh V.B., 2011. Development of a SCAR marker for detection of *Bipolaris sorokiniana* causing spot blotch of wheat. *Can. J. Microbiol.* 57, 934–942. <http://doi.org/10.1139/w11-089>
- Berlin A., Djurlje A., Samils B., Yuen J., 2012. Genetic variation in *Puccinia graminis* collected from oats, rye and barberry. *Phytopathology* 102, 1006–1012. <http://doi.org/10.1094/PHYTO-03-12-0041-R>
- Dean R., Van Kan J.A., Pretorius Z., Hammond-Kosack K., Pietro A., Spanu P., Rudd J., Dickman M., Kahmann R., Ellis J., Foster G., 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13(4), 414–430. <http://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Dice L.R., 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 26(3), 297–302. <http://doi.org/10.2307/1932409>
- Gao L., Chen W.Q., Liu T.G., 2011. An ISSR-based approach for the molecular detection and diagnosis of dwarf bunt of wheat, caused by *Tilletia controversa* Kühn. *J. Phytopathol.* 159, 155–158. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2010.01735.x>
- Hammer Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4(4), 1–9. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
- Leonard K.J., Szabo L.J., 2005. Stem rust of small grains and grasses caused by *Puccinia graminis*. *Mol. Plant Pathol.* 6(2), 99–111. <http://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00273.x>
- Li G., Quiros C.F., 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theor. Appl. Genet.* 103, 455–461. <http://doi.org/10.1007/s001220100570>
- Martens J.W., 1985. Oat stem rust. W: Roelfs A.P., Bushnell W.R., The cereal rust. Vol. II. Diseases, distribution, epidemiology and control. Academic Press INC., London, 116–142. <http://doi.org/10.1016/C2013-0-10449-7>
- May W.E., Ames N., Irvine R.B., Kutcher H.R., Lafond G.P., Shirliffe S.J., 2014. Are fungicide applications to control crown rust of oat beneficial? *Can. J. Plant Sci.* 94, 911–922. <http://doi.org/10.4141/CJPS2013-333>
- Miller M.E., Nazareno E.S., Rottschaefer S.M., Riddle J., Dos Santos Pereira D., Li F., Nguyen-Phuc H., Henningsen E.C., Persoons A., Saunders D.G.O. Stukenbrock E., Dodds P.N., Kianian S.F., Figueroa M., 2021. Increased virulence of *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* populations through allele frequency changes at multiple putative Avr loci. *PLOS Genetics* 16(12):e1009291. <http://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009291>
- Nazareno S.E., Li F., Smith M., Park R.F., Kinian S.F., Figuereroa M., 2018. *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*: a threat to global oat production. *Mol. Plant Pathol.* 19 (5), 1047–1060. <http://doi.org/10.1111/mpp.12608>
- Piechota U., Pietrusińska A., Smolińska K., Czembor J.H., 2017. Nowoczesne technologie genotypowania wykorzystywane do analizy zmienności w obrębie kolekcji zgromadzonych w Krajowym Centrum Roślinnych Zasobów Genowych w Radzikowie (IHAR-PIB). *Agron. Sci.* 72(4), 67–76. <http://doi.org/10.24326/as.2017.4.7>
- Roberts D., Wolfe A.D., 2014. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers: a potential resource for studies in plant molecular biology. *Appl. Plant Sci.* 2(7), 1400017. <http://doi.org/10.3732/apps.1400017>
- Roelfs, A.P., 1985. Wheat and rye stem rust. In the cereal rusts. Vol. 2. A.P. Roelfs and W.R. Bushnell (eds). Academic Press, Orlando, FL, pp. 3– 37. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-10449-7>

- Roelfs, A.P., Singh, R.P., Saari, E.E., 1992. Rust diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexico, DF. <https://hdl.handle.net/10883/1153>
- Sokal, R.R., Michener, C.D., 1958. A statistical methods for evaluating relationships. University of Kansas Science Bulletin, 38, 1409–1448.
- Szabo L., Cuomo Ch., Park R., 2014. *Puccinia graminis*. W: Dean R., Lichens-Park A., Kole Ch., Genomics of plant-associated fungi: monocot pathogens. Springer–Heidelberg–New York–Dordrecht–London, 177–197. http://doi.org/10.1007/978-3-662-44053-7_8
- Wu J.B., Liu F., Zhan R.L., Li G.P., Zhao Y.L., Chang J.M., He Y.B., 2016. Development of a sensitive molecular detection assay for mango malformation disease caused by *Fusarium mangiferae*. Biotechnol. Lett., 38, 835–840. <http://doi.org/10.1007/s10529-016-2048-9>
- Wu X., Bian Q., Lin Q., Sun Q., Ni X., Xu X., Qiu Y., Xuan Y., Cao Y., Li T., 2020. Sensitivity of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* isolates from China to triadimefon and cross-resistance against diverse fungicides. Plant Dis. 104(8), 2082–2085. <http://doi.org/10.1094/PDIS-01-20-0009-RE>
- Zambino, P.J., Szabo, L.J., 1993. Phylogenetic relationships of selected cereal and grass rusts based on rDNA sequence analysis. Mycologia, 85, 401–414. <http://doi.org/10.2307/3760702>
- Zambino, P.J., Kubelik, A.R., Szabo, L.J., 2000. Gene action and linkage of avirulence genes to DNA markers in the rust fungus *Puccinia graminis*. Phytopathology 90, 819– 826. <http://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.8.819>

Rola biostymulatorów roślinnych w zrównoważonym rolnictwie

The role of plant biostimulants in sustainable agriculture

We współczesnej produkcji rolnej istotny wpływ na ilość i jakość plonu mają substancje wprowadzane przez rolników na pola [Gomiero 2018] takie jak nawozy, środki ochrony roślin (ŚOR), odżywki oraz modyfikatory [Davydov i in. 2018]. Obecnie rynek produktów wykorzystywanych w uprawie roli jest na tyle bogaty, że rolnicy korzystają z usług doradców specjalistów w wyborze odpowiednich preparatów [Fecke i in. 2018]. Rolnictwo konwencjonalne charakteryzuje się dużym zużyciem nawozów oraz ŚOR [Davydov i in. 2018].

Wpływ tego sposobu produkcji rolnej na środowisko jest bardzo wyraźny w skali lokalnej oraz globalnej. Dowiedziono straty oraz wymywanie dużej części nawozów stosowanych pod uprawy [Khan i in. 2018]. Składniki odżywcze trafiają do cieków i zbiorników wodnych powodując eutrofizację. Skutkiem eutrofizacji są nadmierne zakwitki sinic oraz glonów, co wpływa na pogorszenie się ekologicznego oraz fizyko-chemicznego stanu wód [Khan i in. 2018]. Uprawy muszą być chronione przed szkodnikami, chorobami, chwastami i innymi formami uszkodzeń. W tym celu stosuje się środki ochrony roślin. Produkty te są używane, aby zwiększyć produkcję rolną i jakość plonu przez tłumienie lub eliminowanie niepożądanych organizmów, które zakłócają wzrost roślin lub powodują ich obumarcie [Hough 2021, Tang i in. 2021]. Potrzeba utrzymania zadowalającej wydajności produkcji rolnej oraz model uprawy monokulturowej i wielkoobszarowej spowodował wysokie zużycie ŚOR. Stosowanych jest wiele środków z udowodnionym i istotnym negatywnym wpływem na środowisko naturalne [Hough 2021].

Celem pracy jest identyfikacja potencjalnych zastosowań środków biostymulujących w ograniczaniu negatywnego wpływu stosowania nawozów oraz ŚOR na ekosystemy naturalne.

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk i Zwierzętach i Biogospodarki, Studenckie Koło Naukowe Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Piejak1111100@gmail.com

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk i Zwierzętach i Biogospodarki, Katedra Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska.

Wyzwania rolnictwa konwencjonalnego i zrównoważonego

Organofosforany to klasa pestycydów, które są toksyczne dla szerokiej gamy owadów i mogą być niebezpieczne również dla ptaków i ssaków [Sidhu i in. 2019]. Wykazuje, że są niszczące dla populacji pszczół i innych zapylaczy, trudno degradowalne i, wymywając się do wód powierzchniowych, zanieczyszczają ekosystemy wodne, będąc również zagrożeniem dla człowieka [Sidhu i in. 2019]. Neonikotynoidy to klasa pestycydów, które zostały powiązane z globalnym spadkiem populacji pszczół. Są również niebezpieczne dla innych pożytecznych owadów oraz zanieczyszczają glebę i wodę [Michel 2020]. Najczęściej stosowanym środkiem i obecnie nieodłącznym w produkcji rolnej jest glifosat. Powiązano obecność glifosatu w żywności z ryzykiem zachorowania na raka. Udowodniono jego niszczący wpływ na środowisko naturalne [Maggi i in. 2020]. Stosowanie glifosatu może również doprowadzić do powstawania chwastów coraz bardziej odpornych na działanie tej substancji, skutkując potrzebą stosowania mocniejszych środków [Maggi i in. 2020].

Negatywne skutki rolnictwa konwencjonalnego doprowadziły do rozwoju konceptu rolnictwa zrównoważonego, którego celem jest przemyślane i mniej intensywne stosowanie substancji szkodliwych [Pretty 2018]. Zrównoważone rolnictwo jest często przedstawiane jako zbiór idealnych celów do osiągnięcia. Aby osiągnąć te cele, proponowane lub krytykowane są różne metody i koncepcje, które powinny lub nie powinny być stosowane w danym obszarze działalności rolniczej [Gunton i in. 2016]. Dla zrównoważonej produkcji rolnej najważniejszymi założeniami i jednocześnie wyzwaniami są wydajność, substytucja i przeprojektowanie [Pretty 2018]. Wydajność oznacza zachowanie produkcji rolnej na zadowalającym poziomie, jest to istotne z powodu bezpieczeństwa żywnościowego oraz konkurencyjności produkcji krajowej. Istnieją doniesienia mówiące o znacznym zmniejszeniu produkcji rolnej wraz z udziałem rolnictwa ekologicznego [Connor 2018]. Duży nacisk jest więc kładziony na rozwiązania, które przyczyniają się do osiągnięcia celów zrównoważonego rozwoju, nie zmniejszając wydajności jednostkowej, uwzględniając fakt, iż w państwach rozwiniętych zasoby gruntów ornych są wyczerpane i stale się zmniejszają [Gunton i in. 2016].

Założeniem nierozzerwalnie związanym z wydajnością jest zastępowanie. Jest to stosowanie alternatywnych rozwiązań, o mniejszym negatywnym wpływie na środowisko [Pretty 2018]. Do rozwiązań takich zaliczyć można zarówno metody agrotechniczne (np. uprawa bezorkowa, rośliny okrywowe), stosowane środki (np. szczepionki mikoryzowe, preparaty algowe) oraz czynności pośrednie (np. technologia składowania plonów, rolnictwo i żywność lokalna) [Tataridas i in. 2022, Boix-Fayos i de Vente 2023]. Wydajność i zastępowanie nie są wystarczające do osiągnięcia zrównoważonego rolnictwa bez przeprojektowania go [Pretty i in. 2018]. W ramach obecnych procesów produkcyjnych zastępowanie jest stopniowe i wybiórcze. Przeprojektowanie polega na zmianie systemu produkcji rolnej, przez co jest opisywane jako pojęcie teoretyczne, utopijne [Tilman i in. 2011].

Rolnictwo zrównoważone odgrywa coraz większą rolę i jest coraz mocniej promowane [Clapp i Ruder 2020]. Dla polskiego rolnictwa istotne znaczenie w kontekście rolnictwa zrównoważonego ma polityka Zielony Ład oraz jej element – Strategia od Pola do Stołu [Bloomfield i Steward 2020, Leonard i in. 2021]. Do 2030 r. Komisja Europejska

wyznaczyła dodatkowe kroki w celu zmniejszenia o połowę ilości całkowitego stosowania pestycydów chemicznych oraz silnego ograniczenia stosowania środków bardziej niebezpiecznych [Boix-Fayos i de Vente 2023]. Nadmiar składników odżywczych (zwłaszcza azotu i fosforu) w środowisku naturalnym spowodowany jest nadmiernym wykorzystaniem nawozów mineralnych oraz faktem, że nawozy stosowane w rolnictwie nie są skutecznie wchłaniane przez rośliny, w wyniku czego nie są efektywnie wykorzystywane [Niu i in. 2021]. Komisja Europejska podejmie działania mające na celu zmniejszenie strat składników pokarmowych o co najmniej 50%. Pozwoli to zminimalizować stosowanie nawozów o 20% do 2030 r. Celem jest również zwiększenie areału upraw ekologicznych do 25% całkowitego areału upraw [Bloomfield i Steward 2020].

Biostymulatory roślinne – charakterystyka

Jednym z alternatywnych rozwiązań dla zrównoważonego rolnictwa jest stosowanie biostymulatorów. Cytując Europejską Radę Przemysłu Biostymulatorów, biostymulator to produkt „zawierający substancje i/lub mikroorganizmy, których funkcją w przypadku zastosowania dolistnego lub doglebowego jest stymulowanie naturalnych procesów w celu zwiększenia pobrania składników odżywczych, tolerancji na stres abiotyczny oraz poprawy jakości plonów” [EBIC 2012]. Zasada działania wielu biostymulatorów roślinnych nie jest wystarczająco dobrze poznana. Definicja podana przez EBIC mówi także, że działanie biostymulatorów nie polega na dostarczeniu substancji odżywczych (rola nawozów), nie polega również na hamowaniu negatywnego oddziaływania patogenów (rola ŚOR). Biostymulatory poprawiają produkcję roślinną przez ingerencję w szlaki sygnalizacyjne roślin, ograniczając w ten sposób negatywne reakcje roślin na stres [Brown i Saa 2015].

Istnieje szereg badań wykazujących, że cząsteczki sygnalizacyjne produkowane przez rośliny lub mikroorganizmy modulują reakcje roślin na stresy i warunki środowiska [Arthur i in. 2013, Yakhin i in. 2017]. Biostymulatory mogą oddziaływać bezpośrednio na szlaki sygnalizacyjne roślin lub stymulować bakterie i grzyby do produkcji związków korzystnych dla roślin. W licznych badaniach wykazano poprawę wzrostu i plonowania po zastosowaniu biostymulatorów [Arthur i in. 2013, Xu i Geelen 2018, Arahou i in. 2022]. Pozytywny wpływ polegał na zwiększeniu pobierania składników pokarmowych, przyspieszeniu metabolizmu, poprawie efektywności fotosyntezy, podziałów komórkowych lub stymulacji określonych czynności jak kwitnienie czy zawiązywanie owoców. Biostymulatory stanowią unikalną technikę regulacji procesów fizjologicznych roślin w celu przyspieszenia wzrostu, złagodzenia ograniczeń spowodowanych stresem i zwiększenia plonów bez zwiększenia dawki nawozów [Yakhin i in. 2017].

Środki o działaniu biostymulującym

Większość stosowanych obecnie biostymulatorów to mieszaniny substancji pochodzących z procesów biologicznych lub ekstrakcji materiału biologicznego [Yakhin i in. 2017]. Złożoność tych mieszanin jest często uważana za podstawę dla funkcji biostymulującej, a biostymulatory jako mieszanina mogą posiadać działanie, które jest niemożliwe

do określenia, gdy znane są właściwości poszczególnych składników lub ich kombinacji. Środki biostymulujące często nie mają określonego i ścisłego składu. Ich właściwości mieszaniny sprawiają, że oprócz działania biostymulującego często są też odżywką, środkiem nawożeniowym czy regulatorem wzrostu, przez co bezpośrednie określenie działania biostymulującego jest bardzo trudne [Brown i Saa 2015].

Przykładem biostymulatora może być ekstrakt z wodorostów. Wodorosty od setek lat stosowane są jako organiczny nawóz przez rolników żyjących u wybrzeży mórz. Wodorosty takie jak *Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum* produkują substancje obecne również w roślinach uprawnych – aminokwasy, witaminy, substancje fenolowe, kwasy organiczne – wykazujące działanie biostymulujące [Craigie 2011, Peng i in. 2015]. Oprócz tego w biomacie wodorostów znajdują się fitohormony i ich prekursorzy oraz minerały. Taki zestaw działa kompleksowo, modulując wiele procesów fizjologicznych rośliny, jednak odpowiedź poszczególnych procesów fizjologicznych jest zależna od gatunku [Ali i in. 2021].

Na podstawie materiału, z którego otrzymywany jest biostymulator wyróżnić można preparaty bakteryjne, grzybowe, algowe, roślinne, zwierzęce oraz odpadowe [Yakhin i in. 2017]. Możliwość pozyskiwania biostymulatorów z odpadów takich jak produkty uboczne odzwierzęce, kompost, masa pofermentacyjna czy grzybnia sprawia, że mogą one być częścią systemu gospodarki o obiegu zamkniętym. Kwasy humusowe oraz ekstrakty z wodorostów działają ogólnie stymulująco i regulująco. Natomiast istnieją produkty przygotowane specjalnie do działania na dany proces fizjologiczny. W sadownictwie często stosuje się wybrane aminokwasy w odpowiednim momencie, aby uzyskać pożądaną efekt. Przykładowo tryptofan przyspiesza syntezę auksyny, która reguluje wydłużanie łodyg i korzeni, rozwój pąków liściowych. Glicyna i kwas glutaminowy są istotnymi składnikami chlorofilu, wspomagają więc syntezę asymilatów podczas fotosyntezy. Lizyna i metionina zwiększają kiełkowanie ziarna i rozwój łagiewki pyłkowej, gdy są dostarczane przed kwitnieniem [Santos i in. 2019, Shahrajabian i in. 2022].

W kontekście zrównoważonego rolnictwa działanie biostymulatorów jest wielokierunkowe i zależy od stosowanej dawki oraz rodzaju produktu. Wybrane eksperymenty przedstawiające wpływ stosowania biostymulatorów wykazały wzrost plonowania od 11% do 42%, z podkreśleniem, że były to wartości maksymalne, a wyniki są zróżnicowane zarówno pomiędzy stosowanymi dawkami, jak i pomiędzy eksperymentami [Abou-Zaid i Shabaan 2019, Uddin i in. 2019, Yanni i in. 2020].

Coraz większe znaczenie w produkcji biostymulatorów zyskują mikroalgi [Osanai i in. 2017]. Są to jednokomórkowe glony oraz cyjanobakterie unoszące się w toni wodnej. Ich monogenne rozmieszczenie, wysoka zawartość składników bioaktywnych i odżywczych oraz kilkukrotnie większe tempo produkcji pierwotnej sprawiają, że powstają kolejne zakłady i farmy zajmujące się hodowlą mikroalg [Osanai i in. 2017]. Zdecydowanie najprostsze w uprawie i uniwersalne są cyjanobakterie z rodzaju *Arthrospira* popularnie zwane spiruliną [Godlewska i in. 2019]. Wykorzystanie zaprojektowanych do hodowli mikroalg fotobioreaktorów oraz odpowiedni dobór szczepu skutkują bardzo wysoką wydajnością oraz kontrolą procesów hodowli. Profesjonalna hodowla mikroalg jest bardzo wydajna w przeliczeniu na powierzchnię, co sprawia, że powoduje minimalną konkurencję z gruntami ornymi, co więcej, mikroalgi mogą być implementowane do istniejącej infrastruktury [Singh i Sharma 2012]. Wykazano bioakumulację w biomacie mikroalg

dwutlenku węgla ze spalania węgla, przez dyfuzję w podłożu hodowlanym *Chlorella vulgaris* oraz *Arthrospira maxima* [Duarte i in. 2017, Iamtham i Sornchai 2022]. Zabieg ten poskutkowało zmniejszeniem emisji dwutlenku węgla nawet o 50% oraz zmniejszeniem kosztów hodowli mikroalg, wpisując się również w ideę up-cyclingu i gospodarki o obiegu zamkniętym.

Działanie biostymulatorów polegające na zwiększaniu przyswajania składników pokarmowych zwiększa efektywność stosowania nawozów, co może polepszyć jakość i zwiększyć ilość plonu lub zmniejszyć zużycie nawozów nawet o 25% przy podobnym plonie. W konsekwencji wpływa również na zmniejszenie ilości nawozów przedostających się do środowiska [Brown i Saa 2015, Arahou i in. 2022]. Wzmacnianie odporności na stropy środowiskowe skutkuje zwiększeniem bezpieczeństwa żywnościowego przez zmniejszenie skutków negatywnych zjawisk takich jak susze, przymrozki [Rouphael i Colla 2018]. Konsekwencją zwiększonej odporności może być również zmniejszenie zużycia ŚOR. Możliwość modyfikacji i dopasowywania procesów fizjologicznych rośliny do oczekiwań i okoliczności jest nieoczywistą korzyścią, jednak pozwala na świadome podejmowanie decyzji o przyspieszeniu kwitnienia, przebudzenia oraz wpływu na cechy plonu poprzez np. stymulację zawiązywania owoców [Sperotto i in. 2016].

Podsumowanie

Potrzeba dążenia do bardziej zrównoważonych metod uprawy rolnej wynika z negatywnych skutków, jakie niesie rolnictwo konwencjonalne. Podejmowane są działania w celu szybszego osiągnięcia celów zrównoważonego rozwoju. Dla Polski jednym z najistotniejszych działań jest Zielony Ład oraz strategia od Pola do Stołu. Założenia związane z tą strategią są ogromnym wyzwaniem dla polskiego rolnictwa. Stosowanie środków biostymulujących wpisuje się w politykę środowiskowo-klimatyczną Unii Europejskiej, czego skutkiem może być zwiększenie znaczenia produktów stymulujących procesy fizjologiczne rośliny. Implementacja oraz rozwój technik uwzględniających stosowanie biostymulatorów może poskutkować łagodniejszą i łatwiejszą adaptacją do strategii Unii Europejskiej. Biostymulatory mogą być pozyskiwane z różnych źródeł, również odpadowych. Wielokierunkowe działanie biostymulatorów na wzrost i funkcjonowanie rośliny sprawia, że produkty te są uniwersalne i mogą być stosowane w wielu okolicznościach, np. z nawozem w celu poprawienia efektywności wchłaniania, w trakcie występowania stresu środowiskowego w postaci suszy czy w celu poprawienia kwitnienia. Trendy w rolnictwie, stawianie nacisku na zrównoważone metody, praktyczne i potencjalne zastosowanie biostymulatorów są argumentami przemawiającymi za implementacją i rozprzestrzenianiem stosowania biostymulatorów w rolnictwie.

Bibliografia

- Abou-Zaid E.A., Shaaban M.M., 2019. Growth, yield and berries quality in red roomy grapevines improved under different foliar application of spirulina algae, zinc and boron. Middle East J. Agric. Res. 8, 654–661.

- Ali O., Ramsubhag A., Jayaraman J., 2021. Biostimulant properties of seaweed extracts in plants: implications towards sustainable crop production. *Plants* 10(3), 531. <https://doi.org/10.3390/plants10030531>
- Arahou F., Lijassi I., Wahby A., Rhazi L., Arahou M., Wahby I., 2022. Spirulina-based biostimulants for sustainable agriculture: yield improvement and market trends. *BioEngine Res.* 12(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s12155-022-10537-8>
- Arthur G.D., Aremu A.O., Moyo M., Stirk W.A., Van Staden J., 2013. Growth-promoting effects of a seaweed concentrate at various pH and water hardness conditions. *South African J. Sci.* 109(11), 6. <https://doi.org/10.1590/SAJS.2013/20120013>
- Bloomfield J., Steward F., 2020. The politics of the Green New Deal. *Pol. Quar.* 91(4). <https://doi.org/10.1111/1467-923X.12917>
- Boix-Fayos C., de Vente J., 2023. Challenges and potential pathways towards sustainable agriculture within the European Green Deal. *Agric. Sys.* 207, 103634. <https://doi.org/10.1016/j.agry.2023.103634>
- Brown P., Saa S., 2015. Biostimulants in agriculture. *Front. Plant Sci.* 6. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00671>
- Clapp J., Ruder S.L., 2020. Precision technologies for agriculture: digital farming, gene-edited crops, and the politics of sustainability. *Global Environ. Polit.* 20(3), 49–69. https://doi.org/10.1162/GLEP_A_00566
- Connor D.J., 2018. Organic agriculture and food security: a decade of unreason finally implodes. *Field Crops Res.* 225, 128–129. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.06.008>
- Craigie J.S., 2011. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J. Appl. Phycol.*, 23, 371–393. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9560-4>
- Davydov R., Sokolov M., Hogland W., Glinushkin A., Markaryan A., 2018. The application of pesticides and mineral fertilizers in agriculture. *MATEC Web of Conf.* 245, 11003. <https://doi.org/10.1051/MATECCONF/201824511003>
- Duarte J.H., de Morais E.G., Radmann E.M., Costa J.A., 2017. Biological CO₂ mitigation from coal power plant by *Chlorella fusca* and *Spirulina* sp. *Biores. Tech.*, 234, 472–475.
- EBIC [European Biostimulants Industry Council], 2012. <https://biostimulants.eu/> [dostep: 01.04.2023].
- Fecke W., Danne M., Musshoff O., 2018. E-commerce in agriculture – The case of crop protection product purchases in a discrete choice experiment. *Comput. Electron. Agric.*, 151, 126–135. <https://doi.org/10.1016/J.COMPAG.2018.05.032>
- Godlewska K., Michalak I., Pacyga P., Baśladyńska S., Chojnacka K., 2019. Potential applications of cyanobacteria: *Spirulina platensis* filtrates and homogenates in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 35, 1–18. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2653-6>
- Gomiero T., 2018. Food quality assessment in organic vs. conventional agricultural produce: findings and issues. *Appl. Soil Ecol.*, 123, 714–728. <https://doi.org/10.1016/J.APSOIL.2017.10.014>
- Gunton R.M., Firbank L.G., Inman A., Winter D.M., 2016. How scalable is sustainable intensification? *Nature Plants*, 2(5). <https://doi.org/10.1038/NPLANTS.2016.65>
- Hough R.L., 2021. A world view of pesticides. *Nat. Geosci.* 14(4), 183–184. <https://doi.org/10.1038/s41561-021-00723-2>
- Iamtham S., Sornchai P., 2022. Biofixation of CO₂ from a power plant through large-scale cultivation of *Spirulina maxima*. *South Afr. J. Bot.*, 147, 840–851. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.03.028>
- Khan M.N., Mobin M., Abbas Z.K., Alamri S.A., 2018. Fertilizers and their contaminants in soils, surface and groundwater. In: D.A. DellaSala, M.I. Goldstein (eds). *The Encyclopedia of the Anthropocene*. Vol. 5. Elsevier, Oxford, 225–240.
- Leonard M., Pisani-Ferry J., Shapiro J., Tagliapietra S., Wolf G., 2021. The geopolitics of the European Green Deal. *Intern. Org. Res. J.* 16(2). <https://doi.org/10.17323/1996-7845-2021-02-1>
- Maggi F., la Cecilia D., Tang F.H., McBratney A., 2020. The global environmental hazard of glyphosate use. *Sci. Total Environ.*, 717, 137167. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137167>

- Michel M., 2020. Neonicotinoids-systemic insecticides in plant protection. *Progr. Plant Prot.* 60(1). <https://doi.org/10.14199/ppp-2020-006>
- Niu J., Liu C., Huang M., Liu K., Yan D., 2021. Effects of foliar fertilization: a review of current status and future perspectives. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 21, 104–118. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00346-3>
- Osanai T., Park Y.-I., Nakamura Y., 2017. Biotechnology of microalgae, based on molecular biology and biochemistry of eukaryotic algae and cyanobacteria. *Front. Microbiol.* 8, 118. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00118>
- Peng Y., Hu J., Yang B., Lin X.P., Zhou X.F., Yang X.W., Liu Y., 2015. Chemical composition of seaweeds. *Seaweed Sustain.* 1, 79–124.
- Pretty J., 2018. Intensification for redesigned and sustainable agricultural systems. *Science* 362, 6417. https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAV0294/ASSET/11A9C48B-22F7-456C-BDB6-F5C9298A09F9/ASSETS/GRAPHIC/362_AAV0294_FA.JPEG
- Pretty J., Benton T.G., Bharucha Z.P., Dicks L.V., Flora C.B., Godfray H.C., Goulson D., Hartley S., Lampkin N., Morris C., Pierzynski G., Prasad P.V., Reganold J., Rockström J., Smith P., Thorne P., Wratten S., 2018. Global assessment of agricultural system redesign for sustainable intensification. *Nat. Sustain.*, 1(8), 441–446. <https://doi.org/10.1038/S41893-018-0114-0>
- Rouphael Y., Colla G., 2018. Synergistic biostimulatory action: designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. *Front. Plant Sci.* 9, 1655. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01655>
- dos Santos A., da Silva J., Rodrigues L., Gomes A., da Silva R., Marques L., de Faria A., de Freitas G., Nascimento V.L., 2019. Biostimulants based on humic acids, amino acids and vitamins increase growth and quality of lettuce seedlings. *J. Agric. Sci.* 11(6). <https://doi.org/10.5539/jas.v11n6p235>
- Shahrajabian M.H., Cheng Q., Sun W., 2022. The effects of amino acids, phenols and protein hydrolysates as biostimulants on sustainable crop production and alleviated stress. *Recent Pat. Biotechnol.* 16(4), 319–328. <https://doi.org/10.2174/1872208316666220412133749>
- Sidhu G.K., Singh S., Kumar V., Dhanjal D.S., Datta S., Singh J., 2019. Toxicity, monitoring and biodegradation of organophosphate pesticides: a review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 49(13), 1135–1187. <https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1565554>
- Singh R.N., Sharma S., 2012. Development of suitable photobioreactor for algae production –a review. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 16(4), 2347–2353. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.026>
- Sperotto R.A., Landa B.B., Posmyk M.M., Szafrá K., 2016. Biostimulators: a new trend towards solving an old problem. *Front. Plant Sci.* 7, 748. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00748>
- Tang F.H., Lenzen M., McBratney A., Maggi F., 2021. Risk of pesticide pollution at the global scale. *Nat. Geosci.* 14(4), 206–210. <https://doi.org/10.1038/S41561-021-00712-5>
- Tataridas A., Kanatas P., Chatzigeorgiou A., Zannopoulos S., Travlos I., 2022. Sustainable crop and weed management in the era of the EU Green Deal: a survival guide. *Agronomy* 12(3), 589. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030589>
- Tilman D., Balzer C., Hill J., Befort B.L., 2011. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proc. of the Nat. Ac. of Sci. USA*, 108(50), 20260–20264, <https://doi.org/10.1073/PNAS.1116437108>.
- Uddin A., Rakibuzzaman M., Wasin E., Husna M.A., Mahato A.K., 2019. Foliar application of spirulina and oscillatoria on growth and yield of okra as bio-fertilizer. *Journal of Bioscience and Agriculture Research* 22, 1840–1844. <https://doi.org/10.18801/jbar.220219.227>
- Xu L., Geelen D., 2018. Developing biostimulants from agro-food and industrial by-products. *Front. Plant Sci.*, 871. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2018.01567/FULL>
- Yakhin O.I., Lubyantov A.A., Yakhin I.A., Brown P.H., 2017. Biostimulants in plant science: a global perspective. *Front. Plant Sci.* 7, 2049. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2016.02049/BIBTEX>
- Yanni Y., Elashmouny A., Elsadany A., 2020. Differential response of cotton growth, yield and fiber quality to foliar application of *Spirulina platensis* and urea fertilizer. *Asian J. Adv. Agric. Res.* 12, 29–40. <https://doi.org/10.9734/ajaar/2020/v12i130072>

The economic significance of biostimulants on the example of orchard production

Ekonomiczne znaczenie biostymulatorów na przykładzie produkcji sadowniczej

Fruit growers are able to use modern anti-stress agents called biostimulants, also known as phyto-stimulants. In the event of unfavorable weather conditions these products when applied to a given plant help it return to its physiological balance faster. That way such a plant regenerates faster. At the same time, if stress factors do not occur on the plantation, biostimulants strengthen trees, make them grow faster and contribute to the development of a stronger and deeper root system. Biostimulants have a multidirectional effect, they increase the amount of set fruit. The growing popularity of biostimulants in agriculture may result from the fact that their use goes in line with both the principles of integrated production and the importance of economic aspects. Among the preparations available on the Polish market there are Asahi SL, Shigeki, Kaishi, Tytanite, but also the preparations based on seaweed filtrates such as Goemar BM 86, Algex or Agrocean. The available studies related to the use of biostimulants in apple production show positive production results (e.g. the use of Asahi SL increased the yield by 11.1 tons per ha). The aim of the study is to determine the importance of biostimulants and to present the calculation of revenue of their use in apple production. To collect the proper data a documentary analysis has been used. For the research findings a descriptive method has been used along with a method of financial calculations. The performed calculations show that the use of biostimulants in orchard production is profitable and helps to increase production value.

The global consumption of apples in the world has grown steadily in recent years. In 2014 there was a large increase in apple consumption in the world, it amounted to as much as 16% year-on-year. This trend is expected to continue in the near future [Fruit-growersnews.com 2020]. The amount of arable land and therefore orchards is limited, this represents the so-called bottleneck in orchard production [Rana et al. 2022]. In order to produce the amount of fruit expected by the market, fruit growers began to use plant protection products excessively and thoughtlessly. The progressing chemicalization has led to an increase in the resistance of pathogens to the preparations used, therefore, in order to achieve a satisfactory yield, the grower has to pay more and more for chemical protection from year to year [Ramut 2022]. Apart from the large influence of biotic factors on the economic activity of the orchard, there are also abiotic factors. Increasingly

¹ Wrocław University of Environmental and Life Sciences (UPWR), The Faculty of Life Sciences and Technology, Students' Scientific Association of Market Analyzes, 116990@student.upwr.edu.pl

unpredictable climate, frequent hailstorms, spring frosts and water shortages increase the cost of plantation [McKeown et al. 2006].

In the face of increasing difficulties in the hostile natural environment, agricultural producers began to produce preparations that help plants regenerate after the occurrence of stress factors and improve the quality and, above all, the quantity of the obtained crop. These preparations include biostimulants [Kozak et al. 2016]. By du Jardin [2015] they were defined: “A plant biostimulant is any substance or microorganism applied to plants with the aim to enhance nutrition efficiency, abiotic stress tolerance and/or crop quality traits, regardless of its nutrient content”. Regulation 2019/1009 of the European Parliament and of the European Council of 5 June 2019 defines a biostimulant in turn as a fertilizing product which, depending on the nutrient content, contains a substance or several active substances, or microorganisms. After an application of this preparation on a plant or within the rhizosphere, this agent stimulates natural processes carried out by the plant, which lead to the improvement of at least one of the following characteristics of the plant: nutrient efficiency, tolerance to various abiotic stresses or quality characteristics of crops [Rutkowska 2016]. At the same time, it is worth noting that when stress factors do not occur in a given plantation, biostimulants strengthen trees and make them grow faster so that they have a stronger and deeper root system. This makes it easier and more effective for them to take up the nutrients it contains [Battacharyya et al. 2015, Hernández-Herrera et al. 2016, Scaglia et al. 2016, Colla et al. 2017]. Biostimulants increase the number of fruit set. A fruit tree that is strong and resistant to stress factors means a higher yield per plant as well as per hectare, which translates into a higher profit for a fruit grower. Biostimulants also have a positive effect on improving the storage capacity of fruit. This effect is achieved by preparations containing zinc, silicon and calcium, which together strengthen the cell wall [Ferguson et al. 1999]. Especially silicon, thanks to its properties, enriches the cell walls. By saturating them, plants have a stronger barrier to protect themselves against pathogens and also lose less water. A thicker cell wall reduces transpiration [Buraczyk et al. 2020]. They are considered to be one of the most modern anti-stress agents [Povero et al. 2016]. On the Polish market there are, among others, Asahi SL, Shigeki, Kaishi, Tytanit and preparations based on seaweed filtrates such as Goemar BM 86, Algex or Agrocean. This market segment is clearly developing. In February 2015 there were approximately 60 biostimulants registered as plant protection products in the group of growth stimulants on the Polish market [Matyjaszczyk 2015]. In turn, in February 2022 this number amounted to 80 preparations [Register of Ministry of Agriculture and Rural Development 2022]. The growing popularity of biostimulants among agricultural producers has resulted in the growing economic importance of these preparations [Hara 2019]. In the European Union, according to the data provided by the European Biostimulants Industry Council, the economic value of biostimulants is estimated to be between 200 and 400 million euros (with a yearly growth of 10%) [Xu et al. 2018]. It may result from the fact that their application goes in line with the principles of integrated protection and crop production. What is more, the issues of profitability are also important. Integrated protection is based on combining all possible methods of influencing plant health and improving resistance to diseases, pests and weeds. The most important assumption of this method is to use chemical protection as a last resort [Dominik et al. 2012]. Integrated production, in turn, is based on combining new production methods: the agrotechnical, biotechnical, genetic and biological ones,

taking into account the economic profitability of the treatments performed. In addition, environment protection and care of human health are equally important. In this method, just like in integrated protection and plant production, priority is given to ecological methods in which chemical protection is limited to the minimum [Niemczyk 1999, Golinowska 2002].

The aim of this publication is to determine the economic importance of biostimulants and to present a simulation of changes in the income coming from fruit production due to the use of biostimulants.

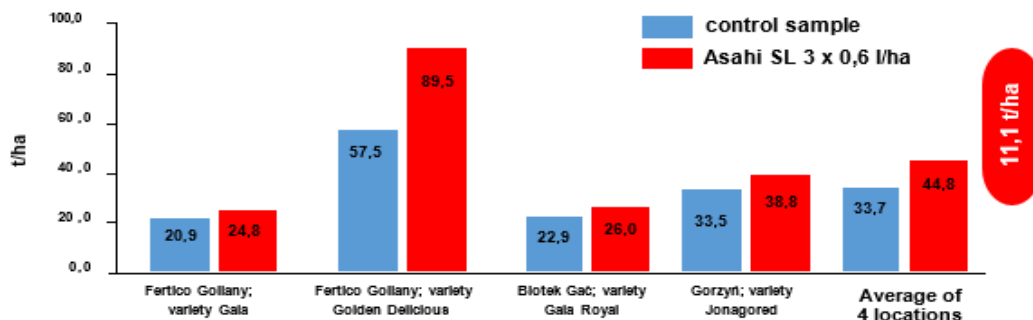
Material and methods

The secondary sources of information have been used in the study. The materials come from: available literature on the subject and the internet resources, data taken from the public statistics, documents and reports related to the issues discussed, all provided by public institutions and private enterprises. The descriptive method, the comparative method and the sales revenue simulation method have been applied to develop the results [Johnson 1953, Anderson 1974, Collier 1993]. When processing the results, the following assumptions have been made:

- I. For the calculations both the average level of production involving the use of a particular biostimulant and the average level of production in a control sample resulting from the experience of Arista Life Science [Company's internal materials 2013] have been assumed.
- II. The experiment has been based on the use of the Asahi SL biostimulant. It is a liquid preparation, it is applied to plants by means of spraying. It consists of three active substances: sodium para-nitrophenolate with a concentration of 0.3%, sodium ortho-nitrophenolate with a concentration of 0.2% and sodium 5-nitroguaiacolate with a concentration of 0.1%. All three substances are from the group of nitrophenol derivatives.
- III. Spraying with Asahi SL as part of the experiments has been carried out three times together with other plant protection treatments, therefore it has been assumed that there were no additional costs associated with the application of the biostimulant.
- IV. The average exchange rate in 2021 was 4.57 PLN / EUR [NBP 2021]
- V. The cost of using the biostimulant was determined in the amount consistent with the field experiments (3×0.6 l/ha) and according to the price from 2021 [Allegro Archive 2021]
- VI. Apart from the cost of the product itself, the additional cost of using the biostimulant has not been taken into account, as it has been assumed that the preparation would be applied along with other plant protection treatments.
- VII. The calculations have been made per one hectare of fruit production for the average price conditions per 1 kg of apples in the European Union and Poland in 2021 [European Commission 2022].

The experiments related to the first assumption have been carried out in Poland in the following locations: Fertico Goliiany Agronomic Institute – Błędów (Gala and Golden Delicious varieties), BIOTEK Agriculture Sp. z o.o. – Gać village (Gala Royal variety),

Agricultural Experimental Station of the University of Life Sciences in Poznań – Gorzyń village (Jonagored variety). The results of the experiments regarding the total yield with the Asahi SL and the control sample are shown in Figure 1 below.



Source: own study based on promotional materials of the manufacturer “Asahi SL Success Mechanism” [Arysta LifeScience, 2013, page 22]

Fig. 1. Yield results obtained in the experiments involving the Asahi SL biostimulant and the control sample

Statistical analysis

Mean of experimental group:

$$(24.8 + 89.5 + 26 + 38.8) / 4 = 44.775 \text{ t/ha}$$

Mean of the control group:

$$(20.9 + 57.5 + 22.9 + 33.5) / 4 = 33.7 \text{ t/ha}$$

Standard deviation

Standard deviation of experimental group:

$$\sqrt{\frac{((24.8-44.775)^2 + (89.5-44.775)^2 + (26-44.775)^2 + (38.8-44.775)^2)}{4}} \approx 26.399 \text{ t/ha}$$

Standard deviation of the control group:

$$\sqrt{\frac{((20.9-33.7)^2 + (57.5-33.7)^2 + (22.9-33.7)^2 + (33.5-33.7)^2)}{4}} \approx 14.551 \text{ t/ha}$$

Research results

During the work of this article, the average price of apples in the European Union and Poland has been used, from the generally available data of the European Commission [EC 2022]. The monthly and annual average values are presented in Table 1.

Table 1. Average purchase prices for apples in 2021 as in individual months in the European Union and Poland

Month	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May.	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Average prices (EUR/kg)
Apple prices UE (EUR/kg)	0.71	0.77	0.74	0.76	0.77	0.79	0.81	0.62	0.65	0.67	0.67	0.69	0.72
Apple prices PL (EUR/kg)	0.4	0.38	0.45	0.49	0.42	0.39	0.13	0.21	0.35	0.27	0.28	0.24	0.33

Source: own calculation based on the European Commission data [EC 2022]

Table 2. Estimated cost of applying Asahi SL per 1 ha in 2021

Name of the preparation	Price (PLN/l)	Exchange rate (PLN/EUR)	Price (EUR/l)	Dose rate (l/ha)	Cost (EUR/ha)
Asahi SL	132.30	4.57	28.95	1.8	52.11

Source: own calculation based on the data taken from the Allegro Archive and National Bank of Poland [Allegro Archive 2021, NBP 2021]

The price of one liter of Asahi SL is 28.5 €, in the experiment we have performed 3 sprays on one hectare, the dose rate for one spraying is 0.6 l, hence the dose of Asahi SL in our experiment is 1.8 l/ha.

Table 3. Production quantity and value of the research and control sample in the European Union and Poland (EUR)

Specification	Average yield (t/ha)	Average price of apples (EUR/t)		Production value (EUR)	
		UE	PL	UE	PL
Asahi SL 3 × 0,6 l/ha	44.8	720	330	32256	14784
Control sample	33.7	720	330	24264	11121
Differences	11.1	×		7992	3663

Source: own calculation

There are visible differences in the price of apples between Poland and the EU average, which is reflected in the production value. The average purchase price per one ton of apples in the European Union was about 2.2 times higher than in Poland. The production value after the use of the biostimulant in relation to the control (without the biostimulant treatment) was higher by 7992 € in the EU and by 3663 € higher in Poland. The study shows that after using the biostimulant, the production value increased by 32%. Due to the fact that the use of a given biostimulant is associated with an additional cost, the question arises as to what effect it has on the financial surplus. The control sample did not use the measure, so in the research sample the cost was higher by 52.11 € per 1/ha, but in the case of the research sample, the revenues per 1 ha of orchards in the European Union were higher by 7939.89 € than in the control sample, (analogically, in Poland the increase in revenue amounted to 3,610.89 €/1 ha). Due to the fact that the agent is used together with other plant protection treatments, there was no additional spraying cost between the trial test and the control trial. This means that the financial surplus was $7992 \text{ €} - 52.11 \text{ €} = 7939.89 \text{ €}$ for the EU price conditions, and in the case of Poland, $3663 - 52.11 = 3610.89 \text{ €/ha}$ in favor of the sample.

Conclusion


The available data show that the application of triple spraying of Asahi SL had a positive effect on the growth of apple yield. In the field experiments, the yield increase was 11.1 tons per 1 ha on average, thanks to the application of a triple dose of Asahi SL compared to the control sample. This gives a yield increase of 32.9%. The calculations show that after using the biostimulant, the production value increased by € 7992 after being converted according to the average apple price in the EU, in Poland the value was lower and amounted to € 3663/ha, which resulted from significantly lower apple prices. The results of the research show that the use of a biostimulant in apple orchards is economically justified and brings a significant increase in the financial surplus compared to the plantations where biostimulant treatments have not been applied.

References

- Allegro Archive, 2021. Asahi SL price. Available at: <https://archiwum.allegro.pl/oferta/asahi-sl-11-stymulator-wzrostu-i-plonowania-arysta-i10755119739.html> [access: 17.04.2022]
- Anderson J.R., 1974. Simulation: methodology and application in agricultural economics. *Rev. Market. Agric. Econ.*, 42(430-2016-31038), 3–5.
- Arysta Life Science, 2013. Asahi SL Mechanizm sukcesu. Materiał źródłowy producenta.
- Battacharyya D., Babgohari M.Z., Rathor P., Prithiviraj B., 2015. Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Sci. Hortic.* 196, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.012>
- Buraczyk W., Żybura H., Ostaszewska E., Studnicki M., Aleksandrowicz-Trzcńska M., 2020. Zastosowanie biostymulatorów w hodowli i ochronie sadzonek dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) w gruntowej szkółce leśnej. *Sylwan* 164(4), 292–299. <https://doi.org/10.26202/sylwan.2020028>

- Colla G., Hoagland L., Ruzzi M., Cardarelli M., Bonini P., Canaguier R., Rouphael Y., 2017. Biostimulant action of protein hydrolysates: unraveling their effects on plant physiology and microbiome. *Front. Plant Sci.* 8(2202). <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02202>
- Collier D., 1993. The comparative method. In: *Political science: the state of discipline II*, Ada W. Finifter (ed.). American Political Science Association, Washington D.C., p. 105.
- Dominik A., Schönthaler J., 2012. Integrowana ochrona roślin w gospodarstwie. *Poradnik praktyczny – zasady ogólne* [Integrated plant protection on the farm. Practical guide – general rules]. Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie Oddział w Radomiu, p. 6.
- European Commission, 2022. Apple Dashboard. Available at: https://ec.europa.eu/info/sites/default/files/food-farming-fisheries/farming/documents/apple-dashboard_en.pdf [access: 17.04.2022]
- Ferguson I., Volz R., Woolf A., 1999. Preharvest factors affecting physiological disorders of fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 255–262. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00089-1](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00089-1)
- Fruitgrowersnews.com, 2020. Global apple market reached \$78B; set to continue moderate growth. Available at: <https://fruitgrowersnews.com/news/global-apple-market-reached-78m-set-to-continue-moderate-growth/> [access: 17.04.2022]
- Golinowska M. 2002. Ekonomiczno-organizacyjne problemy ochrony roślin w sadach o integrowanej produkcji owoców [Economic and organizational problems of plant protection in orchards with integrated fruit production]. *Acta Sci. Pol. Oeconomia*, 1(1), 45–46.
- Hara P. 2019. Znaczenie biostymulatorów w uprawie ziemniaka [The importance of biostimulants in potato cultivation]. *Ziemniak Pol.*, 29(2), p.18.
- Hernández-Herrera R.M., Santacruz-Ruvalcaba F., Zañudo-Hernández J., Hernández-Carmona G., 2016. Activity of seaweed extracts and polysaccharide-enriched extracts from *Ulva lactuca* and *Padina gymnospora* as growth promoters of tomato and mung bean plants. *J. Appl. Phycol.* 28, 2549–2560. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0781-4>
- du Jardin, P. 2015. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic.* 196, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Johnson L.H., 1953. Limitations of the descriptive method. *Phi Delta Kappan* 34(6), 24.
- Kozak M., Wondolowska-Grabowska A., Serafin-Andrzejewska M., Gniadzik M., Kozak M.K., 2016. Biostymulatory – wczoraj, dziś i jutro. In: *Rolnictwo XXI wieku – problemy i wyzwania* [Biostimulants – yesterday, today and tomorrow. In: *Agriculture of the 21st century – problems and challenges*], Deta Łuczycyca (ed.). Idea Knowledge Future, Wrocław, p. 114.
- Matyjaszczyk E., 2015. The introduction of biostimulants on the Polish market. The present situation and legal requirements [Wprowadzanie biostymulatorów do obrotu handlowego w Polsce. Sytuacja bieżąca i uwarunkowania prawne]. *Przem. Chem.*, 10, 1841–1844. <https://doi.org/10.15199/62.2015.10.40>
- McKeown A.W., Warland J., McDonald M.R., 2006. Long-term climate and weather patterns in relation to crop yield: a minireview. *Can. J. Bot.* 84(7), 1031–1036. <https://doi.org/10.1139/b06-080>
- NBP, 2021. Archive data of the NBP. Average PLN/EUR exchange rate. Available at: https://www.nbp.pl/home.aspx?f=kursy/arch_a.html [access: 17.04.2022].
- Niemczyk E., 1999. Integrowana produkcja owoców (IPO) [Integrated fruit production (IPO)]. *Więś Jutra* 5, 24–25.
- Povero G., Mejia J.F., Di Tommaso D., Piaggese A., Warrior P., 2016. A systematic approach to discover and characterize natural plant biostimulants. *Front. Plant Sci* 7(435). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00435>
- Ramut R., 2022. Wpływ wybranych czynników biotycznych i abiotycznych na wyniki finansowe gospodarstwa sadowniczego [Influence of selected biotic and abiotic factors on the financial results of an orchard farm]. *Praca inżynierska (materiał nieopublikowany)*. Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu.

- Rana V.S., Sharma S., Rana N., Sharma U., 2022. Sustainable production through biostimulants under fruit orchards. *CABI Agric Bioscience* 3(1), 1–25. <https://doi.org/10.1186/s43170-022-00102-w>
- Register of Ministry of Agriculture and Rural Development, 2022. Wykaz nawozów i środków wspomagających uprawę roślin [List of fertilizers and plant conditioners]. Available at: <https://www.gov.pl/web/rolnictwo/wykaz-nawozow-i-srodkow-wspomagajacych-uprawe-roslin> [access: 17.04.2022].
- Rutkowska A., 2016. Biostymulatory w nowoczesnej uprawie roślin [Biostimulants in modern plant cultivation]. *Studia i Raporty IUNG-PIB* 48(2), 66. <https://doi.org/10.26114/sir.iung.2016.48.05>
- Scaglia B., Nunes R.R., Rezende M.O.O., Tambone F., Adani F., 2016. Investigating organic molecules responsible of auxin-like activity of humic acid fraction extracted from vermicompost. *Sci. Total Environ.* 562, 289–295. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.212>
- Xu L., Geelen D., 2018. Developing biostimulants from agro-food and industrial by-products. *Front. Plant Sci.*, 9(1567). <https://doi.org/10.1016/10.3389/fpls.2018.01567>

Paulina Wac¹, Zuzanna Bąk¹, Nikola Pietruszka¹, Joanna Toporowska²,
Sylwia Sowa¹, Edyta Paczos-Grzęda²

Analiza zróżnicowania genetycznego grzybów z gatunku *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* metodą SRAP

Analysis of the genetic diversity of *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*
by the SRAP method

Jedną z najczęściej występujących chorób grzybowych owsa jest rdza żdźbłowa wywoływana przez grzyb *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *avenae* Eriks. & E. Henn. Objawem rdzy żdźbłowej są rdzawe skupiska uredinospor pojawiające się głównie na żdźbłach i pochwach liściowych, a przy dużym nasileniu choroby również na blaszkach liściowych i plewach [Leonard i Szabo 2005]. Rdza żdźbłowa występuje nie tylko na owsie, ale na wielu innych gatunkach traw takich jak pszenica, jęczmień czy żyto. W obrębie gatunku *P. graminis* występuje wiele form specjalnych przystosowanych do infekowania konkretnych żywicieli. W obrębie form specjalnych występują różne rasy o odmiennej wirulencji i poziomie zjadliwości. Grzyb *P. graminis* jest obligatoryjnym biotrofem, a do przejścia pełnego cyklu rozwojowego potrzebuje dwóch żywicieli: ostatecznego i pośredniego [Martens 1985]. *P. graminis* ma zdolność rozmnażania płciowego i bezpłciowego, co umożliwia adaptację do zmieniających się warunków środowiska oraz zróżnicowanej dostępności żywiciela. Konsekwencją infekcji wywołanej *P. graminis* jest przerwanie dopływu składników odżywczych do rozwijających się wiech, co uniemożliwia prawidłowe wypełnienie ziarniaków, a żdźbła osłabione przez rdzę są podatne na wyleganie. Choroba, wpływając na vegetację roślin, obniża jakość słomy, zwiększa wyleganie i utrudnia zbiór, przez co prowadzi do znacznych strat w plonach, szczególnie jeśli atakuje we wczesnych stadiach rozwoju roślin [Roelfs i in. 1992].

W klimacie umiarkowanym pod koniec sezonu wegetacyjnego żywiciela ostatecznego, którym są gatunki z rodziny *Poaceae*, *P. graminis* wytwarza grubościenne, dwukomórkowe teliospory – stadium spoczynkowe zarodników. Teliospory pozostają uśpione w zakażonej słomie do wiosny, po czym kiełkują, wytwarzając strzępki zwane promycelium lub podstawką. Na każdej komórce promycelium powstają sterygma, które po mitozie formują haploidalne dikariotyczne bazydiospory [Roelfs 1985]. Dojrzałe bazydiospory przenoszone są przez prądy powietrza w celu zarażenia żywicieli alternatyw-

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobioinżynierii, SKN Bioinżynierów i Biotechnologów BioGen

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobioinżynierii, Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, edyta.paczos@up.lublin.pl

nych, którymi są gatunki z rodzajów *Berberis* lub *Mahonia* spp., głównie berberys pospolity (*B. vulgaris*). Porażenie skutkuje powstaniem na górnej powierzchni liścia berberysu piknii wytwarzających pikniospory, które stanowią gamety żeńskie oraz męskie. Po ich fuzji następuje migracja w kierunku podstawy piknium i tworzy się dikariotyczne aecjum, które rozrywa dolną skórkę liścia berberysu. Wytwarzane są aeciospory, które mogą infekować żywiciela ostatecznego, wytwarzając gęstą sieć strzępek pod naskórką żywiciela – uredinia. Uredinia wytwarzają z kolei masy jednokomórkowych urediniospor, które rozrywają epidermę żywiciela. Urediniospory są przenoszone przez wiatr i mogą ponownie zainfekować żywiciela ostatecznego. Uredinia z czasem zaprzestają produkcji urediniospor i zaczynają wytwarzać teliospory. Przy braku dostępności żywiciela pośredniego, w sprzyjających warunkach klimatycznych, *P. graminis* może przez cały rok utrzymywać się na żywicielu ostatecznym w stadium uredinium [Zadoks i Bouwman, 1985].

Warunki środowiskowe panujące w danym regionie geograficznym oraz obecność lub brak żywiciela alternatywnego wpływają na zróżnicowaną epidemiologię choroby w różnych częściach świata. W przypadku braku berberysu, ale przy całorocznym dostępie zarodników z żywiciela ostatecznego dominuje rozmnażanie bezpłciowe – klonalne. Badania prowadzone przez Figueroa i in. [2020] wykazały, że w sytuacji gdy rozmnażanie płciowe nie jest możliwe, w wyniku serii mutacji również w rozmnażaniu bezpłciowym mogą powstać nowe patotypy. Populacje klonalne występują m.in. w Australii [Haque i in. 2008].

Zrozumienie zróżnicowania genetycznego patogenu ma kluczowe znaczenie dla opracowania metod jego zwalczania. Jednym ze sposobów zapobiegania rozwojowi choroby jest stosowanie fungicydów. Inną powszechnie stosowaną metodą zwalczania patogenu jest eliminacja żywiciela alternatywnego [Peterson i in. 2005]. Najbardziej obiecującą, przyjazną dla środowiska alternatywą jest hodowla nowych odmian ukierunkowana na wprowadzanie odporności warunkowanej genetycznie. Opracowanie strategii hodowli odpornościowej wymaga systematycznych badań wirulencji oraz zróżnicowania genetycznego nowych patotypów [Sowa i in. 2021].

Narzędziem wykorzystywanym w biologii molekularnej do oceny zróżnicowania genetycznego są markery molekularne. Metoda SRAP (ang. *sequence-related amplified polymorphism*) jest modyfikacją PCR (ang. *polymerase chain reaction*). W reakcji wykorzystuje się startery komplementarne do otwartych ramek odczytu i kodujących fragmentów genomu. Startery przednie (*forward*) są bogate w zasady GC i hybrydują do egzonów, a startery wsteczne (*reverse*) wzbogacone są w zasady AT dzięki czemu hybrydują do sekwencji promotorowych, intronów i regionów międzygenowych [Poczai i in. 2013]. Kombinacje starterów forward i reverse dobiera się indywidualnie dla konkretnego gatunku podczas optymalizacji metody. Po przeprowadzonej elektroforezie produktów PCR uzyskuje się zróżnicowany wzór prążkowy. Metoda jest wysoce powtarzalna i relatywnie łatwa do przeprowadzania. Nie wymaga też znajomości sekwencji badanego gatunku i identyfikuje wysoki poziom polimorfizmu [Li i Quiros 2001]. Markery SRAP są powszechnie wykorzystywane do analiz zróżnicowania genetycznego, powiązań filogenetycznych, a także do konstruowania map genetycznych, jak również w analizie sprzężeń [Budak i in. 2004, Xue i in. 2010, Robarts i Wolfe 2014].

Celem niniejszej pracy była ocena możliwości wykorzystania metody SRAP do analizy zróżnicowania genetycznego skolekcjonowanych w owsie zwyczajnym, wywołujących rdzę żdźbłową izolatów *P. graminis* f. sp. *avenae* o zróżnicowanym pochodzeniu geograficznym.

Materiały i metody

Materiał do badań stanowiło 10 izolatów *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* zebranych w różnych częściach Polski w latach 2017–2018 (tab. 1). Urediniospory zbierane były w Polsce w pięciu lokalizacjach: Kopaszewo, Choryń, Strzelce, Czesławice i Polanowice. Dodatkowo do badań włączono izolat pochodzący z miejscowości Aberystwyth w Walii (Wielka Brytania).

Izolaty pochodzące z pojedynczego zarodnika uzyskano w wyniku pięciokrotnego pasażowania grzyba na fragmentach liści siewek owsa zwyczajnego (*Avena sativa* L.) podatnej na porażenie odmiany Kasztan. Liście wykładano na szalki Petriego wypełnione agarem (0,6%) z dodatkiem benzimidazolu (3,4 mM). Szalki inokulowano zarodnikami pochodzącymi z poszczególnych lokalizacji w wieży inokulacyjnej, a następnie umieszczano na 10 dni w fitotronie w temperaturze 17°C, przy kontrolowanym natężeniu światła (4 klx) i wilgotności powietrza ok. 70%. Po uzyskaniu czystych izolatów namnażanie zarodników powtarzano wielokrotnie aż do uzyskania 50 mg urediniospor. Izolację całkowitego DNA prowadzono zgodnie z metodyką dołączoną do zestawu komercyjnego Plant & Fungi DNA Purification Kit (EURx, Polska). Przed izolacją zarodniki rozcierano w probówkach wypełnionych specjalnym złożem ułatwiającym rozerwanie wysoce odpornych na zniszczenie ścian komórkowych zarodników (Tissue Grinding Tool, EURx). Uzyskany materiał zawieszono w buforze Lyse F przeznaczonym do izolacji kwasów nukleinowych z grzybów. Po przeprowadzeniu izolacji uzyskane preparaty DNA zamrażano w temperaturze –20°C.

Tabela 1. Charakterystyka izolatów *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* wykorzystanych do analizy

Lp.	Nazwa izolatu	Lokalizacja	Kraj pochodzenia	Województwo	Rok pochodzenia
1	K_17	Kopaszewo	Polska	wielkopolskie	2017
2	K_18	Kopaszewo	Polska	wielkopolskie	2018
3	D_17	Choryń	Polska	wielkopolskie	2017
4	D_18	Choryń	Polska	wielkopolskie	2018
5	S_17	Strzelce	Polska	łódzkie	2017
6	S_18	Strzelce	Polska	łódzkie	2018
7	Cz_17	Czesławice	Polska	lubelskie	2017
8	Cz_18	Czesławice	Polska	lubelskie	2018
9	P_17	Polanowice	Polska	małopolskie	2017
10	P_18	Polanowice	Polska	małopolskie	2018
11	Aber_17	Aberystwyth	Wielka Brytania	Walia	2017

Tabela 2. Sekwencje starterów SRAP wykorzystanych do oceny polimorfizmu badanych izolatów *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*

Lp.	Starter F	Sekwencja 5'-3'	Starter R	Sekwencja 5'-3'
1	Me21	TGAGTCCAAAACCGGCA	Em6	GACTGCGTACGAAATGCA
2	Me22	TGAGTCCAAAACCGGATG	Em20_ep	GACACCGTACGAAATTCACACA
3	Me3	TGAGTCCAAAACCGGAAT	Em17	GACTGCGTACGAAATATG
4	Me4	TGAGTCCAAAACCGGATT	Em24	GACTGCGTACGAAATTCAG
5	Me7	TGAGTCCAAAACCGGTCC	Em22	GACTGCGTACGAAATTC
6	Fsrp13	CGAATCTTAGCCGGATA	Em27	GACTGCGTACGAAATGCCC
7	Fsrp17	GATCCAGTTACCGGCAC	Em26	GACTGCGTACGAAATTCGG
8	Me1_ep	TGAGTCCAAAATGGCGATA	Em_Rsrp20	GACACCGTACGAAATGAC
9	Me12	TGAGTCCAAAACCGGAGG	Em20_ep	GACACCGTATACGTTTATT
10	Fsrp17_ep	GATCCAGTTATGGCGCAC	Em18	GACTGCGTACGAAATTAGC
11	Me2_ep	TGAGTCCAAAACCATGGCGC	Em20_ep	GACACCGTACGAAATTCACACA
12	Me3_ep	TGAGTCCAAAACCATGGCAT	Em20_ep	GACACCGTATACGTTTATT
13	Fsrp13_ep	CGAATCTTAAACCATGGCTA	Em8	GACTGCGTACGAAATTCAC
14	Fsrp17_ep	GATCCAGTTACCATGGCTC	Em7	GACTGCGTACGAAATTCAA
15	Me16	TGAGTCCAAAACCGGTAG	Em28	GACTGCGTACGAAATTCGA
16	Me17	TGAGTCCAAAACCGGCAT	Em30	GACTGCGTACGAAATTCGAG
17	Me18	TGAGTCCAAAACCGGTTG	Em7	GACTGCGTACGAAATTCAA

W celu oznaczenie jakości wyizolowanego DNA prowadzono rozdział elektroforetyczny w 1% żelu agarozowym. W tym celu wykorzystano zestaw do elektroforezy poziomej Agagel Maxi (Biometra). Rozdział prowadzono w buforze $1\times$ TBE (89 mM Trisboran, 2,5 mM EDTA) przez 1 godzinę przy napięciu 100 V. Stężenie wyizolowanego DNA oceniono przy użyciu spektrofotometru Nanodrop 2000 (Thermo Scientific) dla próby o objętości 1 μ l. Oceniono wartości parametrów: A260/A280 (informuje o zanieczyszczeniu próbek białkami), a także A260/A230 (informuje o zanieczyszczeniach pozostałościami odczynników stosowanych podczas izolacji oraz polisacharydami). Opierając się na uzyskanych wynikach, wykonano rozcieńczenia wszystkich próbek do jednokowego stężenia 10 ng \cdot μ l⁻¹.

Amplifikację metodą SRAP przeprowadzono dla 11 matryc DNA. Do analiz wykorzystano 34 startery SRAP (tab. 2) w 17 kombinacjach. Reakcję prowadzono w mieszaninie reakcyjnej objętości 10 μ l o zoptymalizowanym składzie. W skład mieszaniny reakcyjnej wchodziły: 1 \times bufor do PCR ((NH₄)₂SO₄; 200 μ M dNTP; 0,5 μ M startera Forward; 0,5 μ M startera Reverse, 1,5 mM MgCl₂; 20 ng genomowego DNA; 0,8 U polimerazy *Taq*. Zastosowano następujący profil termiczny: wstępna denaturacja przez 4 min. w 94°C, 40 cykli: denaturacja 94°C – 30 s, przyłączanie starterów: pięć pierwszych cykli 35°C – 45 s, 35 kolejnych cykli 50°C – 45 s, wydłużanie starterów 72°C – 1 min, z końcową inkubacją 7 min w 72°C.

Produkty reakcji PCR rozdzielano w 2-proc. żelu agarozowym z 0,01% EtBr w buforze TBE. Produkty rozdzielone w żelu wizualizowano w świetle UV, a następnie dokumentowano przy użyciu systemu do dokumentacji (Syngen). W celu oceny polimorfizmu DNA badanych izolatów obecność lub brak prążka traktowano jako pojedynczą cechę i przypisano jej odpowiednio wartość 1 lub 0. Do określenia podobieństwa genetycznego (SI similarity index) pomiędzy badanymi izolatami zastosowano formułę Dice'a [Dice 1945]. Matryce indeksów podobieństwa genetycznego uzyskane na podstawie analizy polimorfizmu identyfikowanego metodą SRAP posłużyły do konstrukcji dendrogramu metodą średnich połączeń UPGMA (ang. *unweighted pair group method with arithmetic average*) przy zastosowaniu programu PAST 3.19 [Hammer i in. 2001].

Wyniki i dyskusja

Do analizy wykorzystano 17 kombinacji starterów, które wykorzystano do reakcji SRAP, stosując jako matryce DNA jedenastu izolatów *P. graminis* f. sp. *avenae*. W reakcji z zastosowanymi kombinacjami starterów uzyskano łącznie 217 rodzajów produktów (tab. 3). Liczba produktów syntetyzowanych z wykorzystaniem poszczególnych par starterów wahała się od 20 (Me16 + Em28) do 7 dla (Fsrp13_ep + Em8). Średnio na parę starterów przypadło 12,7 typów amplikonów DNA. Liczba polimorficznych produktów amplifikowanych w doświadczeniu wyniosła 173 (79,7%), zaś dla poszczególnych kombinacji starterów wahała się od 6 (Fsrp17 + Em26) do 19 (Fsrp17_ep + Em18). Średnio para starterów SRAP uczestniczyła w syntezie 10,2 polimorficznych amplikonów.

Liczba produktów monomorficznych wyniosła 44 i maksymalnie stwierdzono 7 takich produktów dla pary starterów Me16 + Em28, 6 – dla Me3_ep + Em20_ep oraz 5 dla

par Me21 + Em6 i Me3 + Em17. Produkty monomorficzne, charakterystyczne dla wszystkich badanych obiektów stanowiły 20,3% wszystkich amplikonów przy czym na parę starterów przypadało średnio 2,6 tego typu fragmentów. W przypadku sześciu kombinacji starterów produktów monomorficznych nie stwierdzono wcale.

Analizowane pary starterów inicjowały również amplifikację 13 produktów specyficznych. Te unikatowe dla konkretnych izolatów produkty stanowiły 6% wszystkich fragmentów. Średnio na kombinację starterów zidentyfikowano 0,76 tego typu produktów amplifikacji (tab. 3). Zidentyfikowano 11 produktów specyficznych dla izolatu pochodzącego z Wielkiej Brytanii Aber_17 oraz po jednym dla D_17 i dla K_17. Nie stwierdzono amplifikacji specyficznych produktów dla pozostałych izolatów.

Tabela 3. Charakterystyka polimorfizmu badanych izolatów *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* zidentyfikowanego metodą SRAP

Lp.	Starter F	Starter R	Liczba fragmentów			
			całkowita	polimorficznych	monomorficznych	specyficznych
1	Me21	Em6	14	9	5	0
2	Me22	Em20_ep	12	10	2	2
3	Me3	Em17	12	7	5	1
4	Me4	Em24	8	8	0	0
5	Me7	Em22	12	12	0	1
6	Fsrp13	Em27	11	10	1	1
7	Fsrp17	Em26	9	6	3	1
8	Me1_ep	Em_Rsrp20	11	7	4	1
9	Me12	Em20_ep	15	11	4	0
10	Fsrp17_ep	Em18	19	19	0	1
11	Me2_ep	Em20_ep	19	15	4	1
12	Me3_ep	Em20_ep	15	9	6	0
13	Fsrp13_ep	Em8	7	7	0	0
14	Fsrp17_ep	Em7	12	9	3	2
15	Me16	Em28	20	13	7	0
16	Me17	Em30	12	12	0	1
17	Me18	Em7	9	9	0	1
Suma			217	173	44	13
Średnia			12,7	10,2	2,6	0,76
%			100	79,7	20,3	6,0

Na podstawie polimorfizmu zidentyfikowanego metodą SRAP dla 11 badanych izolatów określono ich podobieństwo genetyczne Dice'a (tab. 4). Średnia wartość podobieństwa wyniosła 0,593, wahając się od 0,384 pomiędzy K_18 i Aber_17 do 0,828 pomiędzy K_17 i K_18.

Posługując się otrzymanymi wynikami, skonstruowano dendrogram z wykorzystaniem metody UPGMA (ryc. 3). Na obrzeżach dendrogramu znalazł się izolat Aber_17 pochodzący z Wielkiej Brytanii, charakteryzujący się najmniejszym podobieństwem do

wszystkich analizowanych izolatów *P. graminis*. Wspólnemu grupowaniu uległy izolaty pochodzące z tych samych lokalizacji np. P_17 i P_18, Cz_17 i Cz_18, K_17 i K_18. Jedną grupę na dendrogramie utworzyły izolaty skolekcjonowane w okolicach Kopaszewa, Choryni i Strzelec, przy czym podobieństwo izolatów pochodzących z województwa wielkopolskiego (Kopaszewo, Choryń) było większe, aniżeli izolatów pochodzących z województwa łódzkiego (Strzelce). Wszystkie wymienione izolaty pochodzące z centralnej Polski tworzyły jedną grupę skupień. Do izolatów w obrębie tego klastra bardziej podobne były izolaty zebrane na terenie Czesławic (woj. lubelskie), niż izolaty zebrane w Polanowicach (woj. małopolskie). Usytuowanie izolatów na dendrogramie, odzwierciedlające ich podobieństwo genetyczne, skorelowane było z ich pochodzeniem geograficznym.

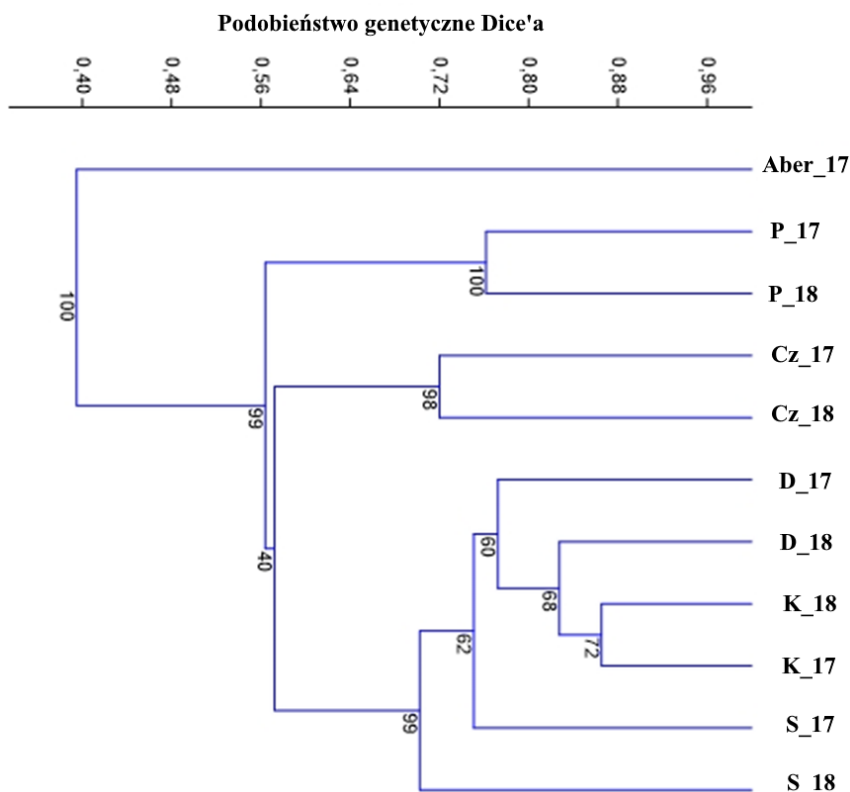
Tabela 4. Matryca indeksów podobieństwa genetycznego Dice'a (SI) pomiędzy analizowanymi izolatami i populacjami *Puccinia graminis* określonych na podstawie polimorfizmu identyfikowanego metodą SRAP

Izolat	K_17	K_18	D_17	D_18	S_17	S_18	Cz_17	Cz_18	P_17	P_18
K_18	0,828*									
D_17	0,742	0,702								
D_18	0,705	0,814	0,786							
S_17	0,727	0,755	0,761	0,749						
S_18	0,709	0,747	0,755	0,806	0,665					
Cz_17	0,598	0,608	0,597	0,640	0,623	0,642				
Cz_18	0,486	0,535	0,515	0,574	0,537	0,511	0,720			
P_17	0,540	0,523	0,563	0,573	0,557	0,564	0,581	0,529		
P_18	0,503	0,576	0,560	0,591	0,596	0,593	0,601	0,573	0,762	
Aber_17	0,412	0,384	0,385	0,405	0,385	0,389	0,425	0,424	0,413	0,396

*Pogrubioną czcionką zaznaczono skrajne wartości indeksów podobieństwa

Rdza źdźbłowa jest chorobą, która w sprzyjających warunkach klimatycznych i w obecności inokulum powoduje duże straty plonu owsa. Jedną z metod zapobiegania występowaniu choroby jest hodowla odpornościowa, mająca na celu wprowadzanie genów odporności na *P. graminis* do nowych odmian. Zdolność patogenów do rozmnażania płciowego, a także rearanżacje genów, mające miejsce w fazie bezpłciowej cyklu rozwojowego, umożliwiają modyfikowanie genotypu i powodują pojawienie się nowych patotypów, a wzrastająca różnorodność w populacjach *P. graminis* indukuje wzrost wirulencji w stosunku do efektywnych genów odporności. Znajomość zróżnicowania genetycznego *P. graminis* na poziomie DNA jest niezwykle cenna dla badań populacyjnych. Stwierdzenie zależności między zmiennością genetyczną wykrytą metodami molekularnymi,

a fizjologiczną specjalizacją izolatów o różnym pochodzeniu geograficznym zebranych w różnych latach umożliwi opracowanie strategii hodowli odpornościowej w danym regionie [Klenová-Jiráková 2010]. Wykorzystując ocenę zróżnicowania genetycznego, można obserwować, jakie zmiany zaszły w populacji na przestrzeni czasu.



Ryc. 3. Dendrogram badanych izolatów *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* uzyskany metodą UPGMA w oparciu o polimorfizm identyfikowany metodą SRAP

Podsumowanie

W oparciu o przeprowadzone badania molekularne można stwierdzić, że 11 badanych izolatów *P. graminis* o zróżnicowanym pochodzeniu geograficznym charakteryzowało się stosunkowo wysokim polimorfizmem markerów SRAP wynoszącym niemal 80%, a określony w oparciu o współczynnik Dice'a dystans genetyczny wyniósł średnio 0,593. Izolaty pochodzące z jednej lokalizacji były do siebie bardziej podobne genetycznie niż izolaty pochodzące z oddalonych geograficznie regionów, co obrazował dendrogram UPGMA. Wyniki potwierdzają, że metoda SRAP jest wiarygodna i wysoce efektywna w identyfikacji polimorfizmu w obrębie genotypów *P. graminis* f. sp. *avenae*

i z powodzeniem może być wykorzystywana do badania polimorfizmu i oceny zróżnicowania genetycznego w obrębie tego gatunku. Podobne wnioski sformułowali Gorczyca i in. [2021], prowadząc analizy zróżnicowania genetycznego izolatów *P. graminis* z wykorzystaniem metody ISSR. Identyfikowany przez wyżej wymienionych autorów polimorfizm był wyższy, aniżeli stwierdzony w niniejszych badaniach i wyniósł on niemal 100%, przy czym średnie podobieństwo analizowanych materiałów określone metodą Dice'a było niższe i sięgało niemal 0,40. Na tej podstawie można stwierdzić, że wykorzystana w pracy metoda SRAP jest lepszym źródłem produktów monomorficznych, a więc potencjalnie specyficznych gatunkowo, aniżeli metoda ISSR.

Bibliografia

- Budak H., Shearman R.C., Parmaksiz I., 2004. Molecular characterization of Buffalograss germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers. *Theor. Appl. Genet.* 108, 328–334. <http://doi.org/10.1007/s00122-003-1428-4>
- Dice L.R., 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 26(3), 297–302. <http://10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Figueroa M., Dodds P.N., Henningsen E.C., 2020. Evolution of virulence in rust fungi – multiple solutions to one problem. *Curr. Opin. Plant Biol.* 56, 20–27 <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.02.007>
- Gorczyca A., Toporowska J., Krawczyk A., Sadurski J., Sowa S., Paczos-Grzęda E., 2021. Assessment of the possibility of using ISSR method to analysis the intraspecific diversity of *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*. W: Wybrane zagadnienia z zakresu rolnictwa, M. Babicz, B. Nowakowicz-Dębek (red.). Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Lublin, 56–64. <https://doi.org/10.24326/mon.2021.10>
- Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D., 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4(4), 1–9 http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
- Haque S., Park R.F., Keiper F.J., Bariana H.S., Wellings C.R., 2008. Pathogenic and molecular variation support the presence of genetically distinct clonal lineages in Australian populations of *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*. *Mycol. Res.*, 112(6) <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.01.015>
- Klenová-Jiráková H., Leišová-Svobodová L., Hanzalová A., Kučera L., 2010. Diversity of oat crown rust (*Puccinia coronata* f. sp. *avenae*) isolates detected by virulence and AFLP analyses. *Plant Prot. Sci.* 46, 98–106. <http://doi.org/10.17221/17/2009-PPS>
- Leonard K.J., Szabo L.J., 2005. Stem rust of small grains and grasses caused by *Puccinia graminis*. *Mol. Plant Pathol.* 6(2), 99–111. <http://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00273.x>
- Li G., Quiros C.F., 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theor. Appl. Genet.* 103, 455–461. <http://doi.org/10.1007/s001220100570>
- Martens J.W., 1985. Oat stem rust. W: Roelfs A.P., Bushnell W. R., The cereal rust. Vol. II. Diseases, distribution, epidemiology and control. Academic Press, London, 116–142 <http://doi.org/10.1016/C2013-0-10449-7>
- Peterson P.D., Leonard K.J., Roelfs A.P., Sutton T.B. 2005. Effect of barberry eradication on changes in populations of *Puccinia graminis* in Minnesota. *Plant Dis.*, 89(9), 935–940 <http://doi.org/10.1094/PD-89-0935>
- Poczai P., Varga I., Laos M., Cseh A., Bell N., Valkonen J.P.T., Hyvönen J., 2013. Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review. *Plant Methods* 9(1), 6. <http://doi.org/10.1186/1746-4811-9-6>
- Roberts D.W., Wolfe A.D., 2014. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers: a potential resource for studies in plant molecular biology. *Appl. Plant Sci.* 2(7), 1400017. <http://doi.org/10.3732/apps.1400017>

- Roelfs A.P., 1985. Wheat and rye stem rust. W: The cereal rusts. Vol. 2. Diseases, distribution, epidemiology and control, A.P. Roelfs, W.R. Bushnell (red.). Academic Press, Orlando, FL, 3– 37. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-10449-7>
- Roelfs A.P., Singh R.P., Saari E.E., 1992. Rust diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexico, DF. <http://hdl.handle.net/10883/1153>
- Sowa S., Toporowska J., Koroluk A. Paczos-Grzęda E., 2021. First detailed report on *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* virulence structure and *Pg* resistance genes effective in Poland. Eur. J. Plant Pathol. 161, 371–381. <http://doi.org/10.1007/s10658-021-02329-1>
- Xue D., Feng S., Zhao H., Jiang H., Shen B., Shi N., Lu J., 2010. The linkage maps of *Dendrobium* species based on RAPD and SRAP markers. J. Genet. Genomics 37, 197–204. [http://doi.org/10.1016/S1673-8527\(09\)60038-2](http://doi.org/10.1016/S1673-8527(09)60038-2)
- Zadoks, J.C., Bouwman, J.J. 1985. Epidemiology in Europe. W: The cereal rusts. Vol. 2. Diseases, distribution, epidemiology and control, A.P. Roelfs, W.R. Bushnell (red.). Academic Press, Orlando, FL, 329–369 <https://www.ars.usda.gov/midwest-area/stpaul/cereal-disease-lab/docs/publications/the-cereal-rusts-vol-i-and-ii/>

Ocena aktywności mikrobiologicznej gleby po wprowadzeniu dostępnego na rynku krajowym biopreparatu zawierającego bakterie z rodzaju *Bacillus*

Evaluation of the biological activity of soil after the use of a biopreparation available on the domestic market, containing bacteria of the genus *Bacillus*

Chemiczne środki ochrony roślin to substancje lub ich mieszaniny, których stosowanie w uprawie roślin ma na celu ograniczenie populacji patogenów i szkodników [Mahmood i in. 2016]. Ich stosowanie stwarza zagrożenie dla środowisk naturalnych, gdyż gromadzone pozostałości pogarszają jakość gleb, wód powierzchniowych i gruntowych, ograniczają różnorodność biologiczną i tłumią funkcje ekosystemów [Kawalekar 2013]. Ważne staje się zatem korzystanie z bardziej przyjaznych środowisku metod uprawy roślin, w tym stosowanie biopreparatów dopasowanych do potrzeb uprawowych. Biopreparaty zawierają w swoim składzie m.in. różne gatunki bakterii, grzybów czy wirusów, których celem jest pobudzanie pożytecznej mikrobioty, stymulacja wzrostu i plonowania roślin, wzbogacenie gleby w cenne składniki pokarmowe lub ograniczanie wzrostu drobnoustrojów i organizmów niepożądanych [Grzyb i in. 2019]. Biopreparaty mikrobiologiczne są bezpieczne, gdyż nie powodują szkód w łańcuchu ekologicznym, nie zanieczyszczają środowiska i nie powodują erozji gleb [Kawalekar 2013]. W skład biopreparatów wchodzi drobnoustroje antagonistyczne lub pasożytnicze w stosunku do patogenów i szkodników roślin, a także bakterie korzystnie oddziałujące na roślinę (np. rizobia) lub drobnoustroje stymulujące aktywność mikrobiologiczną gleby [Martyniuk 2011]. Martyniuk [2011] klasyfikuje biologiczne środki ochrony roślin zawierające mikroorganizmy (biopestycydy) na kilka grup w zależności od aktywnego składnika, sposobu działania czy docelowego szkodnika. Bioherbicydy składające się z fitofagów i patogenów (np. *Alternaria destruens*) wykorzystywane są do zwalczania chwastów i niepożądanej roślinności [Martyniuk 2011]. Biofungicydy to preparaty zawierające komórki bądź enzymy drobnoustrojów (*Trichoderma* sp., *Pythium* sp., *Bacillus* sp., *Coniothyrium* sp.) zdolnych do zwalczania grzybów fitopatogenicznych [Martyniuk 2011, Abbey i in. 2019]. Bioinsektycydy ograniczają występowanie owadów i mogą zawierać m.in. bakterie *Bacillus thuringiensis* czy *Paecilomyces fumosoroseus* [Martyniuk 2012, Windley

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobiotechnologii, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, SKN Mikrobiologów „Mikrobios”, paulinamwac@gmail.com

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobiotechnologii, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej

i in. 2012]. Bionematocydy wykorzystuje się do zwalczania nicieni. Do bakterii wykazujących aktywność nematocydową zalicza się *Bacillus* sp. oraz *Pseudomonas* sp., a do grzybów *Metarhizium* sp., *Paecilomyces* sp. oraz *Verticillium* sp. [Martyniuk 2011, Engelbrecht i in. 2018]. Biobakteriocydy działają negatywnie na bakterie powodujące choroby roślin. Składnikiem tych biopreparatów jest *Bacillus subtilis* oraz bakterie z rodzaju *Agrobacterium* i *Pseudomonas* [Martyniuk 2011]. Z danych literaturowych wynika, iż glebowe bakterie z rodzaju *Bacillus* mogą zostać wykorzystane w preparatach komercyjnych o szerokim spectrum działania [Pietraszek i Walczak 2014].

Jak podaje Hawrot-Paw i in. [2016] oraz Możejko i Bohacz [2023] skuteczność działania biopreparatów można mierzyć na podstawie pomiaru aktywności mikrobiologicznej gleby, inaczej zwanej biologiczną aktywnością gleby, która zdaniem Mocek-Płóćciniak [2010] może być oznaczana metodami bezpośrednimi i pośrednimi. Do bezpośrednich metod należy oznaczanie ogólnej liczebności drobnoustrojów bytujących w glebie. Natomiast wśród metod pośrednich wymienia się m.in. aktywność enzymatyczną oraz respiracyjną [Mocek-Płóćciniak 2010, Frąc i in. 2011].

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu biopreparatu dostępnego na rynku krajowym na aktywność biologiczną gleby gliniastej poprzez pomiar dynamiki zmian ogólnej liczebności bakterii i grzybów, aktywności respiracyjnej oraz pH gleby.

Material i metodyka

Charakterystyka biopreparatu i gleby

Przedmiotem badań był wodny roztwór biopreparatu dostępnego na rynku krajowym, zawierający 8 gatunków bakterii z rodzaju *Bacillus* oraz ekologiczną melasę trzcinową. Wyjściowe pH wprowadzonego biopreparatu wynosiło 3,96. Według danych producenta preparat w ogólnym ujęciu ma wzmacniać odporność i wzrost roślin. Do zbadania wpływu biopreparatu na aktywność biologiczną gleby wykorzystano glebę o składzie granulometrycznym gliny piaszczystej (Cambisol), o zawartości C organicznego równej 1,05%. Próbkę gleby pochodziły z gospodarstwa indywidualnego w woj. lubelskim. Dokładną charakterystykę gleby podano w pracy Bohacz i in. [2022].

Warianty doświadczałne

Doświadczenie prowadzono w doniczkach zawierających po 200 g gleby, przesianej przez sita o średnicy oczek 2 mm. Biopreparat przygotowano według procedury podanej przez producenta i wprowadzono do gleby jednorazowo w dniu rozpoczęcia doświadczenia, nawilżając ją do poziomu 60% całkowitej pojemności wodnej. Liczebność bakterii wprowadzonych do gleby wraz z biopreparatem w ilości $8 \cdot 10^6 \text{ cm}^{-3}$, oznaczono metodą Breeda.

Warianty doświadczałne:

1. Gleba nawilżaczana wodą destylowaną (kontrola A)
2. Gleba nawilżaczana wodą destylowaną z obsadą rzepaku (kontrola B)
3. Gleba nawilżaczana biopreparatem
4. Gleba nawilżaczana biopreparatem z obsadą rośliny

5. Okresowo, tj. po 3, 14, 30 i 60 dniach trwania doświadczenia, prowadzono oznaczenia ogólnej liczebności bakterii i grzybów, aktywności oddechowej i pH gleby.

Oznaczanie liczebności mikroorganizmów i aktywności respiracyjnej

W celu określenia ogólnej liczebności bakterii oraz grzybów w glebie, wykorzystano metodę wysiewu rozcieńczeń i metodę płytek lanych. Pożywkę dla bakterii stanowiło podłoże z wyciągiem glebowym, a dla grzybów podłoże Martina, do którego dodano antybiotyki (streptomycynę – $30 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ oraz chlorotetracyklinę – $2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$) w celu zahamowania wzrostu bakterii. Założone hodowle bakterii inkubowano w temperaturze 28°C , a grzybów w 25°C . Dokładny skład podłoży hodowlanych podano w pracy Możejko i Bohacz [2023]. Aktywność oddechową mierzoną ilością wydzielonego CO_2 oznaczono według Rühling i Tyler [1973].

Zmiany pH gleby stwierdzono potencjometrycznie za pomocą pH-metru w 0,1 M KCl.

Analiza statystyczna

W celu wykazania istotnych różnic pomiędzy ogólną liczebnością bakterii, grzybów, ilością wydzielonego CO_2 i pH gleby w różnych wariantach doświadczalnych wykonano wieloczynnikową analizę wariancji (ANOVA) i test post-hoc Tukey'a na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ w programie Statistica ver. 13.3.

Wyniki i dyskusja

Ogólna liczebność bakterii

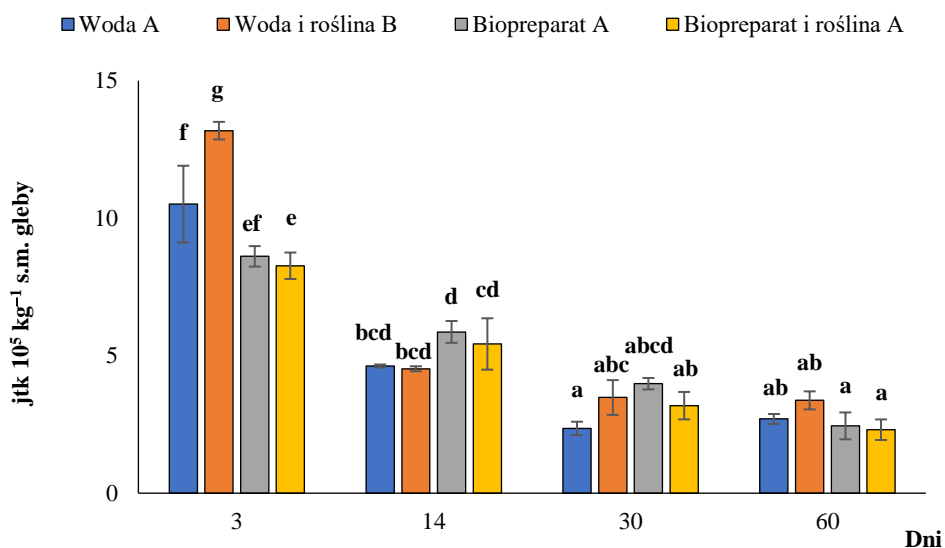
Obecne w glebie mikroorganizmy dzięki swoim cechom metabolicznym stanowią ważny czynnik plonotwórczości gleb [Wrońska i in. 2015]. Sun i in. [2020] podają, że biopreparaty zawierające bakterie *Bacillus* mogą być wykorzystywane w ograniczaniu strat azotu z gleby. Dane umieszczone na rycinie 1 przedstawiają istotny statystycznie ($\alpha = 0,05$) spadek liczebności bakterii w glebie między 3., a 60. dniem prowadzenia doświadczenia. Z badań przeprowadzonych przez Możejko i Bohacz [2023] wynika, że intensywność wpływu biopreparatów zależna jest obok właściwości gleby i wariantu doświadczalnego także od czasu działania środka. Meena i in. [2013] wskazują, że istotnym parametrem determinującym wpływ biopreparatów na liczebność glebowych bakterii jest forma w jakiej biopreparat jest do gleby doprowadzany i faza rozwojowa uprawianej rośliny.

Z badań własnych wynika, że średnia liczebność bakterii glebowych osiągała swoje maksimum w początkowym, tj. 3. dniu trwania doświadczenia, zarówno w wariancie z biopreparatem, jak i bez jego dodatku (ryc. 1). Po wprowadzeniu biopreparatu do gleby odnotowano spadek liczebności bakterii wynoszący średnio 28% względem prób nienawożonych. Możejko i Bohacz [2023] stwierdzili, że wprowadzenie hydrolizatu keratynowego stymuluje wzrost liczebności bakterii glebowych względem gleby nienawożonej.

Pomiędzy 3. a 60. dniem prowadzenia doświadczenia liczebność bakterii w glebie niewzbogaconej biopreparatem, z rzepakiem i bez tej rośliny spadła o 74%. W glebie wzbogaconej biopreparatem bez obsady i z obsadą rośliny spadek ten był nieznacznie

niższy, gdyż wynosił 72%. Chang i in. [2007] donoszą o korzystnym działaniu na liczebność bakterii nawożenia tradycyjnego w połączeniu z nawozami organicznymi takimi jak kompost. Cytowani autorzy zaznaczają, że spadki w liczebności tych mikroorganizmów mogły być spowodowane obniżaniem pH i zmianami w zasobności gleby w związku mineralno-organiczne.

Średnia liczebność bakterii uzależniona była od obecności rośliny (ryc. 1). W przypadku gleby bez wzrostu rośliny testowej wprowadzenie biopreparatu stymulowało średnią liczebność bakterii względem kontroli A o 4%. W wariancie doświadczalnym z rzepakami notowano natomiast względem kontroli B spadek liczebności badanych mikroorganizmów średnio o 22%. Z badań przeprowadzonych przez Hawrot-Paw i in. [2016] wynika, że biopreparat Rhizocell C korzystnie oddziaływał na liczebność zasiedlających glebę bakterii w początkowym i końcowym terminie analiz.



Ryc. 1. Dynamika zmian ogólnej liczebności bakterii (jtk kg^{-1} s.m. gleby) w glebie

Objaśnienia: litery a, b, c, itd. oznaczają średnie tworzące grupy jednorodne (test post-hoc HSD-Tukey dla ANOVA wieloczynnikowej). Gdy dwóm porównywanym wartościom przypisano tę samą literę (np.: a, a lub ab, ab, itd.), to nie różniły się one istotnie (przy $\alpha = 0,05$); jeśli porównywane wartości oznaczono różnymi literami (np.: a i b lub ab i cd), to różniły się one od siebie istotnie (przy $\alpha = 0,05$)

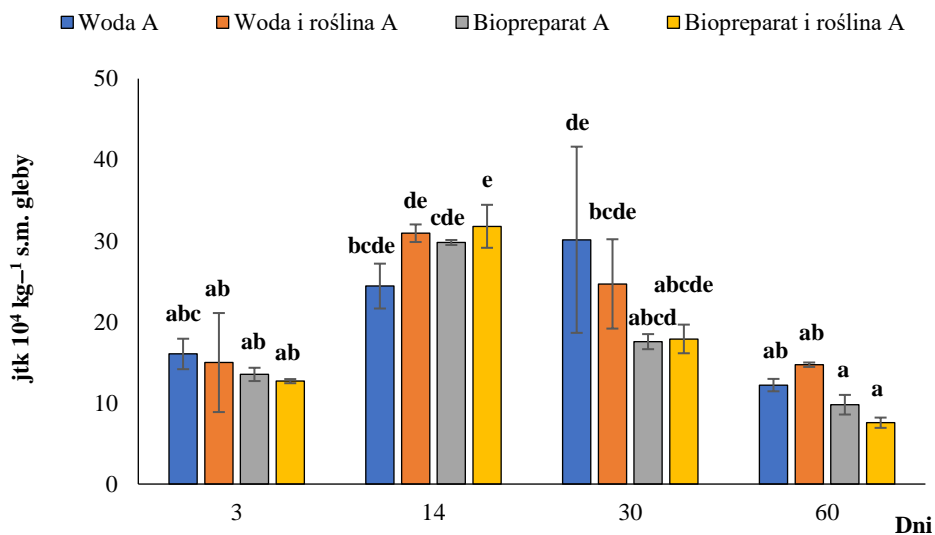
Ogólna liczebność grzybów

Grzyby strzępkowe i ich liczebność również mają istotny wpływ na biologiczną aktywność środowiska glebowego [Kowalska i in. 2017]. Uwzględniając zamieszczone na rycinie 2 dane, stwierdzono, że liczebność grzybów na ogół istotnie statystycznie ($\alpha = 0,05$) rosła do 14. dnia prowadzenia doświadczenia. Następnie odnotowano statystycznie istotne ($\alpha = 0,05$) obniżanie się ich liczebności aż do końca eksperymentu, tj. do dnia 60.

Średnia ogólna liczebność grzybów w glebie wzbogaconej biopreparatem była najwyższa w 14. dniu doświadczenia (ryc. 2). W tym czasie wprowadzony do gleby biopreparat względem gleb nienawożonych stymulował średnio o 11% liczebność grzybów zarówno w wariantach z obsadą, jak i bez obsady rzepaku. Efekt ten nie był jednak istotny statystycznie ($\alpha = 0,05$). Meena i in. [2013] wskazują, że istotny wpływ na liczebność glebowej mykobioty ma obecność uprawianej rośliny i jej faza rozwojowa.

Pomiędzy początkowym i końcowym terminem analiz własnych, we wszystkich badanych wariantach doświadczalnych liczebność grzybów uległa ograniczeniu (ryc. 2). Glebę niewzbogaconą biopreparatem w przypadku jej nieobsiania i obsiania rzepakiem cechował spadek liczebności badanej grupy mikroorganizmów równy odpowiednio średnio 24% i 2%. Gleba, do której wprowadzono biopreparat, charakteryzowała się znacznie wyższym ograniczeniem liczebności grzybów w czasie, wynoszącym 28% i 40% kolejno w przypadku obsady rzepaku i jej braku. Możejko i Bohacz [2023] podają, że w przypadku nienawożonych hydrolizatami gleb bez obsady rzepaku i z jego obsadą po 60. dniach doświadczenia notowano odpowiednio spadek i wzrost liczebności grzybów.

Biopreparat wprowadzony do gleby z obsadą i brakiem obsady roślin testowych wykazywał wobec obecnych w niej grzybów działanie ograniczające (ryc. 2). Wzbogacenie środkiem nawozowym gleby nieobsianej rzepakiem skutkowało średnio 15-proc. ograniczeniem liczebności grzybów względem kontroli A. W przypadku gleby pochodzącej spod rzepaku efekt ograniczający biopreparatu wobec liczebności grzybów był większy względem kontroli B i wynosił 18%. Dynamika zmian liczebności grzybów w glebach nawożonych może być spowodowana zmianami w jej składzie chemicznym i pH [Chang i in. 2007].



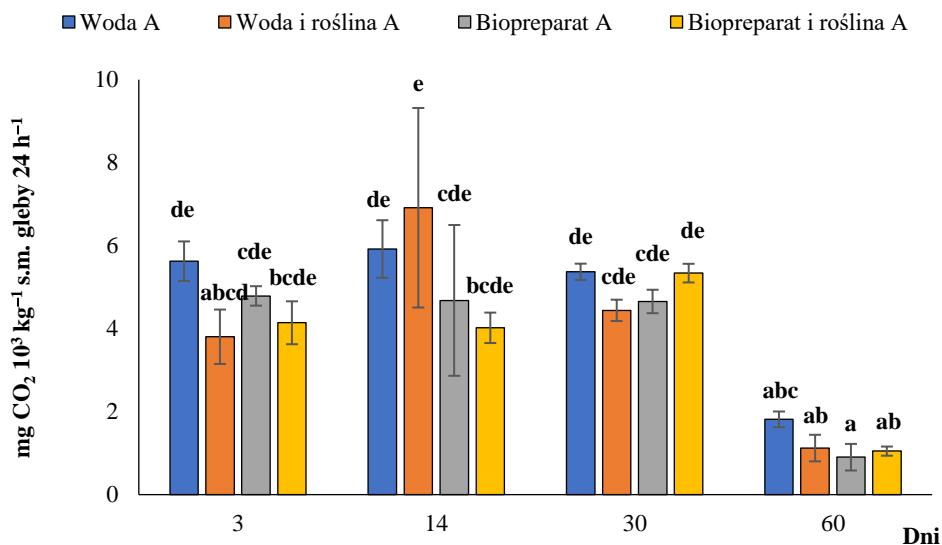
Objaśnienia jak do ryc.1.

Ryc. 2. Dynamika zmian ogólnej liczebności grzybów (jtk kg⁻¹ s.m. gleby) w glebie

Aktywność oddechowa

Aktywność oddechowa oceniana na podstawie emisji dwutlenku węgla, który wydziela się przy rozkładzie i utlenieniu związków organicznych, jest dobrym testem potwierdzającym aktywność mikroorganizmów glebowych. Intensywność glebowej respiracji uwarunkowana jest fazą rozwojową uprawianej rośliny [Natywa i in. 2010]. Jak wynika z danych przedstawionych na rycinie 3, aktywność oddechowa w glebie istotnie rosła ($\alpha = 0,05$) do 14. dnia analiz jedynie w kontroli B, po czym istotnie spadała aż do końca trwania doświadczenia (analiza w dniu 60.) niezależnie od wariantu doświadczenia. Istotny wzrost aktywności oddechowej ($\alpha = 0,05$) w tym czasie odnotowano w glebie obsadzonej rzepakiem, zaś istotny spadek w glebie bez tej rośliny.

Najwyższa średnia aktywność oddechowa gleby przypadała na 14. i 30. dzień odpowiednio w glebie nienawożonej i nawożonej biopreparatem (ryc. 3). Wprowadzony do gleby biopreparat po 14 dniach spowodował aż 32-proc. ograniczenie wydzielania CO_2 względem gleby nienawożonej. W dniu 30. natomiast biopreparat spowodował wzrost aktywności respiracyjnej, średnio o 2% względem wariantu nienawożonego. Aktywność oddechowa gleby warunkowana jest zdaniem Zhu i in. [2016] dostępnością azotu, wobec której jego wyższa zasobność wywiera ograniczający wpływ.



Objaśnienia jak do ryc.1.

Ryc. 3. Dynamika zmian aktywności oddechowej ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ s.m. gleby } 24 \text{ h}^{-1}$) w glebie

Średnia ilość wydzielonego z gleby gliniastej CO_2 spadła w czasie trwania doświadczenia, tj. między 3. a 60. dniem (rys. 3). Spadek aktywności oddechowej w glebie nienawożonej biopreparatem nieobsadzonej i obsadzonej rzepakiem wyniósł odpowiednio

68% i 71%. Wprowadzony do gleby biopreparat spowodował ograniczenie aktywności oddechowej w glebie bez obsady i z obsadą rośliny testowej, wynoszące kolejno 81% i 75%. Możejko i Bohacz [2023] wskazują, że spadek aktywności respiracyjnej w czarnoziemie w 30. dniu trwania doświadczenia wiązał się z wysokim poziomem azotu ogólnego w tej glebie. Nie było to jednak tożsame z wynikami badań własnych i charakterystyką wykorzystanej gleby. Buragiene i in. [2023] wskazują, że wpływ biopreparatów na stymulację wydzielania CO₂ z gleby zmienia się w większym przedziale czasowym, tj. w latach, niż zastosowany w badaniach własnych.

Wprowadzony do gleby biopreparat hamował średnią ilość wydzielanego CO₂ silniej w glebie nieobsianej rzepakiem niż w glebie z rośliną (ryc. 3). Nawożenie biopreparatem gleby nieobsianej rośliną testową doprowadziło do 20-proc. zmniejszenia ilości wydzielonego CO₂ względem kontroli A. Wobec kontroli B biopreparat spowodował mniejsze, tj. 11-proc. zahamowanie aktywności respiracyjnej gleby.

pH gleby

Odczyn gleby jest jednym z wielu wskaźników zmian zachodzących w środowisku glebowym. Duże znaczenie dla zmian odczynu gleby ma wyjściowe pH wprowadzanego do niego środka nawozowego [Chang i in. 2007]. Na podstawie danych zamieszczonych w tabeli 1 stwierdzono, że pomiędzy 3. a 14. dniem eksperymentu we wszystkich wariantach doświadczalnych nastąpił nieistotny statystycznie ($\alpha = 0,05$) spadek pH. Po tym czasie pH gleby sukcesywnie i istotnie wzrastało, aż do końca trwania doświadczenia. Pomiedzy 3. a 60. dniem analiz zanotowano 9-proc. wzrost pH gleby w obu wariantach nienawożonych biopreparatem. W przypadku gleby z dodatkiem biopreparatu 6-proc. wzrost pH w czasie stwierdzono w glebie z rzepakiem, natomiast 4-proc. w glebie bez tej rośliny. Wzbogacenie gleby biopreparatem doprowadziło do wzrostu pH o 6% i 3% odpowiednio w stosunku do nienawożonych kontroli A i kontroli B.

Tabela 1. Dynamika zmian pH w glebie gliniastej w różnych wariantach doświadczalnych

Wariant	Dni			
	3 ^B	14 ^A	30 ^{AB}	60 ^C
Woda ^C	6.09 ±0.11 ^{abc}	5.86 ±0.10 ^a	5.89 ±0.35 ^{ab}	6.62 ±0.07 ^{efg}
Woda i roślina ^A	6.23 ±0.02 ^{abcde}	6.15 ±0.04 ^{abcd}	6.21 ±0.04 ^{abcd}	6.79 ±0.06 ^{fg}
Biopreparat ^{AB}	6.51 ±0.05 ^{def}	6.29 ±0.02 ^{bcde}	6.40 ±0.02 ^{cdef}	6.77 ±0.07 ^{fg}
Biopreparat i roślina ^B	6.50 ±0.10 ^{def}	6.40 ±0.04 ^{cdef}	6.40 ±0.04 ^{cdef}	6.91 ±0.08 ^g

Objaśnienia jak do ryc. 1; duże litery A, B, C, D oznaczają grupy homogenne w obrębie analizowanych terminów oraz wariantów doświadczalnych

Wieloczynnikowa analiza wariancji (ANOVA) wykazała, że na ogół wszystkie badane warianty eksperymentalne różniły się względem siebie istotnie statystycznie

($\alpha = 0,05$) pod względem pH. Wyjątek stwierdzono jedynie wobec gleby bez obsady rośliny testowej, do której wprowadzono biopreparat. Uzyskane dla tego wariantu wartości pH były istotnie różne ($\alpha = 0,05$) jedynie od wartości uzyskanych dla jej nienawożonego odpowiednika (kontrola A).

Wnioski

1. Wprowadzony doglebowo biopreparat w warunkach modelowych wraz z czasem doświadczenia ograniczał biologiczną aktywność gleby.
2. Badany biopreparat wprowadzony do gleby gliniastej aktywizował jedynie liczebność bakterii po 14 dniach w obu wariantach uprawowych, a także jeszcze w 30. dniu w wariantcie bez rośliny.
3. Wzbogacenie badanej gleby w biopreparat nie wywierało istotnego wpływu na aktywność oddechową mierzoną ilością uwolnionego CO₂. Obecność rośliny osłabiała negatywne oddziaływanie środka nawozowego.
4. Wprowadzenie do gleby gliniastej badanego biopreparatu na ogół przyczyniało się do wzrostu pH gleby.
5. Trwające 60 dni doświadczenie nie dostarczyło jednoznacznych wyników dotyczących istotnego negatywnego/pozytywnego wpływu biopreparatu, ukierunkowując na dalsze badania w tym zakresie.

Bibliografia

- Abbey J.A., Percival D., Abbey L., Asiedu S. K., Prithviraj B., Schilder A., 2019. Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (*Botrytis cinerea*) – prospects and challenges. *Biocontrol Sci. Technol.* 29 (3), 207–228. <https://doi.org/10.1080/09583157.2018.1548574>
- Bohacz J., Możejko M., Korniłowicz-Kowalska T., Siebielec G., 2022. Impact of ecological factors on the occurrence and spatial-taxonomic structure of keratinophilic fungi and their co-occurrence in arable soils. *Agriculture (Basel)* 12, 194. <https://doi.org/10.3390/agriculture12020194>
- Buragienė S., Šarauskis E., Adamavičienė A., Romanekas K., Lekavičienė K., Naujokienė V., 2023. Analysis of changes in soil physical properties and CO₂ emissions under the influence of biopreparations of different composition. *Egusphere* 470, 1–23. <https://doi.org/10.5194/egusphere-2023-470>
- Chang E.H., Chung R.S., Tsai Y.H., 2007. Effect of different application rates of organic fertilizer on soil enzyme activity and microbial population. *Soil Sci. Plant Nutr.* 53, 132–140. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2007.00122.x>
- Engelbrecht G., Horak I., Jansen van Rensburg P.J., Claassens S., 2018. *Bacillus*-based bionematicides: development, modes of action and commercialisation. *Biocontrol Sci. Technol.* 28(7), 629–653. <https://doi.org/10.1080/09583157.2018.1469000>
- Frać M., Lipiec J., Rutkowska A., Oszust K., Pótorak M., 2011. Właściwości mikrobiologiczne gleby pod uprawą pszenicy ozimej w systemach ekologicznym i konwencjonalnym. *Acta Agrophys.* 18(2), 245–254.
- Grzyb A., Waraczewska Z., Niewiadomska A., Wolna-Maruwka, A., 2019. Czym są biopreparaty i jakie jest ich zastosowanie?. *Nauka Przyr. Technol.* 13(2), 7. <https://doi.org/10.17306/J.NPT.00275>
- Hawrot-Paw M., Mikiciuk G., Mikiciuk M., Izwikow M., Kiniorska J., 2016. Number and activity of microorganisms in soil inoculated with Rhizocell C biopreparation in strawberry cultivation (*Fragaria* × *Ananasa* Duch.). *J. Ecol. Eng.* 17(2), 135–140. <https://doi.org/10.12911/22998993/62307>

- Kawalekar J.S., 2013. Role of biofertilizers and biopesticides for sustainable agriculture. *J. Bio Innov.* 2(3), 73–78.
- Kowalska J., Niewiadomska A., Gluchowska K., Kaczmarek D., 2017. Impact of fertilizers on soil properties in the case of *Solanum tuberosum* L. during conversion to organic farming. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 15(4), 369–383. https://doi.org/10.15666/aeer/1504_369383
- Mahmood I., Imadi S.R., Shazadi K., Gul A., Hakeem K.R., 2016. Effects of pesticides on environment. W: *Plant, soil and microbes* K. Hakeem, M. Akhtar, S. Abdullah (red.). Springer, Cham, 253–269. https://doi.org/10.1007/978-3-319-27455-3_13
- Martyniuk S., 2011. Skuteczne i nieskuteczne preparaty mikrobiologiczne stosowane w ochronie i uprawie roślin oraz rzetelne i nierzetelne metody ich oceny. *Post. Mikrobiol.* 50(4), 321–328.
- Martyniuk S., 2012. Factors affecting the use of microbial biopesticides in plant protection. *Progr. Plant Prot.* 52(4), 957–962. <http://doi.org/10.14199/ppp-2012-165>
- Meena V.S., Maurya B.R., Verma R., Meena R.S., Jatav G.K., Meena S.K., Meena R., Meena S.K., 2013. Soil microbial population and selected enzyme activities as influenced by concentrate manure and inorganic fertilizer in alluvium soil in Varanasi. *Bioscan* 8(3), 931–935.
- Mocek-Płóciniak A., 2010. Wykorzystanie aktywności enzymatycznej do oceny wpływu antropogenicznych zmian wywołanych przez metale ciężkie w środowisku glebowym. *Nauka Przyr. Technol.* 4(6), 86.
- Możejko M., Bohacz J., 2023. Effect of keratin hydrolysates obtained from feather decomposition by *Trichophyton ajelloi* on plant germination, growth and biological activity of selected arable soils under model conditions. *Agronomy* 13, 187. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010187>
- Natywa M., Ambroży K., Sawicka A., Wolna-Maruwka A., 2010. Aktywność respiracyjna i dehydrogenazowa gleby pod uprawą kukurydzy w zależności od różnych dawek nawozu azotowego. *Nauka Przyr. Technol.* 4(6), 89.
- Pietraszek P., Walczak P., 2014. Charakterystyka i możliwości zastosowania bakterii z rodzaju *Bacillus* wyizolowanych z gleby. *Pol. J. Agron.* 16, 37–44.
- Rühling Å., Tyler G., 1973. Heavy metal pollution and decomposition of spruce needle litter. *Oikos* 24, 402–416. <https://doi.org/10.2307/3543816>
- Sun B., Bai Z., Bao L., Xue L., Zhang S., Wei Y., Zhang Z., Zhuang G., Zhuang X., 2020. *Bacillus subtilis* biofertilizer mitigating agricultural ammonia emission and shifting soil nitrogen cycling microbiomes. *Environ. Int.* 144, 105989. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105989>
- Windley M.J., Herzig V., Dziemborowicz S.A., Hardy M.C., King G.F., Nicholson G.M., 2012. Spider-venom peptides as bioinsecticides. *Toxins (Basel)* 4(3), 191–227. <https://doi.org/10.3390/toxins4030191>
- Wrońska I., Onyszko M., Cybulska K., Telesiński A., Mahdi-Oraibi S., 2015. The content of live microbial biomass and its number in horticultural soil enriched with biological preparation. *Proc. ECOpole* 9, 795–801. [https://doi.org/10.2429/proc.2015.9\(2\)090](https://doi.org/10.2429/proc.2015.9(2)090)
- Zhu C., Ma Y., Wu H., Sun T., La Pierre K.J., Sun Z., Yu Q., 2016. Divergent effects of nitrogen addition on soil respiration in a semiarid grassland. *Sci. Rep.* 6, 33541. <https://doi.org/10.1038/srep33541>