

ANNA MAJCHROWSKA-SAFARYAN

Instytut Rolnictwa i Ogrodnictwa, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny, Siedlce

anna.majchrowska-safaryna@uph.edu.pl

WSTĘP I CEL

Jednymi z najważniejszych i najbardziej efektywnych biostymulatorów roślin są substancje humusowe, które powstają na skutek chemicznego i biologicznego rozkładu materii organicznej. Powodują one wzrost pojemności wodnej gleby, poprawiają jej strukturę, zwiększają aktywność mikrobiologiczną, poprzez stymulację wzrostu i rozmnażania mikroorganizmów. Wśród mikroorganizmów zasiedlających glebę znaczącą grupę stanowią grzyby owadobójcze z rodzajów *Beauveria*, *Metarhizium*, *Cordyceps*, które wywołują w niej naturalne mikozyzy stawonogów. Wykorzystanie owadobójczych grzybów jako środków biologicznej ochrony roślin zamiast pestycydów jest alternatywną metodą skutecznego ograniczania populacji szkodników. Grzyby entomopatogenne w przeciwieństwie do syntetycznych pestycydów nie mają negatywnego wpływu na zdrowie człowieka i środowisko.

Celem badań było określenie wpływu preparatów zawierających substancje humusowe w porównaniu z czystymi kwasami humusowymi na wzrost i kiełkowanie zarodników grzybów entomopatogenicznych z rodzaju *Beauveria* w warunkach *in vitro*.

METODY

W warunkach laboratoryjnych zbadano wpływ preparatów zawierających substancje humusowe oraz czyste kwasy humusowe na wzrost kolonii grzyba *B. bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. wyizolowanego z gleby łąkowej pobranej w miejscowości Klimonty (woj. mazowieckie) oraz *B. brongniartii* (Sacc.) wyizolowanego z gleby z zadrzewienia śródpolnego w miejscowości Boćki (woj. podlaskie), za pomocą podłoża selektywnego. Zastosowano preparaty Ami AGRA, Humi AGRA, Algo HUM (zalecana dawka połowa) oraz kwasy humusowe wyekstrahowanych z torfu, węgla brunatnego oraz podłoża popieczarkowego. Na podstawie zawartości substancji humusowych preparatu Ami AGRA obliczono dawkę czystych kwasów humusowych w g/l pożywki. Ich charakterystykę przedstawiono w tabeli 1. Podłoża zostały przeniesione na sterylne plastikowe szalki Petriego o średnicy 90 mm. Obserwację wzrostu kolonii prowadzono co 5 dni, aż do 20 dnia mierząc ich średnicę. W drugiej części doświadczenia podłoża Sabourauda z dodatkiem preparatów i kwasów humusowych nanoszono cienką warstwą na powierzchnię szkiełek podstawowych i wprowadzono 0,1 ml wodnego roztworu z zarodnikami. Obserwację prowadzono po 24 i 48 godzinach, a uzyskane wyniki wyrażono procentowo w stosunku do kontroli.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie z wykorzystaniem programu Statistica 13.3 TIBCO Software Inc. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) i post-hoc test Tukeya. Wyliczone średnie połączono w jednorodne grupy na poziomie istotności $\alpha < 0,05$. Obliczono odchylenie standardowe.

Tabela 1. Charakterystyka preparatów zawierających substancje humusowe i czystych kwasów humusowych zastosowanych w doświadczeniu

Preparat	Skład chemiczny	Dawka
Ami AGRA Agraplant	pH - 7,0-9,0, substancje humusowe - 60%, aminokwasy - 70%, azot (N) - 6%	doglebowo: 0,5 - 1 kg/ha w 250 - 300 l wody; dolistnie: 100 g/ha w 250 - 300 l wody
Humi AGRA Agraplant	pH - 8,0-10, substancje humusowe - 60%, tlenek potasu (K ₂ O) - 8%	doglebowo: 0,5 - 1 kg/ha w 250 - 300 l wody; dolistnie: 100 g/ha w 250 - 300 l wody
Algo HUM Agraplant	pH - 7,8-9,8, substancje humusowe - 28% w tym 50% kwasy humusowe, algi morskie - 50%	100g/ha w 250-300 l wody
Torf	Kwasy humusowe wyekstrahowane z torfu niskiego - dolina rzeki Liwiec	1,2 g/l wody
Węgiel brunatny	Kwasy humusowe wyekstrahowane z węgla brunatnego - Bełchatów	1,2 g/l wody
Podłożo popieczarkowe	Kwasy humusowe wyekstrahowane z podłoża popieczarkowego - wielkopowierzchniowe pieczarkarnie, powiat Siedlecki	1,2 g/l wody

WNIOSKI

- W 20 dniu hodowli (średnio) preparaty zawierające substancje humusowe wykazały działanie stymulujące, natomiast czyste kwasy nieznacznie ograniczały wzrost kolonii testowanych izolatów.
- Wzrost kolonii grzyba *B. bassiana* najsilniej stymulował preparat Ami AGRA, a *B. brongniartii* Humi AGRA.
- Udział skiełkowanych zarodników po 48 godzinach kontaktu z podłożem był większy niż po 24, przy czym więcej zarodników kiełkowało na podłożach z dodatkiem preparatów zawierających substancje humusowe, niż czyste kwasy humusowe.

WYNIKI

Tabela 2. Średnice kolonii grzyba *B. bassiana* w trakcie hodowli na podłożach z dodatkiem preparatów zawierających substancje humusowe i czystych kwasów humusowych (wyrażona w mm)

Preparat	Średnica kolonii grzyba (mm)			
	5 dzień	10 dzień	15 dzień	20 dzień
Preparaty zawierające substancje humusowe				
Ami AGRA	18,2±0,95 a	31,0±0,81 a	44,5±1,29 a	60,7±2,21 a
Humi AGRA	16,0±0,50 ab	30,5±1,00 a	44,5±1,29 a	60,0±0,81 a
Algo HUM	15,7±0,95 b	31,0±1,15 a	41,5±1,00 ab	54,3±2,87 b
Czyste kwasy humusowe				
Torf	12,7±0,95 c	26,5±0,58 b	36,7±0,96 c	53,5±1,29 b
Węgiel brunatny	11,3±1,50 c	26,0±1,41 b	37,6±1,25 c	54,0±0,81 b
SMS	11,7±1,25 c	27,3±1,89 b	41,0±2,44 ab	61,0±0,82 a
Kontrola	12,8±0,98 c	24,2±0,98 c	40,0±2,75 b	56,4±2,33 b

*SMS – podłożo popieczarkowe; a – istotność na poziomie $\alpha < 0,05$

Tabela 3. Średnice kolonii grzyba *B. brongniartii* w trakcie hodowli na podłożach z dodatkiem preparatów zawierających substancje humusowe i czystych kwasów humusowych (wyrażona w mm)

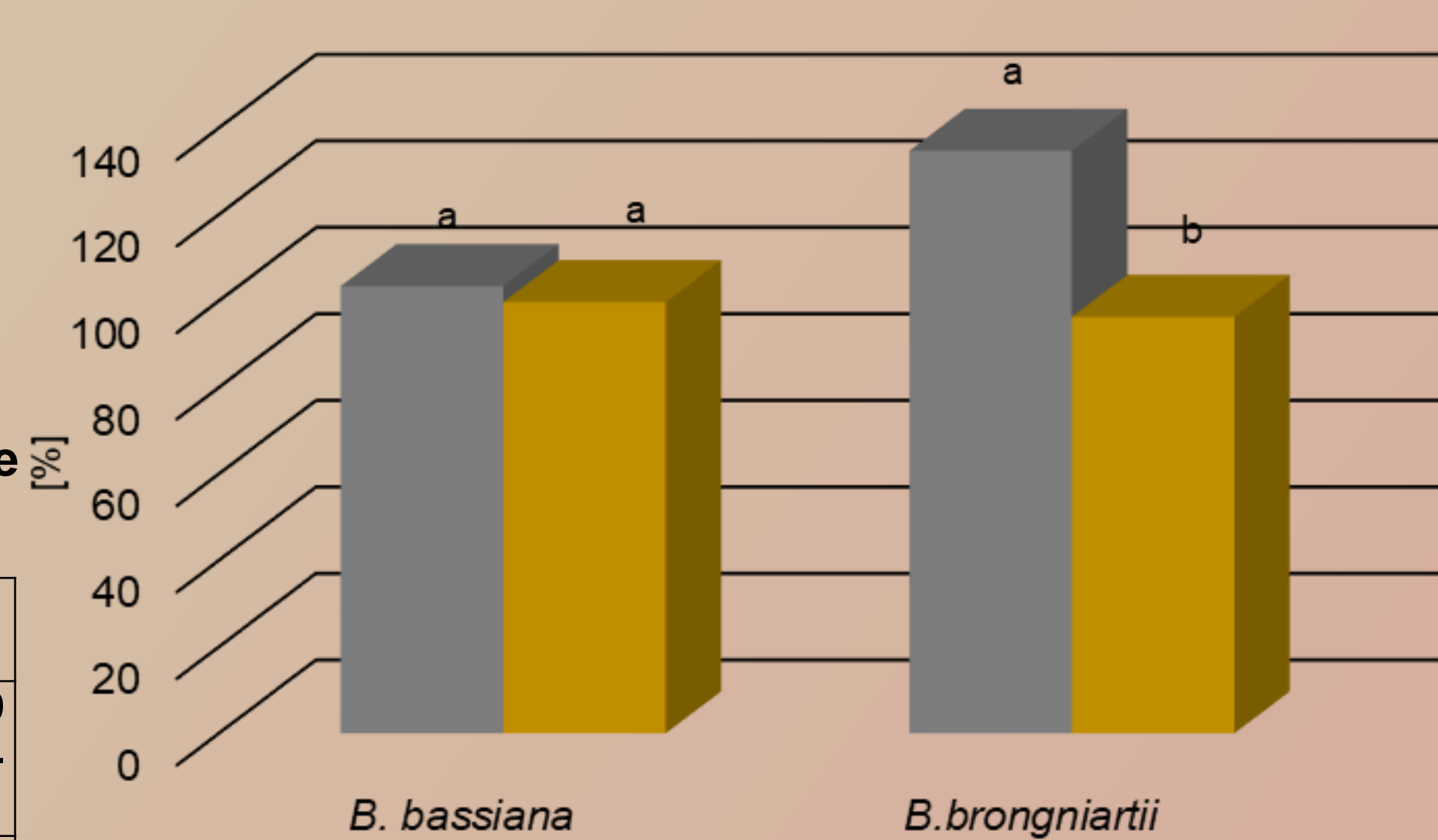
Preparat	Średnica kolonii grzyba (mm)			
	5 dzień	10 dzień	15 dzień	20 dzień
Preparaty zawierające substancje humusowe				
Ami AGRA	21,7±1,50 a	42,8±2,21 a	60,7±2,87 a	72,5±2,64 a
Humi AGRA	21,8±1,50 a	45,7±0,95 a	66,5±3,11 a	78,7±2,98 a
Algo HUM	22,5±1,92 a	43,0±4,78 a	68,3±0,94 a	75,3±2,87 a
Czyste kwasy humusowe				
Torf	17,7±1,29 b	31,0±1,25 b	43,2±1,73 b	53,5±1,09 b
Węgiel brunatny	16,2±0,95 b	31,2±1,15 b	40,5±1,41 b	54,7±2,50 b
SMS	15,8±0,81 b	28,5±2,65 b	40,3±1,88 b	53,6±1,25 b
Kontrola	17,8±1,16 b	32,3±3,66 b	43,8±3,54 b	56,0±2,45 b

*SMS – podłożo popieczarkowe; a – istotność na poziomie $\alpha < 0,05$

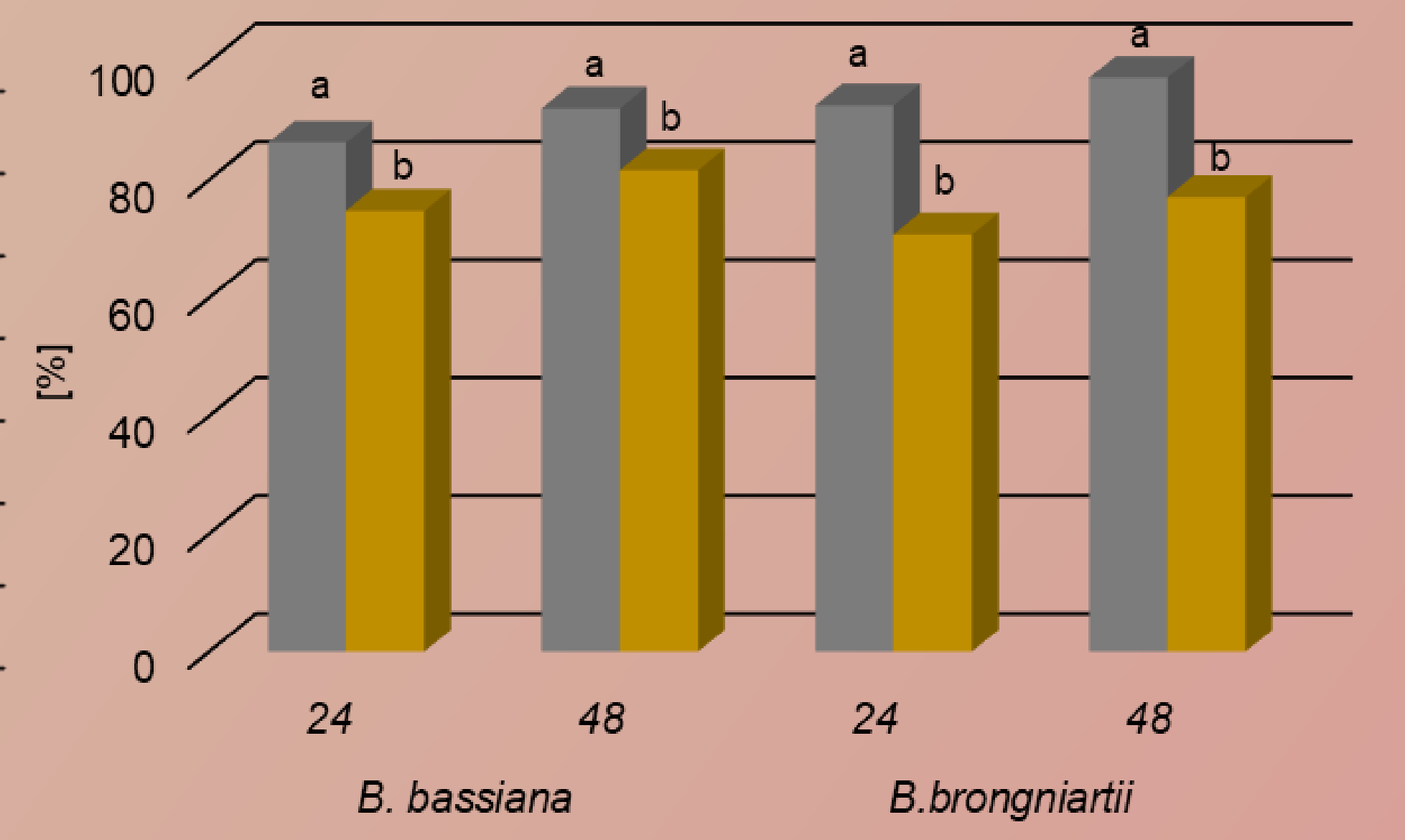
Tabela 4. Wpływ preparatów zawierających substancje humusowe i czystych kwasów humusowych na kiełkowanie zarodników grzybów *B. bassiana* i *B. brongniartii* (w % w stosunku do kontroli)

Gatunek Preparat	Grzyby entomopatogeniczne			
	<i>Beauveria bassiana</i>		<i>Beauveria brongniartii</i>	
	Po 24 godz.	Po 48 godz.	Po 24 godz.	Po 48 godz.
Preparaty zawierające substancje humusowe				
Ami AGRA	90,2 a	94,4 a	92,3 a	96,4 a
Humi AGRA	89,8 a	92,6 ab	94,7 a	98,3 a
Algo HUM	78,9 b	89,2 bc	90,8 a	97,2 a
Czyste kwasy humusowe				
Torf	74,4 bc	78,2 d	66,6 c	70,2 c
Węgiel brunatny	70,2 c	80,4 d	72,4 b	80,8 b
SMS	79,7 b	86,4 c	73,2 b	80,4 b

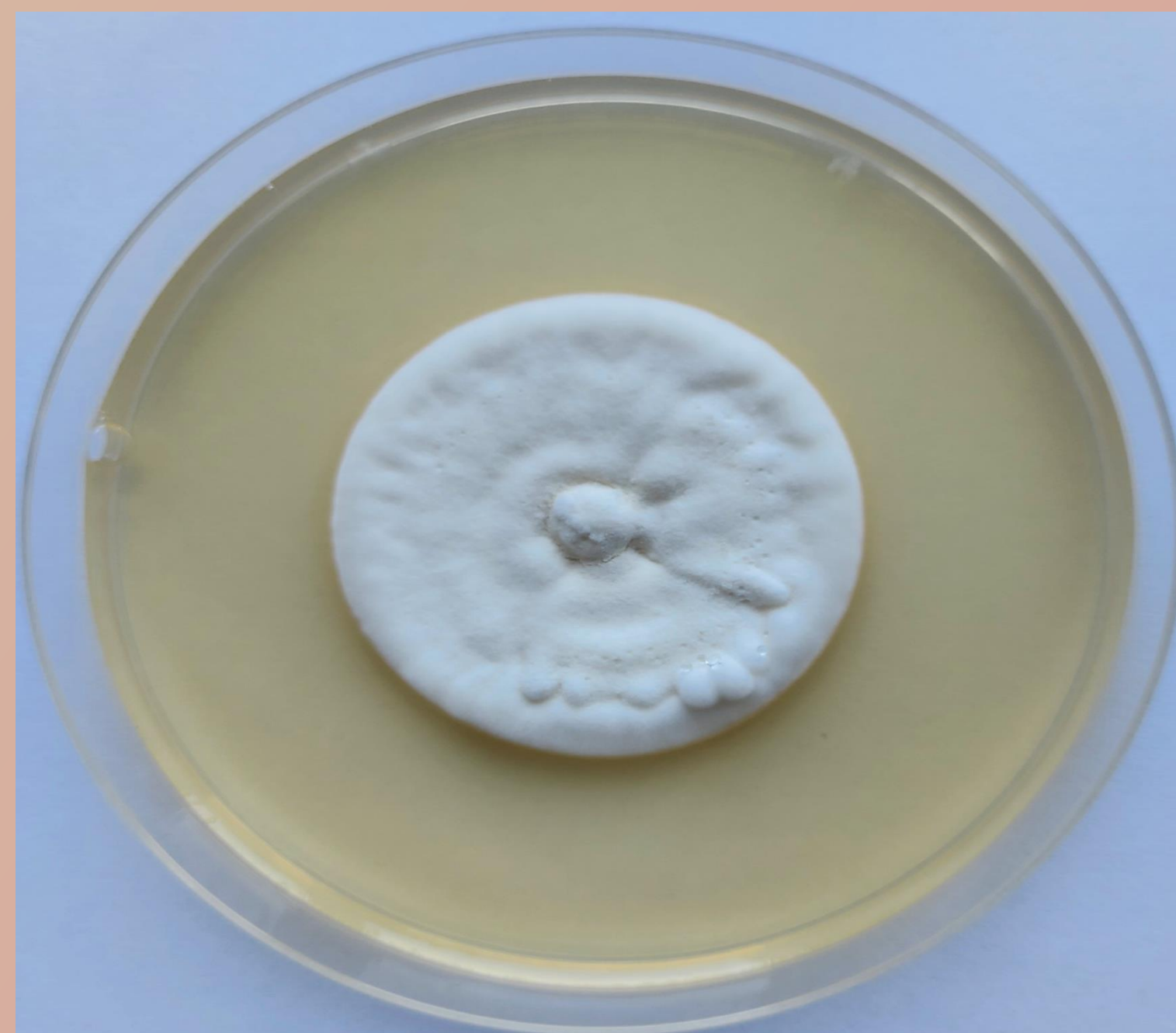
*SMS – podłożo popieczarkowe; a – istotność na poziomie $\alpha < 0,05$



Rys. 1. Wielkość kolonii grzybów owadobójczych w 20 dniu hodowli na pożywkach z dodatkiem preparatów zawierających substancje humusowe i czyste kwasy humusowe (w % w stosunku do kontroli)



Rys. 2. Kiełkowanie zarodników grzybów owadobójczych na pożywkach z dodatkiem preparatów zawierających substancje humusowe i czyste kwasy humusowe (w % w stosunku do kontroli)



Fot. 1. Kolonia *B. bassiana* rozwijająca się na podłożu z dodatkiem czystych kwasów humusowych wyekstrahowanych z torfu



Fot. 2. Kolonia *B. brongniartii* rozwijająca się na podłożu z dodatkiem preparatu Humi AGRA