

## Streszczenie

Ekologiczna produkcja żywności to nie tylko praktyka pozwalająca na otrzymanie wysokiej jakości produktu, ale również na zmniejszenie negatywnego wpływu rolnictwa na środowisko naturalne. Szacuje się, że około 30% powierzchni ekologicznych gruntów uprawnych znajduje się w Europie, a około 6,4% tych gruntów znajduje się w Polsce. Ponadto produkcja ekologicznych owoców miękkich, w tym malin, w Polsce pomiędzy rokiem 2012 a 2020 wzrosła prawie dwukrotnie z 21 635 ton do 41 870 ton. Intensyfikacja produkcji rolniczej, która nastąpiła w ostatnich latach spowodowała uzależnienie rolników od chemicznych metod ochrony roślin, jako tych najłatwiejszych w zastosowaniu oraz niezawodnych. Nie można jednak pominąć faktu, iż konwencjonalne środki ochrony roślin mogą prowadzić do nabycia odporności przez mikroorganizmy patogeniczne na ich składniki aktywne oraz zmniejszenia bioróżnorodności mikroorganizmów glebowych. Zwiększone zainteresowanie rolnictwem ekologicznym, a w szczególności ekologiczną produkcją owoców miękkich jako tych, często spożywanych bez uprzedniej obróbki, to kolejny czynnik zachęcający producentów do stosowania nowych rozwiązań ekologicznej ochrony i biostymulacji roślin, opartych na pożytecznych mikroorganizmach.

Zmiana strategii ochrony roślin na bardziej przyjazną dla środowiska jest także zgodna z polityką Unii Europejskiej, która od wielu lat stara się promować wśród rolników rolnictwo zrównoważone, ekologiczne i regeneracyjne. Rozporządzenie Rady (WE) nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 roku stanowi, że stosowanie konwencjonalnych, chemicznych środków ochrony roślin musi być ograniczone do minimum, a rolnicy powinni stosować ekologiczne środki ochrony roślin, pochodzenia naturalnego. Wprowadzona 20 maja 2020 roku Europejska Strategia na Rzecz Bioróżnorodności do 2030 roku, będąca istotnym elementem Europejskiego Zielonego Ładu, podkreśla znaczenie bioróżnorodności wszystkich środowisk naturalnych, a także potrzebę zwiększania bioróżnorodności obszarów użytkowych rolniczo. Strategia ta ma na celu nie tylko ograniczenie stosowania pestycydów o 50%, ale także zwiększenie powierzchni upraw ekologicznych do ilości równej lub większej niż 25% powierzchni wszystkich gruntów uprawnych. Rolnicy stosujący ekologiczne praktyki uprawy roślin nie mogą stosować wielu konwencjonalnych nawozów i środków ochrony roślin, co może prowadzić do zmniejszenia plonów oraz zwiększenia kosztów produkcji. Wspominanie akty prawne określają również rolę i potrzebę stosowania biologicznych metod ochrony roślin, wykorzystujących ekstrakty roślinne czy biopreparaty zawierające inokulum mikrobiologiczne.

Badania zawarte w niniejszej rozprawie podejmują temat opracowania innowacyjnego biopreparatu mikrobiologicznego zawierającego konsorcjum bakterii pożytecznych wyizolowanych z korzeni malin dzikorosnących, posiadających właściwości hamujące wzrost najbardziej powszechnych patogenów grzybowych oraz grzybopodobnych atakujących uprawy malin. Na proces opracowania biopreparatu składały się pobór próbek gleby, wyprowadzenie czystych kultur bakterii, ich identyfikację oraz wybór bakterii pożytecznych, ocena ich zdolności do hamowania wzrostu wybranych fitopatogenów, wybór izolatów o większym potencjalnie antagonistycznym, charakterystyka funkcjonalna wybranych bakterii. Dla wybranych, najbardziej aktywnych 4 szczepów bakterii należących do 3 rodzajów – *Arthrobacter*, *Pseudomonas* oraz *Rhodococcus*, został zoptymalizowany skład podłoża hodowlanego (źródła oraz zawartość węgla i azotu), warunki hodowli (wartość pH podłoża oraz temperatura hodowli), metoda prezerwacji oraz opracowana została prebiotyczna mieszanka suplementacyjna wspomagająca wzrost tych mikroorganizmów. Zostało również przeprowadzone doświadczenie wazonowe mające na celu sprawdzenie wpływu inokulum bakteryjnego na wzrost roślin malin poddanych działaniu wybranych fitopatogenów – *Botrytis*

*cinerea*, *Colletotrichum acutatum*, *Phytophthora* sp. i *Verticillium* sp., oraz na zbiorowiska mikroorganizmów zasiedlających ryzosferę i fylloferę malin.

Ocena zdolności do hamowania wzrostu patogenów przez wyizolowane bakterie pożyteczne została przeprowadzona na podstawie pomiaru stref zahamowania wzrostu w testach płytkowych. Charakterystykę funkcjonalną i określenie zdolności katabolicznych pojedynczych izolatów wykonano przy użyciu mikromacierzy fenotypowych na płytkach GEN III z wykorzystaniem systemu BIOLOG™. W doświadczeniu wazonowym zastosowano 3 sposoby aplikacji inokulum mikrobiologicznego oraz 5 patosystemów, co pozwoliło na określenie wpływu inokulum pożytecznych bakterii, jak i obecności fitopatogenów na wzrost roślin. Wpływ zastosowanej naturalizacji oraz obecności fitopatogenów na zbiorowiska mikroorganizmów zasiedlających ryzosferę i fylloferę malin zbadano z wykorzystaniem płytek ECO i systemu Biolog™, oraz sekwencjonowania następnej generacji (ang. *Next Generation Sequencing*, NGS).

Przeprowadzone badania wykazały, że ryzosfera malin leśnych może być wartościowym i bogatym źródłem pożytecznych mikroorganizmów, a odpowiednio opracowane warunki hodowli i prezerwacji pozwalają na skuteczne namnożenie oraz zachowanie bakterii. Dodatek inokulum bakteryjnego pozytywnie wpłynął na aktywność dehydrogenaz glebowych w obiektach bez obecności patogenów. Aplikacja inokulum mikrobiologicznego wraz z podlewaniem 4 tygodnie po posadzeniu roślin skutkowałą największym pozytywnym wpływem na suchą masę malin. Wartość wskaźnika stresu substratowego (SST) dla zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających fylloferę ulegała obniżeniu w obiektach, gdzie zaaplikowano inokulum mikrobiologiczne. Aplikacja inokulum bakteryjnego wpłynęła na zmniejszenie indeksu bioróżnorodności Shannona dla zbiorowisk grzybów. Wyniki uzyskane na podstawie przeprowadzonych badań wskazują na szerokie i kompleksowe działanie opracowanego biopreparatu mikrobiologicznego. Wyniki wskazują na jego skuteczność w biostymulacji wzrostu malin, wspieraniu zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających otoczenie rośliny oraz hamowaniu wzrostu organizmów fitopatogenicznych.

**Słowa kluczowe:** biopreparaty, zrównoważone rolnictwo, inokulum mikrobiologiczne, mikroorganizmy glebowe, rolnictwo regeneracyjne, mikromacierze fenotypowe, fitopatogeny owoców miękkich, sekwencjonowanie następnej generacji