



Ocena mikrobiologiczna nasion trzech odmian soi po zastosowaniu biostymulatora

Anna Kocira^{}, Ewa Czerwińska^{**},
Dariusz Tomkiewicz^{**}, Rafał Kornas^{*}*
^{}Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa, Chełm*
*^{**}Politechnika Koszalińska*

1. Wstęp

W nowoczesnym rolnictwie dąży się do ograniczenia stosowania nawozów mineralnych i chemicznych środków ochrony roślin na rzecz preparatów pochodzenia naturalnego nazywanych regulatorami wzrostu i rozwoju roślin (Maciejewski i in. 2007). Stosowanie chemicznych środków ochrony roślin może powodować gromadzenie się niebezpiecznych związków chemicznych w roślinach (Dymkowska-Malesa i in. 2014). Dlatego też produkcja bezpiecznej, wysokiej jakości żywności w sposób chroniący środowisko naturalne wspiera wykorzystanie biostymulatorów zwłaszcza w warunkach czynników stresujących, które negatywnie wpływają na plony (Kocira i in. 2017a, Szczepanek i in. 2017a-c, Kocira i in. 2018a-b). W praktyce rolniczej trudno jest zapewnić skuteczną ochronę roślin przed czynnikami abiotycznymi, stąd też zaleca się stosowanie syntetycznych lub naturalnych biostymulatorów, których celem jest poprawa biochemicznych, morfologicznych i fizjologicznych (takich jak kiełkowanie czy tworzenie i rozwój korzeni) procesów zachodzących w roślinie uprawnej (Basak 2008, Paradiković i in. 2011, Kocira i in. 2015a, Kocira i in. 2017b, Szparaga i Kocira 2018). Związki te są nieszkodliwe dla środowiska i konsumentów, ponieważ występują w komórkach roślin i biorą udział w procesach fizjologicznych i biochemicznych (Czeczko i Mikos-Bielak 2004, Maciejewski i in. 2007, Matysiak i in. 2011).

Wykaz substancji czynnych środków ochrony roślin dopuszczonych do stosowania w Unii Europejskiej ciągle ulega zmianie i prowadzi do zmniejszania ich ogólnej liczby. Tak więc ochrona roślin przed chorobami i szkodnikami dysponuje ograniczoną liczbą preparatów. W tej sytuacji najtańszą i najskuteczniejszą metodą ochrony roślin staje się podwyższenie ich odporności, bądź tolerancji na stresy powodowane różnymi czynnikami abiotycznymi i biotycznymi, poprzez stosowanie substancji pochodzenia naturalnego (Pruszyński 2008, Matyjaszczyk 2018). Do głównych czynników biotycznych zalicza się oddziaływanie drobnoustrojów, zasiedlających nasiona oraz bytujących w glebie, które stwarzają duże zagrożenie nie tylko dla wschodzących roślin, ale także w czasie przechowywania materiału siewnego (Czerwińska i Szparaga 2015). Patogeny pogarszają wigor, siłę kiełkowania, wzrost oraz stanowią groźne źródło infekcji roślin (Tylkowska i in. 2011, Gleń i Gospodarek 2009, Gleń i in. 2013), szczególnie w przypadku nasion o dużej ilości tłuszczu (Janda i in. 2013). Oprócz drobnoustrojów wpływających niekorzystnie na rośliny są też takie, które występują w tkankach roślinnych i wspierają wzrost roślin poprzez m.in. dostarczanie hormonów, stymulowanie reakcji obronnych roślin lub wywieranie reakcji antagonizmu na patogeny roślinne (Newman i in. 2008, Reinhold-Hurek i Hurek 1998, Rosenblueth i Martínez-Romero 2006).

W biostymulatorach składniki aktywujące procesy metaboliczne w roślinach mogą występować samodzielnie lub w połączeniu z innymi substancjami czynnymi (Kocira i in. 2015b-c). Wydaje się, że połączenie aktywnych składników jest bardziej efektywne w stymulowaniu procesów metabolicznych w roślinie i w związku z tym w prezentowanych badaniach skupiamy się na biostymulatorze Fylloton. Opiera się on na związkach naturalnie występujących w środowisku, takich jak ekstrakt z alg morskich gatunku *Ascophyllum nodosum* i wolne aminokwasy pochodzenia roślinnego uzyskane w hydrolizie enzymatycznej. Fylloton stymuluje syntezę białek i biopromotorów naturalnego wzrostu. Dodatkowo jest bardzo bogaty w tryptofan, naturalny prekursor auksyn, które stymulują wegetatywny rozwój rośliny. Do tej pory jednak badania dotyczące łącznego wykorzystania ekstraktu z alg i aminokwasów były rzadkie (Norouzpour i Abad 2013). Brak jest także doniesień dotyczących wpływu stosowania regulatorów wzrostu i rozwoju roślin na stan mikrobiologiczny nasion. Dlatego właściwym wydaje się zbadanie wpływu biostymulatora Fylloton na zasiedlenie nasion soi przez drobnoustroje. Jakość mikrobiologiczna nasion jest bowiem bardzo ważna dla przemy-

słowego ich wykorzystania. W związku z tym w pracy przedstawiono również wyniki identyfikacji dominujących bakterii i grzybów występujących na nasionach soi *Glycine max* (L.) Merr. ev. Bragg.

2. Materiał i metody badań

Badania polowe przeprowadzono w latach 2014-2016 w gospodarstwie rolnym położonym w miejscowości Perespa (50°66'N; 23°63'E) na Zamojszczyźnie w województwie lubelskim. Doświadczenie polowe przeprowadzono na glebie należącej do podtypu rędziny brunatne typowe, zaliczanej do kompleksu pszennego dobrego, klasy bonitacyjnej IIIa. Zasobność gleby w przyswajalne składniki pokarmowe była następująca: fosfor – średnia (12,6 – 14,2 mg P₂O₅ w 100 g gleby), potas – średnia (15,3-17,1 mg K₂O w 100 g gleby), magnez – średnia (6,2-6,8 mg Mg w 100 g gleby). Wiosną wysiewano nawozy mineralne w dawkach: 30 kg N·ha⁻¹, 70 kg P₂O₅·ha⁻¹ i 140 kg K₂O·ha⁻¹.

W każdym roku badań przedplonem dla soi uprawnej była pszenica ozima odmiany Bamberka. Nasiona trzech odmian soi uprawnej: Annushka, Mavka i Atlanta wysiano siewnikiem punktowym mechanicznym w następujących terminach: 25 kwietnia 2014 r., 25 kwietnia 2015 r. i 23 kwietnia 2016 r. Nasiona wysiano w rozstawie międzyrzędzi co 30 cm, stosując odstęp w rzędzie co 3,5 cm. W okresie wegetacji zastosowano biostymulator Fylloton (zawiera ekstrakt z alg morskich gatunku *Ascophyllum nodosum* i aminokwasy pochodzenia roślinnego: alana, glicyna, seryna, walina, arginina, cysteina, hydroksyprolina, lizyna, metionina, fenyloalanina, tyrozyna, prolina, treonina) (<http://biolchim.pl/project/fylloton/>). Biostymulator stosowano w czterech kombinacjach: jednokrotne opryskiwanie 0,1% lub 0,2% roztworem preparatu w fazie BBCH 13-15 i dwukrotne opryskiwanie tymi samymi stężeniami w fazach BBCH 13-15 i BBCH 61 a otrzymane wyniki porównywano z obiektem kontrolnym, w której do opryskiwania roślin zastosowano czystą wodę. Zabiegi wykonano w następujących terminach: 2014 r. – pierwsze opryskiwanie 21 czerwca a drugie 5 lipca; 2015 r. – pierwsze opryskiwanie 20 czerwca a drugie 3 lipca; 2016 r. – pierwsze opryskiwanie 7 czerwca a drugie 23 czerwca. Rośliny opryskiwano roztworem biostymulatora za pomocą opryskiwacza plecakowego akumulatorowego marki Garland model FUM 12 B przy stałym ciśnieniu 0,30 MPa, zużywając 300 l cieczy roboczej na 1 ha.

Średnią temperaturę i opady w okresie wegetacji soi zawarto w tabeli 1.

Tabela 1. Temperatura (T) i opady atmosferyczne w okresie wegetacji soi w latach 2014-2016
Table 1. Temperature (T) and atmospheric precipitation during the growing seasons of soybeans in 2014-2016

Miesiąc	Rok										Średnia z lat 2002-2013	
	2014			2015			2016				T (°C)	Opady (mm)
	T (°C) (min/max)	Opady (mm)	K	T (°C) (min/max)	Opady (mm)	K	T (°C) (min/max)	Opady (mm)	T (°C) (min/max)	Opady (mm)	K	T (°C)
Kwiecień	9,4 (-6,0/22,7)	36,5	1,18	8,2 (-1,7/24,3)	30,1	1,11	9,2 (-1,2/22,6)	68,4	2,31	8,5	41,2	
Maj	13,7 (0,5/27,7)	208,3	4,90	12,7 (1,5/24,9)	108,6	2,76	13,8 (2,6/26,7)	61,3	1,43	12,7	63,4	
Czerwiec	16,1 (6,7/28,9)	67,1	1,39	17,4 (6,6/30,5)	14,1	0,27	18,1 (4,2/31,5)	97,1	1,79	17,7	68,6	
Lipiec	20,3 (10,0/31,0)	104,2	1,66	19,6 (8,4/33,4)	59,2	0,97	19,5 (8,8/31,2)	107,6	1,78	18,9	79,1	
Sierpień	18,2 (6,3/34,0)	115,4	2,05	21,6 (5,6/35,5)	23,4	0,35	18,2 (7,1/30,7)	95,3	1,69	19,4	71,8	
Wrzesień	13,7 (3,7/25,8)	89,4	2,18	15,1 (4,2/34,5)	137,6	3,04	15,2 (1,6/28,7)	41,2	0,90	14,1	69,2	
Średnia/Suma	15,1	620,9	-	15,8	373,0	-	17,1	470,9	-	15,2	393,3	

K – współczynnik Sielanianowa

Zebrane nasiona z doświadczeń polowych poddane zostały analizie mikrobiologicznej. Ogólną liczbę bakterii i grzybów zasiedlających nasiona określono po wykonaniu posiewu wgłębnego badanych prób metodą dziesięciokrotnych rozcieńczeń. Do wykonania rozcieńczeń wykorzystano jałowy roztwór o składzie: 8,5 g NaCl i 1000 cm³ wody destylowanej (AOAC r.17.2). W badaniu wykorzystano rozcieńczenie 10² i 10⁶ badanych próbek. Hodowlę bakterii prowadzono na agarze odżywczym (firmy BTL) w temperaturze 35°C przez okres 48 godzin (AOAC r.17).

Identyfikację wyhodowanych bakterii wykonano za pomocą analizatora mini API firmy bioMerieux stosując testy API 50 CHB, ID 32 STAPH, ID 32 GN. Aby ocenić, rodzaje grzybów zasiedlających nasiona oraz ich liczebność, wykorzystano podłoże agarowe Sabourauda z chloramfenikolem, a inkubację prowadzono przez 5 dni w temperaturze 20°C (AOAC r. 17). Identyfikację grzybów pleśniowych do rodzaju wykonano na podstawie cech makro- i mikroskopowych uwzględniając takie struktury morfologiczne jak: budowa strzępek, owocników i zarodników (Czerwińska i Piotrowski 2014).

3. Wyniki badań

Analizując uzyskane wyniki badań (tab. 2) należy stwierdzić, że liczba aplikacji wpłynęła istotnie na liczbę drobnoustrojów, które zasiedliły soję. Odmiany, które najlepiej zareagowały na aplikację biopreparatu w przypadku oceny bakterii to ‘Mavka’ i ‘Atlanta’, a grzybów to ‘Atlanta’. We wszystkich przypadkach dwukrotne opryskiwanie soi 0,7% lub 1,0% roztworem preparatu ograniczył zasiedlenie mikroorganizmami badanych odmian w stosunku do obiektu kontrolnego, przy czym mniejszą ogólną ich liczbę stwierdzono po zastosowaniu biostymulatora w stężeniu 1,0%.

Największą ogólną redukcję drobnoustrojów wszystkich odmian zaobserwowano po dwukrotnym opryskiwaniu 1,0% roztworem preparatu.

W przypadku bakterii (tab. 2) na nasionach odmiany ‘Mavka’ uzyskanych z roślin traktowanych biostymulatorem Fylloton redukcja drobnoustrojów w stosunku do obiektu kontrolnego była największa. Natomiast na nasionach odmian ‘Atlanta’ i ‘Mavka’, które otrzymano z roślin dwukrotnie opryskiwanych 1,0% roztworem biostymulatora

stwierdzono najmniejszą ogólną liczbę drobnoustrojów w stosunku do obiektu kontrolnego.

Pod względem liczby grzybów zasiedlających badane odmiany soi (tab. 2) odnotowano, iż liczba aplikacji i stężenie preparatu wpłynęły na stan mikrobiologiczny nasion. Największą średnią redukcję grzybów w stosunku do obiektu kontrolnego stwierdzono w odmianie ‘Mavka’. Z kolei największe średnie zasiedlenie przez grzyby chorobotwórcze zaobserwowano w odmianie ‘Annushka’. Można przypuszczać, że wynikało to między innymi ze zróżnicowanych warunków termiczno – wilgotnościowych, jakie panowały podczas wegetacji rośliny.

We wszystkich badanych odmianach liczba grzybów była na podobnym poziomie i ich redukcja na nasionach uzyskanych z roślin traktowanych biopreparatem była największa, gdy zastosowano dwukrotne opryskiwanie 1,0% roztworem preparatu. Najlepszy efekt uzyskano w przypadku odmiany ‘Annushka’, gdzie redukcja grzybów wyniosła 99,87% w stosunku do obiektu kontrolnego. W przypadku odmiany ‘Atlanta’ zaobserwowano, także wysoką skuteczność biopreparatu o stężeniu 0,7%, gdyż ogólna liczba grzybów w tej kombinacji uległa redukcji na poziomie 99,91% w stosunku do obiektu kontrolnego. Biorąc pod uwagę temperaturę zaobserwowano, że w roku 2015, który charakteryzował się suszą w czasie wzrostu badanych roślin liczba grzybów w stosunku do liczby bakterii była mniejsza. Różnice w większej liczbie bakterii w stosunku do grzybów w tym roku można wytłumaczyć tym, że termostabilność komórek bakteryjnych spada w miarę wzrostu wilgotności otoczenia, natomiast u grzybów wzrost temperatury i wilgotności wpływają na intensywność ich rozwoju (Jędrczak 2007).

Tabela 2. Wpływ aplikacji biostymulatora Fylloton na ogólną liczbę bakterii oraz grzybów zasiedlających nasiona soi
Table 2. The effect of Fylloton treatment on the total number of bacteria and fungi in soybean seeds

Odmiana soi	Aplikacja Fyllotonu	Liczba kolonii bakterii (cfu g ⁻¹)					Liczba kolonii grzybów (cfu g ⁻¹)				
		Average (N = 12)	SD	Min	Max	C%	Average (N = 12)	SD	Min	Max	C%
Annushka	K	3,8 x 10 ⁵	8,0 x 10 ³	3,0 x 10 ⁵	4,6 x 10 ⁵	21,05	1,7 x 10 ⁴	5,8 x 10 ³	1,0 x 10 ⁴	2,0 x 10 ⁴	34,64
	JO 0,7%	3,3 x 10 ⁵	2,5 x 10 ³	4,1 x 10 ⁵	4,5 x 10 ⁵	76,23	2,8 x 10 ⁴	7,5 x 10 ²	2,0 x 10 ⁴	3,5 x 10 ⁴	27,18
	DO 0,7%	2,1 x 10 ³	1,6 x 10 ²	2,1 x 10 ²	2,5 x 10 ³	81,50	3,8 x 10 ²	1,9 x 10 ²	2,0 x 10 ²	5,9 x 10 ²	51,82
	JO 1,0%	2,3 x 10 ⁵	1,7 x 10 ³	3,5 x 10 ⁴	3,0 x 10 ³	73,70	1,8 x 10 ³	3,0 x 10 ²	1,5 x 10 ³	2,1 x 10 ³	16,32
	DO 1,0%	1,8 x 10 ⁵	7,7 x 10 ²	1,0 x 10 ³	2,0 x 10 ³	41,61	1,6 x 10 ²	6,3 x 10 ¹	9,0 x 10 ¹	2 x 10 ²	38,88
Mavka	K	4,8 x 10 ⁴	1,8 x 10 ⁴	2,9 x 10 ⁴	6,5 x 10 ⁴	38,59	2,4 x 10 ⁵	3,9 x 10 ³	2,1 x 10 ⁵	2,9 x 10 ⁵	16,07
	JO 0,7%	3,2 x 10 ³	1,2 x 10 ⁴	2,1 x 10 ⁴	4,5 x 10 ⁴	12,03	2,0 x 10 ⁴	2,6 x 10 ²	1,7 x 10 ⁴	2,2 x 10 ⁴	13,37
	DO 0,7%	2,2 x 10 ⁴	2,6 x 10 ³	2,0 x 10 ⁴	2,5 x 10 ⁴	12,35	1,5 x 10 ²	5,0 x 10 ¹	1,0 x 10 ²	2,0 x 10 ²	33,33
	JO 1,0%	3,1 x 10 ³	3,8 x 10 ²	2,8 x 10 ³	3,5 x 10 ³	20,70	1,1 x 10 ⁴	1,7 x 10 ³	1,0 x 10 ⁴	1,3 x 10 ⁴	15,12
	DO 1,0%	2,6 x 10 ³	5,3 x 10 ²	2,0 x 10 ³	3,1 x 10 ³	37,67	9,0 x 10 ²	1,1 x 10 ¹	7,8 x 10 ²	1,0 x 10 ³	12,34
Atlanta	K	6,0 x 10 ⁴	1,8 x 10 ³	4,5 x 10 ⁴	8,1 x 10 ⁴	31,68	1,7 x 10 ⁴	6,4 x 10 ²	1,0 x 10 ⁴	2,3 x 10 ⁴	38,27
	JO 0,7%	7,1 x 10 ⁴	1,0 x 10 ⁴	5,9 x 10 ⁴	7,8 x 10 ⁴	14,45	2,2 x 10 ³	8,2 x 10 ²	1,5 x 10 ³	3,1 x 10 ³	37,21
	DO 0,7%	4,1 x 10 ²	7,9 x 10 ¹	3,5 x 10 ²	5,0 x 10 ²	19,40	1,7 x 10 ²	3,4 x 10 ¹	1,3 x 10 ²	1,9 x 10 ²	20,51
	JO 1,0%	2,9 x 10 ⁴	6,5 x 10 ²	2,3 x 10 ⁴	3,6 x 10 ⁴	22,18	6,1 x 10 ²	1,7 x 10 ²	4,5 x 10 ²	7,9 x 10 ²	27,94
	DO 1,0%	2,6 x 10 ⁴	8,3 x 10 ¹	1,9 x 10 ²	3,5 x 10 ²	31,76	1,3 x 10 ²	2,5 x 10 ¹	1,0 x 10 ²	1,5 x 10 ²	19,87

Oznaczenia: K – obiekt kontrolny; JO – jednokrotne opryskiwanie; DO – dwukrotne opryskiwanie

W dostępnej literaturze jest niewiele doniesień, w których autorzy zajmowali się określaniem zależności między liczbą bakterii i grzybów pleśniowych zasiedlających nasiona. Badania dotyczące porównania parametrów wpływających na zasiedlenie przez grzyby nasion wykonali Janda i in. (2013), Janda i Markowska-Szczupak (2014). Niestety autorzy skupili się na nasionach soi i słonecznika, nie identyfikując zasiedlających nasiona grzybów. W badaniach w/w największą liczbę kolonii grzybów wyizolowano w temperaturze 25°C na pożywce DG18 ($1,4 \times 10^5$ jtk/g) – były to gatunki kserofilne, przy czym autorzy zaobserwowali, iż im większa była wilgotność nasion tym większa ogólna liczba grzybów je zasiedlających (Janda i Markowska-Szczupak 2014).

Identyfikacja drobnoustrojów na nasionach soi (tab. 3) zebranych z roślin, które traktowano biostymulatorem wykazała ich dużą różnorodność. W badaniach nie stwierdzono mikroorganizmów, które są patogenami soi, natomiast zdecydowanie więcej wyizolowano w materiale bakterii w stosunku do grzybów, odpowiednio średnia $1,1 \times 10^5$ jtk g⁻¹, $8,6 \times 10^4$ jtk g⁻¹). Pośród bakterii dominowały rodzaje *Bacillus*, których liczba w stosunku do pozostałych stanowiła 86%. Bakterie te należą do drobnoustrojów wytwarzających przetrwalniki stąd tak duża ich różnorodność.

Uzyskane wyniki badań własnych znajdują potwierdzenie także w badaniach Pięty (2006) nad wpływem biopreparatów na zbiorowiska mikroorganizmów w glebie ryzosferowej nasion roślin bobowatych. Analiza mikrobiologiczna, przeprowadzona przez wymienioną autorkę, poszczególnych prób wykazała, że w 1 g s.m. gleby ryzosferowej była różna liczba bakterii *Bacillus* spp. i *Pseudomonas* spp. Bez względu na gatunek badanej rośliny najmniej bakterii było w glebie ryzosferowej pobranej z obiektu kontrolnego, w którym rośliny nie zostały wcześniej traktowane biopreparatem. Natomiast w kombinacjach, w których zastosowano biopreparaty, zarówno do zaprawiania nasion, jak i do opryskiwania, liczebność kolonii *Bacillus* spp. i *Pseudomonas* spp. w glebie ryzosferowej była istotnie większa w porównaniu do obiektu kontrolnego (Pięta 2006).

Zdaniem Pięty i in. (2002) występowanie wymienionych gatunków bakterii zarówno na powierzchni nasion, jak i w glebie, może dodatkowo efektywnie działać w ochronie przed grzybami przeżywającymi w glebie. Fiddman i in. (2000) potwierdzili w swoich badaniach, że występowanie bakterii *Bacillus subtilis* może znaleźć zastosowanie w ochronie sałaty przed *Botrytis cinerea*. Natomiast zdaniem Książniaka i Kobusa (1993)

siderofory wytwarzane przez fluoryzujące *Pseudomonas* mogą mieć fungistatyczny i fungicydalny wpływ na grzyby chorobotwórcze w glebie. Do powszechnie znanych antagonistów z rodzajów *Pseudomonas* i *Bacillus* należą takie gatunki, jak *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. cepacia*, *P. aureofaciens*, *B. subtilis*, *B. mycoides*, *B. polymyxa* (Goel i in. 2000, Manwar i in. 2000, Yeole i Dube 2000). Bakterie te wytwarzają różne metabolity o właściwościach fungicydalnych lub fungistatycznych. Badania własne wskazują na obecność wymienionych drobnoustrojów i prawdopodobnie one też ograniczyły liczbę grzybów na nasionach.

W badaniach własnych zidentyfikowano następujące rodzaje grzybów: *Aspergillus* ssp., *Alternaria* ssp., *Chaetomium* ssp., *Colletotrichum* ssp., *Fusarium* sp., *Mucor* ssp., *Penicillium* ssp., *Rhizoctonia* ssp., *Rhizopus* ssp., i inne (tab. 6). Największą liczbę grzybów wyizolowano w odmianie 'Annushka', gdzie stwierdzono także największą różnorodność gatunków. Nasiona, strąki i siewki soi są podatne na porażenie przez patogeny grzybowe dzięki dużej zawartości składników odżywczych. Izolowaniem grzybów toksynotwórczych w nasionach soi, zajmowali się Cortina i in. (2013). Autorzy opisali szczegółowo mikroflorę, lecz nie podjęli się badania parametrów fizykochemicznych nasion. Do wyodrębniania grzybów wykorzystali podłoże MEA w 25°C. Wśród wyizolowanych grzybów znajdowały się *Aspergillus* ssp., *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* ssp., *Chaetomium* ssp., *Penicillium* ssp., *Colletotrichum* ssp., *Alternaria* ssp. i *Cercospora* spp. Z kolei Roy i in. (2000) skupili się na identyfikacji grzybów występujących na nasionach soi i wyizolowali rodzaje grzybów: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Penicillium*, *Colletotrichum* i *Alternaria*. W badaniach Lakshmeesha i in. (2013) najczęściej izolowanymi grzybami na nasionach soi (JS-335) były *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Pythium* spp., *Aspergillus* spp., *Phoma* spp. i *Phomopsis* spp. *Macrophomina phaseolina* jest ważnym patogenem grzybowym roślin zasiedlającym nasiona, który powoduje zgorzel siewek, zgniliznę korzeni u ponad 500 gatunków roślin. W badaniach własnych obecności w/w grzyba nie stwierdzono, ale obecność grzybów toksynotwórczych z rodzaju *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium* stanowi dla soi zagrożenie.

Tabela 3. Zidentyfikowane bakterie i grzyby zasiedlające nasiona soi
Table 3. The identified of bacteria and fungi in soybean seeds

Odmiana soi	Apikacja Fyfitotonu	Rodzaje bakterii	Rodzaje grzybów
Annushka	K	<i>Acinetobacter</i> ssp., <i>Bacillus</i> ssp.; <i>B. circulans</i> , <i>coagulans</i> , <i>macerans</i> , <i>megaterium</i> , <i>mycoides</i> , <i>polymyxa</i> , <i>pumilis</i> , <i>subtilis</i> ; <i>Citrobacter</i> sp.; <i>Enterococcus decorum</i> ; <i>Leuconostoc</i> spp.; <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ; <i>Pantoea</i> spp.; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ; <i>Streptococcus sanguinis</i> ; <i>Raoultella</i> spp.	<i>Alternaria alternata</i> ; <i>Aspergillus</i> ssp.; <i>Chaetomium</i> ssp.; <i>Fusarium oxysporum</i> ; <i>Mucor mucedo</i> ; <i>Rhizopus</i> ssp.; <i>Rhizopus oryzae</i> ; <i>Penicillium</i> ssp.; <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
	JO 0,7%	<i>Bacillus</i> ssp.; <i>B. circulans</i> , <i>coagulans</i> , <i>macerans</i> , <i>megaterium</i> , <i>mycoides</i> , <i>polymyxa</i> , <i>pumilis</i> , <i>subtilis</i> ; <i>Enterococcus decorum</i> ; <i>Leuconostoc</i> spp.; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ; <i>Streptococcus sanguinis</i> ;	<i>Aspergillus</i> ssp.; <i>Chaetomium</i> ssp.; <i>Fusarium oxysporum</i> ; <i>Mucor mucedo</i> ; <i>Penicillium</i> ssp.; <i>Rhizopus oryzae</i> ;
	DO 0,7%	<i>Bacillus</i> ssp.; <i>B. circulans</i> , <i>coagulans</i> , <i>macerans</i> , <i>megaterium</i> , <i>mycoides</i> , <i>polymyxa</i> , <i>pumilis</i> , <i>subtilis</i> ; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ;	<i>Aspergillus</i> ssp.; <i>Chaetomium</i> ssp.; <i>Penicillium</i> ssp.; <i>Rhizopus oryzae</i> ;
	JO 1,0%	<i>Bacillus</i> ssp.; <i>B. circulans</i> , <i>macerans</i> , <i>megaterium</i> , <i>polymyxa</i> , <i>pumilis</i> , <i>subtilis</i> ; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ;	<i>Penicillium</i> ssp.; <i>Rhizopus oryzae</i> ;
	DO 1,0%	<i>Bacillus</i> ssp.; <i>B. circulans</i> , <i>macerans</i> , <i>megaterium</i> , <i>polymyxa</i> , <i>pumilis</i> , <i>subtilis</i> ; <i>Leuconostoc</i> spp.; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ; <i>Streptococcus sanguinis</i> ;	<i>Penicillium</i> ssp.; <i>Rhizopus</i> ssp.;
Mavka	K	<i>Aerococcus viridians</i> ; <i>Bacillus</i> ssp.; <i>B. circulans</i> , <i>coagulans</i> , <i>licheniformis</i> , <i>macerans</i> , <i>megaterium</i> , <i>mycoides</i> , <i>polymyxa</i> , <i>pumilis</i> , <i>subtilis</i> ; <i>Citrobacter freundii</i> group; <i>Enterococcus</i> sp.; <i>Leuconostoc</i> ssp., <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ; <i>Micrococcus luteus</i> ; <i>Pantoea</i> spp.; <i>Pseudomonas</i> ssp.; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ; <i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Mucor mucedo</i> ; <i>Penicillium</i> ssp.; <i>Rhizopus oryzae</i> ; <i>Rhizopus</i> sp.
	JO 0,7%	<i>Aerococcus viridians</i> ; <i>Bacillus</i> ssp.; <i>B. circulans</i> , <i>coagulans</i> , <i>licheniformis</i> , <i>macerans</i> , <i>megaterium</i> , <i>polymyxa</i> , <i>subtilis</i> ; <i>Enterococcus</i> sp.; <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ; <i>Micrococcus luteus</i> ; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ;	<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Mucor mucedo</i> ; <i>Penicillium</i> ssp.; <i>Rhizopus</i> sp.
	DO 0,7%	<i>Bacillus</i> ssp.; <i>B. circulans</i> , <i>coagulans</i> , <i>licheniformis</i> , <i>macerans</i> , <i>megaterium</i> , <i>mycoides</i> , <i>polymyxa</i> , <i>pumilis</i> , <i>subtilis</i> ; <i>Enterococcus</i> sp.; <i>Leuconostoc</i> ssp., <i>Micrococcus luteus</i> ; <i>Pseudomonas</i> ssp.; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ;	<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Rhizopus</i> sp.
	JO 1,0%	<i>Bacillus</i> ssp.; <i>B. circulans</i> , <i>coagulans</i> , <i>licheniformis</i> , <i>macerans</i> , <i>megaterium</i> , <i>subtilis</i> ; <i>Micrococcus luteus</i> ;	<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Mucor mucedo</i> ; <i>Penicillium</i> ssp.; <i>Rhizopus</i> sp.
	DO 1,0%	<i>B. circulans</i> , <i>coagulans</i> , <i>macerans</i> , <i>mycoides</i> , <i>pumilis</i> , <i>subtilis</i> ; <i>Enterococcus</i> sp.; <i>Micrococcus luteus</i> ; <i>Pseudomonas</i> ssp.;	<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Rhizopus</i> sp.

Tabela 3. cd.
Table 3. cont.

Odmiana soi	Apikacja Fytlotonu	Rodzaje bakterii	Rodzaje grzybów
Atlanta	K	<i>Bacillus</i> spp.; <i>B. circulans</i> , <i>subtilis</i> , <i>coagulans</i> , <i>polymyxa</i> , <i>macerans</i> , <i>mycoides</i> ; <i>Citrobacter freundii</i> group; <i>Leuconostoc</i> spp.; <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ; <i>Streptococcus gordonii</i> , <i>S. sanquinis</i> ; <i>Raoultella</i> spp	<i>Aspergillus</i> spp.; <i>Colletotrichum</i> spp.; <i>Mucor mucedo</i> ; <i>Penicillium</i> spp.; <i>Rhizoctonia</i> spp.; <i>Rhizopus</i> spp.; <i>Rhizopus oryzae</i> .
	JO 0,7%	<i>Bacillus</i> spp.; <i>B. circulans</i> , <i>subtilis</i> , <i>polymyxa</i> , <i>macerans</i> , <i>mycoides</i> ; <i>Citrobacter freundii</i> group; <i>Leuconostoc</i> spp.; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ; <i>Streptococcus gordonii</i> , <i>S. sanquinis</i> ;	<i>Penicillium</i> spp.; <i>Rhizoctonia</i> spp.; <i>Rhizopus</i> spp.;
	DO 0,7%	<i>Bacillus</i> spp.; <i>B. circulans</i> , <i>subtilis</i> , <i>polymyxa</i> , <i>macerans</i> , <i>mycoides</i> ; <i>Leuconostoc</i> spp.; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ; <i>Streptococcus gordonii</i> , <i>S. sanquinis</i> ;	<i>Penicillium</i> spp.; <i>Rhizopus</i> spp.;
	JO 1,0%	<i>Bacillus</i> spp.; <i>B. circulans</i> , <i>subtilis</i> , <i>coagulans</i> , <i>polymyxa</i> , <i>mycoides</i> ; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ;	<i>Penicillium</i> spp.; <i>Rhizopus</i> spp.;
	DO 1,0%	<i>Bacillus</i> spp.; <i>B. circulans</i> , <i>subtilis</i> , <i>polymyxa</i> , <i>macerans</i> , <i>Leuconostoc</i> spp.; <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ;	<i>Penicillium</i> spp.; <i>Rhizopus</i> spp.;

Oznaczenia: K – obiekt kontrolny; JO – jednokrotne opryskiwanie; DO – dwukrotne opryskiwanie

Uzyskane w badaniach własnych wyniki są zbliżone do analizy mikologicznej nasion bobu, przeprowadzonych przez Gleń i in. (2013), gdzie wśród oznaczonych 14 gatunków grzybów dominowały rodzaje: *Acremonium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Fusarium* i *Cladosporium*. Jednocześnie badania te wykazały, że zastosowana ochrona, zarówno naturalna jak i chemiczna, nie różnicowała pod względem jakościowym zbiorowiska grzybów zasiedlających nasiona bobu.

4. Wnioski

1. Zastosowanie biostymulatora opartego na ekstrakcie z alg morskich i wolnych aminokwasów ograniczyło liczebność drobnoustrojów zasiedlających nasiona soi. W tym kontekście wnikliwa obserwacja roślin i znajomość drobnoustrojów, które je zasiedlają pozwala na wczesne reagowanie i ochronę roślin poprzez stosowanie m.in. biostymulatorów.

2. Dwukrotna aplikacja 1,0% roztworu biostymulatora Fylloton wpływała na zmniejszenie liczby bakterii i grzybów zasiedlających nasiona trzech odmian soi.
3. W zasiedleniu nasion drobnoustrojami przeważały bakterie – 86%, a grzyby stanowiły 14%. Spośród zidentyfikowanych bakterii dominującym był rodzaj *Bacillus*, a wśród grzybów *Aspergillus* sp. – 35%, *Penicillium* ssp. 25% *Rhizopus oryzae* 38%.

Literatura

- Basak, A. (2008). *Biostimulators. Definitions, classification and legislation*. W: Biostimulators in modern agriculture, General Aspects, H. Gawrońska (red.), *Więś Jutra*, Warszawa, 7-17.
- Cortina, J. V.; Theodoro, G. F.; Walker, D. R. (2013). Identification of fungi on diseased soybean seeds harvested during a high rainfall period in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Biosci. J.*, 29(2), 386-391.
- Czeczko, R., i Mikos-Bielak, M. (2004). Efekty stosowania biostymulatora Asahi w uprawie różnych gatunków warzyw. *Ann. UMCS, Sectio E*, 59(3), 1073-1079.
- Czerwińska, E., Piotrowski, W. (2014). Microbiological purity and selected physicochemical properties of cereal products stored in different packages. *Rocznik Ochrona Środowiska*, 16, 161-172.
- Czerwinska, E., Szparaga, A. (2015). Antibacterial and antifungal activity of plant extracts. *Rocznik Ochrona Środowiska*, 17, 209-229.
- Dymkowska-Malesa, M., Szparaga, A., Czerwinska, E. (2014). Evaluation of polychlorinated biphenyls content in chosen vegetables from Warmia and Mazury Region. *Rocznik Ochrona Środowiska*, 16, 290-299.
- Fiddman, P.J., O'Neill, T.M., Rossall, S. (2000). Screening of bacteria for the suppression of *Botrytis cinerea* and *Rhizoctonia solani* on lettuce (*Lactuca sativa*) using leaf disc bioassays. *Ann. Appl. Biol.*, 137(3), 223-235.
- Gleń, K., & Gospodarek, J. (2009). Mikroflora nasion bobu (*Vicia faba* L. ssp. *Maior*) uprawianego w warunkach gleby skażonej metalami ciężkimi. *Prog. Plant Prot.*, 49(3), 1260-1236.
- Gleń, K., Boligłowa, E., Gospodarek, J. (2013). Grzyby zasiedlające nasiona bobu w zależności od sposobu ochrony roślin. *Polish J. Agron.*, 12, 9-16.
- Goel, A.K., Sindhu, S.S., Dadarwal, K.R. (2000). Pigment diverse mutant of *Pseudomonas* sp. inhibition of fungal growth and stimulation of growth of *Cicer arietinum*. *Biol. Planet.*, 43(4), 563-569.
- <http://biolchim.pl/project/fylloton/> (dostęp 2.09.2017).

- Janda, K., & Markowska-Szczupak A. (2014). Zależności pomiędzy wybranymi cechami jakościowymi nasion słonecznika a ich zasiedleniem przez grzyby, *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin., Agric., Aliment., Pisc., Zootech.*, 309(29), 59-66.
- Janda, K., Ulfing, K., Hury, G., Markowska-Szczupak A. (2013). Zależności pomiędzy wybranymi cechami jakościowymi nasion soi a ich zasiedleniem przez grzyby. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, 34(1), 95-102.
- Jędrzszak, A. (2007). *Biologiczne przetwarzanie odpadów*. Warszawa: PWN SA.
- Kocira, S., Sujak, A., Kocira, A., Wójtowicz, A., Oniszczyk, A. (2015a). Effect of Fylloton application on photosynthetic activity of Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). *Agric. Agric. Sci. Proc.*, 7, 108-112. DOI 10.1016/j.aaspro.2015.12.002.
- Kocira, S., Kocira, A., Szmigielski, M., Piecak, A., Sagan, A., Malaga-Toboła, U. (2015b). Effect of an amino acids-containing biostimulator on common bean crop. *Przem. Chem.*, 94(10), 1732-1736. DOI10.15199/62.2015.10.16.
- Kocira, A., Kocira, S., Stryjecka, M. (2015c). Effect of Asahi SL application on common bean yield. *Agric. Agric. Sci. Proc.*, 7, 103-107. DOI: 10.1016/j.aaspro.2015.12.045.
- Kocira, A., Kocira S., Świeca M., Złotek, U., Jakubczyk, A., Kapela, K. (2017a). Effect of foliar application of a nitrophenolate-based biostimulant on the yield and quality of two bean cultivars. *Sci. Hort.*, 214, 76–82, DOI: 10.1016/j.scienta.2016.11.021.
- Kocira, S., Kocira, A., Kornas, R., Koszel, M., Szmigielski, M., Krajewska, M., Szparaga, A., Krzysiak, Z. (2017b). Effects of seaweed extract on yield and protein content of two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Legume Res.*, In press. Online Published. DOI 10.18805/LR-383.
- Kocira, S., Szparaga, A., Kocira, A., Czerwińska, E., Wójtowicz, A., Bronowicka-Mielniczuk, U., Koszel, M., Findura, P. (2018a). Modeling biometric traits, yield and nutritional and antioxidant properties of seeds of three soybean cultivars through the application of biostimulant containing seaweed and amino acids. *Frontiers in Plant Science*, 9, 388, DOI: 10.3389/fpls.2018.00388.
- Kocira, S., Szparaga, A., Kocira, A., Czerwińska, E., Depo, K., Erlichowska B., Deszcz E. (2018b). Effect of applying a biostimulant containing seaweed and amino acids on the content of fiber fractions in three soybean cultivars. *Legume Research*. In press. Online Published. DOI: 10.18805/LR-412.
- Księżniak, A., & Kobus, J. (1993). Udział drobnoustrojów ryzosfery pszenicy, jęczmienia i owsa w produkcji sideroforów. *Pam. Puł.-Prace IUNG*, 102, 77-90.

- Lakshmeesha, T R, Sateesh, M K, Vedashree, S, Sofi Mohammad Shafi. (2013). Antifungal activity of some medicinal plants on Soybean seed-borne *Macrophomina phaseolina*. *J. App. Pharm. Sci.*, 3(2), 84-87.
- Maciejewski, T., Szukała, J., Jarosz, A. (2007). Influence of biostimulator Asahi SL and Atonik SL on qualitative tubers of potatoes. *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, 52(3), 109-112.
- Manwar, A.V., Vaiganker, P.D., Bhonge, L.S., Chincholkar, S.B. (2000). In vitro suppression of plant pathogens by siderophores of fluorescent *Pseudomonas*. *Indian J. Microbiol.*, 40(2), 109-112.
- Matyjaszczyk, E. (2018). "Biorationals" in integrated pest management strategies. *J. Plant Dis. Protect.*, DOI: 10.1007/s41348-018-0180-6.
- Matysiak, K., Adamczewski, K., Kaczmarek, S. (2011). Wpływ biostymulatora Asahi SL na plonowanie i wybrane cechy ilościowe i jakościowe niektórych roślin rolniczych uprawianych w warunkach Wielkopolski. *Prog. Plant Prot.*, 51(4), 1849-1857.
- Newman, K.L., Chatterjee, S., Ho, K.S., Lindow, S.E. (2008). Virulence of plant pathogenic bacteria attenuated by degradation of fatty acid cell-to-cell signaling factors. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 21, 326-334.
- Norouzpour, S., & Abad K.M. (2013). Studying the effect of growth stimulants and nano-fertilizers foliar application on agronomic characters and nuts sunflower seed yield. *Journal of Research in Crop Sciences*, 6(21), 63-72.
- Paradiković, N., Vinković, T., Vinković Vrček, I., Žuntar, I., Bojić, M., Medić-Šarić, M. (2011). Effect of natural biostimulants on yield and nutritional quality: an example of sweet yellow pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. *J Sci Food Agric.*, 91, 2146-2152.
- Pięta, D. (2006). Wpływ wybranych biopreparatów na zbiorowiska mikroorganizmów w glebie ryzosferowej grochu, fasoli zwykłej i fasoli wielokwiatowej. *Ann. UMCS, Sectio EEE*, 16, 73-84.
- Pięta, D., Patkowska, E., Pastucha, A., Bełkot, M. (2002) Wpływ mikroorganizmów antagonistycznych na ograniczanie porażenia soi przez grzyby chorobotwórcze przeżywające w glebie. *Acta Sci Pol-Hortoru.*, 1(1), 23-30.
- Pruszyński, S. (2008). *Biostimulators in plant protection*. W: *Biostimulators in modern agriculture, General Aspect*, Gawrońska (red.). *Wiś Jutra*, Warszawa, 18-23.
- Reinhold-Hurek, B., & Hurek, T. (1998). Life in grasses: diazotrophic endophytes. *Trends Microbiol.*, 6, 139-144.
- Rosenblueth, M., & Martínez-Romero, E. (2006). Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 19, 827-837.

- Roy, K.W., Baird, R.E., Abney, T.S. (2000). A review of soybean (*Glycine max*) seed, pod, and flower mycofloras in North America, with methods and a key for identification of selected fungi. *Mycopathologia*, 150, 15-27.
- Szczepanek, M., Siwik-Ziomek, A., Wilczewski, E. (2017a). Effect of biostimulant on accumulation of Mg in winter oilseed rape under different mineral fertilization rates. *J Elementol.*, 22(4), 1375-1385. DOI: 10.5601/jelem.2017.22.1.1317.
- Szczepanek, M., Wilczewski, E., Pobereźny, J., Wszelaczyńska, E., Ochmian, I. (2017b). Carrot root size distribution in response to biostimulant application. *Acta Agr Scand B-S P*, 67(4), 334-339. DOI: 10.1080/09064710.2017.1278783.
- Szczepanek, M., Wszelaczyńska, E., Pobereźny, J., Ochmian, I. (2017c). Response of onion (*Allium cepa* L.) to the method of seaweed biostimulant application. *Acta Sci Pol-Hortoru.*, 16(2), 113-122.
- Szparaga, A., & Kocira, S. (2018). Generalized logistic functions in modelling emergence of *Brassica napus* L. *PLoS ONE*, 13(8), e0201980. DOI: 10.1371/journal.pone.0201980.
- Tylkowska, K., Dorna, H., Szopińska, D. (2011). *Patologia nasion*. Poznań: Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Poznaniu.
- Yeole, R.D., & Dube, H.C. (2000). Siderophore-mediated antibiosis of rhizobacterial fluorescent pseudomonads against certain soil-borne fungal plant pathogens. *J. Mycol. Plant Pathol.*, 30(3), 335-338.

Microbiological Evaluation of Three Soybean Cultivars Seeds after Biostimulant Application

Abstract

The production of safe and high quality food in a way that protects the natural environment is now associated with the use of biostimulants in agricultural crops. In practice, it is difficult to ensure effective protection of plants against various types of abiotic factors. In addition, modern agriculture strives to reduce the use of mineral fertilizers and chemical plant protection products for natural products. In soya cultivation, bacterial and fungal pathogens are extremely dangerous, their occurrence depends not only on weather conditions, resistance of varieties but also on some agrotechnical treatments. Therefore, regulators of plant growth and development may respond to the challenges and problems in soybeans cultivation. In the available literature, there is few information on the impact of the use of regulators of plant growth and development on the microbiological state of seeds. Therefore, the aim of this study was to

investigate the influence of a natural biostimulant, based on the extract from seaweed and free amino acids, on the colonization of soybeans by microorganisms. The microbiological quality of seeds is extremely important for their industrial use. The article also presents the results of identification of dominant bacteria and fungi occurring on the soybean seeds *Glycine max* (L.) Merr. Field experiments were conducted in the years 2014-2016. During the growing season a biostimulant based on the extract of brown algae (*Ascophyllum nodosum*) and amino acids of plant origin (alanine, glycine, serine, valine, arginine, cysteine, hydroxyproline, lysine, methionine, phenylalanine, tyrosine, proline, threonine, and others) was used. The biostimulant was used in four combinations: single spraying at a concentration of 0.1% and 0.2% in the phase BBCH 13-15 and twice spraying in phases BBCH 13-15 and BBCH 61 and the obtained results were compared with a control combination in which to spray plants only water was used.

The conducted research proved that the application of a natural biostimulant reduced the number of microorganisms on soybeans. It was found that the number of bacteria and fungi colonizing soybeans was reduced compared to the control depending on the number of applications and the concentration of biostimulant used in the cultivation. In microbial seeding, bacteria predominated – 86%, while only 14% were fungi. Among the identified bacteria, the dominant type was *Bacillus*, among the fungi *Aspergillus* sp. and *Penicillium* ssp.

The results obtained from the conducted research, the biostimulant application limited the number of microorganisms. In connection with the above, the conclusion is that thorough observation of plants and knowledge of microorganisms that inhabit them allowed for early response and protection of plants through the use of, among others, biostimulants.

Streszczenie

Wytwarzanie bezpiecznej i wysokiej jakości żywności w sposób chroniący środowisko naturalne związane jest obecnie z wykorzystaniem w uprawach rolniczych biostymulatorów. W praktyce trudno jest zapewnić skuteczną ochronę roślin przed różnego rodzaju czynnikami abiotycznymi. Dodatkowo w nowoczesnym rolnictwie dąży się do ograniczenia stosowania nawozów mineralnych i chemicznych środków ochrony roślin, na rzecz preparatów pochodzenia naturalnego. W uprawach soi bardzo duże zagrożenie stanowią bakterie oraz grzyby, których występowanie uzależnione jest nie tylko od warunków atmosferycznych, odporności odmian ale także od niektórych zabiegów agrotechnicznych. W związku z tym na wyzwania i problemy w uprawie soi mogą odpowiadać regulatory wzrostu i rozwoju roślin. W dostępnej literaturze nie-

wiele jest informacji dotyczących wpływu stosowania regulatorów wzrostu i rozwoju roślin na stan mikrobiologiczny nasion. Dlatego celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu naturalnego biostymulatora, opartego na ekstrakcie z wodorostów i wolnych aminokwasach, na zasiedlenie nasion soi przez drobnoustroje. Jakość mikrobiologiczna nasion jest niezmiernie ważna dla przemysłowego ich wykorzystania. W artykule przedstawiono również wyniki identyfikacji dominujących bakterii i grzybów występujących na nasionach soi *Glycine max* (L.) Merr. Badania polowe przeprowadzono w latach 2014-2016. W okresie wegetacji zastosowano biostymulator oparty na ekstrakcie z alg brunatnych (*Ascophyllum nodosum*) i aminokwasach pochodzenia roślinnego (alanina, glicyna, seryna, walina, arginina, cysteina, hydroksyprolina, lizyna, metionina, fenyloalanina, tyrozyna, prolina, treonina, i inne). Biostymulator stosowano w czterech kombinacjach: jednokrotne opryskiwanie w stężeniu 0,1% i 0,2% w fazie BBCH 13-15 i dwukrotne opryskiwanie w fazach BBCH 13-15 i BBCH 61 a otrzymane wyniki porównywano z obiektem kontrolnym, w którym do opryskiwania roślin stosowano czystą wodę.

Przeprowadzone badania dowiodły, że aplikacja naturalnego biostymulatora, ograniczyła liczebność drobnoustrojów na nasionach soi. Stwierdzono, iż liczba bakterii oraz grzybów zasiedlających nasiona soi uległa redukcji w stosunku do obiektu kontrolnego w zależności od liczby aplikacji oraz stężenia zastosowanego w uprawie biostymulatora. W zasiedleniu nasion przez drobnoustroje przeważały bakterie – 86%, natomiast tylko 14% stanowiły grzyby. Spośród zidentyfikowanych bakterii dominującym był rodzaj *Bacillus*, wśród grzybów natomiast *Aspergillus* sp. oraz *Penicillium* ssp.

Jak wynika z przeprowadzonych badań, aplikacja biostymulatora ograniczyła liczebność drobnoustrojów. W związku z powyższym nasuwa się wniosek, iż wnikliwa obserwacja roślin i znajomość drobnoustrojów, które je zasiedlają pozwalają na odpowiednio wczesne reagowanie i ochronę roślin poprzez stosowanie m.in. biostymulatorów.

Słowa kluczowe:

soja, nasiona, bakterie, grzyby, biostymulator

Keywords:

soybeans, seeds, bacteria, fungi, biostimulant