

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10)

PL 247378 B1

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **441896**

(22) Data zgłoszenia: **2022.08.01**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2024.02.05 BUP 06/2024**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2025.06.23 WUP 25/2025**

(51) MKP:

A01N 63/20 (2020.01)

A01P 1/00 (2006.01)

A01P 3/00 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

POLITECHNIKA ŁÓDZKA, Łódź, PL

(72) Twórca(-y) wynalazku:

ILONA MOTYL, Łódź, PL

ALEKSANDRA STEGLIŃSKA, Łódź, PL

BEATA GUTAROWSKA, Łódź, PL

JOANNA BERŁOWSKA, Łódź, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Westrych, Łódź, PL

(54) Tytuł:

Sposób bioochrony bulw ziemniaka sadzeniaka przed rozwojem fitopatogenów bakteryjnych i grzybowych w trakcie jego przechowywania

PL 247378 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób bioochrony bulw ziemniaka sadzeniaka przed rozwojem fitopatogenów bakteryjnych i grzybowych w trakcie jego przechowywania.

Infekcje fitopatogenami bakteryjnymi i grzybowymi mogą spowodować obniżenie plonu bulw ziemniaków, szczególnie odmian wrażliwych (np. *Impresja*) nawet o 70%. Ochrona ziemniaka przed chorobami powodowanymi przez patogenne bakterie i grzyby wymaga zabiegów ochrony roślin m.in. zaprawiania preparatami. Obecnie na rynku krajowym dostępne są preparaty zawierające fungicydy, które w swoim składzie zawierają czynne substancje chemiczne o działaniu przeciwgrzybowym. Ich formułacje oparte są na substancjach czynnych (np. fluazynam, cymoksanil, propineb, difenokonazol, mandipropamid, mankozeb, wodorotlenek miedzi, siarczan miedzi, chlorotalonil, cyjazofamid, ametoktradyna, fluopikolid, chlorowodorek propamokarbu, piraklostrobina, folpet i in.). Dostępne są również bakteriocydy o działaniu przeciwbakteryjnym. Do substancji czynnych wchodzących w skład tych preparatów zalicza się m.in. tlenochlorek miedzi, tlenek miedzi, tróźsadowy siarczan miedzi, tiofanat metylu, kaptan, kwas benzoesowy. Długoterminowe stosowanie fungicydów i bakteriocydów powoduje jednak degradację środowiska naturalnego, zachwianie naturalnych biocenoz oraz wzrost oporności fitopatogenów na zastosowane związki chemiczne. Środki chemiczne stosowane do ochrony roślin charakteryzują się niską biodegradowalnością w środowisku naturalnym, kumulacją w organizmach żywych, przede wszystkim w ziemniakach i mogą przechodzić od końcowego ogniwa w łańcuchu żywienia zwierząt i człowieka. Fungicydy i bakteriocydy stosowane w ochronie sadzeniaków wpływają również na zaburzenie równowagi biologicznej w mikrobiocenozach naturalnych.

Alternatywą dla fungicydów i bakteriocydów są substancje naturalnego pochodzenia które wykazują aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec fitopatogenów. Nie ma na rynku preparatów opartych na płynach hodowlanych mikroorganizmów, w tym bakterii fermentacji mlekowej do ochrony ziemniaka sadzeniaka przed rozwojem fitopatogenów.

Środki chemiczne oparte na fungicydach i bakteriocydach przeznaczone są przede wszystkim do stosowania na polu w czasie uprawy ziemniaka, nie ma preparatów stosowanych podczas magazynowania ziemniaków sadzeniaków. Natomiast podstawą produkcji zdrowych ziemniaków sadzeniaków jest profilaktyka w postaci eliminowania źródeł zakażenia, uprawa odmian o podwyższonej odporności, ale przede wszystkim prawidłowe przechowywanie zdrowych ziemniaków.

Trudności utrzymania zdrowego sadzeniaka w czasie jego przechowywania wynikają z faktu zmieniającego się klimatu, w szczególności podwyższonych temperatur w sezonie jesienno – zimowym, co szczególnie dotyka małych i średnich producentów, którzy przechowują sadzeniaki tradycyjnymi metodami. W warunkach podwyższonej temperatury i wilgotności zarażone bulwy ziemniaków ulegają zniszczeniu w ciągu kilkunastu dni, a choroba dotyka do 20% magazynowanych ziemniaków. Gospodarstwa zajmujące się uprawą ekologiczną, w tym przypadku nie posiadają żadnych rozwiązań ochrony ziemniaka przed fitopatogenami.

Niniejszy wynalazek rozwiązuje problem ekologicznego sposobu ochrony bulw ziemniaka sadzeniaka przed rozwojem fitopatogenów bakteryjnych i grzybowych w trakcie jego przechowywania, bez konieczności stosowania środków chemicznych, mogących powodować degradację środowiska naturalnego, zachwianie naturalnych biocenoz oraz wzrost oporności fitopatogenów na zastosowane związki chemiczne z wykorzystaniem bakterii fermentacji mlekowej izolowanych z produktów pochodzenia naturalnego (kiszzonek, owoców, warzyw).

Sposób bioochrony bulw ziemniaka sadzeniaka przed rozwojem fitopatogenów bakteryjnych i grzybowych w trakcie jego przechowywania, polegający na wykorzystaniu bakterii fermentacji mlekowej charakteryzuje się tym, że ziemniaki traktuje się zawiesiną komórek bakterii fermentacji mlekowej o gęstości 10^8 – 10^9 jtk/ml w postaci kąpieli przez zanurzenie ziemniaków w czasie 5–10 minut, gdzie proces namnażania komórek bakterii prowadzi się w temp. 28–37°C przez 12–32 godz. po zaszczepieniu serwatki czystą kulturą bakterii fermentacji mlekowej w ilości inokulum 5–10% v/v, które inkubowano przez 28–37°C przez 12–30 godz., przy czym stosuje się kwaśną serwatkę pochodzącą z produkcji przemysłowej suplementowaną 4–8 g/l ekstraktem drożdżowym, 7–14 g/l peptonem, 1–2 g/l cytrynianem amonu, 1–2 g/l fosforanem dipotasu, 2,5–5 g/l octanem sodu, 0,1–0,2 g/l siarczanem magnezu x 7 H₂O i 0,025–0,05 g/l siarczanem magnezu x 4 H₂O.

Sposób według wynalazku jest rozwiązaniem ekologicznym, przyczynia się do przywrócenia równowagi biologicznej i ochrony środowiska naturalnego. Sposób stosowany do zaprawiania sadzeniaków

wpływa pozytywnie na rozwój systemu korzeniowego, a w konsekwencji rozwój roślin i zwiększone plony podczas uprawy ziemniaka.

Sposób według wynalazku ilustrują poniższe przykłady z powołaniem się na rysunek, na którym Fig. 1 przedstawia wykres ilustrujący aktywność przeciwdrobnoustrojową przykładowych bakterii fermentacji mlekowej wyizolowanych z kiszonek, owoców i warzyw w teście *in vitro*, Fig. 2 wykres ilustrujący dynamikę wzrostu szczepu izolatu bakterii fermentacji mlekowej w bioreaktorze w pożywce serwatkowej, Fig. 3 A1 i B1 przedstawiają próby kontrolne inhibicji infekcji ziemniaka przez *Streptomyces scabiei* (A) i *Pectobacterium carotovorum* (B), a Fig. 3 A2 i B2 próby z naniesioną hodowlą izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym.

Przykład 1

Bakterie fermentacji mlekowej wyizolowano z kiszonek, owoców i warzyw. Bakterie przechowywano na podłożu agarowym MRS temperaturze 4°C po uprzedniej inkubacji bakterii w temp. 28°C przez 24 godz.

Ocenę działania przeciwdrobnoustrojowego bakterii fermentacji mlekowej w warunkach *in vitro* na fitopatogeny ziemniaka przeprowadzono metodą dyfuzyjno-agarową. Bakterie fermentacji mlekowej hodowano 12 godz. w temp. 28°C w agarze MRS (Merck, Darmstadt, Niemcy), w celu uzyskania słupków agarowych wyciętych po inkubacji sterylnym korkoborem ($\Phi=10$ mm). Świeżo przygotowane zawiesiny patogenów (10^6 jtk/ml) w objętości 100 μ l inokulowano na TSA (Merck, Darmstadt, Niemcy) w przypadku bakteryjnych patogenów i PDA (Merck, Darmstadt, Niemcy) w przypadku grzybów patogenów. Następnie słupki agaru z bakteriami kwasu mlekowego przeniesiono na zaszczerpione płytki. Jako próbkę kontrolną zastosowano słupki z czystego agaru MRS. Płytki inkubowano przez 2–5 dni (w zależności od patogenu) w temp. 25°C. Po inkubacji zmierzono szerokość stref zahamowania wzrostu fitopatogenów, z wyłączeniem średnicy słupków agarowych. Wyniki wyrażono jako średnią z trzech niezależnych powtórzeń dla każdej kombinacji szczep bakterii fermentacji mlekowej – patogen, uwzględniając wartości odchylenia standardowego. Na Fig. 1 przedstawiono strefy zahamowania wzrostu patogenów przez izolaty bakterii fermentacji mlekowej.

Hodowlę izolatu bakterii fermentacji mlekowej prowadzono w reaktorze szklanym LPP Equipment o objętości całkowitej 5L. W reaktorze, sterylizowano 3L pożywki, którą zaszczerpiono 150 ml inokulum (5%). Inokulum stanowiła hodowla bakterii w serwatce kwaśnej suplementowanej 4 g/l ekstraktem drożdżowym, 7 g/l peptonem, 1 g/l cytrynianem amonu, 1 g/l fosforanem dipotasu, 2,5 g/l octanem sodu, 0,1 g/l siarczanem magnezu x 7 H₂O i 0,025 g/l siarczanem magnezu x 4 H₂O, inkubowana w temp. 28°C przez czas 12 godz. Hodowlę w reaktorze prowadzono na kwaśnej serwatce suplementowanej 4 g/l ekstraktem drożdżowym, 7 g/l peptonem, 1 g/l cytrynianem amonu, 1 g/l fosforanem dipotasu, 2,5 g/l octanem sodu, 0,1 g/l siarczanem magnezu x 7 H₂O i 0,025 g/l siarczanem magnezu x 4 H₂O w reaktorze w temperaturze 28°C w czasie 12 godzin przy prędkościach mieszadła: 80 rpm. Na Fig. 2. przedstawiono dynamikę wzrostu izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym w reaktorze w całym 96 godzinny cykl hodowli.

Testy przeciwdrobnoustrojowe *in situ* na sadzeniakach przeprowadzono po ich kąpeli w płynie po 12-godz. hodowli izolatu bakterii fermentacji mlekowej o gęstości 10^8 jtk/ml w kwaśnej serwatce suplementowanej 4 g/l ekstraktem drożdżowym, 7 g/l peptonem, 1 g/l cytrynianem amonu, 1 g/l fosforanem dipotasu, 2,5 g/l octanem sodu, 0,1–0,2 g/l siarczanem magnezu x 7 H₂O i 0,025 g/l siarczanem magnezu x 4 H₂O, w którym zanurzono ziemniaki na 5 minut i następnie pozostawiono do wyschnięcia. Następnie ziemniaki inokulowano fitopatogenami poprzez nacięcia skalpelem, do których wprowadzono 20 μ l każdej zawiesiny fitopatogenów. Ziemniaki kontrolne inokulowano jedynie fitopatogenami. Ziemniaki inkubowano w temp. 25°C przez 14 dni.

Dla porównania sprawdzono aktywność hamowania wzrostu fitopatogenów przez hodowlę izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu modelowym MRS. Procent porażenia fitopatogenem mierzono w porównaniu do kontroli zgodnie z równaniem:

$$\text{Inhibicja (\%)} = (C - T) / C \times 100$$

gdzie:

C – % inwazji fitopatogenu na ziemniakach kontrolnych,

T – % inwazji fitopatogenu na ziemniakach traktowanych izolatem bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym / na podłożu MRS

Procent porażonej powierzchni mierzono po przecięciu sadzeniaków na pół. Test przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Wyniki przedstawiono w tabeli 1 oraz na Fig. 3.

Tabela 1. Inhibicja porażenia sadzeniaków fitopatogenami [%] przez hodowlę izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym w porównaniu do podłoża MRS

Fitopatogeny	Redukcja porażenia sadzeniaków fitopatogenami [%]	
	podłoże serwatkowe	MRS
<i>Alternaria alternata</i>	60±10	60±5
<i>Alternaria solani</i>	75±10	10±5
<i>Alternaria tenuissima</i>	50±5	25±5
<i>Colletotrichum coccodes</i>	75±5	50±10
<i>Rhizoctonia solani</i>	40±5	40±5
<i>Phoma exigua</i>	70±0	100±0
<i>Pectobacterium carotovorum</i>	90±10	85±5
<i>Streptomyces scabiei</i>	85±0	75±5

Hodowla izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym hamuje wzrost fitopatogenów na ziemniaku podczas jego przechowywania, zarówno bakterii: *Pectobacterium carotovorum*, *Streptomyces scabiei* jak również grzybów: *Alternaria solani*, *Colletotrichum coccodes*, *Phoma exigua*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Rhizoctonia solani*.

Przykład 2

Bakterie fermentacji mlekowej wyizolowano z kiszzonek, owoców i warzyw. Bakterie przechowywano na podłożu agarowym MRS temperaturze 4°C po uprzedniej inkubacji bakterii w temp. 30°C przez 24 godz.

Ocenę działania przeciwdrobnoustrojowego bakterii fermentacji mlekowej w warunkach in vitro na fitopatogeny ziemniaka przeprowadzono metodą dyfuzyjno-agarową. Bakterie fermentacji mlekowej hodowano 24 godz. w temp. 30°C w agarze MRS (Merck, Darmstadt, Niemcy), w celu uzyskania słupków agarowych wyciętych po inkubacji sterylnym korkoborem ($\Phi=10$ mm). Świeżo przygotowane zawiesiny patogenów (10^6 jtk/ml) w objętości 100 μ l inokulowano na TSA (Merck, Darmstadt, Niemcy) w przypadku bakteryjnych patogenów i PDA (Merck, Darmstadt, Niemcy) w przypadku grzybów patogenów. Następnie słupki agaru z bakteriami kwasu mlekowego przeniesiono na zaszczerpione płytki. Jako próbkę kontrolną zastosowano słupki z czystego agaru MRS. Płytki inkubowano przez 2–5 dni (w zależności od patogenu) w temp. 25°C. Po inkubacji zmierzono szerokość stref zahamowania wzrostu fitopatogenów, z wyłączeniem średnicy słupków agarowych. Wyniki wyrażono jako średnią z trzech niezależnych powtórzeń dla każdej kombinacji szczep bakterii fermentacji mlekowej – patogen, uwzględniając wartości odchylenia standardowego. Na Fig. 1 przedstawiono strefy zahamowania wzrostu patogenów przez izolaty bakterii fermentacji mlekowej.

Hodowlę izolatu bakterii fermentacji mlekowej prowadzono w reaktorze szklanym LPP Equipment o objętości całkowitej 5L. W reaktorze, sterylizowano 3L pożywki, którą zaszczerpiono 150 ml inokulum (7%). Inokulum stanowiła hodowla bakterii w serwatce kwaśnej suplementowanej 6 g/l ekstraktem drożdżowym, 10 g/l peptonem, 1,5 g/l cytrynianem amonu, 1,5 g/l fosforanem dipotasu, 3 g/l octanem sodu, 0,15 g/l siarczanem magnezu x 7 H₂O i 0,035 g/l siarczanem magnezu x 4 H₂O, inkubowana w temp. 30°C przez czas 24 godz. Hodowlę w reaktorze prowadzono na kwaśnej serwatce suplementowanej 6 g/l ekstraktem drożdżowym, 10 g/l peptonem, 1,5 g/l cytrynianem amonu, 1,5 g/l fosforanem dipotasu, 3 g/l octanem sodu, 0,15 g/l siarczanem magnezu x 7 H₂O i 0,035 g/l siarczanem magnezu x 4 H₂O w reaktorze w temperaturze 30°C w czasie 24 godzin przy prędkościach mieszadła: 80 rpm. Na Fig. 2. przedstawiono dynamikę wzrostu izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym w reaktorze w całym 96 godzinowym cyklu hodowli.

Testy przeciwdrobnoustrojowe in situ na sadzeniakach przeprowadzono po ich kąpeli w płynie po 24-godz. hodowli izolatu bakterii fermentacji mlekowej o gęstości 10^8 jtk/ml w kwaśnej serwatce su-

plementowanej 6 g/l ekstraktem drożdżowym, 10 g/l peptonem, 1,5 g/l cytrynianem amonu, 1,5 g/l fosforanem dipotasu, 3 g/l octanem sodu, 0,15 g/l siarczanem magnezu x 7 H₂O i 0,035 g/l siarczanem magnezu x 4 H₂O, w którym zanurzono ziemniaki na 7 minut i następnie pozostawiono do wyschnięcia. Następnie ziemniaki inokulowano fitopatogenami poprzez nacięcia skalpelem, do których wprowadzono 20 µl każdej zawiesiny fitopatogenów. Ziemniaki kontrolne inokulowano jedynie fitopatogenami. Ziemniaki inkubowano w temp. 25°C przez 14 dni.

Dla porównania sprawdzono aktywność hamowania wzrostu fitopatogenów przez hodowlę izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu modelowym MRS. Procent porażenia fitopatogenem mierzono w porównaniu do kontroli zgodnie z równaniem;

$$\text{Inhibicja (\%)} = (C - T) / C \times 100$$

gdzie:

C – % inwazji fitopatogenu na ziemniakach kontrolnych,

T – % inwazji fitopatogenu na ziemniakach traktowanych izolatem bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym / na podłożu MRS.

Procent porażonej powierzchni mierzono po przecięciu sadzeniaków na pół. Test przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Wyniki przedstawiono w tabeli 1. oraz na Fig. 3.

Tabela 1. Inhibicja porażenia sadzeniaków fitopatogenami [%] przez hodowlę izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym w porównaniu do podłoża MRS

Fitopatogeny	Redukcja porażenia sadzeniaków fitopatogenami [%]	
	podłoże serwatkowe	MRS
<i>Alternaria alternata</i>	60±10	60±5
<i>Alternaria solani</i>	75±10	10±5
<i>Alternaria tenuissima</i>	50±5	25±5
<i>Colletotrichum coccodes</i>	75±5	50±10
<i>Rhizoctonia solani</i>	40±5	40±5
<i>Phoma exigua</i>	70±0	100±0
<i>Pectobacterium carotovorum</i>	90±10	85±5
<i>Streptomyces scabiei</i>	85±0	75±5

Hodowla izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym hamuje wzrost fitopatogenów na ziemniaku podczas jego przechowywania, zarówno bakterii: *Pectobacterium carotovorum*, *Streptomyces scabiei* jak również grzybów: *Alternaria solani*, *Colletotrichum coccodes*, *Phoma exigua*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Rhizoctonia solani*.

Przykład 3

Bakterie fermentacji mlekowej wyizolowano z kiszonek, owoców i warzyw. Bakterie przechowywano na podłożu agarowym MRS temperaturze 4°C po uprzedniej inkubacji bakterii w temp. 37°C przez 48 godz.

Ocenę działania przeciwdrobnoustrojowego bakterii fermentacji mlekowej w warunkach *in vitro* na fitopatogeny ziemniaka przeprowadzono metodą dyfuzyjno-agarową. Bakterie fermentacji mlekowej hodowano 48 godz. w temp. 37°C w agarze MRS (Merck, Darmstadt, Niemcy), w celu uzyskania słupków agarowych wyciętych po inkubacji sterylnym korkoborem (Φ=10 mm). Świeżo przygotowane zawiesiny patogenów (10⁶ jtk/ml) w objętości 100 µl inokulowano na TSA (Merck, Darmstadt, Niemcy) w przypadku bakteryjnych patogenów i PDA (Merck, Darmstadt, Niemcy) w przypadku grzybów patogenów. Następnie słupki agaru z bakteriami kwasu mlekowego przeniesiono na zaszczerpione płytki. Jako próbkę kontrolną zastosowano słupki z czystego agaru MRS. Płytki inkubowano przez 2–5 dni (w zależności od patogenu) w temp. 25°C. Po inkubacji zmierzono szerokość stref zahamowania wzrostu fitopatogenów, z wyłączeniem średnicy słupków agarowych. Wyniki wyrażono jako średnią z trzech niezależnych powtórzeń dla każdej kombinacji szczep bakterii fermentacji mlekowej – patogen,

uwzględniając wartości odchylenia standardowego. Na Fig. 1 przedstawiono strefy zahamowania wzrostu patogenów przez izolaty bakterii fermentacji mlekowej.

Hodowlę izolatu bakterii fermentacji mlekowej prowadzono w reaktorze szklanym LPP Equipment o objętości całkowitej 5L. W reaktorze, sterylizowano 3L pożywki, którą zaszczerpiono 150 ml inokulum (10%). Inokulum stanowiła hodowla bakterii w serwatce kwaśnej suplementowanej 8 g/l ekstraktem drożdżowym, 14 g/l peptonem, 2 g/l cytrynianem amonu, 2 g/l fosforanem dipotasu, 5 g/l octanem sodu, 0,2 g/l siarczanem magnezu x 7 H₂O i 0,05 g/l siarczanem magnezu x 4 H₂O, inkubowana w temp. 37°C przez czas 48 godz. Hodowlę w reaktorze prowadzono na kwaśnej serwatce suplementowanej 8 g/l ekstraktem drożdżowym, 14 g/l peptonem, 2 g/l cytrynianem amonu, 2 g/l fosforanem dipotasu, 5 g/l octanem sodu, 0,2 g/l siarczanem magnezu x 7 H₂O i 0,05 g/l siarczanem magnezu x 4 H₂O w reaktorze w temperaturze 37°C w czasie 48 godzin przy prędkościach mieszadła: 80 rpm. Na Fig. 2 przedstawiono dynamikę wzrostu izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym w reaktorze w całym 96 godzinnym cyklu hodowli.

Testy przeciwdrobnoustrojowe *in situ* na sadzeniakach przeprowadzono po ich kąpeli w płynie po 48-godz. hodowli izolatu bakterii fermentacji mlekowej o gęstości 10⁹ jtk/ml w kwaśnej serwatce suplementowanej 8 g/l ekstraktem drożdżowym, 14 g/l peptonem, 2 g/l cytrynianem amonu, 2 g/l fosforanem dipotasu, 5 g/l octanem sodu, 0,2 g/l siarczanem magnezu x 7 H₂O i 0,05 g/l siarczanem magnezu x 4 H₂O, w którym zanurzono ziemniaki na 10 minut i następnie pozostawiono do wyschnięcia. Następnie ziemniaki inokulowano fitopatogenami poprzez nacięcia skalpelem, do których wprowadzono 20 µl każdej zawiesiny fitopatogenów. Ziemniaki kontrolne inokulowano jedynie fitopatogenami. Ziemniaki inkubowano w temp. 25°C przez 14 dni.

Dla porównania sprawdzono aktywność hamowania wzrostu fitopatogenów przez hodowlę izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu modelowym MRS.

Procent porażenia fitopatogenem mierzono w porównaniu do kontroli zgodnie z równaniem:

$$\text{Inhibicja (\%)} = (C - T) / C \times 100$$

gdzie:

C – % inwazji fitopatogenu na ziemniakach kontrolnych,

T – % inwazji fitopatogenu na ziemniakach traktowanych izolatem bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym / na podłożu MRS.

Procent porażonej powierzchni mierzono po przecięciu sadzeniaków na pół. Test przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Wyniki przedstawiono w tabeli 1 oraz na Fig. 3.

Tabela 1. Inhibicja porażenia sadzeniaków, fitopatogenami [%] przez hodowlę izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym w porównaniu do podłoża MRS

Fitopatogeny	Redukcja porażenia sadzeniaków fitopatogenami [%]	
	podłoże serwatkowe	MRS
<i>Alternaria alternata</i>	60±10	60±5
<i>Alternaria solani</i>	75±10	10±5
<i>Alternaria tenuissima</i>	50±5	25±5
<i>Colletotrichum coccodes</i>	75±5	50±10
<i>Rhizoctonia solani</i>	40±5	40±5
<i>Phoma exigua</i>	70±0	100±0
<i>Pectobacterium carotovorum</i>	90±10	85±5
<i>Streptomyces scabiei</i>	85±0	75±5

Hodowla izolatu bakterii fermentacji mlekowej na podłożu serwatkowym hamuje wzrost fitopatogenów na ziemniaku podczas jego przechowywania, zarówno bakterii: *Pectobacterium carotovorum*, *Streptomyces scabiei* jak również grzybów: *Alternaria solani*, *Colletotrichum coccodes*, *Phoma exigua*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Rhizoctonia solani*.

Zastrzeżenie patentowe

1. Sposób bioochrony bulw ziemniaka sadzeniaka przed rozwojem fitopatogenów bakteryjnych i grzybowych w trakcie jego przechowywania, polegający na wykorzystaniu bakterii fermentacji mlekowej, **znamienny tym**, że ziemniaki traktuje się zawiesiną komórek bakterii fermentacji mlekowej o gęstości 10^8 – 10^9 jtk/ml w postaci kąpeli przez zanurzenie ziemniaków w czasie 5–10 minut, gdzie proces namnażania komórek bakterii prowadzi się w temp. 28–37°C przez 12–32 godz., po zaszczepieniu serwatki czystą kulturą bakterii fermentacji mlekowej w ilości inokulum 5–10% v/v, które inkubowano przez 28–37°C przez 12–30 godz., przy czym stosuje się kwaśną serwatkę pochodzącą z produkcji przemysłowej suplementowaną 4–8 g/l ekstraktem drożdżowym, 7–14 g/l peptonem, 1–2 g/l cytrynianem amonu, 1–2 g/l fosforanem dipotasu, 2,5–5 g/l octanem sodu, 0,1–0,2 g/l siarczanem magnezu x 7 H₂O i 0,025–0,05 g/l siarczanem magnezu x 4 H₂O.

Rysunki

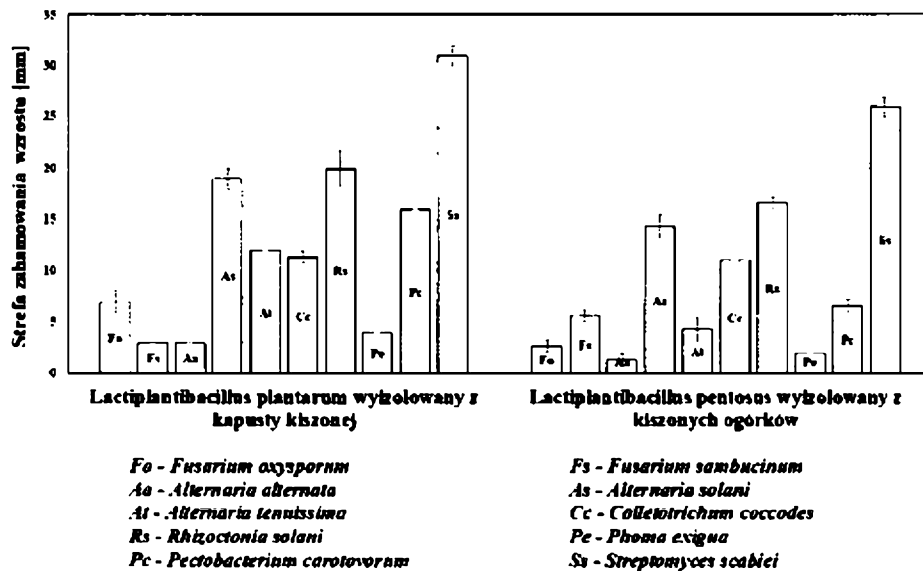


Fig.1

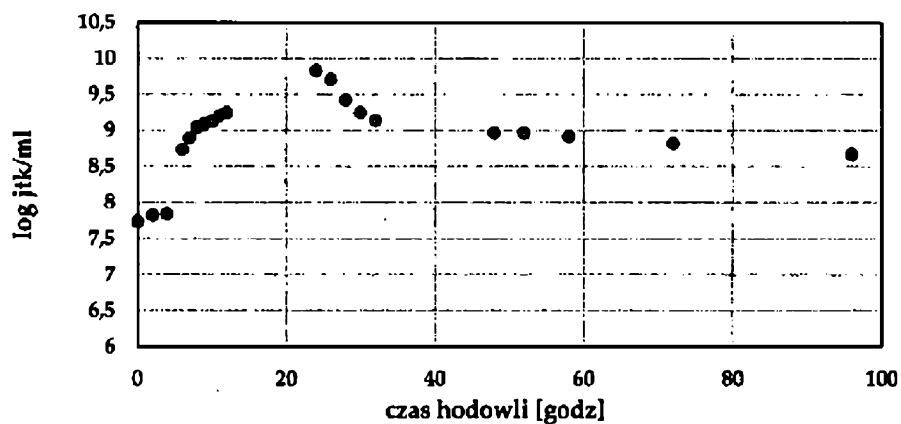
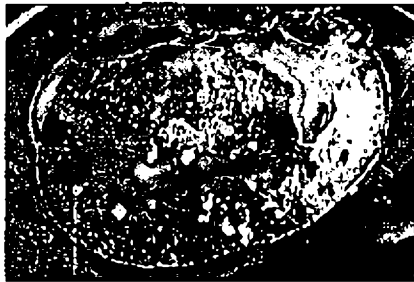


Fig.2



A1



A2



B1



B2

Fig.3