

Sposób bioochrony bulw ziemniaka sadzeniaka przed rozwojem fitopatogenów bakteryjnych i grzybowych.

Przedmiotem wynalazku jest sposób bioochrony bulw ziemniaka
5 sadzeniaka przed rozwojem fitopatogenów bakteryjnych i grzybowych.

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
10 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,
15 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, trójjasadowy siarczan miedzi, tiofanat metylu, kaptan, kwas benzoesowy. Długoterminowe stosowanie fungicydów i bakteriocydów powoduje jednak
20 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
25 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
30 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, 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 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 $\times 7 \text{ H}_2\text{O}$ i 0,025-0,05 g/l siarczanem magnezu $\times 4 \text{ H}_2\text{O}$.
 5 Korzystnie bakterie fermentacji mlekowej przechowuje się na bulionie MRS w temp. 4°C po jego namnożeniu w temp. 28-37°C przez 24-48 godzin.

Sposób według wynalazku jest rozwiązaniem ekologicznym, przyczynia się do przywrócenia równowagi biologicznej i ochrony środowiska naturalnego.
 10 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.
 15
 20

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.
 25

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 ($\Phi=10 \text{ mm}$). Świeżo przygotowane zawiesiny patogenów (10^6 jtk/ml) w objętości 100 μl inokulowano
 30

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 $\times 7 \text{ H}_2\text{O}$ i 0,025 g/l siarczanem magnezu $\times 4 \text{ H}_2\text{O}$, 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 $\times 7 \text{ H}_2\text{O}$ i 0,025 g/l siarczanem magnezu $\times 4 \text{ H}_2\text{O}$ 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 godzinnym cyklu hodowli.

Testy przeciwdrobnoustrojowe in situ na sadzeniakach przeprowadzono po ich kąpieli 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 $\times 7 \text{ H}_2\text{O}$ i 0,025 g/l siarczanem magnezu $\times 4 \text{ H}_2\text{O}$, w którym zanurzono ziemniaki na 5 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.

- 5 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:

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

- 10 gdzie:

C - % inwazji fitopatogenu na ziemniakach kontrolnych,

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

- 15 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

- 20 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.

- 5 Bakterie fermentacji mlekowej wyizolowano z kiszonek, 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
10 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 (106 jtk/ml) w objętości 100 μ l inokulowano na TSA (Merck, Darmstadt, Niemcy) w przypadku bakteryjnych patogenów i PDA
15 (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
20 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
25 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 $\times 7$ H₂O i 0,035 g/l
30 siarczanem magnezu $\times 4$ 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 $\times 7 \text{ H}_2\text{O}$ i 0,035 g/l siarczanem magnezu $\times 4 \text{ H}_2\text{O}$ 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 godzinnym cyklu hodowli.

Testy przeciwdrobnoustrojowe *in situ* na sadzeniakach przeprowadzono po ich kąpieli w płynie po 24-godz. hodowli izolatu bakterii fermentacji mlekowej o gęstości 10^8 jtk/ml w 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 $\times 7 \text{ H}_2\text{O}$ i 0,035 g/l siarczanem magnezu $\times 4 \text{ H}_2\text{O}$, 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.

- 10 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 15 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 ($\Phi=10$ mm). Świeżo przygotowane zawiesiny patogenów (106 jtk/ml) w objętości 100 μ l inokulowano na TSA (Merck, Darmstadt, Niemcy) w przypadku bakteryjnych patogenów i PDA 20 (Merck, Darmstadt, Niemcy) w przypadku grzybów patogenów. Następnie słupki agaru z bakteriami kwasu mlekowego przeniesiono na zaszczepione 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 zaszczepiono 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 $\times 7 \text{ H}_2\text{O}$ i 0,05 g/l siarczanem magnezu $\times 4 \text{ H}_2\text{O}$, 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 $\times 7 \text{ H}_2\text{O}$ i 0,05 g/l siarczanem magnezu $\times 4 \text{ H}_2\text{O}$ 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 kąpieli 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 $\times 7 \text{ H}_2\text{O}$ i 0,05 g/l siarczanem magnezu $\times 4 \text{ H}_2\text{O}$, 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.

- 5 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,

- 10 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.

- 15 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

- 20 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*.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób bioochrony bulw ziemniaka sadzeniaka przed rozwojem fitopatogenów bakteryjnych i grzybowych **znamienny 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 $\times 7 \text{ H}_2\text{O}$ i 0,025-0,05 g/l siarczanem magnezu $\times 4 \text{ H}_2\text{O}$.
2. Sposób według zastrz. 1 znamienny tym, że bakterie fermentacji mlekowej przechowuje się na bulionie MRS w temp. 4°C po jego namnożeniu w temp. 28-37°C przez 24-48 godzin.

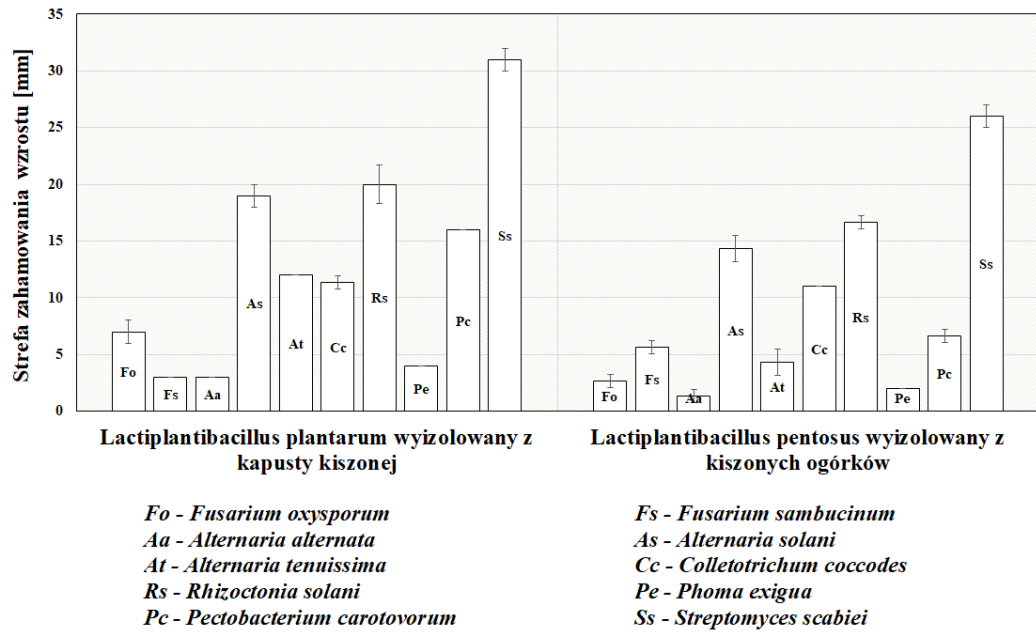


Fig.1

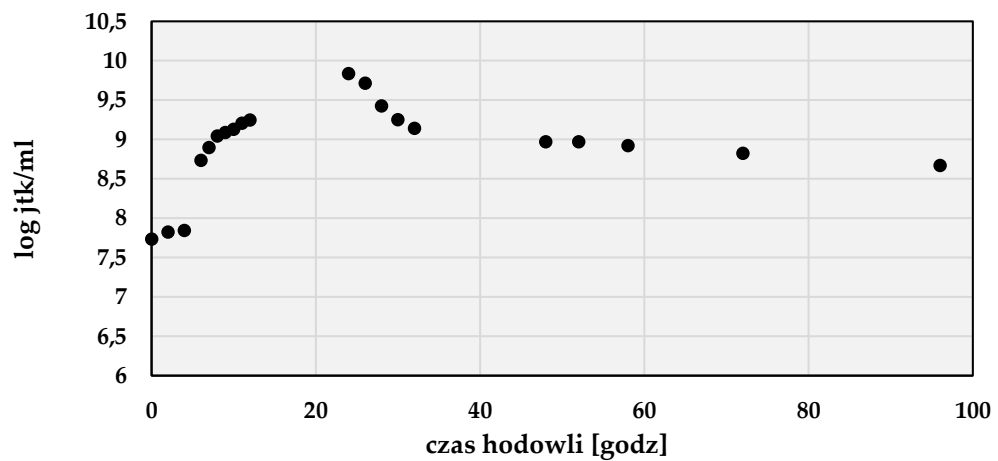
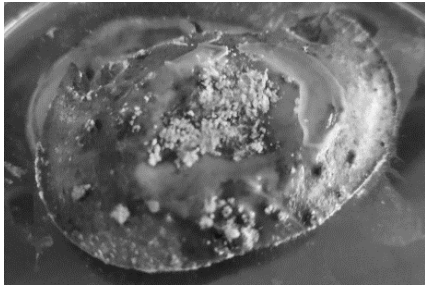


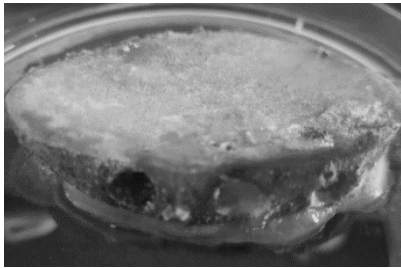
Fig.2



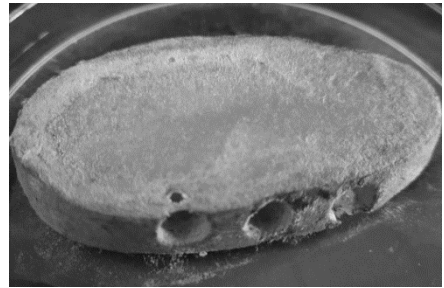
A1



A2



B1



B2

Fig.3

Skrót

Sposób bioochrony bulw ziemniaka sadzeniaka przed rozwojem fitopatogenów bakteryjnych i grzybowych charakteryzuje się 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 zaszczerpieniu 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 $\times 7 \text{ H}_2\text{O}$ i 0,025-0,05 g/l siarczanem magnezu $\times 4 \text{ H}_2\text{O}$.

(2 zastrzeżenia)