

Badania nad ograniczeniem populacji w glebie ważnego patogena cebuli – bakterii *Burkholderia cepacia*

Beata Kowalska, Urszula Smolińska

Pracownia Mikrobiologii, Instytut Ogrodnictwa
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Polska

Abstrakt. Celem badań było określenie, czy dodatek do gleby zakażonej bakterią *Burkholderia cepacia* makuchu rzepakowego, zmielonych nasion gorczycy sarepskiej lub antagonistycznego grzyba *Trichoderma harzianum* wpłynie na ograniczenie liczebności tego patogena. W glebie umieszczonej w kontenerach uprawiano cebulę odmiany Grabowska (*Allium cepa* L.). W trakcie uprawy analizowano populacje patogenicznej bakterii *B. cepacia* i innych mikroorganizmów glebowych oraz oceniano plon i zdrowotność cebuli. Doświadczenia prowadzono przez trzy sezony wegetacyjne.

Stwierdzono, że liczba *B. cepacia* w glebie zmniejszała się wraz z upływem czasu we wszystkich kombinacjach. Istotny spadek liczebności *B. cepacia* zaobserwowano w kombinacjach z makuchem i gorczycą, szczególnie po upływie 3 i 9 miesięcy od zaaplikowania materiałów roślinnych. W tych kombinacjach stwierdzono także istotny wzrost ogólnej liczby bakterii, bakterii przetrwalnikujących i z grupy *Pseudomonas*, promieniowców oraz grzybów. Istotne różnice zaobserwowano zwłaszcza po upływie 1 miesiąca od dodania materiałów roślinnych.

Wzrost plonu cebuli zaobserwowano po dodaniu makuchu rzepakowego zarówno w kombinacji zakażonej *B. cepacia*, jak i w kombinacji bez patogena. Dodatek zmielonych nasion gorczycy sarepskiej do gleby niezakażonej pozytywnie wpływał na plon cebuli, jednakże dodatek do gleby zakażonej znacznie obniżał plon.

słowa kluczowe: *Burkholderia cepacia*, *Brassicaceae*, cebula, ochrona biologiczna

WSTĘP

Gatunek *Burkholderia cepacia* znany jest jako sprawca bakteriozy na cebuli, w literaturze zwanej kwaśną skórka (ang. sour skin). Choroba ta stanowi poważny problem w

Autor do kontaktu:

Beata Kowalska
e-mail: beata.kowalska@inhort.pl
tel. +48 46 833 29 71

Praca wpłynęła do redakcji 2 lipca 2013 r.

produkcji, gdyż prowadzi do dużych strat w plonie cebuli, czasami sięgających nawet 50%. Zniszczenia spowodowane przez tę bakterię zauważalne są często dopiero w przechowalniach, mimo że infekcja cebul następuje już na polu. Patogen, obecny w glebie lub wodzie, wnika do tkanek poprzez zranienia w okolicy szyjki lub na liściach, powstałe np. po załamaniu szczypioru lub wskutek mechanicznego uszkodzenia (Kawamoto, Lorbeer, 1974), i przemieszcza się w tkankach szczypioru w kierunku główki cebuli. Zewnętrzne łuski stają się śluzowate, przybierają zabarwienie od jasnożółtego do jasnobrązowego. Wewnętrzne łuski oraz środkowa część cebuli pozostają niezasiedlone. Rozwojowi choroby sprzyja temperatura ponad 30°C. Czasami, szczególnie u młodych roślin, infekcja pozostaje utajona, a symptomy pojawiają się, gdy zaczyna tworzyć się cebula (Sobiczewski, Schollenberger, 2002; Schwartz, Mohan, 2008).

B. cepacia posiada duży i kompleksowy genom złożony z 2–4 dużych chromosomów. Wielkość całego genomu wynosi 4–9 Mb. Ponadto bakteria ta ma liczne elementy inercyjne, które sprzyjają genetycznym zmianom i modyfikują ekspresję genów sąsiadujących. Taka plastyczność genomu może przyczynić się do dużej zmienności *B. cepacia* pod względem pokarmowym i adaptacyjnym. Cecha ta znajduje odzwierciedlenie m.in. w zróżnicowanych miejscach występowania *B. cepacia* w środowisku naturalnym. Bakteria ta występuje w glebie, wodzie, na powierzchni roślin, a także ma zdolność przylegania do ludzkich komórek nabłonka, powodując infekcje dolnych dróg oddechowych (Compant i in., 2008).

Ograniczona liczba środków ochrony cebuli przed bakteriozami zmusza do poszukiwania nowych, skutecznych oraz bezpiecznych dla środowiska metod walki z tymi chorobami. Dużym zainteresowaniem cieszą się badania dotyczące ograniczenia stosowania pestycydów poprzez użycie biologicznych środków ochrony (Alabouvette i in., 2006). Takie bezpieczne dla środowiska metody są szcze-

gólnie istotne w rozwijających się ekologicznych i integrowanych metodach uprawy warzyw. Obiecujące perspektywy daje możliwość wykorzystania do tego celu substancji pochodzenia roślinnego. Rośliny stanowią bogate źródło związków – metabolitów wtórnych – odznaczających się biologiczną aktywnością. Według danych licznych badaczy ogromna większość roślin wyższych wydziela do otaczającego środowiska związki, które oddziałują na organizmy żywe. Spośród licznych aktywnych biologicznie związków roślinnych, takich jak: fenole, aldehydy, alkohole, olejki eteryczne, kwasy i terpeny, wiele działa hamująco lub zabójczo na bakteryjne patogeny roślin (Cowan, 1999; Utama i in., 2002).

W roślinach z rodziny *Brassicaceae* jako wtórne metabolity występują glukozynolany, wykazujące toksyczne działanie w stosunku do patogenów roślin (Rosa, Rodrigues, 1999; Laegdsmand i in., 2007; Friberg i in., 2009; Bjorkman i in., 2011; Bohinc i in., 2012; Morales-Rodriguez i in., 2012; Motisi i in., 2013). Są one zlokalizowane w wakuolach, we wszystkich tkankach rośliny. Składają się z glukozy, sulfonowanego oksymu i łańcucha bocznego o strukturze alifatycznej, aromatycznej lub indolowej. Budowa łańcucha bocznego determinuje rodzaj związku. Hydroliza tych związków następuje przy udziale enzymu myrozynazy, który uaktywnia się po uszkodzeniu tkanek roślinnych. W trakcie tego procesu powstaje szereg aktywnych biologicznie związków, np. izotiocyaniany, nityle, tiocyaniany (Underhill, 1980; Brown, Morra, 1997; Morra, Kirkegaard, 2002; Horbowicz, 2003; Kalembasa, Adamiak, 2011; Szczygłowska i in., 2011). Są to związki o szerokim spektrum działania. W sposób nieodwracalny reagują z grupami aminowymi, wiązaniami dwusiarczkowymi i grupami tiolowymi białek różnych organizmów żywych. We wcześniejszych badaniach wykazano szkodliwy wpływ substancji biologicznie aktywnych zawartych w roślinach *Brassicaceae* na patogeniczne grzyby: *Rhizoctonia solani* (Smolińska i in., 2007), *Verticillium dahliae* (Smolińska, Kowalska, 2008; Smolińska i in., 2010), *Botrytis cinerea* i *Fusarium* sp. (Smolińska, Kowalska, 2006) oraz patogeniczne bakterie (Brown, Morra, 1997; Rosa, Rodrigues, 1999; Kowalska, Smolińska, 2008; Kowalska, 2010).

Wobec braku skutecznych metod ochrony przed chorobami bakteryjnymi duże zainteresowanie budzi możliwość zwiększenia supresyjnych właściwości gleby. Zjawisko supresyjności gleby, czyli oporności w stosunku do patogenów roślin, jest znane od dawna. Uważa się, że ogromne znaczenie odgrywają tutaj mikroorganizmy glebowe (bakterie np. *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Actinomycetes* oraz grzyby np. *Trichoderma*, *Penicillium*, *Gliocladium*), które poprzez różne mechanizmy (konkurencja, antybioza, pasożytnictwo, indukcja systemicznej odporności w roślinie) ograniczają choroby roślin (Duffy i in., 2003; Hiddink i in., 2005; Borneman, Becker, 2007). Stwierdzono, że wzbogacenie gleby w materiał roślinny powoduje intensywny

wzrost aktywności mikroorganizmów glebowych oraz większe ich zróżnicowanie (Garbeva i in., 2004; Mazzola, 2004; Smolińska, 2004; Cohen i in., 2005; Janvier i in., 2007; Mercado-Blanco, Bakker, 2007). Rozkład substancji organicznej w glebie wywołuje szereg zmian w środowisku glebowym natury zarówno biologicznej, chemicznej jak i fizycznej, które oddziałują na mikroorganizmy glebowe. Wskutek tego procesu dochodzi do zwiększenia supresyjności gleby (Fukui, 2003; Postma i in., 2008; Thuerig i in., 2009; Bonanomi i in., 2010). Wykazano, że materiał z roślin *Brassicaceae* wpływa korzystnie na zwiększenie populacji m.in. promieniowców, bakterii *Pseudomonas* i grzybów. Jednocześnie najprawdopodobniej w pierwszych godzinach po aplikacji materiału do gleby obniża się liczebność wybranych mikroorganizmów, wrażliwych na działanie lotnych związków zawartych w roślinach *Brassicaceae*. Rośliny te zawierają znaczne ilości azotu, z którego wytwarza się amoniak szkodliwie działający na patogeny roślinne (Smolińska i in., 2010).

Celem doświadczenia było zbadanie, czy dodatek materiałów roślinnych lub grzyba *T. harzianum* do gleby zakażonej *B. cepacia* ograniczy liczebność patogenicznej bakterii oraz wpłynie na plon i zdrowotność cebuli odm. Grabowska. Należy podkreślić, że w literaturze brak jest informacji na temat metod ochrony roślin przed *B. cepacia*. Zatem prezentowane badania stanowią pierwsze doniesienie na temat możliwości ograniczenia liczebności tej bakterii w glebie.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie prowadzono w warunkach kontenerowych (skrzynki o pojemności 18 dm³ i powierzchni około 0,24 m²) w latach 2007, 2008 i 2009. Glebę pobraną z warstwy powierzchniowej pola uprawnego wymieszano z substratem torfowym Klamann w stosunku 3:1. Parametry chemiczne przygotowanego podłoża były następujące: pH w H₂O 6,4–6,8, zasolenie 0,75–0,85 mg NaCl·dm⁻³, 100–110 mg N-NO₃·dm⁻³, 110–130 mg P·dm⁻³, 150–175 mg K·dm⁻³, 150–200 mg Mg·dm⁻³, 1600 mg Ca·dm⁻³.

Doświadczenie obejmowało 10 obiektów, każdy w trzech powtórzeniach. Glebę pięciu obiektów zakażono bakterią *B. cepacia*, dodając po 750 µl zawiesiny *B. cepacia* LMG 6962 (izolat zakupiony w Banku Patogenów w Belgii) o stężeniu 5,0·10⁷ jtk/ml na 1 l podłoża, co odpowiadało 3,75·10⁷ jtk/l podłoża. Gleba pozostałych pięciu obiektów nie została zakażona badanym patogenem. W wybranych kombinacjach zastosowano następujące materiały roślinne jako 0,5% dodatki do gleby (w/v): zmielone nasiona gorczycy sarepskiej odmiany Małopolska i makuch rzepakowy otrzymany z wytwórni Pasz „Ardex”. W dwóch kombinacjach traktowanych jako kontrole chemiczne wysadzono siewki cebuli otrzymane z nasion zaprawionych chemicznie Funabenem T (substancja czynna – tiuram). W dwóch kombinacjach przed wysadzeniem siewek cebuli zastoso-

wano 20-minutowe moczenie korzeni siewek w zawiesinie grzyba *Trichoderma harzianum* PBG 1 (izolat z kolekcji Pracowni Mikrobiologii Instytutu Ogródnictwa) o stężeniu zarodników $1 \cdot 10^8$ jtk/ml.

Przygotowano następujące obiekty doświadczalne:

Kombinacje bez patogena:

- kontrola – gleba bez dodatków;
- gorczyca sarepska;
- makuch rzepakowy;
- Funaben T;
- *T. harzianum*.

Kombinacje z *B. cepacia*:

- gleba zakażona *B. cepacia*;
- *B. cepacia* + gorczyca sarepska;
- *B. cepacia* + makuch rzepakowy;
- *B. cepacia* + Funaben T;
- *B. cepacia* + *T. harzianum*.

Skrzynki z przygotowanym podłożem ustawiono w warunkach polowych na stałym miejscu doświadczenia. Po 4 tygodniach wysadzono 6-tygodniową rozsadę cebuli odm. Grabowska w ilości 20 roślin na skrzynkę, w dwóch rzędach po 10 roślin.

Podczas trwania doświadczenia oceniano zdrowotność oraz kondycję roślin. Parametry te wyrażano w skali 1–5, gdzie 1 – rośliny o słabej kondycji, a 5 – rośliny wyróżniające się wzrostem i kondycją. Długość okresu wegetacji wynosiła 16–17 tygodni. Zbiory przeprowadzono w momencie osiągnięcia dojrzałości zbiorczej cebuli. Określono masę oraz liczbę zdrowych i chorych cebul. Do przechowania przeznaczono tylko wizualnie zdrowe cebule. Cebule z każdej kombinacji przechowywano w oddzielnych skrzynkach ażurowych, w komorze przechowalniczej w 0°C. Po 5 miesiącach przechowywania oceniano zdrowotność cebul oraz określano ich masę.

Podczas uprawy cebuli monitorowano liczbę *B. cepacia* w glebie. Analizy wykonano po 1 i 3 miesiącach od momentu zakażenia podłoża. Dodatkowo po zakończeniu uprawy ze skrzynek pobrano po 5 dm³ podłoża do doniczek. Doniczki ustawiono w nieogrzewanej szklarni, gdzie temperatura otoczenia wynosiła 4–12°C. Po upływie 6 i 9 miesięcy od zakażenia podłoża określano liczbę *B. cepacia* w glebie pobranej z doniczek. Liczbę *B. cepacia* w badanych próbach określano za pomocą wysiewu zawiesiny glebowej na szalki z pożywką selektywną CB (Wu, Thompson, 1984) i wyrażano w jtk·g⁻¹ suchej masy gleby.

Na początku doświadczenia, po upływie jednego, trzech i dziewięciu miesięcy od założenia doświadczenia, przeprowadzono analizę mikrobiologiczną głównych grup mikroorganizmów glebowych metodą posiewów na pożywki selektywne. Określano liczbę: grzybów na pożywkę Martina (Martin, 1950), bakterii właściwych i promieniowców na pożywkę z ekstraktem glebowym (Dhingra, Sinclair, 1995), bakterii przetrwalnikujących na pożywkę 1/10 TSA (Dhingra, Sinclair, 1995), po ogrzaniu zawiesi-

ny bakterii w 80°C przez 10 min, a bakterii *Pseudomonas*, w tym wykazujących fluorescencję, na pożywkę Goulda (Gould, 1985). Liczebność populacji mikroorganizmów wyrażano w jtk·g⁻¹ suchej masy gleby.

Wyniki opracowano za pomocą analizy wariancji. Do porównania średnich stosowano test Newmana-Keulsa ($\alpha < 0,05$).

WYNIKI

W początkowym okresie trwania doświadczenia nie zanotowano różnic w wyglądzie roślin między kombinacjami. Jednak po 6 tygodniach uprawy zauważono, że rośliny rosnące w kombinacjach zarówno z glebą zakażoną, jak i niezakażoną z dodatkami roślinnymi są w lepszej kondycji. Jednakże efekt ten był krótkotrwały i w następnych tygodniach uprawy obserwowano wypadanie roślin w kombinacjach z dodatkiem zmielonych nasion gorzycy, zwłaszcza w obecności patogenicznej bakterii (dane nieprezentowane). W rezultacie plon w tej kombinacji zawsze był niższy niż na glebie zakażonej bez dodatków roślinnych i wynosił w latach 2007, 2008 i 2009 odpowiednio 33,7%, 19,7% i 57,1% w stosunku do kombinacji kontrolnej. Niewielki spadek plonu obserwowano także w kombinacjach z patogenem i *T. harzianum* oraz po zastosowaniu zaprawy nasiennej Funaben T. Różnice te jednak nie były istotne statystycznie (tab. 1). Zebrane cebule były zdrowe, bez widocznych objawów porażenia przez bakterie. Nie obserwowano różnic w ich zdrowotności między kombinacjami (dane nieprezentowane).

Najkorzystniejszy wpływ na plon cebuli po dodaniu do gleby materiałów z roślin *Brassicaceae* stwierdzono w latach 2007 i 2008 (tab. 1). Wówczas w kombinacjach z glebą niezakażoną z dodatkiem makuchu i nasion gorzycy uzyskano wyższy plon niż w kombinacji kontrolnej. Jednak w roku 2009 nie zauważono takiego efektu. W dwóch pierwszych latach doświadczenia w kombinacji z grzybem *T. harzianum* uzyskano także wyższy plon niż w kombinacji kontrolnej – w roku 2007 o 23,1% i w roku 2008 o 14,3%. Natomiast w roku 2009 stwierdzono niższy plon w tych kombinacjach w porównaniu z kombinacją kontrolną (tab. 1). W kombinacjach z glebą zakażoną bakteriami z dodatkiem makuchu rzepakowego w roku 2007 i 2009 uzyskano wyższy plon niż w kombinacji bez tych dodatków. Szczególnie różnica ta była dosyć duża w roku 2007, w którym uzyskano plon wyższy o 23,8%. W roku 2008 plon w tej kombinacji był niższy niż w kontrolnej, ale nie była to różnica istotna statystycznie (tab. 1). Nie stwierdzono pozytywnego wpływu grzyba *T. harzianum* na plon cebuli w kombinacji z glebą zakażoną patogeniczną bakterią. We wszystkich kombinacjach cebule dobrze się przechowały, obserwowano jedynie niewielkie zmniejszenie masy cebuli we wszystkich kombinacjach (dane nieprezentowane).

Stwierdzono, że liczba *B. cepacia* w glebie zmniejszała się wraz z upływem czasu we wszystkich kombinacjach.

Tabela 1. Wpływ materiału z roślin *Brassicaceae* oraz grzyba *T. harzianum* na plon cebuli rosnącej w podłożu zakażonym i niezakażonym bakteriami *B. cepacia*Table 1. The effect of *Brassicaceae* plant materials and *T. harzianum* on the yield of onion growing in infested *B. cepacia* and uninfested peat.

Kombinacja Treatment	Ogólny plon cebuli (w % w stosunku do kontroli niezakażonej) Onion yield (% towards uninfested control)		
	rok; year		
	2007	2008	2009
Kontrola; Control	100,0 ab	100,0 ab	100,0 a
Gorzycza Mustard seeds	116,0 a	101,4 ab	67,1 a
Makuch Rapeseed meals	109,9 a	120,9 a	98,9 a
Funaben T	125,2 a	100,6 ab	82,9 a
<i>T. harzianum</i>	123,1 a	114,3 a	84,3 a
<i>B. cepacia</i>	92,5 ab	85,6 ab	72,9 a
<i>B. cepacia</i> + gorzycza <i>B. cepacia</i> + mustard seeds	33,7 b	19,7 c	57,1 a
<i>B. cepacia</i> + makuch <i>B. cepacia</i> + rapeseed meals	116,3 a	73,8 ab	80,0 a
<i>B. cepacia</i> + Funaben T	83,0 ab	87,9 ab	78,6 a
<i>B. cepacia</i> + <i>T. harzianum</i>	59,2 ab	61,1 b	74,3 a

Liczby w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg testu Newmana-Keulsa ($\alpha < 0,05$).Means followed by the same letter do not differ significantly according to Newman-Keuls test ($\alpha < 0,05$).

Zjawisko takie obserwowano w przeciągu trzech lat prowadzenia doświadczenia. Po upływie jednego miesiąca od zakażenia podłoża w latach 2007 i 2009 obserwowano znaczący spadek liczby *B. cepacia* w glebie z dodatkiem nasion gorzycy sarepskiej oraz z dodatkiem makuchu rzepakowego (tab. 2). W 2007 roku w kombinacji kontrolnej wartość ta wynosiła $50,3 \cdot 10^3$ jtk \cdot g⁻¹ s.m. gleby, podczas gdy w kombinacji z gorzycą $12,7 \cdot 10^3$ jtk \cdot g⁻¹ s.m. gleby, a w kombinacji z makuchem rzepakowym – $11,7 \cdot 10^3$ jtk \cdot g⁻¹ s.m. gleby. Różnice te utrzymały się do końca trwania doświadczenia. Podobne tendencje obserwowano w roku 2009. W roku 2008 mniejszą liczbę *B. cepacia* w glebie z dodatkami roślin *Brassicaceae* w porównaniu z kontrolą stwierdzono dopiero po upływie 3 miesięcy od zakażenia gleby. Jednakże różnice te były niewielkie i nieistotne statystycznie. Po upływie 6 miesięcy różnice te były większe i dodatkowo po kolejnych 3 miesiącach znacznie się powiększyły i były istotne statystycznie (tab. 2).

W kombinacjach z glebą, do której wysadzano siewki zaprawiane grzybem *T. harzianum*, także zaobserwowano spadek liczby *B. cepacia*. Szczególnie znaczne różnice obserwowano po upływie 6 i 9 miesięcy. W kombinacji, w której zastosowano nasiona zaprawiane chemicznie, stwierdzono spadek liczby *B. cepacia* w doświadczeniu przeprowadzonym w roku 2007 i 2008. W pierwszym roku obserwowano mniejszą liczebność niż w kontroli po upływie 6 miesięcy, ale po 9 miesiącach liczebność była porównywalna z kontrolą. W roku 2008 spadek liczebności obserwowano po upływie 3 miesięcy i ta tendencja utrzymywała się do końca trwania doświadczenia (tab. 2). W roku 2009 liczba *B. cepacia* w kombinacji z nasionami cebuli

zaprawianymi chemicznie była we wszystkich badanych terminach wyższa niż w kombinacji kontrolnej (tab. 2).

Podczas uprawy cebuli w doświadczeniach kontenerowych prowadzonych w kolejnych latach określano liczebność wybranych grup mikroorganizmów glebowych. Ponieważ obserwowano podobne tendencje w zmianie liczby mikroorganizmów w poszczególnych doświadczeniach, w tabelach 3-7 umieszczono jedynie wyniki z roku 2009. Różnice w liczbie mikroorganizmów były zależne od kombinacji oraz od terminu badania. Po 1 miesiącu od dodania zmielonych nasion gorzycy sarepskiej oraz makuchu obserwowano kilkukrotny wzrost ogólnej liczebności bakterii w porównaniu z kombinacją kontrolną. Różnice te utrzymywały się także po upływie 3 miesięcy, ale po 9 miesiącach nie było już istotnych różnic w porównaniu z kombinacją kontrolną (tab. 3). Wielkość populacji promieniowców także zwiększyła się w tych kombinacjach. Po upływie 9 miesięcy liczebność promieniowców była wyższa w kombinacji z glebą zakażoną z dodatkiem gorzycy oraz w kombinacji z glebą niezakażoną z dodatkiem makuchu i gorzycy w porównaniu z kombinacją kontrolną (tab. 4). Liczba bakterii przetrwalnikujących we wszystkich kombinacjach z dodatkiem materiału *Brassicaceae* po upływie 1 i 3 miesięcy była wyższa niż w kombinacji kontrolnej, dodatkowo różnice te powiększyły się po upływie 9 miesięcy (tab. 5). Największe zmiany w liczebności mikroorganizmów pod wpływem wzbogacenia gleby w materiał z roślin *Brassicaceae* obserwowano w odniesieniu do bakterii z grupy fluoryzujących *Pseudomonas* (tab. 6). Ich liczba gwałtownie wzrosła po upływie jednego miesiąca od dodania materiałów roślinnych. Wówczas wzrost ten był istotny w porównaniu z kombinacją kontrolną. Po upływie 3 i 9 miesięcy nadal obserwowano większą liczbę tych bakterii w kombinacjach z glebą z dodatkami roślinnymi, jednakże nie były to już tak znaczące różnice.

Liczba grzybów istotnie wzrosła w kombinacjach z glebą z dodatkami roślinnymi już po upływie 1 miesiąca, tendencje te utrzymywały się do 9 miesięcy (tab. 7).

W kombinacjach z nasionami cebuli zaprawionymi chemicznie oraz z *T. harzianum* po upływie 3 i 9 miesięcy od początku trwania doświadczenia liczebność promieniowców, bakterii przetrwalnikujących, grzybów i fluoryzujących *Pseudomonas* nie różniła się istotnie od kombinacji kontrolnych. W niektórych przypad-

Tabela 2. Wpływ dodatku materiału roślinnego i *T. harzianum* do gleby na liczbę *B. cepacia* – doświadczenie kontenerowe w latach 2007, 2008 i 2009
 Table 2. The effect of *Brassicaceae* plant materials and *T. harzianum* on *B. cepacia* population – experiment conducted in 2007, 2008 and 2009.

Kombinacja Treatment	w dniu zakażenia gleby on the day of inoculation of soil		po 1 miesiącu after 1 month		po 3 miesiącach after 3 months		po 6 miesiącach after 6 months		po 9 miesiącach after 9 months						
	2007	2008	2009	2007	2008	2009	2007	2008	2009	2007	2008	2009			
Liczba <i>B. cepacia</i> [jtk·10 ³ ·g ⁻¹ s.m. gleby] (procent w stosunku do dnia zakażenia) Number of <i>B. cepacia</i> [cfu 10 ³ g ⁻¹ soil DM] (percent towards the inoculation day)															
<i>B. cepacia</i>	94,0 a (100)	8,3 a (100)	38,6 a (100)	50,3 a (53,5)	1,66a (20)	16,3 a (42,2)	2,0 a (2,1)	3,2 a (38,6)	29,1 a (75,4)	0,57 a (0,6)	2,5 a (30,1)	10,0 ab (25,9)	0,11a (0,11)	1,9 a (22,9)	1,1 b (2,8)
<i>B. cepacia</i> + gorczyca	94,0 a (100)	8,3 a (100)	38,6 a (100)	12,7 a (13,5)	2,18 a (26,3)	10,5 a (27,2)	<0,1 a (<0,1)	3,3 a (39,8)	0,1 c (0,3)	0,28 a (0,3)	1,9 a (22,9)	0,1 c (0,3)	<0,1 a (0,1)	0,8 b (9,6)	0,1 c (0,3)
<i>B. cepacia</i> + mustard seeds	94,0 a (100)	8,3 a (100)	38,6 a (100)	11,7 a (12,4)	3,75 a (45,1)	0,7 b (1,8)	1,1 a (1,2)	2,6 a (31,3)	3,8 b (9,8)	0,15 a (0,16)	1,1 a (13,3)	3,3 bc (8,5)	<0,1 a (0,1)	0,97 b (11,7)	0,1 c (0,3)
<i>B. cepacia</i> + rapeseed meals	94,0 a (100)	8,3 a (100)	38,6 a (100)	50,3 a (53,5)	1,66 a (20)	16,3 a (42,2)	5,9 a (6,3)	1,2 a (14,5)	57,7 a (149,5)	0,1 a (0,1)	1,5 a (18,1)	14,2 a (36,8)	0,1 a (0,1)	0,87 b (10,5)	3,5 a (9,1)
<i>B. cepacia</i> + <i>T. harzianum</i>	94,0 a (100)	8,3 a (100)	38,6 a (100)	50,3 a (53,5)	1,66 a (20)	16,3 a (42,2)	2,4 a (2,6)	3,1 a (37,3)	5,5 b (14,2)	0,02 a (0,02)	1,5 a (18,1)	6,3 bc (16,3)	0,02 a (0,02)	0,87 b (10,5)	0,2 c (0,5)

Liczby w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie wg testu Newmana-Keulsza ($\alpha < 0,05$); Means followed by the same letter do not differ significantly according to Newman-Keuls test ($\alpha < 0,05$).

Tabela 3. Wpływ dodatku materiału roślinnego i *T. harzianum* do gleby na ogólną liczbę bakterii
 Table 3. Effect of *Brassicaceae* plant materials and *T. harzianum* on number of total bacteria.

Kombinacja Treatment	Ogólna liczba bakterii [jtk·10 ⁶ ·g ⁻¹ s.m. gleby] Number of total bacteria [cfu 10 ⁶ g ⁻¹ soil DM]			
	w dniu założenia doświad. on the first day of experiment	po 1 miesiącu after 1 month	po 3 miesiącach after 3 months	po 9 miesiącach after 9 months
Kontrola Control	7,0 a	13,9 b	8,1 c	26,5 a
Gorzycza Mustard seeds	-	82,4 a	29,6 ab	22,9 a
Makuch Rapeseed meal	-	114,8 a	22,5 bc	21,1 a
Funaben T	-	-	9,5 c	25,2 a
<i>T. harzianum</i>	-	-	88,0 a	25,1 a
<i>B. cepacia</i>	14,4 a	12,5 b	10,4 c	7,2 b
<i>B. cepacia</i> + gorzycza	-	67,9 a	26,1 b	14,1 ab
<i>B. cepacia</i> + mustard seeds	-	67,9 a	26,1 b	14,1 ab
<i>B. cepacia</i> + makuch	-	62,4 a	40,2 a	21,5 a
<i>B. cepacia</i> + rapeseed meal	-	62,4 a	40,2 a	21,5 a
<i>B. cepacia</i> + Funaben T	-	-	8,5 c	24,1 a
<i>B. cepacia</i> + <i>T. harzianum</i>	-	-	29,7 ab	6,7 b

Liczby w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg testu Newmana-Keulsa ($\alpha < 0,05$)
 Means followed by the same letter do not differ significantly according to Newman-Keuls test ($\alpha < 0.05$).

Tabela 4. Wpływ dodatku materiału roślinnego i *T. harzianum* do gleby na liczbę promieniowców
 Table 4. Effect of *Brassicaceae* plant materials and *T. harzianum* on number of streptomyces.

Kombinacja Treatment	Liczba promieniowców [jtk·10 ⁶ ·g ⁻¹ s.m. gleby] Number of streptomyces [cfu 10 ⁶ g ⁻¹ soil DM]			
	w dniu założenia doświad. on the first day of experiment	po 1 miesiącu after 1 month	po 3 miesiącach after 3 months	po 9 miesiącach after 9 months
Kontrola Control	3,8 a	4,5 b	8,1 a	7,9 a
Gorzycza Mustard seeds	-	42,7 a	11,2 a	9,5 a
Makuch Rapeseed meals	-	24,6 a	8,1 a	10,5 a
Funaben T	-	-	3,4 a	6,7 a
<i>T. harzianum</i>	-	-	2,2 a	6,8 a
<i>B. cepacia</i>	3,7 a	3,2 b	3,5 a	7,6 a
<i>B. cepacia</i> + gorzycza	-	32,6 a	13,7 a	19,6 a
<i>B. cepacia</i> + mustard seeds	-	32,6 a	13,7 a	19,6 a
<i>B. cepacia</i> + makuch	-	12,9 ab	11,8 a	6,8 a
<i>B. cepacia</i> + rapeseed meals	-	12,9 ab	11,8 a	6,8 a
<i>B. cepacia</i> + Funaben T	-	-	2,7 a	6,3 a
<i>B. cepacia</i> + <i>T. harzianum</i>	-	-	3,2 a	7,8 a

Liczby w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg testu Newmana-Keulsa ($\alpha < 0,05$)
 Means followed by the same letter do not differ significantly according to Newman-Keuls test ($\alpha < 0.05$).

Tabela 5. Wpływ dodatku materiału roślinnego i *T. harzianum* do gleby na liczbę bakterii przetrwalnikujących
Table 5. Effect of *Brassicaceae* plant materials and *T. harzianum* on number of spore forming bacteria.

Kombinacja Treatment	Liczba bakterii przetrwalnikujących [jtk·10 ⁵ ·g ⁻¹ s.m. gleby] Number of spore forming bacteria [cfu 10 ⁵ g ⁻¹ soil DM]			
	w dniu założenia doświad. on the first day of experiment	po 1 miesiącu after 1 month	po 3 miesiącach after 3 months	po 9 miesiącach after 9 months
Kontrola Control	61,9 a	71,6 b	49,9 c	27,5 c
Gorzycza Mustard seeds	-	140,1 a	87,0 b	288,0 a
Makuch Rapeseed meal	-	136,4 a	81,9 b	195,8 ab
Funaben T	-	-	47,7 c	34,7 c
<i>T. harzianum</i>	-	-	48,1 c	24,7 c
<i>B. cepacia</i>	63,5 a	66,5 b	48,5 c	29,1 c
<i>B. cepacia</i> + gorzycza	-	123,7 a	87,8 b	97,7 b
<i>B. cepacia</i> + mustard seeds	-	-	-	-
<i>B. cepacia</i> + makuch	-	135,0 a	100,9 a	246,5 a
<i>B. cepacia</i> + rapeseed meal	-	-	48,7 c	24,8 c
<i>B. cepacia</i> + Funaben T	-	-	-	-
<i>B. cepacia</i> + <i>T. harzianum</i>	-	-	58,5 c	27,7 c

Liczby w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg testu Newmana-Keulsa ($\alpha < 0,05$)
Means followed by the same letter do not differ significantly according to Newman-Keuls test ($\alpha < 0.05$).

Tabela 6. Wpływ dodatku materiału roślinnego i *T. harzianum* do gleby na liczbę bakterii fluoryzujących *Pseudomonas*
Table 6. Effect of *Brassicaceae* plant materials and *T. harzianum* on number of fluorescent *Pseudomonas*.

Kombinacja Treatment	Liczba fluoryzujących <i>Pseudomonas</i> [jtk·10 ³ ·g ⁻¹ s.m. gleby] Number of fluorescent <i>Pseudomonas</i> [cfu 10 ³ g ⁻¹ soil DM]			
	w dniu założenia doświad. on the first day of experiment	po 1 miesiącu after 1 month	po 3 miesiącach after 3 months	po 9 miesiącach after 9 months
Kontrola Control	82,0 a	15,8 b	4,3 bc	55,3 b
Gorzycza Mustard seeds	-	682,0 a	40,0 b	62,7 b
Makuch Rapeseed meal	-	528,1 a	15,3 bc	171,7 a
Funaben T	-	-	6,7 bc	33,4 b
<i>T. harzianum</i>	-	-	3,0 bc	26,3 b
<i>B. cepacia</i>	69,0 a	62,0 b	1,0 c	29,4 b
<i>B. cepacia</i> + gorzycza	-	192,3 ab	26,0 bc	157,3 a
<i>B. cepacia</i> + mustard seeds	-	-	-	-
<i>B. cepacia</i> + makuch	-	929,2 a	83,3 a	119,9 a
<i>B. cepacia</i> + rapeseed meal	-	-	4,0 bc	70,2 b
<i>B. cepacia</i> + Funaben T	-	-	-	-
<i>B. cepacia</i> + <i>T. harzianum</i>	-	-	18,7 bc	22,9 b

Liczby w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg testu Newmana-Keulsa ($\alpha < 0,05$)
Means followed by the same letter do not differ significantly according to Newman-Keuls test ($\alpha < 0.05$).

Tabela 7. Wpływ dodatku materiału roślinnego i *T. harzianum* do gleby na liczbę grzybów
 Table 7. Effect of *Brassicaceae* plant materials and *T. harzianum* on number of fungi.

Kombinacja Treatment	Liczba kolonii grzybów [jtk·10 ⁴ ·g ⁻¹ s.m. gleby] Number of fungi [cfu 10 ⁴ g ⁻¹ soil DM]			
	w dniu założenia doświad. on the first day of experiment	po 1 miesiącu after 1 month	po 3 miesiącach after 3 months	po 9 miesiącach after 9 months
Kontrola Control	10,8 a	22,1 b	9,5 d	25,3 a
Gorzycza Mustard seeds	-	173,3 a	28,6 b	63,2 a
Makuch Rapeseed meal	-	94,7 ab	14,7 cd	32,3 a
Funaben T	-	-	14,6 cd	47,1 a
<i>T. harzianum</i>	-	-	14,5 cd	49,5 a
<i>B. cepacia</i>	16,8 a	16,8 b	18,1 c	31,5 a
<i>B. cepacia</i> + gorzycza	-	187,3 a	35,9 a	63,7 a
<i>B. cepacia</i> + makuch	-	68,0 ab	18,0 c	42,8 a
<i>B. cepacia</i> + rapeseed meal	-	-	15,3 cd	48,6 a
<i>B. cepacia</i> + Funaben T	-	-	18,2 c	42,5 a
<i>B. cepacia</i> + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-

Liczby w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg testu Newmana-Keulsa ($\alpha < 0,05$)
 Means followed by the same letter do not differ significantly according to Newman-Keuls test ($\alpha < 0.05$).

kach obserwowano niewielki spadek liczebności drobnoustrojów.

DYSKUSJA

Bakteriozy stanowią ogromne zagrożenie dla upraw cebuli w Polsce, m.in. z powodu braku skutecznych metod ochrony. Ze względu na wysokie wymagania dotyczące bezpieczeństwa stosowania środków ochrony roślin w Unii Europejskiej, z rynku polskiego oraz innych państw członkowskich, w wyniku trwałego przeglądu substancji aktywnych środków ochrony roślin, wycofywane są ze stosowania liczne substancje aktywne. W ślad za tym obniża się liczba zarejestrowanych środków ochrony roślin (Paaske, 2009).

W przypadku chorób bakteryjnych częstym źródłem zakażenia jest gleba lub porażone nasiona. Dlatego uzasadnione są działania mające na celu eliminację lub chociażby zmniejszenie populacji patogena w glebie. W prezentowanych badaniach wykorzystano materiał roślinny, który wprowadzano do podłoża zakażonych bakterią *B. cepacia*. Zastosowano zmielone nasiona gorzycy sarepskiej oraz makuch rzepakowy – materiały bogate w azot i związki biologicznie aktywne, m.in. glukozynolany. Z przeprowadzonych obserwacji wynika, że dodatek makuchu rzepakowego i nasion gorzycy sarepskiej do gleby obniżał liczbę patogenicznej bakterii *B. cepacia*.

Możliwość wykorzystania glukozynolanów jako alternatywnych środków ochrony roślin przed fitopatogenicznymi bakteriami wykazali także Aires i in. (2009). Naukowcy ci badali *in vitro* antibakteryjny efekt produktów hydrolizy glukozynolanów, np. 2-propenyl izotiocyanianu, izotiocyanianu benzylu, izotiocyanianu 2-fenyletylu, w stosunku do *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia chrysanthemi*, *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas tomato*, *Xanthomonas campestris* i *Xanthomonas juglandis*. Efekt działania zależał głównie od chemicznej struktury badanego związku oraz od stosowanej dawki. Jednakże w większości przypadków wykazano toksyczny wpływ tych produktów na wszystkie badane bakterie. Nie można także wykluczyć, że inne, powstające w trakcie degradacji tego materiału, związki, np. amoniak czy kwasy organiczne, niekorzystnie wpływały na *B. cepacia*. Autorzy we wcześniejszych badaniach własnych przeprowadzonych w warunkach *in vitro* dowiedli ograniczającego działania materiału z roślin *Brassicaceae* na wzrost *B. cepacia* w pożywkach mikrobiologicznych oraz na rozwój bakteriozy wywoływanej przez tę bakterię na cebuli w warunkach laboratoryjnych (Kowalska, Smolińska, 2008).

Wzbogacenie gleby w materiał organiczny w bardzo krótkim czasie powoduje intensywny wzrost aktywności mikroorganizmów (Smolińska, 2004; Janvier i in., 2007). W przeprowadzonych doświadczeniach stwierdzono, że dodanie do gleby zmielonych nasion gorzycy sarepskiej

i makuchu rzepakowego znacznie zwiększało liczebność głównych grup mikroorganizmów glebowych – bakterii, w tym *Pseudomonas*, bakterii przetrwalnikujących i promieniowców oraz grzybów. Po 3 miesiącach od założenia doświadczenia obserwowano dość znaczne zmniejszenie się populacji *B. cepacia*, szczególnie w latach 2007 i 2009. Wówczas liczba *B. cepacia* w tych kombinacjach była kilkukrotnie mniejsza w porównaniu z kontrolą. Jednocześnie nastąpił także istotny wzrost populacji innych bakterii, w tym bakterii przetrwalnikujących, fluoryzujących *Pseudomonas* oraz grzybów. Można sądzić, że mikroorganizmy te były jednym z czynników, które miały wpływ na zmniejszenie liczby *B. cepacia* w glebie. Przypuszczenie to wynika z faktu, że fluoryzujące *Pseudomonas* i bakterie przetrwalnikujące, np. *Bacillus*, są bardzo często podawane jako te grupy mikroorganizmów, które zwiększają supresję gleby, ponieważ mogą wykazywać działanie antagonistyczne w stosunku do patogenów (Duffy i in., 2003; Bakker i in., 2010). Antagonizm ten może przejawiać się poprzez konkurencję o pokarm, np. o Fe, dzięki wydajnym sideroforom, lub wydzielanie toksycznie działających na patogeny związków.

Przedstawione wyniki badań są zgodne z obserwacjami wielu innych badaczy. Zanon i Jorda (2008) na podstawie własnych eksperymentów stwierdzili, że mikroorganizmy glebowe z rodzaju *Pseudomonas*, *Bacillus* i *Streptomyces* zmniejszyły populację *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* w glebie. Schrey i Tarkka (2008) udowodnili korelację między liczebnością promieniowców w glebie a efektywnością biologicznej kontroli. Natomiast Aliye i in. (2008) eksperymentalnie udowodnili efekt zmniejszenia populacji *Ralstonia solanacearum* w glebie przez bakterie PGPR (ang. plant growth promoting rhizobacteria) w uprawie ziemniaka.

Niestety, jak można zaobserwować na podstawie uzyskanych wyników, dodatek materiału z roślin *Brassicaceae* niekorzystnie wpłynął na roślinę testową – cebulę. Zjawisko negatywnego wpływu rozkładającej się świeżej materii organicznej na rośliny jest dobrze udokumentowane w literaturze (Bonanomi i in., 2007; Kaczmarek, 2009; Sołtys i in., 2010). Wywoływane jest ono wydzielaniem do środowiska biologicznie aktywnych substancji chemicznych, np. amoniaku, kwasów organicznych, związków fenolowych czy, jak w przypadku roślin *Brassicaceae*, produktów rozkładu glukozynolanów, modyfikujących procesy wzrostu i rozwoju roślin. W prezentowanych badaniach substancje powstające w czasie degradacji zmieszonych nasion gorczycy działały fitotoksycznie na rośliny cebuli. Najprawdopodobniej mogły uszkadzać siewki i czynić je bardziej podatnymi na porażenie przez patogeny. W tym przypadku problem fitotoksyczności można całkowicie wyeliminować, wydłużając okres od momentu dodatku gorczycy do gleby do wysadzenia siewek cebuli. Określenie „bezpiecznego” terminu wymaga dalszych badań, ponieważ zależy on od rodzaju gleby, a zwłaszcza

jej struktury. W glebach słabo przepuszczalnych, o dużej wilgotności i słabym natlenieniu, ilość toksycznych związków powstających w trakcie rozkładu materii organicznej jest większa (Bonanomi i in., 2007).

Podsumowując, można stwierdzić, że wzbogacenie gleby w materiał z roślin *Brassicaceae* pozwoliło obniżyć w glebie populację patogenicznej bakterii *B. cepacia*, wywołującej choroby cebuli. Nieznany jest próg infekcyjności *B. cepacia*. Ponadto jest on trudny do określenia, gdyż pojawienie się objawów chorobowych na roślinie zależy od wielu wzajemnych interakcji między patogenem, mikroorganizmami glebowymi, rośliną i środowiskiem. Zatem nie wiadomo, jakie musi być inokulum patogena w glebie, aby wywołać chorobę. Można obniżyć liczebność patogena, a nie będzie to miało wpływu na obniżenie porażenia czy zwiększenie plonu. W prezentowanych badaniach obserwowano spadek liczebności patogena po zastosowaniu gorczycy, ale jednocześnie znaczne obniżenie plonu cebuli. Dodatkową korzyścią aplikowania materiału *Brassicaceae* do gleby jest zwiększenie jej supresyjności poprzez stymulację rozwoju grup mikroorganizmów, które ze względu na swoje właściwości uważane są za dobrych antagonistów mikroorganizmów patogenicznych. Autorzy mają świadomość, że stosowana metoda nie wyeliminuje całkowicie patogena z gleby, jedynie pozwoli obniżyć jego populację. Jednak stosowanie materiału z roślin *Brassicaceae* jako dodatku do gleby przez kilka lat na polach silnie zainfekowanych patogenem może obniżyć liczebność *B. cepacia* do bezpiecznego poziomu i skrócić wymagany okres przerwy w uprawie cebuli na danym polu.

WNIOSKI

1. Dodatek do gleby zmielonych nasion gorczycy sarepskiej odm. Małopolska oraz makuchu rzepakowego powodował zmniejszenie liczebności bakterii *B. cepacia*.
2. Dodatek zmielonych nasion gorczycy sarepskiej do gleby zakażonej *B. cepacia* wywoływał istotny spadek plonu cebuli.
3. Wzbogacenie gleby w materiał roślinny w postaci zmielonych nasion gorczycy sarepskiej i makuchu rzepakowego zwiększało ogólną liczbę bakterii, promieniowców, liczbę bakterii z rodzaju *Pseudomonas* i bakterii tworzących przetrwalniki.
4. Funaben T zastosowany jako zaprawa nasienna nie zwiększył plonu cebuli, nie miał także wpływu na zmianę liczebności *B. cepacia* w glebie.
5. Antagonistyczny grzyb *T. harzianum* spowodował spadek liczebności *B. cepacia* w glebie po upływie 9 miesięcy od dnia zakażenia.

PIŚMIENNICTWO

Aires A., Mota V.R., Saavedra M.J., Monteiro A.A., Simoes M., Rosa E.A.S., Bennett R.N., 2009. Initial in vitro evaluations of the antibacterial activities of glucosinolate enzy-

- matic hydrolysis products against plant pathogenic bacteria. *J. Appl. Microbiol.*, 106: 2096-2105.
- Alabouvette C., Olivain C., Steinberg Ch., 2006.** Biological control of plant diseases: the European situation. *Europ. J. Plant Pathol.*, 114: 329-341.
- Aliye N., Fininsa C., Hiskias Y., 2008.** Evaluation of rhizosphere bacterial antagonists for their potential to bioprotect potato (*Solanum tuberosum*) against bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*). *Biol. Control*, 47: 282-288.
- Bakker M.G., Glover J.D., Mai J.G., Kinkel L.L., 2010.** Plant community effects on the diversity and pathogen suppressive activity of soil streptomycetes. *Appl. Soil Ecol.*, 46: 35-42.
- Bjorkman M., Klingen I., Birch A.N.E., Bones A.M., Bruce T.J.A., Johansen T.J., Meadow R., Molmann J., Seljasen R., Smart L.E., Stewart D., 2011.** Phytochemicals of *Brassicaceae* in plant protection and human health – Influences of climate, environment and agronomic practice. *Phytochemistry*, 72: 538-556.
- Bohinc T., Ban S.G., Ban D., Trdan S., 2012.** Glucosinolates in plant protection strategies: a review. *Archiv. Biol. Sci.*, 64: 821-828.
- Bonanomi G., Antignani V., Capodilupo M., Scala F., 2010.** Identifying the characteristics of organic soil amendments that suppress soilborne plant diseases. *Soil Biol. Biochem.*, 42: 136-144.
- Bonanomi G., Antignani V., Pane C., Scala F., 2007.** Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. *J. Plant Pathol.*, 89: 311-324.
- Borneman J., Becker J., 2007.** Identifying microorganisms involved in specific pathogen suppression in soil. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 45: 153-172.
- Brown P.D., Morra M.J., 1997.** Control of soil-borne plants pests using glucosinolate-containing plants. *Adv. Agron.*, 61: 167-231.
- Cohen M.F., Yamasaki H., Mazzola M., 2005.** *Brassica napus* seed meal soil amendment modifies microbial community structure, nitric oxide production and incidence of *Rhizoctonia* root rot. *Soil Biol. Biochem.*, 37: 1215-1227.
- Compant S., Nowak J., Coenye T., Clement C., Barka E.A., 2008.** Diversity and occurrence of *Burkholderia* spp. in the natural environment. *FEMS Microbiol. Rev.*, 32: 607-626.
- Cowan M.M., 1999.** Plant products as microbial agents. *Clinic. Microbiol. Rev.*, 12(4): 564-582.
- Dhingra O.D., Sinclair J.B., 1995.** Basic plant pathology methods. Lewis Publishers. Boca Raton, London, Tokyo.
- Duffy B., Schouten A., Raaijmakers J.M., 2003.** Pathogen self-defense: Mechanisms to counteract microbial antagonism. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 41: 501-538.
- Friberg H., Edel-Hermann V., Faivre C., Gautheron N., Fayolle L., Faloya V., Montfort F., Steinberg C., 2009.** Cause and duration of mustard incorporation effects on soil-borne plant pathogenic fungi. *Soil Biol. Biochem.*, 41: 2075-2084.
- Fukui R., 2003.** Suppression of soilborne plant pathogens through community evolution of soil microorganisms. *Microb. Environ.*, 18: 1-9.
- Garbeva P., van Veen J.A., van Elsas J.D., 2004.** Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 42: 242-270.
- Gould W.D., Hegedorn C., Bardinelli T.R., Zablutowicz R.M., 1985.** New selective media for enumeration and recovery of fluorescent *Pseudomonas* from various habitats. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49: 28-32.
- Hiddink G.A., van Bruggen A.H.C., Termorshuizen A.J., Raaijmakers J.M., Semenov A.V., 2005.** Effect of organic management of soil on suppressiveness to *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and its antagonist, *Pseudomonas fluorescens*. *Europ. J. Plant Pathol.*, 113: 417-435.
- Horbowicz M., 2003.** The occurrence, role and contents of glucosinolates in *Brassica* vegetables. *Veget. Crops Res. Bull.*, 58: 23-40.
- Janvier C., Villeneuve F., Alabouvette C., Edel-Hermann V., Mateille T., Steinberg Ch., 2007.** Soil health through soil disease suppression: which strategy from descriptors to indicators? *Soil Biol. Biochem.*, 39: 1-23.
- Kaczmarek S., 2009.** Wykorzystanie potencjału allelopatycznego roślin w wybranych uprawach rolniczych. *Progr. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl.*, 49: 1502-1511.
- Kalembasa S., Adamiak E.A., 2011.** Określenie składu chemicznego makuchu rzepakowego. *Acta Agrophys.*, 15(2): 323-331.
- Kawamoto S.O., Lorbeer J.W., 1974.** Infectious of onions leaved by *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology*, 64: 1440-1445.
- Kowalska B., 2010.** Characteristic of onion pathogenic bacteria and their control. Doctoral thesis. [in Polish with English summary]
- Kowalska B., Smolińska U., 2008.** The effect of selected plants materials and extracts on the development of bacterial diseases on onion. *Veget. Crops Res. Bull.*, 68: 33-45.
- Laegdsmand M., Gimsing A.L., Strobel B.W., Sorensen J.C., Jacobsen O.H., Hansen H.C.B., 2007.** Leaching of isothiocyanates through intact soil following simulated biofumigation. *Plant Soil*, 291: 81-92.
- Martin J.P., 1950.** Use of acid, rose Bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.*, 69: 215-232.
- Mazzola M., 2004.** Assessment and management of soil microbial community structure for disease suppression. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 42: 35-59.
- Mercado-Blanco J., Bakker P.A.H.M., 2007.** Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. *Antonie van Leeuwenhoek*, 92: 367-389.
- Morales-Rodriguez C., Picon-Toro J., Palo E.J., Garcia A., Rodriguez-Molina C., 2012.** *In vitro* inhibition of mycelial growth of *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan from different hosts by *Brassicaceae* species. Effect of the developmental stage of the biofumigant plants. *Pest Manag. Sci.*, 68: 1317-1322.
- Morra M.J., Kirkegaard J.A., 2002.** Isothiocyanate release from soil-incorporated *Brassica* tissues. *Soil Biol. Biochem.*, 34: 1683-1690.
- Motisi N., Poggi S., filipe J.A.N., Lucas P., Dore T., Montfort F., Gilligan C.A., Bailey D.J., 2013.** Epidemiological analysis of the effects of biofumigation for biological control of root rot in sugar beet. *Plant Pathol.*, 62: 69-78.
- Paaske K., 2009.** Pesticide legislation and effect on European production. Onion Conference Proceeding, 11. Great Britain.
- Postma J., Schilder M.T., Bloem J., van Leewen-Haagsma W.K., 2008.** Soil suppressiveness and functional diversity of the soil microflora in organic farming systems. *Soil Biol. Biochem.*, 40: 2394-2406.

- Rosa E.A.S., Rodrigues P.M.F., 1999.** Towards a more sustainable agriculture system: the effect of glucosinolates on the control of soil-borne diseases. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 74(6): 667-674.
- Schrey S.D., Tarkka M.T., 2008.** Friends and foes: streptomycetes as modulators of plant disease and symbiosis. *Antonie van Leeuwenhoek*, 94: 11-19.
- Schwartz H.F., Mohan S.K., 2008.** Compendium of onion and garlic diseases and pests. APS PRESS, St. Paul, Minnesota, USA.
- Smolińska U., 2004.** Badania nad możliwością wykorzystania roślin *Brassicaceae*, zawierających związki biologicznie czynne, w ograniczaniu *Sclerotium cepivorum* BERK. Rozpr. habil., Skierniewice.
- Smolińska U., Kowalska B., 2006.** The effectivity of plant extracts and antagonistic microorganisms on the growth inhibition of French bean pathogenic fungi. *Veget. Crops Res. Bull.*, 64: 67-76.
- Smolińska U., Kowalska B., 2008.** The effect of organic amendments from *Brassicaceae* and *Solanaceae* plants and *Trichoderma harzianum* on the development of *Verticillium dahliae* Kleb. *Veget. Crops Res. Bull.*, 69: 93-104.
- Smolińska U., Kowalska B., Kowalczyk W., Horbowicz M., 2010.** Effect of rape and mustard seed meals on *Verticillium* wilt of pepper. *Veget. Crops Res. Bull.*, 73: 119-132.
- Smolińska U., Kowalska B., Oskiera M. 2007.** The effectivity of *Trichoderma* strains in the protection of cucumber and lettuce against *Rhizoctonia solani*. *Veget. Crops Res. Bull.*, 67: 81-93.
- Sobiczewski P., Schollenberger M., 2002.** Bakteryjne choroby roślin ogrodniczych. PWRiL Warszawa. 156 [32].
- Soltys D., Dębska K., Bogatek R., Gniazdowska A., 2010.** Autotoksyczność roślin jako przykład oddziaływań allelopacyjnych. *Kosmos*, 3-4: 551-565.
- Szczygłowska M., Piekarska A., Konieczka P., Namieśnik J., 2011.** Use of brassica plants in the phytoremediation and biofumigation processes. *Internation. J. Molecular Sci.*, 12: 7760-7771.
- Thuerig B., Fließbach A., Berger N., Fuchs J.G., Kraus N., Mahlberg N., Nietlispach B., Tamm L., 2009.** Re-establishment of suppressiveness to soil- and air-borne diseases by re-inoculation of soil microbial communities. *Soil Biol. Biochem.*, 41: 2153-2161.
- Underhill E., 1980.** Glucosinolates. W: *Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol. 8. Secondary Plant Metabolites. Rosenthal, G.A. Janzen H., Academic Press, New York, ss. 493-511.
- Utama I.M.S., Wills R.B.H., Ben-Yehoshua S., Kuek C., 2002.** In vitro efficacy of plant volatiles for inhibiting the growth of fruit and vegetable decay microorganisms. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 6371-6377.
- Wu B.J., Thompson S.T., 1984.** Selective medium for *Pseudomonas cepacia* containing 9-chloro-9 (4-diethylaminophenyl)-10-phenylacridan and polymixin β sulfate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48: 743-746.
- Zanon M.J., Jorda C., 2008.** Eradication of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by incorporating fresh crop debris into soil: Preliminary evaluations under controlled conditions. *Crop Protect.*, 27: 1511-1518.

B. Kowalska, U. Smolińska

RESEARCH ON REDUCING THE POPULATION
IN THE SOIL OF AN ONION VALID PATHOGEN
– BACTERIUM *BURKHOLDERIA CEPACIA*

Summary

The aim of the study was to investigate the effect of addition of plant materials (rapeseed meals and milled seeds of mustard) and *Trichoderma harzianum* on a population of *Burkholderia cepacia* in soil. The onion cv. Grabowska (*Allium cepa* L.) was cultivated in container soil culture. During cultivation population of *B. cepacia* and other soil microorganisms were estimated. Also the health and yield of onion were studied. Experiments were conducted over three years.

The number of *B. cepacia* decreased with time in all treatments. The lowest population of *B. cepacia* was observed in rapeseed meals and milled seeds of mustard treatments, especially after 3 and 9 months after the plant material application. In these treatments the increasing amount of total number of bacteria, spore bacteria and *Pseudomonas* bacteria, streptomycetes and fungi was observed. After 1 month from the start of the experiment the differences were strongly expressed.

The increased yield of onion was observed after addition of the rapeseed meal both in *B. cepacia*-infested and uninfested treatments. The addition of milled seeds of mustard to the uninfested soil had positive influence on the yield of onion, however addition of mustard to the infested soil caused decrease of the yield.

key words: *Burkholderia cepacia*, *Brassicaceae*, onion, biological control