

# Wpływ preparatu mikrobiologicznego Efektywne Mikroorganizmy podawanego doglebowo na kiełkowanie nasion, wzrost, rozwój i symbiozę z bakteriami z rodzaju *Rhizobium* u fasoli zwykłej (*Phaseolus vulgaris* L.) w zależności od żyzności gleby.

Autor: Joanna Zygałło

Klasa: IIa

Szkoła: Katolickie Liceum Ogólnokształcące im. C.K. Norwida w Garwolinie

Opiekun: Małgorzata Kargol

## Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu preparatu mikrobiologicznego Efektywne Mikroorganizmy (EM) na uprawy fasoli zwykłej (*Phaseolus vulgaris* L.) w zależności od żyzności gleby. Skuteczność działania środka EM badano na trzech różniących się żyznością rodzajach gleb. Parametrami, które poddano analizie były: kiełkowanie nasion, długość pędów fasoli, liczba kwiatów, liczba i masa strąków, liczba brodawek korzeniowych oraz pH gleby, na której uprawiano rośliny. Nie wykazano istotnego pozytywnego wpływu preparatu EM na kiełkowanie nasion, długość pędów, ani plon fasoli zwykłej. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na negatywne oddziaływanie EM na symbiozę bakterii z rodzaju *Rhizobium* z fasolą zwykłą. Sugeruje to, że stosowanie tych produktów w uprawie fasoli zwykłej nie ma uzasadnienia.

## Wstęp

Rolnictwo dostarcza nam żywności. Swą efektywność zawdzięcza wykorzystaniu nawozów mineralnych i chemicznych środków ochrony roślin, powodując jednocześnie degradację środowiska naturalnego. Rośnie popyt na żywnościowe produkty ekologiczne (Lockie i wsp., 2002), a ich dostarczenie jest możliwe poprzez zastąpienie w uprawie roślin środków syntetycznych preparatami ekologicznymi.

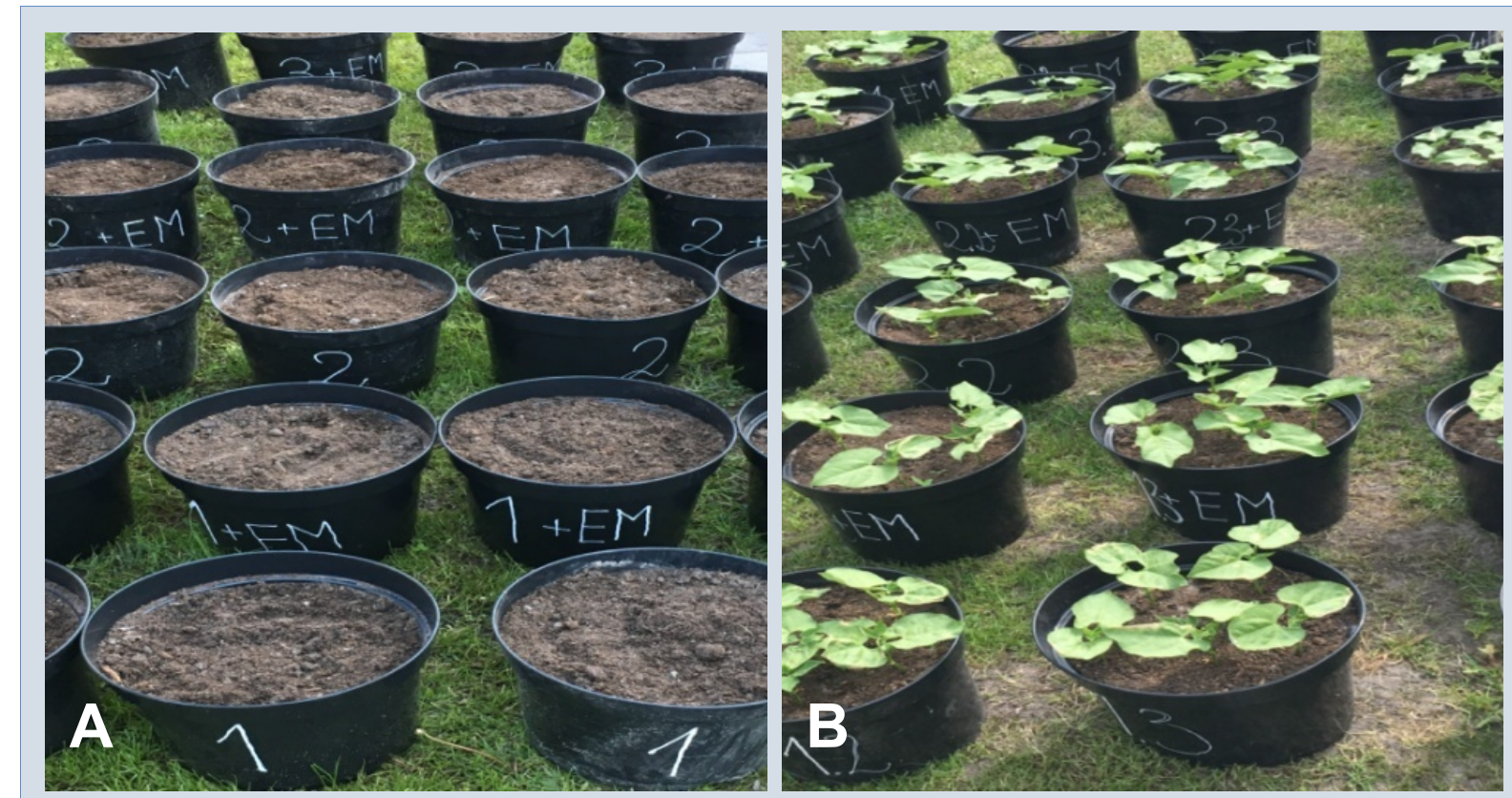
Jednym ze sposobów ograniczania chemizacji rolnictwa jest stosowanie coraz popularniejszego w Polsce i na świecie (Europa Zachodnia, Japonia, USA, Brazylia) preparatu mikrobiologicznego Efektywne Mikroorganizmy (EM) (Kosicka i wsp., 2015). Twórcą koncepcji użyczenia gleb przez EM jest prof. Teruo Higa z Uniwersytetu Ryukyus na Okinawie (Higa, 1991). Zgodnie z informacjami podawanymi przez producentów (Paśmionka i wsp., 2015) preparaty EM nie zawierają genetycznie modyfikowanych organizmów. W ich skład wchodzi bakterie kwasu mlekowego (*Lactobacillus casei*, *Streptococcus lactis*), drożdże (*Candida utilis*, *Sacharomyces albus*), bakterie fotosyntetyzujące (*Rhodospseudomonas palustris*, *Rhodobacter spae*), grzyby pleśniowe (*Aspergillus oryzae*, *Mucor hiemalis*), *Azotobacter* oraz promieniowce (*Streptomyces griseus*, *Streptomyces albus*).

Według materiałów informacyjnych firm dystrybuujących preparaty EM, działanie tych środków oparte jest na ograniczaniu aktywności patogenów roślin poprzez zasiedlanie środowiska konkurencyjną dla nich mikroflorą. EM przyspieszają rozkład resztek organicznych w glebie oraz stymulują odbudowę warstwy próchnicznej gleby (Mau, 2002). Preparat ma poprawiać odżywianie roślin oraz wpływać na zwiększenie siły kiełkowania. Pozytywne efekty stosowania EM uzyskało wielu naukowców. Gajda i Igras (2003) wskazują korzystne efekty użycia EM w uprawie rzepaku i kukurydzy. Według Siqueira i współautorów (1993) EM przyczyniły się do zwiększenia zdolności kiełkowania nasion pomidora, ogórka, marchwi, buraka oraz grochu. W literaturze przedmiotu spotyka się również negatywne opinie dotyczące działania EM. Martyniuk i Książek (2011) na podstawie swoich eksperymentów nad wpływem EM na plonowanie kukurydzy wykazali, że zastosowany preparat nie miał wpływu na plon roślin, a jego stosowanie w praktyce rolniczej nie ma racjonalnych podstaw. Sprzeczne doniesienia oraz liczne kontrowersje dotyczące wpływu EM na wzrost, rozwój i plonowanie roślin stały się inspiracją do przeprowadzenia własnych badań.

W literaturze dotyczącej stosowania preparatów EM informacje dotyczące ich ewentualnego wpływu na symbiozę z bakteriami brodawkowymi u roślin strączkowych, takich jak np. fasola, groch czy łubin, są bardzo skąpe. Brakuje również rzetelnych doniesień naukowych dotyczących związku między żyznością gleby a skutecznością tych preparatów. Niniejsza praca ma na celu poszerzenie wiedzy w tym zakresie.

## Materiały i metody

Jako obiekt badań wybrano fasolę zwykłą - *Phaseolus vulgaris* L. odmiany Polka. Jest to odmiana fasoli szparagowej karłowej żółtostrąkowej. Charakteryzuje się ona dużą odpornością na warunki meteorologiczne (Szafrowska A i współaut., 2014), co stanowiło korzystną cechę ze względu na prowadzenie doświadczenia w warunkach ogródka przydomowego.



Fot. 1. Próby badawcze i kontrolne przed wysianiem nasion (A) i 2 tyg. po wysianiu nasion (B).

Doświadczenie prowadzono w okresie od 30.06.2017 r. do 01.09.2017 r. na przydomowej działce zlokalizowanej w południowo-wschodniej części województwa mazowieckiego. Pierwszego dnia doświadczenia wysiano 240 nasion fasoli zwykłej (firmy W. Legutko Przedsiębiorstwo Hodowlano-Nasienne Sp. z o.o.). Przygotowano trzy rodzaje gleb różniące się żyznością. Pierwszy rodzaj gleby przygotowano mieszając ze sobą podłoże uniwersalne (firmy Sterlux) z kompostem ogrodniczym (frakcji standard; firmy Kronen Kompost), który zgodnie z informacją producenta wzbogaca glebę w substancje organiczne i ma zastosowanie jako komponent podłoża. Te dwa składniki podłoża wymieszano ze sobą w stosunku 2:1 (podłoże uniwersalne: kompost). Drugi rodzaj gleby to natomiast jedynie podłoże uniwersalne bez dodatku kompostu. Natomiast trzeci rodzaj gleby to podłoże uniwersalne wymieszane z piaskiem w stosunku 2:1 (podłoże uniwersalne: piasek). W dalszej części pracy roboczo posłużono się terminami "gleba żyzna"- dla oznaczenia gleby pierwszego rodzaju, "gleba zwykła"- dla oznaczenia gleby drugiego rodzaju oraz "gleba uboga"- dla oznaczenia gleby trzeciego rodzaju. Gleba, podłoże uniwersalne, kompost ogrodniczy oraz donice zakupiono w sklepie ogrodniczym w Garwolinie.

Nasiona podzielono na 3 grupy po 80 nasion (40 do próby kontrolnej i 40 do próby badawczej) przeznaczonych do wysiania na danym rodzaju gleby. Przed wysianiem nasiona przeznaczone do prób kontrolnych moczone przez 3 minuty w 100 ml wody, natomiast nasiona przeznaczone do prób badawczych były zaprawione przez 3 minuty w 100 ml 5% roztworu wodnego preparatu EM Naturalnie Aktywny (producent: Greenland Technologia EM sp. z o.o.), zgodnie z zaleceniami producenta. Następnie nasiona wysiano na głębokości 3 cm, w 48 jednakowych plastikowych donicach o pojemności 26 litrów. W każdej donicy zostało wysiane 5 nasion, donice były rozstawione w 6 rzędach w odległości około 40 cm od siebie (Fot. 1.). Doświadczenie dla wszystkich prób przeprowadzono w tych samych warunkach oświetlenia i temperatury otoczenia. Schemat doświadczenia oraz zastosowane oznaczenia donic zostały przedstawione w Tab. 1. Rośliny z prób badawczych były raz w tygodniu podlewane 10% roztworem wodnym preparatu EM (zgodnie z zaleceniami producenta).

Natomiast rośliny z prób kontrolnych były cotygodniowo podlewane wodą. Wszystkie rośliny podlewano taką samą objętością płynu - 1,5 l na donicę.

Tab. 1. Schemat doświadczenia.

	Gleba 1 (gleba żyzna)	Gleba 2 (gleba zwykła)	Gleba 3 (gleba uboga)
Bez EM (próba kontrolna)	1. (40 nasion)	2. (40 nasion)	3. (40 nasion)
EM (próba badawcza)	1.+EM (40 nasion)	2.+EM (40 nasion)	3.+EM (40 nasion)

W czasie trwania eksperymentu dokonano następujących pomiarów: liczby wykiełkowanych nasion (za przejaw kiełkowania nasion przyjęto pojawienie się hipokotyli z liścieniami nad powierzchnią gleby), długości pędów fasoli (5 pomiarów, wykonywanych co tydzień od 15.07.2017 r. do 12.08.2017 r.; pomiary były dokonywane od poziomu gleby, w której uprawiano rośliny, do końca pędu wzdłuż jego osi), liczby kwiatów (liczono wszystkie nowo pojawiające się kwiaty przez cały okres kwitnienia), liczby strąków (liczono wszystkie nowo pojawiające się strąki przez cały okres trwania doświadczenia). W ostatnim dniu doświadczenia dokonano pomiaru masy strąków oraz zliczono brodawki korzeniowe. Pomiarów długości dokonano przy pomocy plastikowej linijki z podziałką co 1 mm. Pomiary masy wykonane zostały z wykorzystaniem elektronicznej wagi laboratoryjnej firmy Steinberg, model 3145 SBS-TW-500/10G, o dokładności 0,01 g.

Liczbę brodawek korzeniowych ustalono w następujący sposób: po zerwaniu owoców ze wszystkich roślin, rośliny wyjmowano delikatnie z doniczek, każdą roślinę wkładano do foliowego woreczka (aby zapobiec utracie oderwanych przy manipulacjach na roślinach brodawek). Korzenie oczyszczono z ziemi poprzez 3-godzinne moczenie w plastikowych wiadrach wypełnionych wodą. Następnie zliczono brodawki (o średnicy  $\geq$  1 mm) na korzeniach oraz przypadkowo oderwane.

Zmierzone również wartości pH każdego rodzaju podłoża w pierwszym dniu doświadczenia (przed wysianiem nasion) oraz w ostatnim dniu doświadczenia, korzystając z kwasomierza glebowego z płynem Helliga (producent: Kolchem), a następnie potwierdzając wynik na pH-metrze glebowym (firmy Biogród) o dokładności 0,1 z czujnikiem znajdującym się na końcu aluminiowego szpikulca. Do analizy statystycznej oraz wykonania wykresów wykorzystano programy Excel 2007 (Microsoft) oraz Statistica (Statsoft). Ze względu na nierówną liczebność grup (nie wszystkie nasiona w grupach wykiełkowały) do oceny istotności statystycznej otrzymane różnice posłużono się testem nieparametrycznym U Manna-Whitneya. Jako poziom istotności przyjęto  $p = 0,05$ .

## Wyniki

Nie zaobserwowano istotnych różnic w kiełkowaniu nasion pomiędzy nasionami zaprawionymi EM i niezaprawionymi na danym rodzaju gleby. Więcej nasion wykiełkowało w glebach żyzniejszych (Tab. 2.).

Preparat EM dodatkowo, choć nieznacznie, wpłynął na długość pędów fasoli w glebie

po stosowaniu preparatu EM w próbach badawczych. Gleba żyzna charakteryzowała się pH na poziomie średnio 7,3 (było to prawdopodobnie spowodowane dodatkiem kompostu o odczynie zasadowym - zgodnie z informacją producenta); gleba zwykła - pH średnio 6,9; gleba uboga - pH średnio 6,7. Wszystkie gleby charakteryzowały się zatem odczynem optymalnym dla fasoli zwykłej, który wynosi 6,5-7,8 (Szafrowska i wsp., 2014).

## Dyskusja

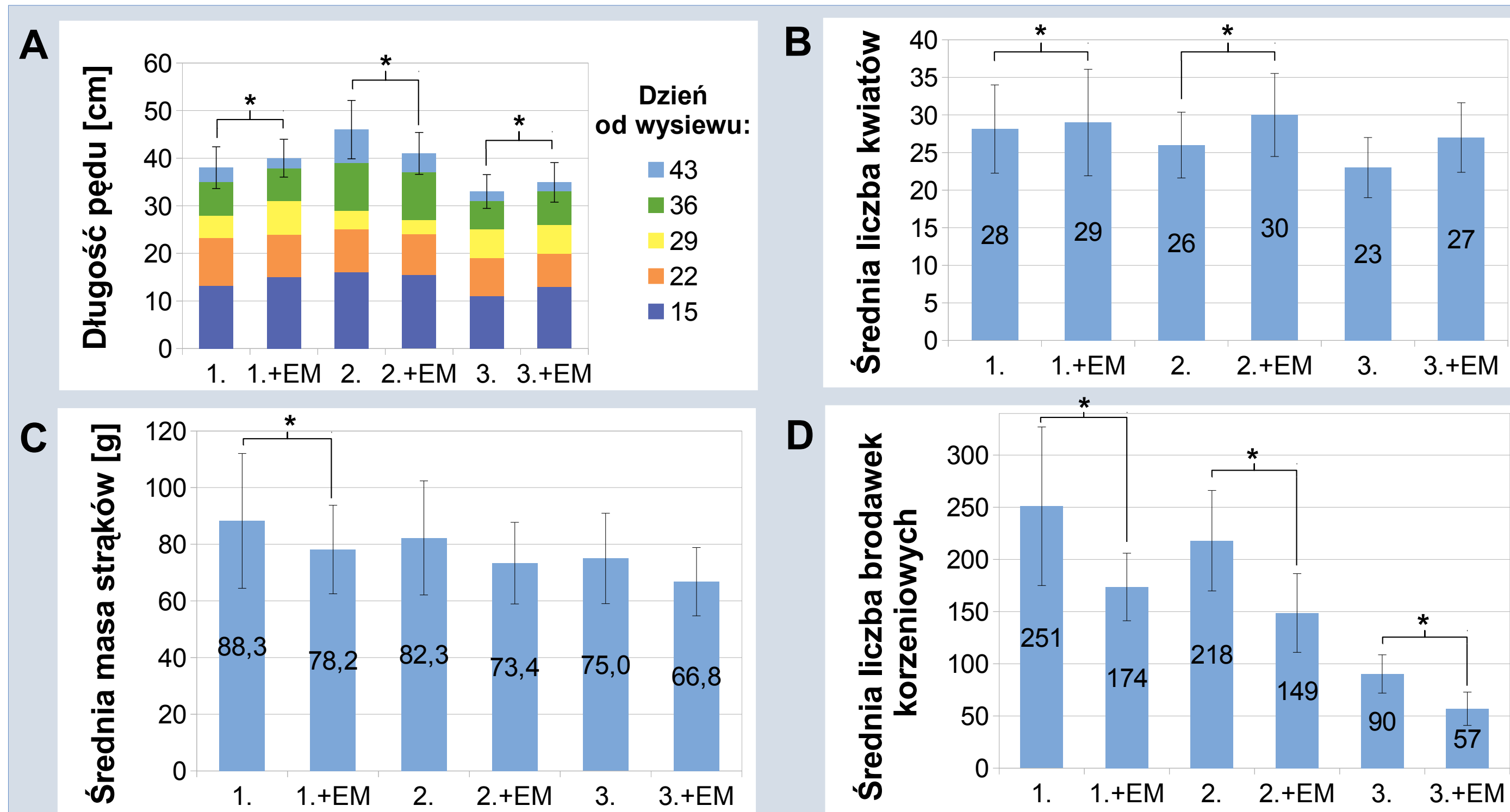
Aktualnie działanie i skuteczność preparatów EM nie jest jasne. Twórcy i dystrybutorzy preparatów EM prezentują je jako środki o wręcz cudownych właściwościach takich jak np. „uzdrawianie środowiska, przyczyniając się do podnoszenia zdrowotności gleby, a tym samym roślin, zwierząt i człowieka” (Mau, 2002). Wśród zagranicznych publikacji dotyczących EM na uwagę zasługuje zwłaszcza opracowanie Condor i współaut. (2006), którzy dokonali przeglądu literatury światowej dotyczącej oddziaływania tych produktów na plonowanie różnych gatunków roślin i właściwości gleb. Autorzy ci stwierdzili, że większość doświadczeń potwierdzających korzystny wpływ EM przeprowadzono w krajach orientalnych takich jak Pakistan czy Indonezja, a wyniki tych badań publikowano najczęściej w materiałach z konferencji sponsorowanych przez producentów i dystrybutorów tych środków mikrobiologicznych. Natomiast żadne z renomowanych czasopism naukowych o tematyce gleboznawczej, takich jak: *European Journal of Soil Biology*, *Geoderma* czy *Soil Biology and Biochemistry* nie zamieściło na swoich łamach jakiegokolwiek pracy na temat EM.

Brak istotnych pozytywnych efektów stosowania preparatu EM wykazany w niniejszym badaniu nie jest zatem obserwacją odosobnioną. Negatywne wyniki dotyczące kiełkowania nasion zaprawianych preparatem EM potwierdza także praca Szydłowskiej i Maluszyńskiej (2011), która dowodzi, że jego zastosowanie nie spowodowało zwiększenia zdolności kiełkowania nasion badanych gatunków - owsa, łubinu, facelii, saradeli.

Uzyskane różnice we wzroście pędów fasoli są z praktycznego punktu widzenia niewielkie. Trudno także odnieść te wyniki do danych literaturowych, ze względu na brak pomiarów wysokości roślin w większości badań. Ponadto efekty stosowania EM na wzrost fasoli nie korelują w jednoznaczny sposób z żyznością podłoża. Otrzymane wyniki nie stanowią zatem potwierdzenia sugerowanej przez twórców technologii EM - Higa T. oraz Wididana GN. (1991) tzw. "teorii materii organicznej" zgodnie z którą EM miałyby wpływać pozytywnie na rośliny poprzez rozkład materii organicznej dzięki aktywności *Lactobacillus* i innych mikroorganizmów (obecnych w preparacie EM) wytwarzających kwas mlekowy, w wyniku czego składniki odżywcze stają się dostępne do pobrania przez rośliny. W takim wypadku należałoby się spodziewać korelacji efektów działania EM z zasobnością podłoża w materię organiczną.

Tab. 2. Liczba wykiełkowanych nasion w poszczególnych grupach.

Nr grupy	Liczba wykiełkowanych nasion
1.	40
1. + EM	39
2.	38
2. + EM	38
3.	37
3. + EM	36



Ryc. 1. Wykresy średniej długości pędów w poszczególnych punktach czasowych (A), średniej liczby kwiatów przypadających na roślinę (B), średniej masy strąków przypadających na roślinę (C) oraz średniej liczby brodawek korzeniowych przypadających na roślinę (D) dla poszczególnych grup. Oznaczenia grup jak w Tab. 1. Na wykresach naniesiono wartości odchylenia standardowego oraz oznaczono różnice pomiędzy grupami, które osiągnęły poziom istotności statystycznej  $p < 0,05$  w teście U Manna-Whitneya (gwiazdki).

żyznej i ubogiej (Ryc. 1. A). Natomiast wśród roślin rosnących na glebie zwykłej różnice były wyraźniejsze i polegały na zmniejszeniu średniej wysokości roślin traktowanych środkiem EM względem kontroli.

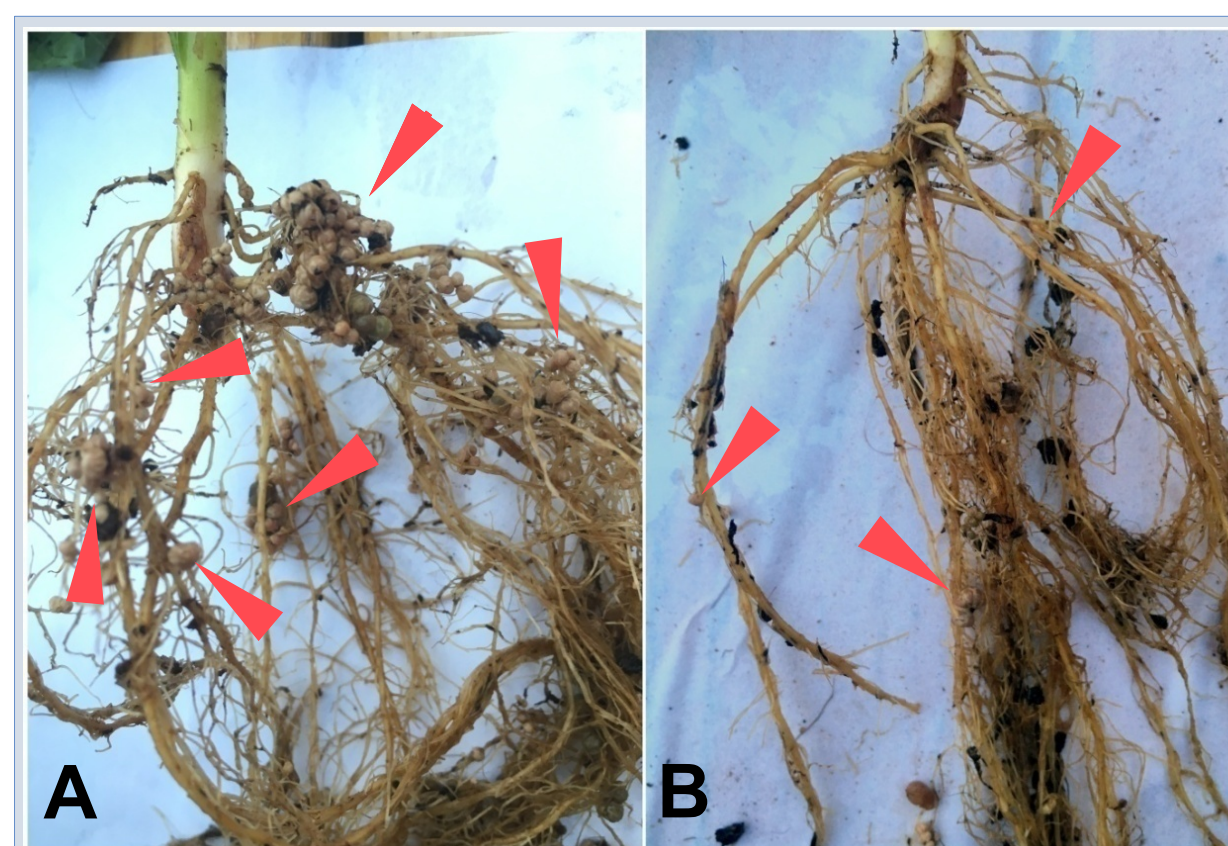
Preparat EM wpłynął pozytywnie na proces zawiązywania kwiatów we wszystkich próbach (Ryc. 1. B.). Jednakże warto dodać, że są to niewielkie różnice. Największe różnice, dotyczące średnio 4 kwiatów, zaobserwowano u roślin uprawianych na glebie zwykłej oraz glebie ubogiej.

Z przedstawionych danych wynika, że wśród roślin rosnących na danej glebie, większą średnią masę strąków miały te rośliny, które nie były podlewane preparatem EM. Największą masą strąków charakteryzowały się rośliny rosnące na glebie żyznej.

Preparat EM wpłynął na niewielkie zmniejszenie średniej masy strąków przypadających na roślinę, w stosunku do kontroli (Ryc. 1. C). Różnice te osiągnęły istotność statystyczną  $p < 0,05$  dla gleby żyznej. W pozostałych dwóch wariantach wartość  $p$  oscylowała w okolicach 0,06. Ze spadkiem średniej masy strąków korespondował także niewielki spadek ich liczby u roślin traktowanych preparatem EM.

Stosowanie preparatu EM spowodowało istotne zmniejszenie liczby brodawek we wszystkich rodzajach gleb (Ryc. 1. D). Ponadto średnia liczba brodawek na korzeniach roślin zmniejszała się wraz ze zmniejszającą się żyznością gleby.

Pomiary pH każdego rodzaju podłoża w pierwszym dniu doświadczenia (przed wysianiem nasion) oraz w ostatnim dniu doświadczenia nie wykazały zmiany odczynu



Fot. 2. Korzeń rośliny grupy 1. (A) oraz grupy 3. + EM (B). Strzałkami zaznaczono brodawki korzeniowe.

Negatywny wpływ preparatu EM na liczbę brodawek korzeniowych mógł przełożyć się na mniejszą asymilację azotu przez rośliny i tym samym nieco gorsze plonowanie. Jako, że w strąkach fasoli głównym materiałem zapasowym są białka, odpowiednia podaż azotu ma tutaj wyjątkowo duże znaczenie. Ograniczenie tworzenia brodawek korzeniowych w obecności EM może wynikać z konkurencji mikroorganizmów saprofitycznych zawartych w EM z bakteriami z rodzaju *Rhizobium*, które przed wejściem w symbiozę funkcjonują jako saprofity glebowe. Koncepcję konkurencji mikroorganizmów saprofitycznych gleb żyznych z rhizobiami porusza w swojej pracy Martyniuk S. (2012).

Niniejsze badania wykazały brak wpływu EM na kiełkowanie nasion, niejednoznaczny wpływ na wzrost pędów fasoli, znikome pozytywne działanie na liczbę kwiatów oraz negatywny wpływ zarówno na plonowanie jak i liczbę brodawek korzeniowych. Rodzaj gleby nie wpłynął znacząco na efekty stosowania preparatu EM. Wyniki sugerują brak podstaw do stosowania tego preparatu w uprawie fasoli zwykłej. Zasadne wydaje się przeprowadzenie kolejnych badań nad wpływem EM na symbiozę z rhizobiami wśród innych gatunków roślin z rodziny motylkowatych, jako, że brakuje prac naukowych dotyczących tego tematu. Przeprowadzenie opisanej pracy badawczej umożliwiło zweryfikowanie skuteczności preparatu EM w uprawie fasoli zwykłej, co może okazać się przydatne dla osób rozważających wykorzystanie tego środka we własnej uprawie tej rośliny. Praca stanowi również wkład w tocząca się dyskusję dotyczącą skuteczności działania EM.

## Piśmiennictwo

- Condor AF, Perez PG, Lokare C (2006). Effective Microorganisms: Myth or reality? *Revista Peruana De Biologia*. 14(2): 315-319.
- Gajda A, Igras J (2003). Określenie produkcyjnych i ekologicznych skutków stosowania preparatu EM-A w uprawie zbóż i rzepaku. IUNG, Zakład Żywności Roslin i Nawożenia, Puławy.
- Higa T, Wididana GN (1991). The Concept and Theories of Effective Microorganisms.
- Kosicka D, Wolna-Maruwka A, Trzeciak M (2015). Wpływ preparatów mikrobiologicznych na glebę oraz wzrost i rozwój roślin. *Kosmos*. 64:327-335.
- Lockie S, Lyons K, Lawrence G, Mummery K (2002). Eating 'Green': Motivations Behind Organic Food Consumption in Australia. *SociologiaRuralis*. 42:23-40.
- Martyniuk S (2012). Naukowe i praktyczne aspekty symbiozy roślin strączkowych z bakteriami brodawkowymi. *Polish Journal of Agronomy*. 9:17-22.
- Martyniuk S., Książek J. (2011). Ocena wpływu pseudomikrobiologicznych biopreparatów stosowanych w uprawie roślin. *Polish Journal of Agronomy*. 6:27-33.
- Mau FP (2002). *Niezwykłe rezultaty stosowania Efektywnych Mikroorganizmów w domu i w ogrodzie dla lepszego wzrostu roślin i dla zdrowia*. Mszczonew: Fundacja Źródło Życia.
- Paśmionka I, Kotarba K (2015). Możliwości wykorzystania Efektywnych Mikroorganizmów w ochronie środowiska. *Kosmos*. 64:173-184.
- Siqueira MFB, Sudre C, Almeida LH, Pegorel APR, Akiba F (1993). Influence of Effective Microorganisms on seed germination and plantlet vigor of selected crops. *Proceedings of the Third International Conference on Nature Farming*.
- Szafrowska A, Kaniszewski S (2014). Instrukcja uprawy fasoli zwykłej (*Phaseolus vulgaris* L.) na nasiona w warunkach ekologicznych. Instytut Ogrodnictwa Skierniewice. Pracownia Uprawy i Nawożenia Warzyw
- Szwejkowska A, Szwejkowski J (2012). *Botanika. Systematyka*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Szydłowska A, Maluszyńska E (2011). Zastosowanie preparatów zawierających efektywne mikroorganizmy do oceny zdolności kiełkowania nasion. *Nowości Warzywnicze*. 52: 51-58.
- Tyburki J, Łachacz A (2009). Efektywność środków ulepszcjących gleby ciężkie w gospodarstwach ekologicznych. Sprawozdanie z badań podstawowych na rzecz rolnictwa ekologicznego w zakresie upraw polowych metodami ekologicznymi w 2009 r. Dostępny na: <http://www.uwm.edu.pl/wksir/systemy/raport> Dostęp: 12.10.2017 r.
- Wolna-Maruwka A, Schroeter- Zakrzewska A, Borowiak K (2010). Wpływ preparatu EM na stan mikrobiologiczny podłoża przeznaczonego do uprawy pelargonii (*Pelargonium x hortorum*). *Nauka Przyroda Technologie*. 4(6)