

DOMORADZKI Marek¹⁾, SZYMURA Jacek²⁾, LAMKIEWICZ Jan²⁾, SADOWSKI Czesław³⁾

¹⁾Zakład Technologii Żywności, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej

²⁾Katedra Chemii Nieorganicznej, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej

³⁾Zakład Fitopatologii Molekularnej, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy

Warzywa ekologiczne – przygotowanie nasion do siewu Inokulacja nasion zarodnikami grzybów

Streszczenie

Zaproponowano przedsięwzięcie obróbkę nasion roślin baldaszkowatych zebranych z plantacji ekologicznej metodą inokulacji zarodnikami pożytecznych grzybów, które otoczkowano i suszono. Porównano otrzymany materiał siewny z wymaganiami jakościowymi dla nasion dopuszczonych do handlu, uzyskując nasiona spełniające wszystkie wymagania.

Słowa kluczowe: otoczkowanie, *Trichoderma viride*, inokulacja zarodników grzyba, nasiona ekologiczne

Organic vegetables – preparing seed for sowing Seeds inoculation of fungal spores

Summary

This paper presents seed pretreatment of organic plant Umbelliferae harvested from organic farm by inoculation of beneficial fungi spores, coating and drying. Obtained seeds were compared to seeds quality requirements admitted to trading, yielding seeds with all guidelines.

Key words: coating, *Trichoderma viride*, inoculation of fungal spores, organic seeds

Wprowadzenie

Wzrasta zainteresowanie żywnością ekologiczną wśród konsumentów. Najczęściej spożywane produkty ekologiczne są produktami pochodzenia roślinnego ze względu na ich dostęp i większy wybór (Grzybowska-Brzezińska, 2007). Zgodnie z wymogami rolnictwa ekologicznego nie można stosować środków chemicznych do ochrony roślin (Sadowski i in., 2006). W związku z tym, a także z wprowadzanymi ograniczeniami stosowania chemicznych środków ochrony przez Unię Europejską poszukuje się metod niechemicznych, które pozwolą na uzyskanie materiału siewnego najwyższej jakości spełniającego wymagania rolnictwa ekologicznego. Prowadzi się badania nad skutecznością zabiegów jak termoterapia (Nega i in., 2003; Kaniewska i in., 2010), skaryfikacja mechaniczna (Domoradzki i in., 2007), odkażanie środkami chemicznymi znanymi z zastosowania w przemyśle rolno-spożywczym (Poćwiardowski i in., 2010; Kaniewska i in., 2012; Kaniewska i in., 2010). Przydatną metodą uszlachetniania nasion jest otoczkowanie. Otoczka pozwala na uzyskanie materiału o regularnym kształcie i odpowiedniej średnicy. W skład otoczki mogą wchodzić substancje poprawiające jakość nasion czy substancje naturalne wpływające korzystnie na kiełkowanie i wzrost siewek (Wojtaszek, 2003; Domoradzki i Korpala, 2004). Materiał nasienny może być także otoczkowany biopreparatami z dobroczynnymi mikroorganizmami (Yohalem, 2001; Baturu, 2006; Sadowski i in., 2006).

Przy prowadzeniu inokulacji nasion materiałem mikrobiologicznym należy mieć na uwadze aspekty takie jak czas prowadzenia zabiegu, tak aby formy przetrwalnikowe nie weszły w fazę kiełkowania (Sadowski i in., 2006). Ważna jest też trwałość (stabilność) preparatów biologicznych i powtarzal-

na ilość zarodników w otoczce, stąd należy każdorazowo przeliczać dawki preparatów. Otoczka pozwala na wprowadzenie mikroorganizmów wraz z dodatkami umożliwiającymi ich przeżycie i rozwój wraz z kiełkującymi nasionami. Proces otoczkowania pozwala na zabezpieczenie nasion przed uszkodzeniami mechanicznymi, chroni je przed atakiem patogenów glebowych, wytwarzając powłokę ochronną wokół kiełkującego nasiona.

Nasiona zaprawiać można bakteriami i grzybami mającymi korzystny wpływ na kiełkowanie i rozwój roślin. Wśród nich spotyka się *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Gladiolium* czy *Trichoderma* (Taylor i Harman, 1990; Taylor i in., 1994; Baturu, 2006; Sadowski i in., 2006; Domoradzki i in., 2012).

Cel badań

Celem pracy była ocena jakości siewnej nasion ekologicznych otoczkowanych biopreparatem z zarodnikami grzyba *Trichoderma viride*.

Materiał i metoda

Badania prowadzono na nasionach marchwi odmiany Perfekcja, pietruszki Ołomuńskiej oraz kopru Szmaragd z uprawy ekologicznej. Przed przystąpieniem do otoczkowania materiał siewny płukano w wodzie o temperaturze 20°C celem usunięcia zanieczyszczeń z powierzchni. Następnie nasiona zaprawiono preparatem mikrobiologicznym z zarodnikami *Trichoderma viride* ($1,0 \cdot 10^5$ zarodników/g). Do otoczkowania materiału nasiennego użyto torfu, dolomitu oraz glinki. Otoczkę spajano 5% wodnym roztworem dekstryny żółtej. Otoczkowanie miało na celu zabezpie-

czenie nasion przed uszkodzeniem i zwiększenie przeżywalności zarodników *T. viride*.

Otoczkowanie prowadzono w granulotorze talerzowym. Zabieg ten podzielono na dwie fazy. W pierwszej na nasiona nałożono warstwę torfu w ilości 70g torfu na 100g nasion w czasie ok. 4h. Następnie wysuszono je w suszarce powietrzem o temperaturze 25-30°C przez 4h. Tak wstępnie przygotowane nasiona poddano otoczkowaniu preparatem z zarodnikami *T. viride*. Nasiona z warstwą torfu zwilżano roztworem dekstryny i nakładano warstwę kolejną torfu (20g), tym razem zmieszaną z zarodnikami *T. viride*. Masę dodatku preparatu przestawiono w tabeli 1 i była ona związana z liczebnością nasion czyli ilością nasion występującą w 1g. Zewnętrzną powłokę stanowiła mieszanina dolomitu i gliny. Operacja ta trwała ok. 4h.

Liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk) w otoczkach oznaczano metodami mikrobiologicznymi, analizując po 10 szt. nasion. Każde nasionko obmywano 9 ml sterylnej wody i uzyskany roztwór wylewano na sterylną pożywkę PDA. Kolonie liczono po 4 dniach przetrzymywania w cieplarni, licząc od momentu wysiewu.

Tabela 1. Dawki preparatu zawierającego *T. viride*

Table 1. Doses containing *T. viride*

Lp. No	Gatunek; Spices	Odmiana; Variety	Ilość preparatu z <i>T. viride</i> g·(100 g nasion) ⁻¹ Quantity preparation of <i>T. viride</i> g·(100 g seed) ⁻¹
1	Marchew; Carrot	Perfekcja	9,90
2	Pietruszka; Parsley	Ołomuńska	5,52
3	Koper; Dill	Szmaragd	5,32

Podczas otoczkowania nasion z zarodnikami grzybów maksymalnie skrócono czas kontaktu biopreparatu z wodą, by uniemożliwić wykiełkowanie formy przetrwalnikowej grzyba. Temperatura suszenia nasion otoczkowanych celowo nie przekraczała 30°C. Uniknięto w ten sposób uszkodzenia zarodników *T. viride*.

Testy kiełkowania nasion otoczkowanych wykonano przy 0,7 pojemności wodnej bibuły olejowej złożonej w harmonie i w kasetach, wysiewając 4 płytki po 50szt. nasion, razem 200 nasion. Obok badań żywotności nasion wg normy PN-R-65950 prowadzono także próby wazonowe. W warunkach wazonowych wykonano szereg doświadczeń mających na celu określenie wpływu przygotowania nasion na ich kiełkowanie oraz wzrost i zdrowotność wschodów w warunkach kontrolowanych:

- porównywano nasiona otoczkowane z nasionami kontrolnymi,
- porównywano wpływ sposobu obróbki nasion na kiełkowanie.

Badania wykonywano w komorze klimatycznej Katedry Fitopatologii UTP w Bydgoszczy. Doświadczenia zakładano w pięciu powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

W tabeli 2 przedstawiono wyniki badań przeżywalności zarodników grzybów *Trichoderma viride* na nasionach roślin baldaszkowatych. Skuteczność inokulacji zarodnikami określono przez wydajność η . Waha się ona od 32% w przypadku nasion kopru do prawie 90% dla pietruszki.

Tabela 2. Liczba żywych zarodników na nasionach warzyw
Table 2. Number of living spores on vegetable seeds

Lp. No	Gatunek; Spices	Odmiana; Variety	Liczba zarodników w jednym nasionie; Number of spores on one seed		Wydajność; Efficiency η [%]
			Obliczona Calculated	Źnaczona Identified	
1	Marchew Carrot	Perfekcja	10,0	6,0	60
2	Pietruszka Parsley	Ołomuńska	10,0	8,7	87
3	Koper Dill	Szmaragd	10,0	3,2	32

Zdolność kiełkowania nasion nie zmieniła się istotnie w wyniku otoczkowania zarodnikami grzyba *Trichoderma viride*. Ilość ostatecznie kiełkujących nasion z biopreparatem dla marchwi wyniosła 85%, dla pietruszki 88%, a w przypadku kopru była najwyższa i wyniosła 95%. Wyniki przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Zdolność kiełkowania nasion kontrolnych i otoczkowanych

Table 3. Germination capacity of coated and untreated seeds

Lp. No	Gatunek; Spices	Odmiana; Variety	Kontrola – nasiona surowe; Control- untreated seeds [%]	Nasiona otoczkowane z zarodnikami <i>T. viride</i> ; Seeds coated with <i>T. viride</i> spores [%]
1	Marchew Carrot	Perfekcja	82	85
2	Pietruszka Parsley	Ołomuńska	90	88
3	Koper Dill	Szmaragd	91	95

Wykonano badania wazonowe nasion przygotowanych na plantacje nasienne. Nasiona poddano różnym zabiegom. Obserwowano ilość siewek z kiełkujących różnych partii nasion. Wyniki zestawiono w tabeli 4.

Z przeprowadzonych eksperymentów wynika, że płukanie nasion pozytywnie wpłynęło na kiełkowanie nasion marchwi w warunkach doświadczenia wazonowego. Największy procent uzyskanych siewek osiągnęły nasiona marchwi, które poddano zabiegom płukania, inokulacji zarodnikami *T. viride* oraz zabezpieczono otoczką z dolomitu i gliny (73%). W przypadku nasion pietruszki nie zauważono istotnego wpływu kombinacji zabiegów na ilość rosnących siewek. Nasiona kopru, które nie poddano żadnemu zabiegowi dawały najwięcej siewek, jednak te, które płukano, zaprawiano zarodnikami grzyba i otoczkowano im nie ustępowały. Zaznaczyć także należy, że nie zaobserwowano siewek z makroskopowymi objawami chorobowymi, w tym także w przypadku próby kontrolnej.

Tabela 4. Wpływ płukania i zaprawiania nasion preparatem *Trichoderma viride* na wschody siewek w doświadczeniu wazonowymTable 4. Effect of soaking and seed treatment with *Trichoderma viride* agent on emergence of seedlings in a pot experiment

Kombinacje zabiegów; Treatment combination	% uzyskanych siewek z badanej partii; % obtained seedlings from experimental batch		
	Marchew Perfekcja; Carrot Perfekcja	Pietruszka Ołomuńska; Parsley Ołomuńska	Koper Szmaragd; Dill Szmaragd
	Kontrola; Control	50,0 a	42 a
Płukane z otoczką; Soaked with coating	65,0 b	45 a	60 a
Płukane, zaprawione <i>T. viride</i> (bez otoczki); Soaked, inoculated with <i>T. viride</i> (uncoated)	68,0 b	43 a	66 a
Płukane, zaprawione <i>T. viride</i> z otoczką; Soaked, inoculated with <i>T. viride</i> with coating	73,0 b	42 a	67 ab

a, b – jednakowymi literami oznaczono wartości średnie w kolumnach nie różniące się istotnie przy $\alpha=0,05$;a, b – the same letters represents mean values in the columns which are not significantly different at $\alpha=0.05$ Tabela 5. Wpływ płukania i zaprawiania nasion preparatem *Trichoderma viride* na wschody siewek w doświadczeniu polowymTable 5. Effect of soaking and seed treatment with *Trichoderma viride* agent on emergence of seedlings in a field experiment

Kombinacja zabiegów; Treatment combination	% wzeszłych siewek w stosunku do kontroli; % of raised seedling in relation to control		
	Marchew Perfekcja; Carrot Perfekcja	Pietruszka Ołomuńska; Parsley Ołomuńska	Koper Szmaragd; Dill Szmaragd
	Kontrola; Control	100,0 a	100,0 a
Płukane z otoczką; Soaked with coating	88,2 a	107,2 a	74,3 a
Płukane, zaprawione <i>T. viride</i> (bez otoczki); Soaked, inoculated with <i>T. viride</i> (uncoated)	83,4 a	99,6 a	73,3 a
Płukane, zaprawione <i>T. viride</i> z otoczką; Soaked, inoculated with <i>T. viride</i> with coating	90,0 a	100,9 a	76,5 a

a, b – jednakowymi literami oznaczono wartości średnie w kolumnach nie różniące się istotnie przy $\alpha=0,05$;a, b – the same letters represents mean values in the columns which are not significantly different at $\alpha=0.05$

Doświadczenia prowadzono również na polach produkcyjnych gospodarstwa ekologicznego w Kiełpinie. Ze względu na charakterystyczne dla tego terenu niskie opady i okresowe niedobory wody (średnia suma rocznych opadów waha się w granicach 450 - 550 mm) uruchomiono deszczowanie poletek doświadczalnych. Doświadczenia polowe obejmowały wysiew, marchwi odmiany Perfekcja, pietruszki odmiany Ołomuńska i kopru odmiany Szmaragd. Doświadczenie prowadzono w układzie losowanych bloków w czterech powtórzeniach na poletkach o powierzchni po 6 m². Nasiona pietruszki i kopru wysiewano w drugiej połowie kwietnia, a marchwi, zgodnie z zaleceniami nasiennymi, później – w pierwszej połowie maja. Należy za-

znaczyć, że warunki pogodowe były bardzo niekorzystne w okresie wschodów, głównie z powodu niskich temperatur. Na rozwijających się siewkach nie stwierdzono objawów chorobowych. Nasiona zaprawione zarodnikami *T. viride*, które zabezpieczono na zewnątrz otoczką wykazywały większy procent wschodów niż te, których na zewnątrz nie pokryto dolomitem i gliną. Dla siewek marchwi nie zaobserwowano istotnych różnic w ilości wzeszłych siewek z nasion po zabiegach w porównaniu z siewkami kontrolnymi. Podobnie było w przypadku nasion pietruszki. Istotne pogorszenie wschodów w polu stwierdzono dla nasion kopru po zabiegach. To może wskazywać konieczność poszukiwania innych metod poprawy jakości siewnej dla tych nasion.

Wnioski

1. Zaprawianie nasion zarodnikami grzybów *Trichoderma viride* nie powoduje pogorszenia jakości obrabianych nasion, ale pozytywnie wpływa na wzrost kiełków i roślin.
2. Ze względu na współczynnik przeżycia zarodników (w przypadku nasiona kopru 30%) proponuje się zwiększenie dawki preparatu z zarodnikami.
3. Otoczkowanie nasion pozwala na poprawę właściwości mechanicznych nasion. Nasiona, które zaprawiano zarodnikami *T. viride*, lecz nie zabezpieczano ich otoczką cechują się niższym procentem wzeszłych siewek niż te z otoczką na warstwie z zarodnikami.
4. Otoczkowanie pozwala na ochronę nasion przed atakiem patogenów od strony gleby i umożliwia wytworzenie dobrych warunków do kiełkowania nasion wewnątrz otoczki.
5. Zastosowane w pracy metody obróbki nasion ekologicznych należy uznać za zadowalające. Mimo to trzeba prowadzić dalsze poszukiwania metod ochrony upraw ekologicznych.
6. Zastosowane zabiegi na nasionach marchwi, pietruszki i kopru pozwoliły na uzyskanie ekologicznego materiału siewnego o wysokich parametrach jakościowych.

Bibliografia

- Baturo, A. (2006). Effect of thermotherapy, grain treatment and leaf spraying with biological control agents on spring barley (*Hordeum vulgare*) heath in organic farming. *Phytopathologia Polonica*, 41, 15-26, ISSN 1230-0462.
- Domoradzki, M., Korpala, W. (2004). *Technologia otoczkowania i powlekania nasion. Wybrane zagadnienia z nasiennictwa roślin ogrodniczych*. Kraków: Sekcja Hodowli Roślin i Nasiennictwa PTNO. ISBN 83-905196-3-1.
- Domoradzki, M., Kanievska, J., Korpala, W. (2012). Zastosowanie granulacji aglomeracyjnej do nasion (cz. 1.). Przeżywalność zarodników grzyba *Trichoderma viride*. *Chemiczna nauka-technologia-rynek*, 66(5), 467-472.
- Domoradzki, M., Korpala, W., Weiner, W., Witek, Z. (2007). Wpływ operacji szlifowania na jakość nasion buraka ćwikłowego. *Inżynieria Rolnicza*, 5(93), 123-130.
- Grzybowska-Brzezińska, M. (2007). The preferences of ecological food consumers. *Polish Journal of Natural Sciences, Supplement*, 4, 161-167.
- Kanievska, J., Domoradzki, M., Korpala, W. (2010). Odporność termiczna nasion fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris*) na wygrzewania w gorącym powietrzu. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 546, 127-134.
- Kanievska, J., Domoradzki, M., Poćwiardowski, W. (2010). Przygotowanie nasion do produkcji kiełków konsumpcyjnych. *Acta Agrophysica*, 16(2), 315-325.

- Kaniewska, J., Płaczkowska, M., Poćwiardowski, W. (2012). Wpływ stężenia kwasu nadoctowego na zdolność kiełkowania nasion rzodkiewki. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 570, 65-72.
- Nega, E.; Roswitha, U., Sigrid, W., Marga, J. (2003). Hot water treatment of vegetable seed – an alternative seed treatment method to control seed borne pathogens in organic farming. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 110(3), 220-234.
- PN-R-65950:1994. *Materiał siewny. Metody badania nasion*.
- Poćwiardowski, W., Kaniewska, J., Domoradzki, M., Korpala, W. (2010). Odkażanie nasion marchwi podchlorynem sodowym. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 546, 279-286.
- Sadowski, C., Lenc, L., Korpala, W. (2006). Z badań nad otoczkowaniem nasion warzyw z wykorzystaniem *Trichoderma viride* i zdrowotnością roślin w uprawie ekologicznej. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 51(2), 150-154.
- Taylor, A. G., Harman, G. E. (1990). Concepts and technologies of selected seed treatments. *Annual Review of Phytopathology*, 28, 321-339.
- Taylor, A. G., Harman, G. E., Nielsen, P. A. (1994). Biological seed treatments using *Trichoderma harzianum* for horticultural crops. *HortTechnology*, 4, 105-109.
- Yohalem, D. S. (2003). Microbiological management of foliar pathogens in glasshouses. *DJF Rapport*, 49, 65-70.

Marek Domoradzki

Zakład Technologii Żywności,
Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej UTP
ul. Seminaryjna 3, 85-326 Bydgoszcz
mdomoradzki@gmail.com