

Zakład Odmianoznawstwa Szkółkarstwa i Zasobów Genowych

METODYKA OCENY ZDROWOTNOŚCI NASION BROKUŁU (*BRASSICA OLERACEA* VAR. *ITALICA*)



Autor: dr Regina Janas

Fot. mgr Aleksandra Wojska, inż. Katarzyna Traczyk

Opracowanie przygotowane w ramach zadania celowego **7.3. Opracowanie ekologicznych metod produkcji nasiennych roślin jednorocznych (fasola, ogórek, brokuł) i dwuletnich (marchew, cebula) o zwiększonym potencjale plonotwórczym oraz przyjaznej środowisku kompleksowej technologii produkcji nasion o wysokiej jakości i zdrowotności**

z obszaru 7. Sadownictwo i Warzywnictwo Metodami Ekologicznymi finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi

Skierniewice 2021

Ocena fitopatologiczna nasion jest jednym z początkowych etapów prowadzonych analiz ich jakości. Polega na diagnostyce mikroorganizmów patogenicznych zasiedlających materiał siewny, określeniu stopnia porażenia i ilości zakażonych nasion, a finalnie szkodliwości mikroorganizmów. Na podstawie wyników oceny fitopatologicznej nasion (zdrowotności) można podawać zalecenia odnośnie metod poprawy ich zdrowotności. W badaniach realizowanych w 2021 roku stosowano wybrane metody uszlachetniania nasion, ukierunkowane m.in. na uwalnianie nasion od patogenów przenoszonych z materiałem siewnym, bądź uzyskanie efektu inhibicyjnego rozwoju mikopatogenów (tab. 3).

Szkodliwość patogenów zasiedlających nasiona

- Sprawcami większości chorób infekcyjnych występujących w uprawach brokułu są grzyby, w znacznie mniejszym stopniu bakterie i sporadycznie wirusy.
- Nasiona są często źródłem pierwotnej infekcji, gdyż większość grzybów i bakterii zasiedlających materiał siewny przenosi się na rośliny potomne, powodując lub współtworząc rozległe epifitozy na plantacjach roślin przeznaczonych na konsumpcję i na nasiona.
- Patogeny zasiedlające nasiona powodują spadek ich jakości nasion (energii i zdolności kiełkowania, masy tysiąca nasion, wigoru, zdrowotności).
- Ich przeżywalność w nasionach jest często tak długa, jak długa jest żywotność nasion, co prowadzi do degradacji i znacznych strat podczas przechowywania nasion.
- Grzyby patogeniczne produkują szkodliwe, często rakotwórcze metabolity – mykotoksyny.
- Patogeny bytujące na nasionach przyczyniają się do słabszych i nierównomiernych wschodów, spadku wigoru roślin, zdrowotności i plonu .

Ocena wartości siewnej nasion pod względem fitosanitarnym

Metody stosowane w rutynowej ocenie zdrowotności nasion muszą spełniać szereg warunków:

- ✓ umożliwiać diagnostykę patogenów z dużą pewnością i łatwością,
- ✓ dawać powtarzalne wyniki dla każdej próby i porównywalne dla różnych prób z wielu kombinacji,
- ✓ wyniki badań powinny dawać informację o potencjalnych wschodach polowych
- ✓ powinny być proste, szybkie i tanie,
- ✓ powinny być łatwe do standaryzacji, z odniesieniem do przepisów międzynarodowych (ISTA).

Ocena zdrowotności nasion musi uwzględniać biologię patogena przenieszonego przez nasiona, obecność innych antagonistycznych bądź synergistycznych względem siebie mikroorganizmów oraz właściwości biologiczne samych nasion. Nie jest więc prosta i wymaga specjalistycznej wiedzy. Podczas inkubacji analizowanych pod kątem zdrowotności nasion rozwijają się różne mikroorganizmy, wzajemnie na siebie oddziałujące i nawet niewielkie różnice w warunkach inkubacji, mogą zmienić wynik analizy. Prawdopodobnie wykonane oznaczenie porażenia nasion wymaga zastosowania odpowiednich warunków inkubacji, zapewniających szybki wzrost grzybni i zarodnikowanie oraz ujawnienie charakterystycznych cech grzyba, takich jak: tempo wzrostu, charakter kolonii, sposób tworzenia zarodników, ich wygląd oraz inne cechy, umożliwiające identyfikację patogena. Najważniejszymi czynnikami wpływającymi na wzrost i zarodnikowanie grzybów, podczas inkubacji nasion, łatwymi do sterowania są temperatura i światło. Ze względu na odmienne wymagania grzybów patogenicznych zasiedlających nasiona, sterowanie temperaturą

i światłem (natężeniem i długością fali), pozwala na regulację tempa i charakteru wzrostu grzyba, szybszą i pewniejszą identyfikację, opartą głównie na rodzaju sporulacji.

Dlatego też wybór metody oceny zdrowotności nasion zależy od cech nasion, cech biologicznych patogena oraz od celu badania.

Stan zakażenia komercyjnych i uszlachetnianych nasion brokołu oceniono stosując do określenia ich mikoflory następujące metody inkubacyjne zalecane przez ISTA:

- A – podłoże agarowe, metoda pożywkowa; 400 nasion (po 10 w szalce) wysiewano na pożywkę agarowo – ziemniaczaną PDA z dodatkiem streptomycyny w dawce 10 mg/l pożywki w szklanych szalkach Petriego i inkubowano w termostacie 10 dni bez światła w temperaturze 20-22°C,

- TB – Test bibułowy, podłoże z bibuły filtracyjnej, 10 dni inkubacji w temperaturze 20°C z naprzemiennym doświetlaniem NUV (dzień/noc -12/12 lampami NUV).

- TBP – podłoże z bibuły filtracyjnej, nasiona podczas inkubacji poddane przemrożeniu w temperaturze – 20°C; 1 dzień inkubacji w temperaturze 20°C w ciemności + 1 dzień przemrażanie w temperaturze 20°C +10 dni inkubacji w 20°C i naprzemienne doświetlanie (dzień/noc -12/12 lampami NUV).

Diagnostykę mikopatogenów izolowanych z komercyjnych i uszlachetnionych nasion brokołu prowadzono przy pomocy mikroskopii świetlnej, wysokiej czułości mikroskopu elektronowego firmy Leica oraz dostępnych kluczy do identyfikacji grzybów patogennych.

Wyniki jednorocznych badań zestawiono w 6 tabelach. Wskazują one na przydatność zastosowanych metod uszlachetniania nasion brokołu w poprawie zdrowotności. Spektakularne efekty uzyskano po zastosowaniu fizycznych metod przedsięwziętego traktowania nasion brokołu: ozonowania oraz traktowania nasion falami radiowymi (tab. 4-5). Zabieg ozonowania pozwolił na istotną redukcję porażenia nasion z 38% w obiekcie nie traktowanym (kontroli) do nieco ponad 2% po ozonowaniu nasion przez 30 minut.

Wysoką skuteczność ochronną odnotowano również po traktowaniu nasion brokołu falami radiowymi, gdzie zredukowano zasiedlenie materiału siewnego mikoflorą do 4%.

Po traktowaniu nasion brokołu gorącą wodą (zabieg hydrotermoterapii) zmniejszyła się ilość grzybów saprofitycznych, kontaminujących nasiona, co skutkowało lepszą energią i zdolnością kiełkowania nasion, wykazaną w sprawozdaniu z zadania.

Obiecujące wyniki w zakresie osłony biologicznej nasion brokołu przed patogenami otrzymano również po wprowadzeniu nowych biokondycjonerów podczas kondycjonowania nasion. W tym aspekcie najlepsze rezultaty uzyskano po biokondycjonowaniu nasion brokołu z użyciem kurkumy (tab. 6). Porażenie nasion zredukowano w wymienionej kombinacji z 38% w kontroli do 5% po zastosowaniu jako biokondycjonera kurkumy. Pozostałe biokondycjonery (spirulina, chlorella oraz preparat Agawit) w większym stopniu wpływały na poprawę jakości i wigoru nasion, w nieco mniejszym wykazywały efekty ochronne.

Tabela 1. Ważniejsze patogeny nasion brokołu przenoszone z materiałem siewnym

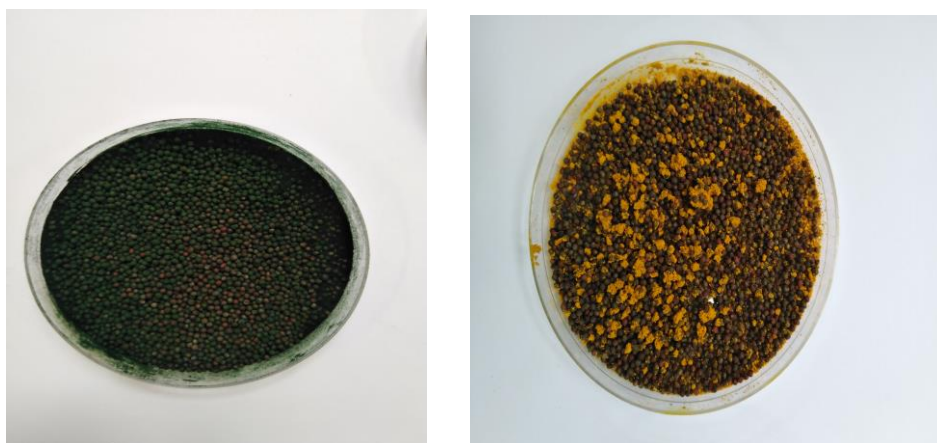
Patogen	Nazwa choroby
Grzyby	
<i>Alternaria brassicae</i>	Czerń krzyżowych
<i>Alternaria brassicicola</i>	Czerń krzyżowych
<i>Phoma lingam</i>	Sucha zgnilizna roślin kapustnych, Czarna nóżka
<i>Plasmodiophora brassicae</i>	Kiła kapusty
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Zgnilizna twardzikowa
<i>Fusarium spp.</i>	Fuzaryjne więdnienie
Bakterie	
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	Czarna zgnilizna kapustnych

Tabela 2. Mikrobiologiczna ocena zdrowotności komercyjnych nasion brokołu

Patogeny nasion brokołu	Kontrola
<i>Alternaria alternata</i>	31,0
<i>Alternaria brassicae</i>	2,8
<i>Alternaria brassicicola</i>	3,5
<i>Phoma lingam</i>	4,0
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	4,6
<i>Fusarium spp.</i>	4,5
<i>Epicoccum purpurascens</i>	3,9
<i>Botrytis spp.</i>	4,2
<i>Trichoderma harzianum</i>	3,0
<i>Penicillium sp.</i>	5,1
Porażenie nasion (%)	38,0

Tabela 3. Metody uszlachetniania nasion brokołu w aspekcie ochrony nasion przed patogenami

Metoda uszlachetniania nasion	Parametry kondycjonowania		
	Wilgotność nasion (%)	Czas traktowania	Okres inkubacji
Kontrola	10	0	0
Odkazanie w KMnO ₄ , HuwaSan	10	20 min.	24 h/20°C
Traktowanie nasion ozonem (wydajność ozonu: 40 g/h)	10	10, 20, 30 min.	24 h/20°C
Traktowanie Pulsującymi Falami Radiowymi	20	60 min.	18 h
Hydrotermoterapia (40°C i 50°C)	10	20, 30 min.	16 h
Biokondycjonowanie (środki: Agawit 25%, Polyversum 1%, Chlorella, Spirulina, Kurkuma)	40	20 min.	24,48 h/20°C



Fot. 1. Nasiona brokułu zaprawione a) spiruliną; b) kurkumą

Tabela 4. Wpływ ozonowania nasion brokułu na zasiedlenie mikoflorą (% w stosunku do ogółu izolatów)

Patogen	Ozonowanie nasion brokułu			
	Kontrola	10 min.	20 min.	30 min.
<i>Alternaria alternata</i>	31,0	11,0	4,0	1,5
<i>Alternaria brassicae</i>	2,8	0,6	0,0	0,0
<i>Alternaria brassicicola</i>	3,5	1,3	0,5	0,0
<i>Phoma lingam</i>	4,0	1,5	0,5	0,0
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	4,6	2,0	0,0	0,0
<i>Fusarium spp.</i>	4,5	1,1	0,6	0,0
<i>Epicoccum purpurascens</i>	3,9	2,0	0,8	0,3
<i>Botrytis spp.</i>	4,2	1,0	0,0	0,0
<i>Trichoderma harzianum</i>	3,0	1,5	1,0	0,5
<i>Penicillium sp.</i>	5,1	1,3	0,6	0,0
Porażenie nasion (%)	38,0	12,5	5,1	2,4

Tabela 5. Wpływ traktowania nasion brokułu falami radiowymi (PRF) na zasiedlenie mikoflorą (% w stosunku do ogółu izolatów)

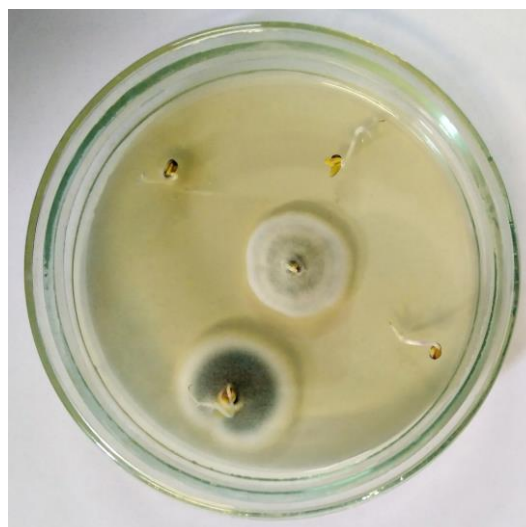
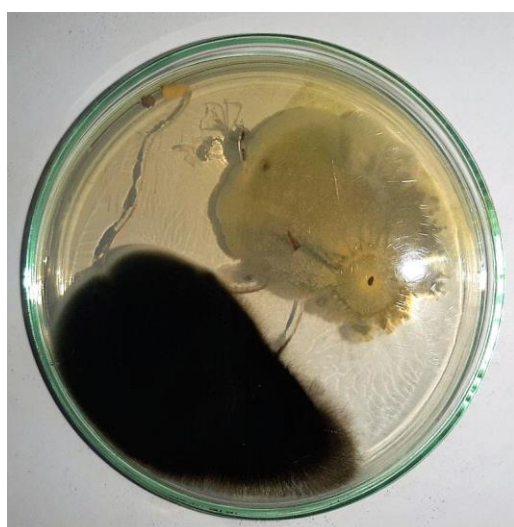
Patogen	Fale radiowe -traktowanie nasion brokułu		
	Kontrola	F1/10/4/20/60	F2/50/4/20/60
<i>Alternaria alternata</i>	31,0	9,5	6,0
<i>Alternaria brassicae</i>	2,8	0,9	0,0
<i>Alternaria brassicicola</i>	3,5	1,7	0,6
<i>Phoma lingam</i>	4,0	1,5	0,0
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	4,6	2,5	0,8
<i>Fusarium spp.</i>	4,5	0,8	0,0
<i>Epicoccum purpurascens</i>	3,9	1,6	0,5
<i>Botrytis spp.</i>	4,2	1,3	0,0
<i>Trichoderma harzianum</i>	3,0	2,0	0,8
<i>Penicillium sp.</i>	5,1	2,0	0,5
Porażenie nasion (%)	38,0	10,8	4,0



Fot. 2. Nasiona brokułu traktowane falami radiowymi (PFR) – test bibułowy (TB)

Tabela 6. Wpływ biokondycjonowania nasion brokułu na zasiedlenie mikoflorą (% w stosunku do ogółu izolatów)

Patogen	Biokondycjonowanie nasion brokułu					
	Kontrola	Spirulina	Chlorella	Kurkuma	Agawit	Polyversum
<i>Alternaria alternata</i>	31,0	20,5	23,0	5,2	29,0	9,5
<i>Alternaria brassicae</i>	2,8	1,9	1,5	0,0	2,2	0,8
<i>Alternaria brassicicola</i>	3,5	2,0	2,0	0,5	3,0	1,0
<i>Phoma lingam</i>	4,0	2,5	2,1	0,0	2,8	0,5
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	4,6	3,1	2,8	0,0	3,5	1,3
<i>Fusarium spp.</i>	4,5	2,8	2,4	0,8	3,8	0,5
<i>Epicoccum purpurascens</i>	3,9	1,8	1,5	0,0	2,5	0,8
<i>Botrytis spp.</i>	4,2	2,0	2,0	0,6	3,5	0,8
<i>Trichoderma harzianum</i>	3,0	2,5	2,0	0,0	2,0	0,0
<i>Penicillium sp.</i>	5,1	3,0	3,2	1,0	3,9	1,0
Porażenie nasion (%)	38,0	22,0	23,5	5,0	30,5	8,5



Fot. 3. Nasiona brokułu a) kontrola (nie traktowana); b) biokondycjonowanie z użyciem Polyversum (test agarowy)