

Zakład Odmianoznawstwa Szkółkarstwa i Zasobów Genowych

METODYKA OCENY ZDROWOTNOŚCI NASION CEBULI (*ALLIUM CEPA*)



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

METODYKA OCENY ZDROWOTNOŚCI NASION CEBULI (*ALLIUM CEPA*)

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 cebuli są grzyby, sporadycznie bakterie i wirusy.
- Nasiona są często źródłem pierwotnej infekcji, gdyż większość grzybów i bakterii zasiedlających materiał siewny przenosi się na rośliny potomne, powodując lub współtworząc rozległe epifityzy 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 .

Tabela 1. Ważniejsze patogeny nasion cebuli przenoszone z materiałem siewnym

Patogen	Nazwa choroby
Grzyby	
<i>Alternaria porri</i>	Alternarioza roślin cebulowych
<i>Botrytis aclada</i>	Zgorzel siewek
<i>Botrytis allii</i>	Szara pleśń
<i>Botrytis cinerea</i>	Szara pleśń
<i>Botrytis byssoidea</i>	Zgorzel siewek Zgnilizna szyjki cebuli
<i>Fusarium</i> spp.	Fuzaryjna zgnilizna cebuli
<i>Peronospora destructor</i>	Mączniak rzekomy
<i>Sclerotium cepivorum</i>	Biała zgnilizna cebuli
<i>Stemphylium botryosum</i>	Plamistość liści cebuli
<i>Urocystis cepulae</i>	Głownia cebuli

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. Prawidłowo 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 cebuli oceniono stosując do określenia ich mikoflory następujące metody inkubacyjne zalecane przez ISTA:

- A – podłoże agarowe, metoda pożywkową; 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 – Testy bibułowe, podłoże z bibuły filtracyjnej, 9 dni inkubacji w temperaturze 20°C NUV (doświetlanie lampami NUV).

- RBA – podłoże agarowe z dodatkiem rózu bengalskiego, 6 dni inkubacji w temperaturze 20°C w ciemności + 8 dni inkubacji w temperaturze 20°C z doświetlaniem lampami NUV.

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

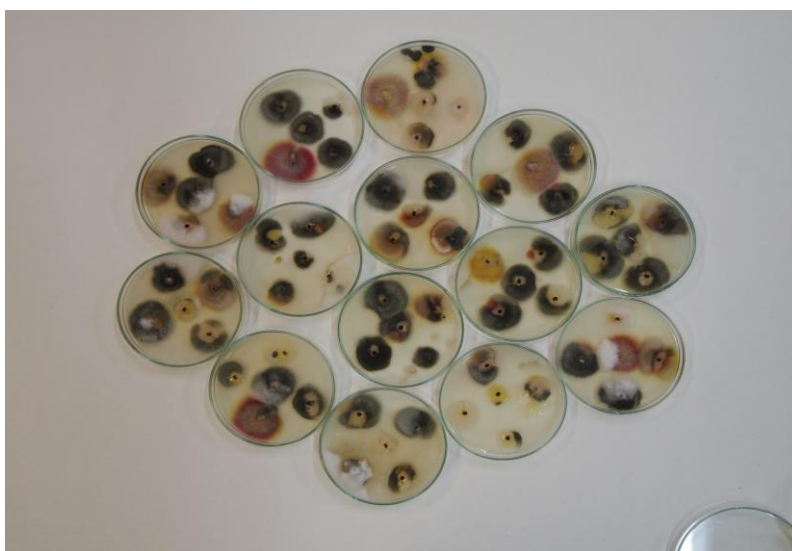
Wyniki jednorocznych badań wskazują na przydatność zastosowanych metod uszlachetniania nasion cebuli w poprawie zdrowotności. Spektakularne efekty uzyskano po zastosowaniu fizycznych metod przedsięwziętego traktowania nasion cebuli : po ozonowaniu oraz traktowaniu nasion falami radiowymi (tab. 4-5). Zabieg ozonowania pozwolił na istotną redukcję porażenia nasion z niespełna 60% w obiekcie nie traktowanym (kontroli) do 3,2% po ozonowaniu nasion przez 30 minut. Wysoką skuteczność ochronną odnotowano również po traktowaniu nasion cebuli falami radiowymi, gdzie zredukowano zasiedlenie nasion mikoflorą

do niespełna 5%. Po traktowaniu nasion cebuli gorącą wodą (zabieg hydrotermoterapii) zmniejszyła się ilość grzybów saprofitycznych, kontaminujących nasiona cebuli, co skutkowało lepszą energią i zdolnością kiełkowania nasion cebuli wykazaną w sprawozdaniu z zadania.

Obiecujące wyniki w zakresie osłony biologicznej nasion przed patogenami otrzymano również po wprowadzeniu nowych biokondycjonerów podczas kondycjonowania nasion. W tym aspekcie najlepsze rezultaty uzyskano po biokondycjonowaniu nasion cebuli z użyciem kurkumy (tab. 6). Pozostałe biokondycjonery (spirulina, chlorella oraz Agawit) w większym stopniu wpływały na poprawę jakości i wigoru nasion, w nieco mniejszym wykazywały efekty ochronne.

Tabela 2. Mikrobiologiczna ocena zdrowotności komercyjnych nasion cebuli (% w stosunku do ogółu izolatów)

Patogeny nasion cebuli	Kontrola
<i>Alternaria alternata</i>	47,0
<i>Alternaria porri</i>	5,1
<i>Cladosporium</i> spp.	4,0
<i>Botrytis byssoidea</i>	3,0
<i>Botrytis cinerea</i>	2,2
<i>Fusarium</i> spp.	3,8
<i>Peronospora destructor</i>	2,5
<i>Epicoccum purpurascens</i>	4,0
<i>Trichoderma</i> sp.	3,5
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	3,8
<i>Aspergillus</i> sp.	4,6
<i>Rhizopus nigricans</i>	4,0
<i>Penicillium</i> sp.	4,8
Porażenie nasion (%)	59,5



Fot. 1. Zasiedlenie mikoflorą komercyjnych nasion cebuli – kontrola nasiona nie traktowane (test agarowy)

Tabela 3. Metody uszlachetniania nasion cebuli

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

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

Patogen	Ozonowanie nasion cebuli			
	Kontrola	10 min.	20 min.	30 min.
<i>Alternaria alternata</i>	47,0	16,0	9,6	3,0
<i>Alternaria porri</i>	5,1	2,0	0,9	0,0
<i>Cladosporium spp.</i>	4,0	0,0	0,0	0,0
<i>Botrytis byssoidea</i>	3,0	1,8	0,5	0,0
<i>Botrytis cinerea</i>	2,2	0,9	0,0	0,0
<i>Fusarium spp.</i>	3,8	1,4	0,6	0,0
<i>Peronospora destructor</i>	2,5	0,8	0,0	0,0
<i>Epicoccum purpurascens</i>	4,0	1,6	1,0	0,5
<i>Trichoderma sp.</i>	3,5	2,0	0,8	0,3
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	3,8	0,5	0,0	0,0
<i>Aspergillus sp.</i>	4,6	1,0	0,5	0,0
<i>Rhizopus nigricans</i>	4,0	1,5	0,0	0,0
<i>Penicillium sp.</i>	4,8	2,0	0,8	0,3
Porażenie nasion (%)	59,5	17,0	9,0	3,2

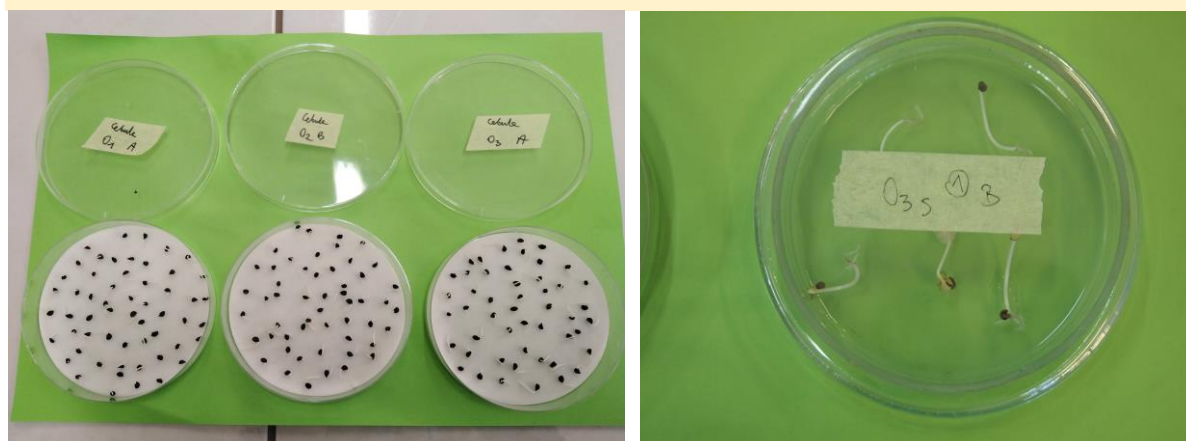
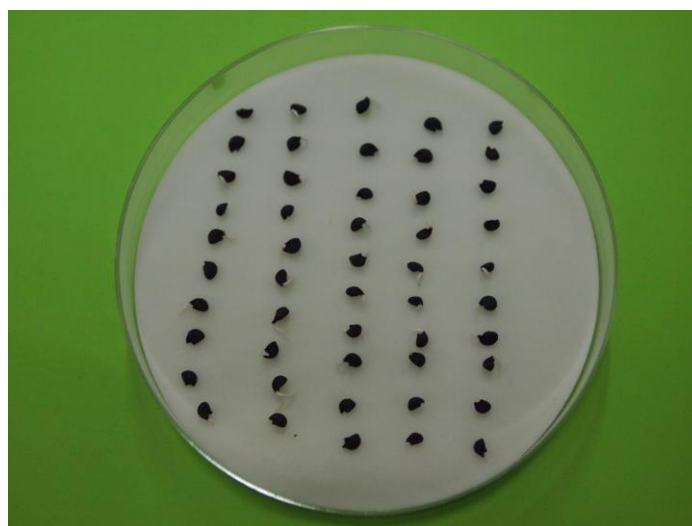
**Fot. 2.** Nasiona cebuli traktowane ozonem (test bibułowy TB); (test agarowy)

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

Patogen	Fale radiowe -traktowanie nasion cebuli		
	Kontrola	F1/10/4/20/60	F2/50/4/20/60
<i>Alternaria alternata</i>	47,0	11,0	4,5
<i>Alternaria porri</i>	5,1	2,5	0,8
<i>Cladosporium spp.</i>	4,0	1,5	0,0
<i>Botrytis byssoidea</i>	3,0	1,0	0,0
<i>Botrytis cinerea</i>	2,2	0,0	0,0
<i>Fusarium spp.</i>	3,8	0,9	0,0
<i>Peronospora destructor</i>	2,5	1,1	0,2
<i>Epicoccum purpurascens</i>	4,0	0,0	0,0
<i>Trichoderma sp.</i>	3,5	1,0	0,5
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	3,8	1,3	0,0
<i>Aspergillus sp.</i>	4,6	1,5	0,5
<i>Rhizopus nigr.</i>	4,0	1,8	0,0
<i>Penicillium sp.</i>	4,8	1,8	0,5
Porażenie nasion (%)	59,5	10,5	4,6



Fot. 3. Nasiona cebuli traktowane falami radiowymi (PRF) – test bibułowy

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

Patogen	Biokondycjonowanie nasion cebuli					
	Kontrola	Spirulina	Chlorella	Kurkuma	Agawit	Polyversum
<i>Alternaria alternata</i>	47,0	34,0	32,5	13,0	41,0	23,5
<i>Alternaria porri</i>	5,1	3,5	3,5	1,6	4,0	2,9
<i>Cladosporium spp.</i>	4,0	3,0	2,6	0,0	3,5	2,0
<i>Botrytis byssoidea</i>	3,0	2,2	2,5	0,5	3,0	1,8
<i>Botrytis cinerea</i>	2,2	1,5	1,5	0,0	1,8	1,0
<i>Fusarium spp.</i>	3,8	2,5	2,0	0,5	3,4	1,2
<i>Peronospora destru.</i>	2,5	2,0	2,0	0,0	2,0	0,6
<i>Epicoccum purpura.</i>	4,0	2,8	2,5	0,8	3,2	2,5
<i>Trichoderma sp.</i>	3,5	2,0	1,8	0,5	3,0	0,8
<i>Sclerotinia sclerotior</i>	3,8	2,2	2,6	0,0	3,1	1,5
<i>Aspergillus sp.</i>	4,6	2,0	2,4	0,5	3,8	1,8
<i>Rhizopus nigricans</i>	4,0	1,8	1,5	0,5	3,5	1,6
<i>Penicillium sp.</i>	4,8	2,0	2,0	0,0	3,5	1,5
Porażenie nasion (%)	59,5	37,0	36,5	14,0	45,0	24,2