

Zakład Odmianoznawstwa Szkółkarstwa i Zasobów Genowych

METODYKA OCENY ZDROWOTNOŚCI NASION OGÓRKA (*CUCUMIS SATIVUS*)



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 OGÓRKA (*CUCUMIS SATIVUS*)

Specyfika pozyskiwania nasion ogórka jest odmienna ze względu na budowę owocu – ogórka.

Nasiona z owoców typu jagoda, występujących m.in. u gatunków z rodziny **dyniowatych (Cucurbitaceae), do której należy ogórek**, pozyskuje się poprzez fermentację pulpy, powstałej ze zmacerowanych owoców z nasionami. Fermentacja taka trwa kilka dni, w zależności od warunków jej prowadzenia, głównie temperatury. Fermentację można przyspieszyć przez wzbogacenie pulpy enzymami-pektynazami, które rozkładają pektyny i uwalniają z nich nasiona.

Bakterie, grzyby i wirusy chorobotwórcze zasiedlają nasiona w pulpie, podczas pozyskiwania nasion. Wiele chorób infekcyjnych w tym m.in. **kanciasta plamistość liści ogórka (*Pseudomonas lachrymans*), powoduje uszkodzenia skórki i rozwój bakterii w miąższu owocu**. Niektóre z bakterii chorobotwórczych rozwijają się ustrojowo w całej roślinie, zasiedlając niekiedy zarodki nasion. Z kolei **grzyby chorobotwórcze rozwijają się w skórcie owoców, w miąższu, skąd podczas fermentacji kontaminują nasiona. Mogą jednak zasiedlać nasiona włącznie, porażając ich zarodki, co prowadzi do degradacji materiału siewnego i dyskwalifikuje nasiona z obrotu**. Owoce ogórka przeznaczone do pozyskania nasion powinny być w pełni dojrzałe. Zbyt długie przetrzymywanie owoców prowadzi do kiełkowania nasion wewnątrz owocu. Ponadto, nasiona pozyskane z owoców przejrziałych, mają niższą energię i zdolność kiełkowania i szybciej ją tracą w czasie przechowywania. Przed pozyskaniem nasion owoce ogórków należy przetrzymywać w temperaturze pokojowej 10-14 dni. **Najlepszą jakość i zdrowotność nasion uzyskuje się przy krótkiej fermentacji**.

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 ogórka są grzyby, w mniejszym stopniu 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.

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 grzybnii 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 ogórka 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,
- TBP – podłoże z bibuły filtracyjnej, nasiona podczas inkubacji poddane przemrożeniu w temperaturze – 20°C; 2 dni 20°C ciemność + 1 dzień przemrażanie +7 dni 20°C NUV (doświetlanie lampami NUV).

Diagnostykę mikopatogenów izolowanych z komercyjnych i uszlachetnionych nasion ogórka 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 ogórka w poprawie zdrowotności. Spektakularne efekty uzyskano po zastosowaniu fizycznych metod przedsięwziętego traktowania nasion ogórka: po ozonowaniu oraz traktowaniu nasion falami radiowymi (tab. 4-5). Zabieg ozonowania pozwolił na istotną redukcję porażenia nasion z ponad 30% w obiekcie nie traktowanym (kontroli) do niespełna 1% po ozonowaniu nasion przez 30 minut. Wysoką skuteczność ochronną odnotowano również po traktowaniu nasion ogórka falami radiowymi, gdzie zredukowano zasiedlenie nasion mikoflorą do 2%.

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 ogórka

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 1. Ważniejsze patogeny nasion ogórka przenoszone z mat. siewnym

Patogen	Nazwa choroby
Grzyb	
<i>Ascochyta cucumis</i>	Czarna zgnilizna zawiązków i pędów roślin dyniowatych
<i>Alternaria</i> spp.	Alternarioza dyniowatych
<i>Cladosporium cucumerinum</i>	Parch dyniowatych
<i>Colletotrichum lagenarium</i>	Antraknoza
<i>Fusarium solani</i>	Fuzaryjna zgorzel dyniowatych
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	Fuzaryjne więdnienie ogórka
<i>Corynespora cassicola</i>	Korynesporoza dyniowatych (pod osłonami)
Bakterie	
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	Bakteryjna kanciasta plamistość ogórka
Wirusy	
<i>Cucumber green mottle mosaic virus</i> , CGMMV (tobamowirus)	Wirus zielonej mozaiki ogórka
<i>Cucumber mosaic virus</i> , CMV	Wirus mozaiki ogórka

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

Patogeny nasion ogórka	Kontrola (%)
<i>Alternaria</i> spp.	24,0
<i>Colletotrichum</i> sp.	4,7
<i>Fusarium solani</i>	3,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	3,8
<i>Cladosporium</i> sp.	5,4
<i>Trichoderma viride</i>	2,8
<i>Stemphylium</i> sp.	3,5
<i>Pythium aphanidermatum</i>	2,6
<i>Rhizoctonia solani</i>	3,1
<i>Aspergillus</i> sp.	4,0
<i>Rhizopus nigricans</i>	4,5
Porażenie nasion (%)	35,5



Fot. 1. Porażenie komercyjnych nasion ogórka mikroflorą nasiona nie traktowane – kontrola (test agarowy)

Tabela 3. Metody uszlachetniania nasion ogórka w zakresie ochrony 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.	24h/20°C
Traktowanie nasion ozonem (wydajność ozonu: 40 g/h)	10	10, 20, 30 min.	24h/20°C
Traktowanie Pulsującymi Falami Radiowymi	20	60 min.	18h
Hydrotermoterapia (40°C i 50°C)	10	20, 30 min.	16h
Biokondycjonowanie (środki: Agawit 25%, Polyversum 1%, Chlorella, Spirulina, Kurkuma)	40	20 min.	24,48h/20°C



Fot. 2. Nasiona ogórka biokondycjonowane z zastosowaniem kurkumy

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

Patogen	Ozonowanie nasion ogórka			
	Kontrola	10 min.	20 min.	30 min.
<i>Alternaria alternata</i>	24,0	9,0	3,5	2,0
<i>Colletotrichum sp.</i>	4,7	1,2	0,0	0,0
<i>Fusarium solani</i>	3,0	0,8	0,3	0,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	3,8	0,0	0,0	0,0
<i>Cladosporium sp.</i>	5,4	2,0	0,5	0,0
<i>Trichoderma viride</i>	2,8	1,5	0,9	0,5
<i>Stemphylium sp.</i>	3,5	2,0	1,1	0,2
<i>Pythium aphanidermatum</i>	2,6	0,9	0,0	0,0
<i>Rhizoctonia solani</i>	3,1	1,4	0,0	0,0
<i>Aspergillus spp.</i>	4,0	2,5	0,8	0,0
<i>Rhizopus nigricans</i>	4,5	1,6	0,0	0,0
Porażenie nasion (%)	33,5	11,8	4,2	0,8

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

Patogen	Fale radiowe -traktowanie nasion ogórka		
	Kontrola	F1/10/4/20/60	F2/50/4/20/60
<i>Alternaria alternata</i>	24,0	10,2	4,8
<i>Colletotrichum sp.</i>	4,7	0,0	0,0
<i>Fusarium solani</i>	3,0	0,8	0,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	3,8	1,3	0,0
<i>Cladosporium sp.</i>	5,4	0,0	0,0
<i>Trichoderma viride</i>	2,8	0,9	0,4
<i>Stemphylium sp.</i>	3,5	0,0	0,0
<i>Pythium aphanidermatum</i>	2,6	1,2	0,4
<i>Rhizoctonia solani</i>	3,1	1,6	0,8
<i>Aspergillus spp.</i>	4,0	1,9	0,6
<i>Rhizopus nigricans</i>	4,5	1,5	0,0
Porażenie nasion (%)	33,5	7,4	2,0



Fot. 3. Nasiona ogórka traktowane falami radiowymi (PFR) test bibułowy TB

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

Patogen	Biokondycjonowanie nasion ogórka					
	Kontrola	Spirulina	Chlorella	Kurkuma	Agawit	Polyversum
<i>Alternaria alternata</i>	24,0	13,5	12,8	6,0	21,5	15,8
<i>Colletotrichum sp.</i>	4,7	2,8	2,3	0,0	3,9	2,5
<i>Fusarium solani</i>	3,0	1,6	1,5	0,5	2,5	2,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	3,8	1,4	1,8	0,0	2,7	1,3
<i>Cladosporium sp.</i>	5,4	3,2	2,4	1,0	4,0	3,0
<i>Trichoderma viride</i>	2,8	2,0	1,5	0,6	2,4	1,4
<i>Stemphylium sp.</i>	3,5	2,0	2,0	0,0	3,0	1,6
<i>Pythium aphanidermatum</i>	2,6	1,5	1,1	0,0	2,0	0,8
<i>Rhizoctonia solani</i>	3,1	2,0	1,6	0,5	2,6	1,3
<i>Aspergillus spp.</i>	4,0	2,4	2,8	1,3	4,0	3,0
<i>Rhizopus nigricans</i>	4,5	2,8	3,0	0,0	3,5	2,8
Porażenie nasion (%)	33,5	16,8	15,5	7,5	27,0	17,0



Fot. 4. Kiełkujące nasiona ogórka po traktowaniu preparatem Agawit (metoda harmonijkowa zgodnie z wymogami ISTA)