

OUT OF INVESTIGATIONS ON VEGETABLE SEED COATING WITH *TRICHODERMA VIRIDE* AND PLANT HEALTH IN ORGANIC SYSTEM

Summary

The aim of studies was evaluation of possibility of vegetable seed production from the phytopathological point of view. It was found that there is a possibility of seed coating with biopreparation based on fungus *Trichoderma viride* in order to protect seedlings from rot diseases. When a proper technology was used, 250 living cfu (colony forming units) were present in single coat. The best results were obtained after seed treatment with water suspension of biopreparation with addition of remains of suspension after treatment into components of coats. Microbiological cleanliness of coat components is also of a great importance. Sprayings with biopreparations during cropping season resulted in differentiated degree of pathogen development limitation. The best results were obtained in the case of downy mildew (*Peronospora destructor*) of onion after several sprayings with Biosept. Harvested seeds of red beet and carrot were numerously settled with fungal pathogens. During cleaning of seeds, most of them was removed but losses were considerable.

Z BADAŃ NAD OTOCZKOWANIEM NASION WARZYW Z WYKORZYSTANIEM *TRICHODERMA VIRIDE* I ZDROWOTNOŚCIĄ ROŚLIN W UPRAWIE EKOLOGICZNEJ

Streszczenie

Celem badań było określenie możliwości uprawy roślin warzywnych na nasiona w aspekcie fitopatologicznym. Wykazano możliwość otoczkowania nasion z wykorzystaniem biopreparatu opartego na grzybie *Trichoderma viride* dla ochrony siewek przed chorobami zgorzelowymi. Przy zachowaniu odpowiedniej technologii, w jednej otoczce znajdowało się 250 żywych jednostek tworzących kolonie grzyba (jtk). Najlepszy efekt uzyskano zaprawiając nasiona w wodnej zawieszynie biopreparatu i dodając pozostałość zawieszyny po zaprawianiu do komponentów w trakcie otoczkowania. Ważnym elementem jest czystość mikrobiologiczna stosowanych komponentów. Opryskiwanie biopreparatami w okresie wegetacji celem ochrony przed chorobami dawało zróżnicowane wyniki. Najlepszy efekt uzyskano w ochronie cebuli przed mączniakiem rzekomym (*Peronospora destructor*) stosując kilkakrotne opryskiwanie Bioseptem. Zebrane nasiona buraka ćwikłowego i marchwi jadalnej zasiedlone były licznie przez patogeny grzybowe. W trakcie czyszczenia większość zasiedlonych przez patogeny nasion została wyeliminowana ale ubytki były znaczne.

Wprowadzenie

Jednym z głównych czynników warunkujących powodzenie wielu upraw ekologicznych jest zdrowotność roślin. W systemie ekologicznym problem zdrowotności roślin występuje już od wysiewu nasion. Jest on tym większy, że nasiona zgodnie z wymogami IFOAM muszą pochodzić z plantacji ekologicznej. Oznacza to, że ich zdrowotność może być gorsza w porównaniu do nasion pochodzących z uprawy konwencjonalnej [3, 4, 5, 11, 12, 15]. Z nasionami może przenosić się wiele patogenów grzybowych, które infekują wschody [18]. Ponadto siewki, jak i starsze rośliny, narażone są na infekcję czynników chorobotwórczych bytujących w glebie. Porażeniu łatwo ulegają także nadziemne części. Brak chemicznej ochrony przed chorobami może powodować nadmierny rozwój patogenicznych grzybów, które znacznie obniżają plon i jego jakość. Ponadto niektóre z nich posiadają zdolność wytwarzania mikotoksyn, które mogą być bardziej niebezpieczne dla konsumenta aniżeli pozostałości substancji chemicznych [17]. Zakaz stosowania chemicznych zapraw wymusza konieczność poszukiwania innych metod zabezpieczenia wschodów przed pato-

genami nasion jak i pochodzącymi ze środowiska glebowego.

W dostępnej literaturze, zarówno krajowej jak i zagranicznej, niewiele jest opracowań naukowych, dotyczących możliwości skutecznej ochrony przed chorobami roślin uprawianych w systemie ekologicznym. Wynika z nich natomiast konieczność takich badań. Na corocznych konferencjach Pest and Diseases w Brighton w Anglii, po raz pierwszy 2002 r., jedna z sekcji poświęcona była ochronie roślin w systemie ekologicznym, w której były tylko 4 ogólne referaty. Wśród 75 prezentowanych posterów tylko 3 dotyczyły zagadnień związanych z chorobami roślin [2]. O znaczeniu problemu i wzroście zainteresowania świadczy zorganizowana w Rzymie przez FAO, IFOAM i ISF (The International Seed Federation) First World Conference on Organic Seed, gdzie na 98 przedstawianych prac, 25 dotyczyło zdrowotności roślin [3].

Otoczkowanie nasion, głównie warzyw, jest od dość dawna znane i powszechnie stosowane. Daje wiele korzyści. Do otoczkowania można dodawać różne substancje, korzystnie wpływające zarówno na kiełkowanie nasion jak i wzrost młodych kiełków. Jedną z nich jest zaprawa nasien-

na, chroniąca młode rośliny przed zakażeniem przez patogeny znajdujące się na nasionach jak i przed patogenami znajdującymi się w glebie. Technologia takiego otoczkowania jest w świecie opracowana i powszechnie stosowana. Nie można jednak dodawać zapraw chemicznych do otoczkowania nasion przeznaczonych do wysiewu w gospodarstwach ekologicznych. Otoczkowanie nasion bez zaprawiania nie zabezpiecza wschodów przed patogenami, a w tym okresie młode rośliny są atakowane przez grzyby powodujące choroby zgorzelowe, stanowiące duży problem w produkcji warzyw, zarówno w uprawie polowej jak i pod osłonami. W ochronie roślin przed chorobami znane są liczne biopreparaty ale ich stosowanie dotyczy głównie zaprawiana w formie moczenia nasion, podlewania bądź opryskiwania roślin [1, 5, 6, 7, 10, 12, 13, 14, 20].

W procesie otoczkowania ważnym elementem jest utrzymanie przez cały cykl technologiczny odpowiedniej, temperatury celem zachowania żywotności znajdującego się w biopreparacie mikroorganizmu oraz wykonanie całego procesu w czasie uniemożliwiającym kiełkowanie formy przetrwalnej. Wcześniejsze badania wykazały, że dodawanie biopreparatu do komponentów, nie gwarantowało obecności jtk w każdej otoczce lub ich liczba była niewystarczająca, przy jednocześnie dużym ich zakresie w poszczególnych otoczkach [16].

Prowadzone w latach 2003-2005 badania z sześcioma gatunkami roślin warzywnych (burak czerwony, marchew, cebula, pietruszka, rzodkiewka, koper) uprawianych na nasiona obejmowały:

1. określenie możliwości wykorzystania do otoczkowania nasion biopreparatu opartego na bazie grzyba *Trichoderma viride*,
2. opryskiwanie roślin w okresie wegetacji preparatami Biochikol, Biosept, Bioczoz,
3. ocenę zdrowotności zebranych nasion (marchew, cebula, buraki czerwone).

Po zbiorze nasion (marchew, cebula, burak ćwikłowy) na pożywce PDA badano ich zasiedlenie przez patogeniczne grzyby, stosując ogólnie przyjęte w tego typu badaniach metody.

W tej pracy, z konieczności podano wybrane elementy wykonanych badań i dotyczą one głównie możliwości otoczkowania nasion z wykorzystaniem biopreparatu opartego na *Trichoderma viride*.

Metody

Do otoczkowania użyto materiał mikrobiologiczny zawierający konidia szczepu *Trichoderma viride*, o silnych właściwościach antagonistycznych, uzyskanego przez zespół prof. S. Pietra z Katedry Mikrobiologii AR Wrocław. Badania obejmowały ustalenie:

- takiej dawki biopreparatu, aby w każdej otoczce znajdowało się co najmniej kilkadziesiąt jednostek tworzących kolonie (jtk) grzyba, posiadających zdolność do skielkowania, co prawdopodobnie zapewni rozwój grzybni saprotrofita w każdym kiełkującym nasieniu,
- czasu obejmującego proces otoczkowania uniemożliwiający skielkowanie formy przetrwalnej grzyba,
- okresu przechowywania otoczkowanych nasion z zachowaniem żywotności jtk.

Badania prowadzono na nasionach rzodkiewki odmiany Lucynka. Do otoczkowania stosowano torf, szpat (dolomit), glinę, dekstrynę żółtą. Wykonano 6 kombinacji:

1. nasiona zaprawiane w zawieszynie *T. viride*,
2. nasiona zaprawiane w zawieszynie *T. viride* i otoczkowane,
3. nasiona zaprawiane w zawieszynie i pozostałą po zaprawianiu nasion zawieszynę dodawano do komponentów w trakcie otoczkowania,
4. nasiona płukane i zaprawiane w zawieszynie,
5. nasiona płukane, zaprawiane w zawieszynie i otoczkowane,
6. nasiona płukane, zaprawiane w zawieszynie i po zaprawianiu nasion zawieszynę dodawano do komponentów w trakcie otoczkowania.

Dawka materiału biologicznego wynosiła 50g·l⁻¹ wody. W procesie otoczkowania, pierwsze 2 godziny temperatura wynosiła około 20°C, a kolejne 6 godzin, w którym suszono otoczkowane nasiona, wahała się w zakresie 25-30°C.

Z każdej kombinacji doświadczalnej wykonano 5 serii badań, badając po 10 otoczek (łącznie 50) wg metodyki podanej przez Sadowskiego i wsp. [16]. W ten sam sposób określano żywotność jtk w biopreparacie oraz w otoczkowanych nasionach rzodkiewki po 3 i 6 miesiącach przechowywania.

Określano także czystość mikrobiologiczną stosowanych komponentów. Analizy wykonano na pożywce PDA stosując metodę rozcieńczeń.

Doświadczenia polowe prowadzono w gospodarstwie ekologicznym w Kiełpinie k/Tucholi (K. i H. Wegner), posiadającym od 12 lat atest EKOLANDU. W okresie wegetacji przeciw chorobom grzybowym stosowano Biosept, Bioczoz i Biochikol 020PC.

Wyniki

Otoczkowanie nasion rzodkiewki z wykorzystaniem form przetrwalnych grzyba *Trichoderma viride* jest możliwe. Po serii wykonanych prób ustalono, że najlepszym sposobem było zaprawianie nasion w roztworze wodnym biopreparatu w dawce zalecanej przez producenta (50g·l⁻¹ wody) i dodanie pozostałej po zaprawianiu zawieszyny w procesie technologicznym do otoczkowanych nasion (tab. 1). Średnio w jednej otoczce znajdowało się 186,2 żywych jtk grzyba. Jeszcze więcej jtk w otoczce stwierdzano przy otoczkowaniu nasion uprzednio płukanych w wodzie (250,5). Płukanie nasion przed otoczkowaniem eliminowało także z nasion inne grzyby saprotroficzne. Grzyby występujące w kombinacji otoczkowanych nasion, po uprzednim ich płukaniu, pochodziły prawdopodobnie z komponentów.

Badania komponentów wykazały, że nie były one sterylne. Izolowano z nich głównie grzyby z rodzajów *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum* a także *Alternaria alternata*. Największą liczbę grzybów stwierdzono w torfie (1,8x10⁵). Ponadto w torfie, dolomicie i kaolinie występowały bakterie.

Żywotność naniesionych do otoczki form przetrwalnych grzyba zależała od czasu ich przechowywania. Po 3 miesiącach spadła około 25%, po 6 miesiącach około 40%. Żywotność jtk w użytym w doświadczeniu materiale mikrobiologicznym wraz z upływem czasu zmniejszała się, ale po 6 miesiącach w 1 g stwierdzono jeszcze 6,8x10⁶ żywych jtk. Oznacza to jednak, że przed każdym procesem otoczkowania należałoby sprawdzić liczbę jtk w biopreparacie. Prawdopodobnie taką technologię będzie można zastosować także do innych biopreparatów.

Tab. 1. Liczba jtk na nasionach rzodkiewki zaprawianej biopreparatem z *Trichoderma viride*
 Table 1. Number of cfu on radish seeds treated with biopreparation *Trichoderma viride*

Kombinacja traktowania nasion.	Średnio	
	T	I
Bez płukania, zaprawiane <i>T. viride</i>	99,3	0,0
Bez płukania, zaprawianie <i>T. viride</i> +otoczkowanie	51,6	40,4
Bez płukania, zaprawiane <i>T. viride</i> + zawiesina +otoczkowanie	186,2	7,1
Płukane, zaprawiane <i>T. viride</i>	86,9	0,0
Płukane, zaprawiane <i>T. viride</i> +otoczkowanie	81,3	8,9
Płukane, zaprawiane <i>T. viride</i> + zawiesina + otoczkownie	250,7	4,8

T/ Liczba jtk *T. viride* na/w 1 otoczce/nasioniu

I/ Liczba innych grzybów

Stosowanie biopreparatów w formie opryskiwań w okresie wegetacji dawało zróżnicowane wyniki. Najlepszy efekt uzyskano przy zwalczaniu mączniaka rzekomego cebuli (*Peronosora destructor*) stosując kilkakrotnie Biosept.

Badania polowe obejmowały także możliwości produkcji nasion rzodkiewki. Okazało się jednak, że z uwagi na masowe występowanie szkodników w okresie kwitnienia, rośliny nie zawiązywały łuszczyń. Opryskiwanie Bioczosem było zupełnie nieskuteczne. Dopiero pod koniec wegetacji, po zakończeniu oblotu szkodników zawiązało się niewiele łuszczyń. Plon w obydwóch latach był minimalny. Należy stwierdzić, że w prowadzonych warunkach doświadczenia, tzn. dysponując tylko Bioczosem do zwalczania szkodników, uzyskanie nasion rzodkiewki nie jest możliwe. W Polsce uprawia się dużo rzepaku, stąd szkodników żerujących na roślinach kapustnych jest dużo.

Podsumowanie

Odnosnie przedstawionych w pracy badań można zauważyć pewne problemy związane z tym zagadnieniem. Dotyczą one braku dokładniejszych informacji o możliwości stosowania w procesie otoczkowania biopreparatów opartych na grzybach, optymalnych temperatur pozwalających wykonać ten proces z zachowaniem jak największej liczby jtk w otoczce, czasu w którym proces powinien być zakończony, zależności między temperaturą suszenia otoczek a zachowaną liczbą żywych jtk, dawki biopreparatu dla poszczególnych gatunków nasion, sterylności dodatków do otoczki, okresu przechowywania otoczkowanych nasion, aktualnej liczby jtk w biopreparacie, równomierności jtk w poszczególnych otoczkach.

W przeprowadzonych badaniach uzyskano dużą liczbę jtk w badanych otoczkach, co wskazuje na to, że prawdopodobnie jest możliwe zmniejszenie dawki preparatu, co byłoby niezwykle korzystne z uwagi na zmniejszenie kosztów zaprawiania. Konieczne są jednak badania w celu ustalenia optymalnej liczby jtk w otoczce poszczególnych gatunków nasion. Z uwagi na zmniejszającą się liczbę żywych jtk w biopreparacie w okresie przechowywania, celowym byłoby przed przystąpieniem do otoczkowania sprawdzić aktualną ich żywotność.

Wcześniejsze badania wykazały, że otoczkowanie nasion różnych gatunków tą samą mieszaniną komponentów z biopreparatem nie jest właściwe, ponieważ w otoczkach mniejszych nasion, może być zbyt mało jtk grzyba. W przypadku dodawania biopreparatu do komponentów, dla poszczególnych gatunków nasion należałoby ustalić dawkę biopreparatu na podstawie MTN. Stosowanie w procesie technologicznym biopreparatu w formie zawiesiny było

zdecydowanie lepsze aniżeli jego mieszanie z komponentem [16]. Legro [8] podaje, że otoczkowanie nasion w systemie ekologicznym uznaje się za niezbędne, jeśli chce się osiągnąć odpowiedni plon. Jednak dotychczas stosowane technologie, oparte w pewnej części na substancjach syntetycznych mogą w przyszłości nie być akceptowane. Należy więc poszukiwać rozwiązań umożliwiających otoczkowanie nasion dla systemu organicznego.

Na podstawie dotychczas prowadzonych obserwacji nad zdrowotnością roślin w systemie organicznym można stwierdzić, że w aspekcie fitopatologicznym uprawa wielu roślin w tym systemie jest możliwa. Wymaga jednak dużego zaangażowania oraz niemałej wiedzy z zakresu ochrony roślin. Witek i Obuchowicz [21] widzą możliwość produkcji w Polsce nasion ekologicznych roślin warzywnych.

Istnieją pewne możliwości ograniczenia szkodliwości patogenów chorób metodami nie chemicznymi [2, 5, 7, 12, 13, 20]. Konieczne jest prowadzenia badań nad możliwością biologicznego ich ograniczania.

Bez zastosowania dodatkowych zabiegów nie chemicznych, uprawa niektórych roślin w systemie ekologicznym, z uwagi na choroby i szkodniki, nie jest możliwa. Istnieje także pilna potrzeba określenia odmian poszczególnych gatunków do uprawy ekologicznej. W gospodarstwach tradycyjnych, o niskiej kulturze rolnej, w których nie stosuje się zaprawiania i nie wymienia się materiału siewnego, obserwuje się już występowanie śnieci cuchnącej pszenicy, której nie spotykano od wielu lat. W Niemczech szuka się alternatywnych do chemicznych możliwości jej zwalczania [19, 22].

W aspekcie fitopatologicznym niezrozumiałym wydaje się być zapis w Ustawie, że do gospodarstw ekologicznych, materiał rozmnożeniowy winien pochodzić z własnej produkcji. Zaniechanie stosowania nawozów sztucznych i pestycydów, nie prowadzi bezpośrednio do zmniejszenia zagrożenia występowania patogenów glebowych. Zmiany składu mikroorganizmów w środowisku glebowym w systemie ekologicznym, nie są na tyle korzystne, aby zabezpieczyć rośliny przed patogenami glebowymi [9].

Literatura

- [1] Ahmed A., S., Sanches C., P., Ezziyyani M., Candela M., E.: Effect of *Trichoderma harzianum* treatment on systemic resistance in pepper plant (*Capsicum annum*) to *Phytophthora capsici* and its relation with capsidiol accumulation. IOBC/wprs Bulletin 24 (3) s. 265-269, 2001.
- [2] Baturo A.: Health status of spring barley cultivated under organic, integrated and conventional condi-

- tions. The BCPC Conference – Pest&Diseases, s. 699-704, Brighton, 2002.
- [3] Baturó A., Łukanowski A., Kuś J.: Comparison of health status of winter wheat and spring barley grain cultivated in organic, integrated and conventional systems and monoculture. Proc. of the First World Conference on Organic seed, FAO Headquarters, s.128-132, Rome, 2004.
- [4] Baturó A.: 2002. Head healthiness and fungus composition of spring barley harvested grain cultivated under organic, integrated and conventional farming systems. *Phytopathologia Polonica*, 26: 73-83.
- [5] Baturó A.: Effect of Chitosan on *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok) Shoemaker Growth and Spring Barley Infection, Bulletin. of the Polish Academy Sciences, Biological Sciences, 51, (2), s. 95-102, 2003.
- [6] Elad Y. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential model of action, *Crop Protection*, 19, s.709-714, 2000.
- [7] Gajda I., Kurzawińska H.: Biological protection of potato against *Helminthosporium solani* and *Rhizoctonia solani*, *Phytopathologia Polonica*, 34, s. 51-58, 2004.
- [8] Legro I.R.J.: Organic seed & coating technology: a challenge and opportunity. Proc. of the First World Conference on Organic seed, FAO Headquarters, s.108-112. Rome, 2004.
- [9] Lenc L., Pańka D., Sadowski Cz.: Zbiorowiska grzybów środowiska glebowego ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) uprawianego w systemie ekologicznym i integrowanym. Monografia, Obieg pierwiastków w przyrodzie, t.3, s. 788-793, Warszawa, 2005.
- [10] Lewis J.A., Lumsden D.L.: Biocontrol of damping-off of greenhouse-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with formulation of *Trichoderma* spp., *Crop Protection*, 20, s. 49-56, 2001.
- [11] Łukanowski A., Baturó A., Sadowski Cz.: Health status of cereals cultivated in different systems with a special respect to ecological cultivation. *IOBC/wprs Bulletin*, 24 (1), s. 101-106, 2001.
- [12] Łukanowski A.: Effect of Chitosan on Winter Wheat Infection by *Fusarium avenaceum*, *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* and on Growth of these Fungi. Bulletin of the Polish Academy Sciences, Biological Sciences, 51 (2), s. 117-122, 2003.
- [13] Orlikowski L.B. Influence of Fusaclean on *Fusarium* wilt severity of cyclamen. *Phytopathologia Polonica*, 17, s.99-106. 1999.
- [14] Pietr S.: The mode of action of *Trichoderma*: short summary. „Conference of Section for Biological Control of Plant Diseases of Polish Phytopathological Society”, Skierniewice, s.7-14, 1997.
- [15] Sadowski Cz., Pańka D., Lenc L.: Porównanie zdrowotności bulw i kiełków wybranych odmian ziemniaka uprawianych w systemie ekologicznym. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 500, s. 373-380, 2004.
- [16] Sadowski Cz., Domoradzki M, Lenc L., Korpala W., Weiner W., Łukanowski A.: Badania nad możliwością stosowania biopreparatu opartego na *T. viride* do otoczkowania nasion warzyw ekologicznych, *Mon. „Zmienność genetyczna i jej wykorzystanie w hodowli roślin ogrodniczych”* red. B. Michalik, E. Żurawicz, Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa, s. 227-238, Skierniewice, 2005.
- [17] Scholten O.E., D.H. Mastebroek.: Resistance to *Fusarium* head blight and DON accumulation in spring wheat cultivars. Proc. of the First World Conference on Organic seed, FAO Headquarters, s.182, Rome, 2004.
- [18] Tylkowska K.: Zdrowotność nasion. Wybrane Zagadnienia z Nasiennictwa Roślin Ogrodniczych, Praca zbiorowa pod redakcją B. Michalik i W. Weinerja, s. 15-23, Kraków, 2004.
- [19] Waldow F., M. Jahn.: Strategies for the regulation of common bunt (*Tilletia caries*) of wheat with regard to threshold values and non-chemical protection measures. Proc. of the First World Conference on Organic seed, FAO Headquarters, s.187-188, Rome, 2004.
- [20] Weber Z., Werner M., Frużyńska-Jóźwiak D.: Wpływ terminu wprowadzania do ziemi grzybów z rodzaju *Trichoderma* na skuteczność ochrony roślin przed *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Rocz. AR Poznań, CCCXXI, Ogrodnictwo*, 30, s.171-176, 2000.
- [21] Witek Z., P.: Chmielowiec Produkcja w Polsce nasion do upraw ekologicznych, konieczność, możliwości i aspekty praktyczne. Praca zbiorowa pod red. B. Michalik i W. Weinerja, Wybrane Zagadnienia z Nasiennictwa Roślin Ogrodniczych, s.252-256, Kraków, 2004.
- [22] Vogt-Kaute i W., Rtilcher.: Control of common bunt of wheat (*Tilletia caries*) by alternative seed treatment. Proc. of the First World Conference on Organic seed, FAO Headquarters, s. 124-126, Rome, 2004.