

Zastosowanie granulacji aglomeracyjnej do nasion (cz. 1). Przeżywalność zarodników grzyba *Trichoderma viride*

Marek DOMORADZKI, Joanna KANIEWSKA, Wojciech KORPAL – Uniwersytet Technologiczno – Przyrodniczy w Bydgoszczy

Prosimy cytować jako: CHEMIK 2012, 66, 5, 467-472

Wstęp

Nasiona otoczkowane warzyw są znane i powszechnie stosowane, zwłaszcza na plantacjach towarowych i nasiennych. Duża pojemność masy otoczki pozwala na dodawanie do nasion substancji naturalnych wpływające korzystnie na kiełkowanie i wzrost siewek [4]. Otoczka pozwala także na wprowadzenie mikroorganizmów korzystnie wpływających na kondycje roślin wraz z dodatkami umożliwiającymi ich przeżycie [5]. Kiełkowanie nasion otoczkowanych zależy od stopnia nasycenia wodą podłoża do kiełkowania [1].

Szczelna powłoka naniesiona na nasiona zabezpiecza mechanicznie nasiona przez kilka pierwszych dni po wysianiu. Dla przygotowania nasion do wysiewu na plantacji ekologicznej zastosowano inokulację nasion zarodnikami grzyba *Trichoderma viride* [3], a następnie nasiona zaotoczkowano metodą aglomeracji bezciśnieniowej na talerzu granulacyjnym.

Ilość preparatu przypadającą na otoczkowane nasiona obliczono z bilansu [2]:

$$M \cdot N = \Omega \cdot m \cdot n$$

$$M = \frac{\Omega \cdot m \cdot n}{N} \quad (1)$$

stąd

gdzie:

M – masa preparatu

N – liczba zarodników w 1 g preparatu

Ω – liczba zarodników przypadająca na 1 nasiono

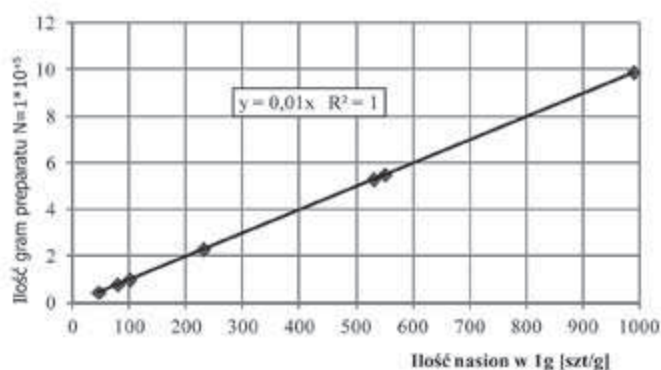
m – masa nasion

n – liczba nasion w 1 g, licznosc.

Współczynnik przeżycia zarodników obliczano z zależności:

$$\eta = \frac{\Omega_{\text{oznaczone}}}{\Omega_{\text{obliczone}}} \quad (2)$$

Założono, że na każde nasiono powinno być nałożony pewien nadmiar zarodników z uwagi na ich nieprzeżywalność np. ok. 10 zarodników, co przy ilości zarodników w 1 g preparatu $N = 1 \cdot 10^5$ daje różne ilości preparatu dodawanego do nasion o różnej ich zawartości w 1 g nasion. Zależność tą przedstawiono na Rysunku 1.



Rys. 1. Ilość preparatu dodanego do nasion w 1 g/100 g nasion w zależności od liczności

Celem pracy było zbadanie stopnia przeżywalności przeżycia zarodników grzyba *Trichoderma viride* podczas przechowywania preparatu, odporności termicznej preparatu oraz jednoczesnej inokulacji, otoczkowania i wysuszenia nasion ekologicznych oraz wpływu inokulacji na zdolność kiełkowania.

Materiały i metody

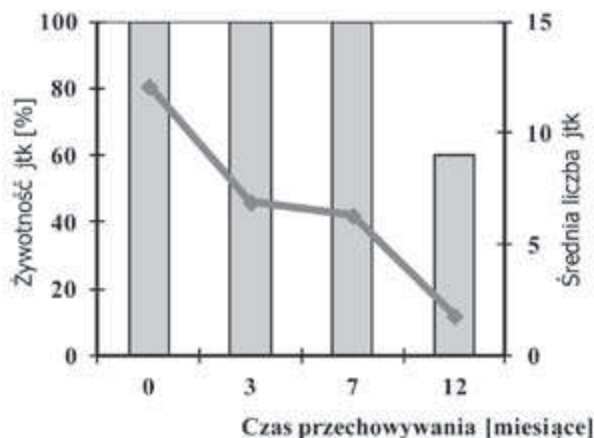
Przechowywanie preparatu z zarodnikami grzyba *Trichoderma viride*

Przed przystąpieniem do badań należało określić liczbę jednostek tworzących kolonię w użytym preparacie oraz zbadanie upływu czasu na zanik żywotności zarodników grzybów *Trichoderma viride*. Zmiany przedstawiono na Rysunku 2.



Rys. 2. Zmiana liczby jtk *Trichoderma viride* w 1 g preparatu podczas długotrwałego przechowywania

Analogiczne badania wykonano zarodnikami grzybów naniesionymi na nasionach podczas przechowywania. W tym celu nasiona zainokulowano zawiesiną wodną zarodników i wysuszono w 30°C. Wyniki przedstawiono na Rysunku 3. Maksymalny czas przechowywania inokulowanych nasion nie powinien być dłuższy niż 7 miesięcy.



Rys. 3. Zanik żywotności preparatu z zarodnikami grzybów *Trichoderma viride* naniesionymi na nasiona

Odporność termiczna preparatu z zarodnikami grzybów *Trichoderma viride*

Dla określenia odporności biopreparatu na temperaturę i czas nagrzewania nanoszono preparat (na wysterylizowane nasiona) przez zanurzenie w czasie 5 min. w 5% zawieszynie wodnej *Trichoderma viride*. Tak przygotowane nasiona umieszczano w ciepłarkach w temperaturach 22°C, 30°C oraz 35°C i przetrzymywano w czasie od 0,5 do 5 godzin, co 1 godzinę pobierano próbę na oznaczenie liczby jtk (Tab. 1).

Tablica 1
Zawartość nasion porośniętych przez *Trichoderma viride*

Czas, godz.	Zawartość nasion porośniętych, %		
	22°C	30°C	35°C
1,0	100,0	100,0	33,3
2,0	100,0	100,0	23,3
4,0	100,0	100,0	16,7
6,0	100,0	100,0	10,3
8,0	100,0	100,0	7,3

Na podstawie wyników badań przedstawionych w Tablicy 1, jako graniczną temperaturę obróbki nasion z zarodnikami *Trichoderma viride* przyjęto temperaturę $t = 30^{\circ}\text{C}$ i maksymalny czas mokrej obróbki 6-8 h.

Technika otoczkowania nasion z zarodnikami grzyba *Trichoderma viride*

Pyły. Do otoczkowania nasion zastosowano torf oraz pył o składzie: kaolin 45%, dolomit 35%, pył drzewny 20%. Nasiona otoczkowano najpierw torfem, a następnie mieszaniną mineralną z pyłem drzewnym.

Zarodniki. Do inokulacji zastosowano preparat z zarodnikami grzybów zawierający w jednym gramie $1 \cdot 10^{+5}$ zarodników. Wyliczone porcje preparatu mieszano z torfem, którym otoczkowano nasiona w drugim etapie.

W celu określenia minimalnej dawki preparatu wykonano badania z nasionami, na które nanoszono różne dawki preparatów z *Trichoderma viride* i nasiona następnie otoczkowano w granulatorze talerzowym (metodą opisaną poniżej). Na podstawie oznaczonej liczności nasion dodawano wyliczoną ze wzoru (1) dawkę biopreparatu, zakładając 10 zarodników na nasiono. Biopreparat dodawano do torfu i tą mieszaniną otoczkowano nasiona. W każdej serii wykonywano 10 prób. Wyniki przedstawiono w Tablicy 2.

Tablica 2
Liczba jtk *Trichoderma viride* w otoczkach dla $N = 1 \cdot 10^{+5}$

Dawka biopreparatu z <i>T. viride</i> wyliczona wg liczności nasion, dodanych do torfu				
Gatunek nasion	Dawka g/100 g nasion	% otoczek z jtk z <i>T. viride</i>	Średnia liczba jtk w otoczce	Zakres jtk w otoczkach
Pietruszka	5,52	100	8,6	1-6
Koper	5,32	88	3,9	1-5
Marchew	9,90	100	4,7	2-8

Dawkę biopreparatu należy określić na podstawie liczności próbkii nasion przy założeniu minimum 10 szt. zarodników na jedno nasionko w otoczce.

Metody

W trakcie otoczkowania nasion z zarodnikami maksymalnie skrócono czas kontaktu biopreparatu z wodą, by uniemożliwić wykiełkowanie formy przetrwalnikowej grzyba.

Dodatkowo obniżono temperaturę suszenia nasion otoczkowanych do 25°C, by uniknąć uszkodzenia formy przetrwalnikowej. Ponieważ otoczkowanie torfem przebiega najwolniej w etapie początkowym i proces ten trwa ok. 6 godz., a zarodniki kiełkują w czasie ok. 6-8 godz., proces granulacji rozłożono na dwa etapy.

W pierwszym etapie na 100 g nasion dodawano 70 g sterylizowanego torfu. Nasiona otoczkowano torfem przez 4 godz., i następnie suszono w 25°C, uzyskując w ten sposób podkłady dla nakładania zarodników.

W drugim etapie na nasiona z podkładem torfowym, dodawano 30 g torfu zmieszanego z zarodnikami grzybów, potem na powłokę z torfu nakładano mieszaninę pyłów do otoczkowania w ilości 200 g.

Otoczkowanie prowadzono przy użyciu 5% roztworu dekstryny w czasie ok. 1-4 godz. Warstwę powierzchniową otoczek wykonywano z mieszaniny 20 g talku i barwnika (dla rozróżnienia otok) w czasie ok. 30 min. Po granulacji otoczki szybko suszono, stosując duże natężenie przepływu powietrza o temperaturze 30°C w czasie ok. 3-4 godz. Łączny czas granulacji i suszenia (operacji mokrych) z zarodnikami nie przekraczał 6 godz.

Masa nasion po granulacji zwiększała się 4 krotnie, czyli masa partii wysuszonych nasion otoczkowanych wynosiła ok. 400 g.

Wyniki

Po zaotoczkowaniu nasion i ich wysuszeniu sprawdzano liczbę jednostek tworzących kolonię na nasionach otoczkowanych i określano współczynnik przeżycia zarodników oraz pobierano próbę do oznaczania energii i zdolności kiełkowania. Wyniki kiełkowania zebrano w Tablicach 3 ÷ 6, przy czym próby kiełkowania nasion otoczkowanych przeprowadzono przy różnych stopniach nasycenia wodą podkładu do kiełkowania.

Tablica 3
Liczba zarodników *Trichoderma viride* na nasionach przygotowanych do wysiewu

Lp.	Gatunek, odmiana	Liczność, szt./g	Ilość preparatu z <i>Trichoderma viride</i> , g/100 g nasion	Liczba zarodników <i>Trichoderma viride</i> na nasionku		Współczynnik przeżycia η , %
				obliczona	oznaczona	
1	Marchew Perfekcja	990	9,90	10,0	6,0	60
2	Pietruszka Ołomuńska	552	5,52	10,0	8,7	87
3	Koper Szmaragd	532	5,32	10,0	3,2	32

W Tablicy 3 przedstawiono porównanie ilości zarodników *Trichoderma viride* wprowadzonych do nasion i ilości zarodników po procesie otoczkowania i suszenia. Oznaczona liczba zarodników jest wartością średnią z liczby kolonii wykiełkowanych z elucji 10 nasion. Zaobserwowano nierównomierność pokrycia nasion zarodnikami dla marchwi – od 5 do 8.

Liczba zarodników *Trichoderma viride* w procesie otoczkowania na moko podlega redukcji, w wyniku kiełkowania zarodników grzyba i ich niszczenia w czasie dalszego suszenia.

Dla procesu otoczkowania nasion z zarodnikami *Trichoderma viride*, wg przedstawionej technologii otoczkowania, współczynnik przeżycia zarodników jest wysoki i wynosi od 87% dla otok pietruszki do 32% dla otok kopru.

Tablica 4

**Zdolność kiełkowania nasion inokulowanych
grzybem *Trichoderma viride***

Lp.	Gatunek odmiana	Ilość preparatu z <i>Trichoderma viride</i> , g/100 g nasion	Zdolność kiełkowania, %	
			nasion kontrolnych	nasion z <i>Trichoderma viride</i>
1	Koper Szmaragd	5,32	91	95
2	Marchew Perfekcja	9,90	82	85
3	Pietruszka Ołomuńska	5,52	80	83

Tablica 5

**Zdolność kiełkowania nasion otoczkowanych z zarodnikami grzybów
(stopień nasycenia wodą podłoża do kiełkowania 0,7)**

Lp.	Gatunek, odmiana	Zdolność kiełkowania nasion, %	
		kontrolnych	z <i>Trichoderma viride</i>
1.	Koper Szmaragd	74	88
2.	Marchew Perfekcja	67	71
3.	Pietruszka Ołomuńska	80	83

Tablica 6

**Zdolność kiełkowania nasion otoczkowanych z zarodnikami grzybów
(stopień nasycenia wodą podłoża do kiełkowania 1,0)**

Lp.	Gatunek, odmiana	Zdolność kiełkowania nasion, %	
		kontrolnych	z <i>Trichoderma viride</i>
1.	Koper Szmaragd	74	77
2.	Marchew Perfekcja	67	72
3.	Pietruszka Ołomuńska	80	79

Nasiona otoczkowane z zarodnikami *Trichoderma viride* kiełkują lepiej od kontrolnych przy stopniu nasycenia wodą podłoża do kiełkowania 0,7 i nie gorzej od kontrolnych przy stopniu nasycenia 1,0 podłoża do kiełkowania.

Podsumowanie

1. Dla wprowadzenia do otok zarodników grzybów *Trichoderma viride* istnieje konieczność określania żywotności biopreparatów bezpośrednio przed ich użyciem i na tej podstawie należy ustalać dawkę preparatu z uwzględnieniem liczności nasion.
2. Dla osiągnięcia pożądanego stopnia pokrycia wszystkich nasion zarodnikami grzybów zaleca się stosowanie, co najmniej 10-krotnego nadmiaru biopreparatu w stosunku do ilości obliczonej. Nadmiar ten powinien być jeszcze większy, gdy nasiona poddaje się obróbce w niekorzystnych dla zarodników warunkach.
3. Maksymalny czas obróbki mokrej i suszenia w 30°C inokulowanych nasion nie może przekroczyć 6-8 godzin, ponieważ otoczkowanie i suszenie inokulowanych nasion powoduje zmniejszenie przeżywalności zarodników *Trichoderma viride* na nasionach.
4. Testy kiełkowania wykazują na poprawę zdolności kiełkowania nasion inokulowanych.
5. Zaobserwowano niejednorodność pokrycia nasion zarodnikami *Trichoderma viride* i różny współczynnik przeżycia zarodników inokulowanego grzyba.

Literatura

1. Domoradzki M.: *Determination of germination capability of coated seeds*. International Agrophysics 1999, 13, 431-433.
2. Domoradzki M.: *Doskonalenie technologii rozbiorowej obróbki nasion ekologicznych*. Rozprawy nr 149. UTP w Bydgoszczy
3. Taylor A.G., Herman G.E., Nielsen P.A.: *Biological seed treatments Rusing Trichoderma harzianum for horticultural crops*. Hort Technol. 1994, 4, 105-109.
4. Wojtaszek P.: *Rośliny potrafią się bronić*. Informacja KBN 2003. (<http://kbn.icm.edu.pl/pub/kbn/eureka/0102/43.html>).
5. Yohalem D.S.: *Microbiological management of foliar pathogens in glasshouses*. Slutkonferencje 2003. Danmark.

Dr hab. inż. Marek DOMORADZKI jest absolwentem Wydziału Chemicznego Politechniki Łódzkiej (1968). Obecnie pracuje na Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej Uniwersytetu Technologiczno – Przyrodniczego w Bydgoszczy. Doktorat obronił na Wydziale Inżynierii Chemicznej Politechniki Łódzkiej (1978). Zainteresowania naukowe to technologie dla przemysłu spożywczego i aparatura przemysłu spożywczego.

Mgr inż. Joanna KANIEWSKA jest absolwentką Wydziału Technologii i Inżynierii Chemicznej Uniwersytetu Technologiczno – Przyrodniczego w Bydgoszczy. Obecnie jest doktorantem na Wydziale Inżynierii Mechanicznej UTP w Bydgoszczy. Zainteresowania naukowe – biotechnologia i aparatura przemysłu spożywczego.

Dr hab. inż. Wojciech KORPAL ukończył Wydział Chemii Spożywczej Politechniki Łódzkiej (1970). Rozpoczął pracę na Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej w Wyższej Szkole Inżynierskiej – obecnie Uniwersytecie Technologiczno – Przyrodniczym w Bydgoszczy. Doktorat obronił na Wydziale Inżynierii Chemicznej Politechniki Łódzkiej (1980). Jego zainteresowania naukowe to: przesiewanie, aglomeracja oraz technologii nawozów granulowanych o sterowanej rozpuszczalności. Zginął w wypadku samochodowym jadąc na konferencję naukową do Łodzi.



**VII Kongres Technologii
Chemicznej
8-12 lipca 2012, Kraków**

Organizatorzy:

- Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński
- Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Akademia Górniczo-Hutnicza
- Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska
- Stowarzyszenie Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego (SITPCChem)

Informacje:

Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński
ul. Ingardena 3
pok. 414 30-060 Kraków
E-mail: techem7@gmail.com
Tel./Fax.: +48 12 663 2009
www: www.techem7.pl