

4. konferenca z mednarodno udeležbo
Konferenca VIVUS – s področja kmetijstva, naravovarstva, hortikulture in floristike ter živilstva in prehrane
»Z znanjem in izkušnjami v nove podjetniške priložnosti«
20. in 21. april 2016, Biotehniški center Naklo, Strahinj 99, Naklo, Slovenija

4th Conference with International Participation

Conference VIVUS – on Agriculture, Environmentalism, Horticulture and Floristics, Food Production and Processing and Nutrition

»With Knowledge and Experience to New Entrepreneurial Opportunities«

20th and 21st April 2016, Biotechnical Centre Naklo, Strahinj 99, Naklo, Slovenia

Učinkovitost razkuževanja semen paradižnika z naravnimi sredstvi

Dr. Marija Gregori

Biotehniški center Naklo, Slovenija, marija.gregori@bc-naklo.si

Katja Kotnik

Slovenija, katja.kokalj86@gmail.com

Izvleček

V raziskavi smo ugotavljali primernost uporabe različnih naravnih sredstev za razkuževanje semen paradižnika (*Solanum lycopersicum* L.), ki ga najpogosteje okužuje fito-patogena gliva *Phytophthora infestas* L. Metode razkuževanja smo preverili z laboratorijskim poskusom. Uporabili smo poparke iz timijana, materine dušice, žajblja, kamilice ter poparke iz česna in čebule. Preizkušali smo tudi neem tonik, sodo bikarbono, 96 % in 70 % etanol ter mleko. Ugotovili smo, da smo seme paradižnika najučinkoviteje razkužili s pripravkom iz česna in neem tonika. Pripravki z mlekom, timijanom in materino dušico se v raziskavi niso izkazali za učinkovita naravna sredstva za razkuževanje. Ugotovili smo tudi, da način razkuževanja vpliva na kasnejšo kalivost semen in da večja stopnja razkuženosti vpliva na boljšo kalivost semen.

Ključne besede: naravna razkužila, laboratorijski poskus, paradižnik, *Solanum lycopersicum*, *Phytophthora infestas*

Effectiveness of tomato seeds disinfecting with natural remedies

Abstract

In this study we explored the effectiveness of the natural disinfecting remedies for disinfecting tomato seeds (*Solanum lycopersicum* L.), infected by phyto - pathogenic fungi *Phytophthora infestans* L. We tested the methods through a laboratory test. We used brews of plants such as thyme, wild thyme, sage, chamomile, garlic and onion have been used for treating the tomato seeds. Also, neem tonic, baking soda, 96 % and 70% ethanol and organic milk, have been tested as alternatives suggested by experts. The results showed that the preparations of garlic and neem tonic are most successful in disinfecting tomato seeds. Preparations made from milk, wild thyme and garden thyme have proved to be successful. The research results also showed that the inappropriate disinfection preparation can reduce seed germination rate of tomato seeds.

Key words: natural remedies, laboratory test, tomato, *Solanum lycopersicum*, *Phytophthora infestas*

1 Uvod

Potreba po lastnem pridelovanju semen se zaradi nizke samooskrbe s semeni povečuje. Pri ekološki pridelavi se pogosto srečujemo z vprašanjem razkuževanja semen na način, ki je okolju in človeku prijazen, saj se povečuje povpraševanje po ekološko pridelani hrani ter posledično tudi po ekološko pridelanih semenih (Kotnik, 2015).

Na trgu obstaja več sredstev za razkuževanje semen, ki so večinoma sintetična in zato neprimerna za ekološko in biodinamično pridelavo semen. Razkuževanje semen ima dolgo tradicijo. Plinij je o dodelavi semen pisal že 60 let pred našim štetjem. Z razkuževanjem želimo doseči (1) ustrezno varstvo pred boleznimi in škodljivci, (2) lažjo kalivost in začetni razvoj ter (3) večji in kakovostnejši pridelek (Kraner in Horvat, 1999; McGrath et al., 2014). Razkuževanje je potrebno opraviti v nadzorovanih razmerah, saj ne sme biti odvisno od zunanjih dejavnikov, kot je npr. vreme (Dorić, 1993).

Prvi fungicid za suho razkuževanje, ki je omogočil konvencionalno zaščito semen, so razvili leta 1914, ko je podjetje Bayer razvilo fungicid Uspulin. Zaradi potreb po večjem pridelku in zdravih posevkih so se do danes razvila številna sredstva za razkuževanje semen. Pri ravnanju s konvencionalno razkuženimi semeni je treba izvajati določene zaščitne postopke, saj lahko takšno seme s svojimi učinkovinami negativno vpliva na okolje, ljudi in živali. Številni insekticidi za obdelavo semen na trgu namreč vsebujejo sintetične piretroide, ki ob nepravilni uporabi povzročijo tudi začasno občutljivost kože (Bayer, 2015).

Ekološki pripravki za razkuževanje semen temeljijo na naravnih sredstvih, ki imajo ugodne učinke na škodljive organizme. V Sloveniji se kot ekološka sredstva za razkuževanje semen v zadnjem času omenjajo poparki iz čaja, hladen izvleček, brozga, prevrelka in ekstrakt. Najučinkovitejši pripravek je prevrelka, sledi brozga, hladen izvleček in poparek. Pripravke pripravljamo iz svežih ali suhih zelišč ali rastlin (kopriiva, njivska preslica, bezeg, kamilica, česen, čebula, drobnjak, hren, žajbelj, rman, timijan itd.) (Pušenjak, 2010, 2014; Van der Wolf, 2008). Za ekološko razkuževanje semen lahko uporabimo tudi ekološki pripravek iz rastline neem (*Azadirachta indica* L.) (Förster in Moser, 2000) in etanol (Pubchem, 1. 6. 2015).

Paradižnik najpogosteje napada paradižnikova plesen (*Phytophthora infestans* L.). Gliva okužuje liste, stebela in plodove. Bolezen se pojavlja tako na prostem kot v zavarovanem prostoru. Izvor primarnih okužb so največkrat okužene rastline krompirja, redkeje pa trajne spore, ki se preko zime oblikujejo v okuženih ostankih paradižnika ali krompirja (Grünwald et al., 2005). Pred pojavom bolezni uporabljamo preventivne, po njej pa kurativne fungicide. Ker so okužene krompirjeve rastline primarni vir okužb, naj bi orientacijsko prvič škropili, ko se na bližnjem krompirju pojavijo prva bolezenska znamenja (Schumann in D'Arcy, 2000).

V raziskavi, ki je bila del diplomske naloge (Kotnik, 2015) smo s pomočjo laboratorijskih testov želeli ugotoviti učinkovitost razkuževanja semen z različnimi naravnimi pripravki. Domnevali smo, da naravna sredstva različno vplivajo na stopnjo razkuženosti semen ter da to posledično vpliva tudi na samo kalivost semen. Namen prispevka je predstaviti glavne ugotovitve raziskave.

2 Material in metode dela

Semena paradižnika (*Solanum lycopersicum* L.) za izvedbo raziskave smo pridobili od slovenskega proizvajalca ekoloških semen (sorta Volovsko srce). Uvodoma smo na semenih ugotavljali prisotnost glivične okužbe *Phytophthora infestans* L. Uporabili smo petrijevke z gojiščem PDA z dodatkom antibiotika. Vzorce smo inkubirali v inkubatorju 5 dni pri temperaturi 22 °C. Po inkubaciji smo

dobljene rezultate primerjali s ključem za določevanje gliv na semenih (*Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi*) (Watanabe, 2010).

Poskus razkuževanja semen smo zasnovali z 12 obravnavanji v 2 ponovitvah. Za vsako obravnavanje smo uporabili 40 semen paradižnika. V poskus smo vključili naslednja obravnavanja: (1) kontrola (brez dodatka razkužila), (2) sok česna in (3) čebule, (4) poparki iz kamilice, (5) žajblja, (6) timijana in (7) materine dušice, (8) 70 % etanol, (9) 96 % etanol, (10) neem tonik (Aurum d.o.o.), (11) soda bikarbona (Sigma-Aldrich S5761) in (12) surovo kravje mleko iz Biotehniškega centra Naklo (BCN). Poparke smo v skladu priporočili iz strokovne literature (Pušenjak, 2010, 2014) naredili iz zelišč, ki so rasla na zeliščem vrtu BCN. Česen in čebulo smo pridobili iz trgovine »Pod kozolcem« BCN. Iz njiju smo iztisnili sok, ki smo ga nato uporabili za razkuževanje (Kotnik, 2015).

Semena smo za 60 sekund namočili v hladnih zeliščnih poparkih, neem toniku, mleku ter sodi bikarboni. V etanol smo semena namočili za 10 sekund. Po opravljenem razkuževanju smo semena prenesli na PDA gojišče z dodatkom antibiotika ter jih za 5 dni pri temperaturi 22 °C postavili v inkubator. Po opravljenem postopku razkuževanja smo stopnjo razkuženosti semen opredelili s štirimi kategorijami:

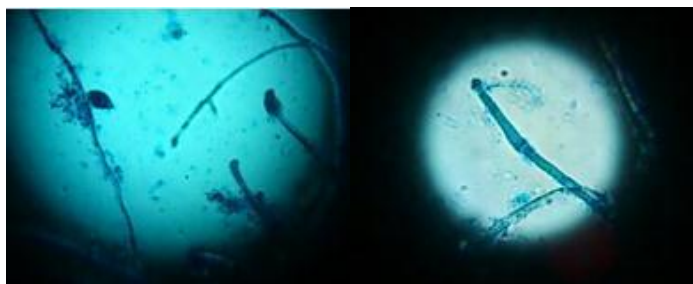
- POPRH (P): na semenu se pojavi plesen, seme ni vzknilo
- POPRH+KALI (PK): na semenu, ki je vzknilo, se je pojavila plesen
- KALI (K): kaleča semena brez prisotnosti plesni
- NIČ (0): ne-kaleča semena, brez prisotnosti plesni (Kotnik, 2015).

Metodologijo testiranja kaljivosti smo povzeli po Agarwal in Sinclair (1996). Podrobnejša metodika raziskave ter postopek kaljenja semen je pojasnjena v Kotnik (2015).

3 Rezultati

3.1 Okužba na semenih paradižnika

S pomočjo atlasa glivičnih okužb semen (*Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi*) (Watanabe, 2010), smo na semenih paradižnika morfološko določili prisotnost paradižnikove plesni *Phytophthora infestans* L. Glavni del plesni predstavljajo velike puhaste kolonije. Morfološko značilne so spore in sporangiji, ki so vidni pod mikroskopom (Jeršek, 2014) (Slika 1).



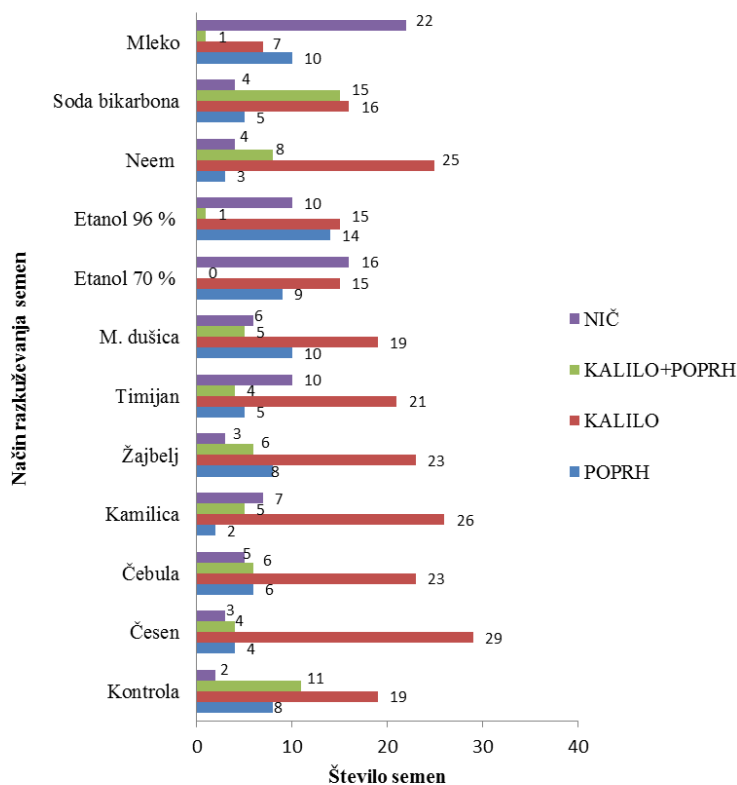
Slika 1: Prisotnost plesni *Phytophthora infestans* na semenu paradižnika pod mikroskopom: razvejani sporangiofori z limonasto obliko sporangija (1000 x povečava)

Vir: lasten

3.2 Razkuževanje semen

Ugotovili smo, da različne metode razkuževanja z naravnimi sredstvi vplivajo na stopnjo razkuženosti semen. Največje število kalečih semen ter najmanjši delež semen, ki so bila okužena s plesnijo, smo ugotovili v primeru razkuževanja s pripravkom iz česna. Sledita neem tonik in poparek iz kamilice. Pri

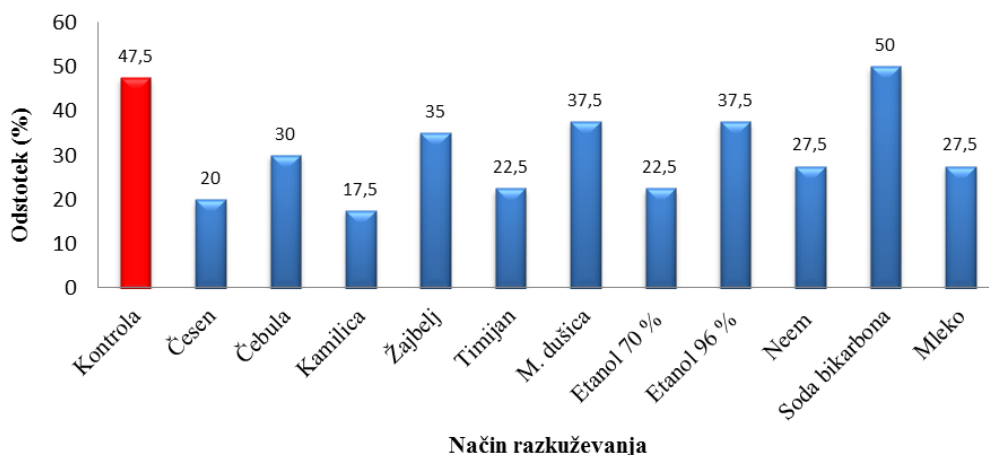
razkuževanju z mlekom smo opazili nastanek posebnih kultur v obliki mastnih rumenih madežev, ki so močno zavirali rast drugih plesni. V tem primeru je bila kaljivost najmanjša (Slika 2).



Slika 2: Rezultati razkuževanja semen z različnimi naravnimi sredstvi

3.3 Okuženost semen s plesnijo po razkuževanju

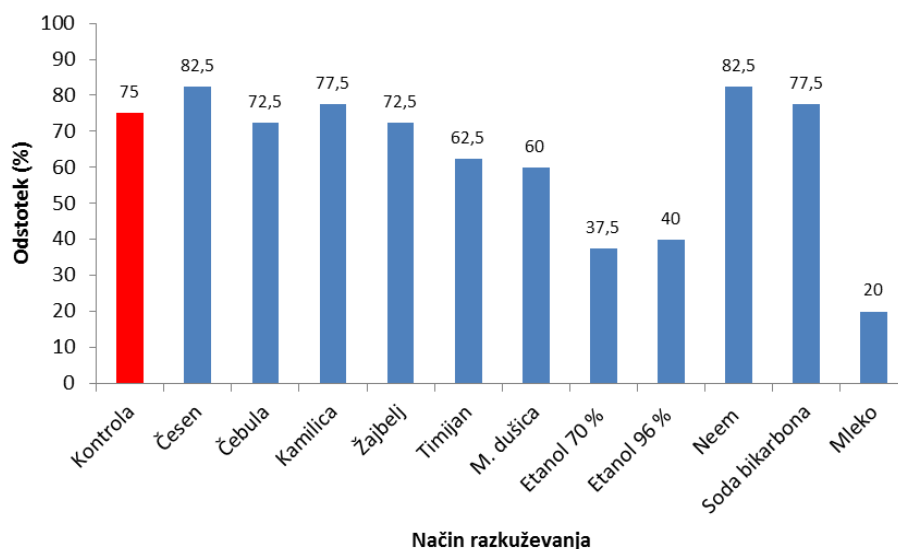
Okuženost s plesnijo se je po razkuževanju v primerjavi s kontrolnim vzorcem zmanjšala. Izjemo v tem pogledu predstavlja zgolj razkuževanje s sodo bikarbono. Odstotek s plesnijo okuženih semen je pri kontrolnem vzorcu znašal 47,5 %. Najmanj je bilo okuženo seme, pri katerem smo uporabili česen (20 %) in kamilico (17,5 %), najbolj pa je bilo okuženo seme, ki smo ga razkužili s sodo bikarbono (50 %). Ugotovili smo tudi, da je bila okuženost semen pri razkuževanju s 70 % etanolom manjša (22,5 %) kot pri 96 % etanolu (37,5 %) (Slika 3).



Slika 3: Odstotek okuženih semen po razkuževanju z naravnimi sredstvi

3.4 Kalivost semen

Analiza kalivosti semen brez ali s poprhom po razkuževanju je pokazala, da smo v kontrolnem vzorcu dosegli 75 % kalivost. Najboljšo kalivost smo dosegli pri razkuževanju s česnom in neem tonikom (82,5 %). Boljšo kalivost od kontrolnega vzorca smo dosegli tudi pri uporabi pripravka iz kamilice ter s sodo bikarbono (77,5 %). Kalivost semen po razkuževanju s pripravki timijana, materine dušice, etanola in še posebej z mlekom je bila manjša od kalivosti kontrolnega vzorca (manj kot 75 %). Kalivost semen po razkuževanju s pripravkom iz čebule in žajblja je bila primerljiva kontrolnemu vzorcu (72,5 %) (Slika 4).



Slika 4: Kalivost semen glede na sredstvo za razkuževanje

4 Razprava

Na koreninah paradižnika se lahko razvijejo mikorizne glive, ki za samo rastlino niso škodljive, saj so z njo v simbiozi. Če seme ne kali, razvoj teh gliv ni mogoč. Na razvitih koreninah kalčkov smo opazili bel popr, ki je izrazito izstopal po teksturi, zato sklepamo, da so se mikorizne glive razvile istočasno s patogenimi glivami. Pri semenih, ki smo jih preizkušali, se je enaka plesen razvila tako pri semenih, ki so kalila, kot tudi pri semenih, ki niso kalila. Sklepamo, da glive, ki so se razvile, niso bile koristne mikorizne glive, zato ni bilo mogoče raziskati, ali razkuževanje z naravnimi sredstvi škoduje razvoju mikoriznih gliv. Po pregledu literature (Jeršek, 2014) smo ugotovili, da glavni del plesni predstavljajo velike puhaste kolonije. Morfološko značilne so spore in sporangiji, ki so vidni pod mikroskopom. S pomočjo morfološke primerjave sporangijev in sporangioforov smo ugotovili, da je paradižnik dejansko okužen s plesnijo *Phytophthora infestans* L.

Rezultati raziskave so potrdili našo domnevo, da različni postopki razkuževanja vplivajo na stopnjo razkuženosti semen. To smo potrdili tudi pri uporabi različnih naravnih sredstev za razkuževanje. Ugotovili smo, da smo najboljše rezultate pri razkuževanju dosegli z uporabo pripravka iz česna, sledita pa mu neem tonik in poparek iz kamilice. Pri ostalih uporabljenih naravnih sredstvih smo ugotovili slabšo stopnjo razkuženosti semen.

Slovenski dobavitelji ekoloških semen morajo v skladu s Pravilnikom o trženju semena zelenjadnic (Uradni list RS, št. 8/05, 100/05, 66/07, 45/10 in 18/14) poskrbeti, da seme ni okuženo s patogenimi organizmi. Pravilnik tudi določa, da je lahko najmanjša kalivost paradižnika (*Lycopersicon esculentum*) 75 %. Navedeno pomeni, da smo v raziskavi zahtevi pravilnika glede kalivosti zadostili

zgolj v primeru razkuževanja s pripravki iz česna, kamilice, neem tonika in sode bikarbone. Rezultati raziskave so torej potrdili, da način razkuževanja vpliva na kalivost semen, saj smo ugotovili, da večja stopnja razkuženosti vpliva na boljšo kalivost semen.

5 Sklepi

V raziskavi smo ugotavljali učinkovitost naravnih sredstev za razkuževanje semen paradižnika *Solanum lycopersicum*, katerega najpogosteje okužuje gliva *Phytophthora infestans*. S pomočjo mikroskopa smo z morfološko analizo uvodoma opredelili glivično okužbo semen paradižnika (*Phytophthora infestans* L.), ki smo jih uporabili v raziskavi. Za razkuževanje semen smo uporabili več vrst naravnih sredstev. Ugotovili smo, da smo seme paradižnika najučinkoviteje razkužili s pripravkom iz česna in neem tonikom. Pripravki z mlekom, timijanom in materino dušico se v raziskavi niso izkazali kot učinkovita naravna sredstva za razkuževanje. Ugotovili smo tudi, da različni načini razkuževanja vplivajo na kalivost semen, saj se je izkazalo, da večja stopnja razkuženosti vpliva na boljšo kalivost semen. V raziskavi smo to še posebej ugotovili v primeru razkuževanja s pripravki iz česna, kamilice in neem tonika.

Literatura in viri

Agarwal, V. K. in Sinclair, J.B. *Principles of Seed Pathology*, Second Edition, CRC Press, 1996.

Bayer. <https://www.bayer.si/sl/bayer-novice/pregled-vseh-novic/100-let-inovacij-pri-tretiranju-semen.php> *100 let inovacij pri tretiranju semen*. 2015. (citirano 4. 1. 2015). Dostopno na naslovu: <https://www.bayer.si/sl/bayer-novice/pregled-vseh-novic/100-let-inovacij-pri-tretiranju-semen.php>.

Dorić., M. *Postopek razkuževanja semena* (online). 1993. (citirano 1. 6. 2015). Dostopno na naslovu: http://www.dvrs.bf.uni-lj.si/spvr/1993/12doric_93.pdf.

Förster, P. in Moser, G. *Status report on global neem usage*. Germany: Deutsche Gestellshaft für technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH, 2000.

Grünwald, N. J. in Flier, W. G. The Biology of *Phytophthora infestans* at Its Center of Origin. *Annual Review of Phytopathology*, 2005, 43, 171-190.

Jeršek, B. *Osnovni principi identifikacije plesni, kvasovk in bakterij v živilih*: Skripta in delovni zvezek za vaje pri predmetu živilska mikrobiologija (online). 2004. (citirano 1. 6. 2015). Dostopno na naslovu: http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2752/Skripta_ZM_2014.pdf.

Kotnik, K. *Razkuževanje semen paradižnika z naravnimi sredstvi, primernimi za ekološko pridelavo*: Diplomaska naloga višjega strokovnega izobraževanja. Strahinj, 2015.

Kraner, A., Horvat, A. Kakovostna sredstva za razkuževanje semena so v praksi nepogrešljiva. V: *Zbornik predavanj in referatov s 4. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin*, 1999, 33–36.

McGrath, M., et al. *Diseases of Vegetable Crops Caused by Seed-borne Pathogens* (online). 2014.

Pravilnik o trženju semena zeljenadic. *Uradni list Republike Slovenije*, 8 (2005), 100 (2005), 66 (2007), 45 (2010) in 18 (2014).

Pubchem: Open chemistry database. *Ethanol* (online). 2015. (citirano 1. 6. 2015). Dostopno na naslovu: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/702#section=Top>.

Pušenjak, M. *Moj ekovrt*. Ljubljana: Kmečki glas, 2010.

Pušenjak, M. *Zelenjavni vrt*. Ljubljana: Kmečki glas, 2014.

Schumann, G.L. in D'Arcy C. J. *Late blight of potato and tomato* (online). 2000. (citirano 1. 6. 2015).

Dostopno na naslovu:

<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/oomycetes/Pages/LateBlight.aspx>.

Van der Wolf, J.M., et al. Desinfection of vegetable seed by treatment with essential oils, organic acids and plant. *Seed science & technology*, 2008, 36, 76–88.

Watanabe, T. *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species*, Third Edition, CRC Press, 2010.