

Drėgno vandens garo poveikis paprastosios pušies fitopatologiniam užkrėstumui

Gerda Šilingienė, Regina Vasinauskienė

Aleksandro Stulginskio universitetas

2016 m. Aleksandro Stulginskio universiteto, Miško biologijos ir miškininkystės institute buvo tirta 100° C drėgno vandens garo įtaka paprastosios pušies (*Pinus Sylvestris*) sėklų fitopatologiniam užkrėstumui. Sėklos buvo veikiamos drėgnu vandens garu nuo 1 sek. iki 4 sek. Po poveikio buvo tiriamas fitopatologinis užkrėstumas sėklų aplinkoje. Ant garu nepaveiktų paprastosios pušies sėklų (kontrolė) dominavo *Aspergillus* (iki 62,51%), *Mucor* (iki 21,15%), *Fusarium* (iki 5,9%) ir kitų genčių grybai sudarė (10,44%). Nustatyta, kad drėgno vandens garo poveikis paprastosios pušies fitopatologiniam užkrėstumui efektyvumas priklauso nuo poveikio trukmės, t.y. ilginant poveikio garu trukmę patikimai mažėjo grybų skaičius. Po 4 sek. drėgno vandens poveikio *Mucor* ir *Fusarium*, bei kitų genčių grybai buvo visai sunaikinti, *Aspergillus* genties grybų sumžėjo iki 0,25%.

Drėgno vandens garo poveikis, fitopatologinis užkrėstumas, Pinus Sylvestris, sėklos

Ivadas

Sėklų fitopatologinis užkrėstumas turi didelę reikšmę sėklų kokybei. Susidarius palankioms sąlygoms, per sėklą plintantys *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* genčių grybai gali mažina sėklos dygimo energiją ir daigumą (Ruza et al., 2003), *Alternaria*, *Aspergillus*, *Rhizopus* spp. grybai – sėklų gyvybingumą, susilpnina augalo šaknų sistemą (Lacey et al., 1991), dygstant užterštoms *Alternaria* grybais sėkloms, jie gali pakenkti augantiems daigams (Thomma, 2003).

Sėklų fitopatologinės taršos mažinimui naudojami infraraudonieji spinduliai, aukštatemperatūrinė aplinka ir kt. (Forsberg et al., 2003). Aukštatemperatūrinė aplinka gali būti sukuriamą: paveikiant karštu oru (105° C) (Sinkevičienė ir kt., 2005) ir karštu vandeniu (Olvång, 2000). Sėkminga lobelijos sėklų dezinfekcija karštu vandens garu prieš *Alternaria* infekciją pateikė efektyvų, saugų aplinkai būdą sėklų mikrobiologiniam užterštumui mažinti (Hall, Taylor, 1983). Nuo 1990 m. Švedijoje šis būdas pradėtas taikyti javų sėkloms dezinfekuoti pramoniniu būdu (Lagerholm, 2003).

Lietuvoje 1962 m. prof. J. Krikščiūnas vienas iš pirmųjų aprašė terminius javų sėklų beicavimo bandymus panaudojant vandens garą. Šiam tikslui Lietuvos žemdirbystės institute buvo sukurtas terminis garo įrenginys, kuris buvo pritaikytas sėklų terminiam beicavimui. Kviečių pasėlis po sėklų apdorojimo karštu garu dulkančiosiomis kūlėmis (sukėlėjas *Ustilago tritici* (Pers.) Rostr.) buvo apsikrėtęs tik 0,04 %, o kontroliniame variante – 0,75 %. Be to, karštu garu apdoroti kviečiai buvo atsparesni rūdims (sukėlėjas *Puccinia graminis* Pers.) (Žuklienė, Žuklys, 1976). Išsamesni drėgno vandens garo tyrimai augalo aplinkoje pradėti 1994 m (Sirvydas et al., 2003). Tai atvėrė naujas teorines ir praktines ekologinės žemdirbystės galimybes, nes šiuo metu ekologinėje žemdirbystėje trūksta efektyvių ir našių metodų, kurie mažintų sėklos užterštumą mikroskopiniais grybais. Išlauginti sveiką, gyvybingą, ekologišką, neužkrėstą patogeniniais mikroorganizmais sėklą yra sudėtinga. Šiuo metu Lietuvos miškų sektoriuje keliama vis aukštesni reikalavimai cheminių preparatų naudojimui, ko pasekoje iškyla būtinybė ieškoti perspektyvių ir mažiausiai žalingų aplinkai fizinių priemonių, galinčių pakeisti chemines priemones ir biologinį beicą. Ekologinės augalų apsaugos priemonės ypatingai svarbios ir reikalingos.

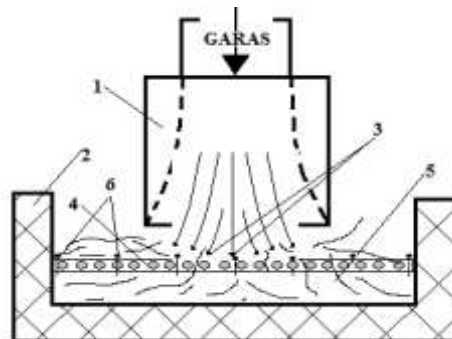
Darbo tikslas – ištirti 100° C drėgno vandens garo aplinkos poveikį, prie skirtingų trukmių įtaką paprastosios pušies (*Pinus Sylvestris*) sėklų fitopatologiniam užterštumui.

Tyrimo objektas – paprastosios pušies sėklos.

Metodika

Tyrimai atlikti 2016 m. Miško biologijos ir miškininkystės institute. Kiekvienas tyrimų variantas atliktas penkiais pakartojimais, imta po 100 paprastosios pušies sėklų.

Temperatūrinės aplinkos sukūrimui buvo naudojamas 100° C drėgnas vandens garas. Tyrimų stendas pavaizduotas 1 paveiksle.



1 pav. Paprastosios pušies sėklų poveikio 100° C drėgnu vandens garu tyrimų technologinė schema: 1 – garo sklaidiklis; 2 – termoizoliacinis paviršius; 3 – garo srautas; 4 – tinklinis maišelis su sėklomis; 5 – drėgno vandens garo aplinka, 6 – temperatūriniai jutikliai

Fig. 1. Research technological scheme of 100°C wet steam influence on Scots pine (*Pinus Sylvestris*): 1 – vapor-emitter; 2 – thermal insulated box; 3 – vapor flow; 4 – mesh bag with seeds; 5 – high temperature environment; 6 – temperature sensors

Siekiant tolygaus drėgno vandens garo poveikio sėkloms, kiekvienas pavyzdys pilamas į retą tinklinį maišelį (4) kuris pritvirtinamas prie termoizoliacinio paviršiaus (2) taip, kad garo srautas (3) per garo sklaidiklį (1), patektų į maišelį tolygiai paveikdamas sėklas. Garo sklaidiklis sujungtas su garo katilu, kuriame yra palaikomas pastovus 0,4 bar slėgis, kad išleidžiamo garo temperatūra būtų pastovi 99±1°C. Temperatūriniai jutikliai (6) fiksuoja temperatūrą.

Skirtinguose variantuose buvo tiriamas skirtingas drėgno vandens garo aplinkos išlaikymo laikas (0–4 sek.).

Tyrimo variantai: a – kontrolė, b – drėgno vandens garo aplinkos išlaikymo trukmė 1 sek.; c – išlaikymo trukmė 2 sek.; d – 3 sek.; e – 4 sek.

Sėklų fitopatologiniam užterštumui nustatyti, sėklos po terminio poveikio buvo išdėliotos po 100 vnt. į Petri lėkšteles su slyklo ekstrakto terpe (su antibiotiku chloramfenikoliu), pagaminta Nacionalinėje visuomenės sveikatos priežiūros laboratorijoje. Sėklų užterštumas grybais nustatytas pagal V. I. Bilai metodiką (Билай, 1982). Bandymas atliktas penkiais pakartojimais. Lėkštelės su sėklomis buvo inkubuojamos termostate $28 \pm 2^\circ \text{C}$ temperatūroje. Po 6 parų buvo atlikta grybų pradų (kolonijų) apskaita, identifikuojami ant kiekvienos sėklos išaugę grybai (pagal K. H. Domsch ir kt., 1980).

Gautų rezultatų patikimo skirtumo ribos apskaičiuotos naudojantis programa ANOVA.

Rezultatai ir jų aptarimas

Nustatyta, kad drėgno vandens garo aplinka ženkliai sumažina grybų pradų kiekį ant sėklų. Fungicidinis efektyvumas priklauso nuo poveikio trukmės. Ilginant poveikio garu trukmę patikimai mažėjo grybų pradų ir genčių įvairovės skaičius (1 lentelė; 2 pav.).

1 lentelė. Paprastosios pušies (*Pinus Silvestris*) sėklų fitopatologinio užterštumo kitimas drėgno vandens garo poveikyje

Table 1. Variation of mycological contamination of Scots pine (*Pinus Silvestris*) seeds by effecting of wet water vapor

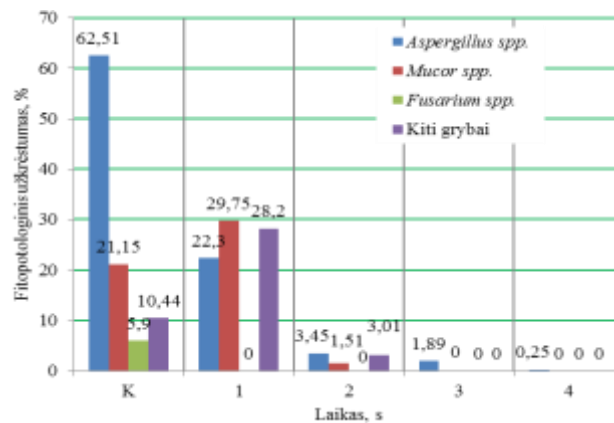
Varianto Nr. Variant No	Drėgno vandens garo aplinkos poveikio laikas, sek. Time of wet water vapor exposure, s	Fitopatologinis sėklų užkrėstumas, % Mycological contamination of seeds
1.	0 (kontrolė)	100
2.	1	80,25
3.	2	7,97*
4.	3	1,89*
5.	4	0,25*
	R_{05}	9,3

*esminis skirtumas, esant 95% tikimybės lygiui.

Ant paprastosios pušies sėklų vyravo: *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Fusarium* spp. (2 pav.). Ant 100°C drėgno vandens garu nepaveiktų sėklų (kontrolinis variantas) daugiausia buvo *Aspergillus* P. Micheli ex Haller (62,51%) ir *Mucor* Fresen. (21,15%) grybų kolonijų. *Fusarium* Link sudarė 5,9 % užterštų sėklų. Kitų genčių grybai identifikuoti ant 10,44 % sėklų, tai atsitiktinės genčių *Penicillium* spp., *Yarrowia* spp., *Umbelopsis* spp. rūšys bei *Mycelia sterilia*. Paprastosios pušies sėklų mėginių užterštumas nuo 100% (kontrolė) sumažėjo iki 0,25% (po 4 sek. apdorojimo drėgno vandens garu).

Dauguma rūšių grybų saprotrofų iš *Aspergillus* ir *Mucor* genčių yra atsparūs aplinkos poveikiams. *Aspergillus* gentis priklauso anamorfinių grybų grupei (*Anamorphic fungi*) ir yra biologiškai aktyvi mikroskopinių grybų gentis, galinti funkcionuoti įvairiomis klimato sąlygomis ir išgyventi veikiamą fizikinių ir cheminių veiksnių (Lugauskas, 1997). Kosmopolitai *Mucor* genties grybai aktyviai mineralizuoja organines medžiagas, jie dažnai aptinkami ant augalų vaisių ir sėklų

(Lugauskas, 1997). Šie grybai į drėgno vandens garo poveikį reagavo priklausomai nuo poveikio trukmės: kai kurių grybų sporas trumpalaikis stresas paskatino greičiau sudygti. Po 1 sek. drėgno vandens garo aplinkos poveikio padaugėjo 8,6% *Mucor* pradų skaičius sėklos aplinkoje lyginant su kontroliniu variantu. *Aspergillus* genties grybų kolonijų mažėjo didinant poveikio laiką, bet visiškai grybai nebuvo sunaikinti net po 4 sek. poveikio drėgnu vandens garu (2 pav.) išliko 0,25%. Tai galime teigti, kad *Aspergillus* genties grybai yra atsparūs temperatūriniais pokyčiams.



2 pav. Dažniausiai aptiktų grybų genčių pradų procentas paprastosios pušies sėklų aplinkoje po apdorojimo drėgnu vandens garu

Fig. 2. The percents of main fungi propagules origins in Scots pine (*Pinus Silvestris*) seeds environmental after treatment with wet water vapor.

Fusarium genties grybai yra vieni svarbiausių sėklų teršėjų ir toksininių junginių gamintojų (Mačkinaitė et al., 2006). Jie aktyviai ardo augalines liekanas, dažnai apninka ir gyvų augalų šaknis, sukeldami jų puvinius ir vytulius (Lugauskas, 1997). Bandyme su paprastosios pušies sėklomis aukštos temperatūros poveikiui jautriausi buvo *Fusarium* genties grybai, kurių sporų sunaikinimui užteko 1 sek. poveikio. Jei ateityje tyrimai patvirtis *Fusarium* ir kitų patogeninių grybų jautrumą 100°C drėgno vandens garo poveikiui, šis sėklų dezinfekcijos būdas gali būti naudojamas ekologinėje sėklų beicavime.

Išvados

1. 100°C drėgnu vandens garu paveikus paprastosios pušies sėklas fitopatologinis užterštumas sumažėjo nuo 100% (kontrolė) iki 0,25% (po 4 sek. apdorojimo drėgnu vandens garu).

2. Drėgno vandens garo aplinkos poveikis mikroskopiniams grybams priklausė nuo poveikio trukmės ir grybų genties. Ilgėjant poveikio trukmei, grybų pradų skaičius ant sėklų mažėjo iki visiško sunaikinimo. Grybai-saprotrofai (*Aspergillus* spp., *Mucor* spp.) drėgno vandens garo (100°C) aplinkos poveikiui atsparesni negu grybai-patogenai (*Fusarium* sp.).

Literatūra

- DOMSCH K. H., GAMS W., ANDERSON T. H. Compendium of Soil Fungi, 1. London, 1980.

2. FORSBERG G., KRISTENSEN L., EIBEL P., TITONE P., HARTL W. Sensitivity of cereal seeds to short duration treatment with hot, humid air. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 2003. Vol. 110(1), p.1–16.
3. HALL T.J., TAYLOR G.S. Aerated-steam treatment for control of *Alternaria tenuis* on lobelia seed. *Annals of Applied Biology*, 1983. Vol. 103, p. 219–228.
4. LAGERHOLM J. Värmebehandlat utsäde för sundare växtodling. Proceedings from the conference "Ekologiskt Lantbruk: Vågar, val, visioner". Uppsala, Sweden. 2003.
5. LACEY J., MAGAN N. Fungi in cereal grains: their occurrence and water and temperature relationships. In: J. Chelkowski. *Cereal Grain. Mycotoxins. Fungi and Quality in Drying and Storage*. Amsterdam. 1991. p. 77–118
6. LUGAUSKAS A. (sud.). Mikrobiologiniai medžiagų pažeidimai. Vilnius. 1997.
7. LUGAUSKAS A., KRASAUSKAS A.; REPEČKIENĖ J. Ekologiniai veiksniai, lemiantys mikromicetų paplitimą ant javų grūdų ir sojos sėklų. 2004. *Ekologija*. Nr. 2, p. 21–32.
8. MACĶINAITĖ R., KAČERGIUS A., LUGAUSKAS A., REPEČKIENĖ J. Cotamination of cereal grain by *Fusarium* and their mycotoxins under Lithuanian climatic conditions. 2006 *Ekologija*, Nr. 3, p. 71–79.
9. OLVÅNG H. Utsädesburna sjukdomar på jordbruksväxter. Jordbruksverket Jordbruksinformation 8. Kalmar Sund Tryck, Kalmar. 2000
10. RUZA A., LININA A., GAILE Z., Bankina B. Possibilities of long-term storage of cereal seeds. *Vagos*. 2003. Vol. 64(17). P. 72–76.
11. SINKEVIČIENĖ J., DABKEVIČIUS Z., VENSĶUTONIENĖ E. Žieminių kviečių sėklinių grūdų užkrėstumas mikromicetais. *LŽŪU Mokslo darbai. Biomedicinos mokslai*, Nr. 67(20), p. 31–36. 2005.
12. SIRVYDAS A., LAZAUSKAS P., VASINAUSKIENĖ R., KERPAUSKAS P. Thermal weed control by water steam. Proceedings of European Weed Research Society. 5th EWRS Workshop on Physical and Cultural Weed Control. Pisa, Italy. p. 253–262. 2003.
13. THOMMA B. P. H. J. *Alternaria* spp.: From general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*. 2003. Vol. 4(4). P. 225–236.
14. ŽUKLIENĖ R., ŽUKLYS L. Žemės ūkio fitopatologija. Vilnius. 1976.
15. БИЛАЙ В. И. (ред.). Методы экспериментальной микологии. Киев. 1982

Gerda Šilingienė, Regina Vasinauskienė

The influence of water steam to microscopic fungi of Scots pine (*Pinus Silvestris*) seeds environment

Summary

The influence of 100° C wet water steam on Scots pine (*Pinus Silvestris*) seeds mycological contamination was analyzed in Aleksandras Stulginskis university in 2016. The seeds were exposed to a wet water steam from 1 second to 4 seconds. Microscopic fungi where tested in the seed's environment after exposure. *Aspergillus* spp. (62.51%), *Mucor* spp. (21.15%), *Fusarium* (5.9%) and others fungi species (10.44%) were dominated on Scots pine (*Pinus Silvestris*) seeds which were not affected by the steam (control). It was found that the wet steam environmental efficiency depends on the duration of exposure, which means that lengthening of the wet steam exposure time surely decreased mycological contamination. After 4 seconds effect of wet water vapor *Mucor* spp. and *Fusarium* spp. were destroyed, and *Aspergillus* spp. decreased to 0.25%

Wet water steam, microscopic fungi, Pinus Silvestris, seeds

Gauta 2017 m. kovo mėn., atiduota spaudai 2017 m. balandžio mėn.

Gerda ŠILINGIENĖ. Aleksandro Stulginskio universiteto Miškų ir ekologijos fakulteto Miškų biologijos ir miškininkystės instituto lektorė, (Miškotyros) mokslų daktarė. Studentų g.11, LT-53361 Akademija, Kauno raj. Tel. (8 689) 17160, el. paštas: gerda.silingiene@asu.lt

Gerda ŠILINGIENĖ. Aleksandras Stulginskis University, Faculty of Forestry and ecology, Institute of Forest Biology and Silviculture, lector., doctor of forestry science. Address: Studentu 11, LT-53361 Akademija, Kaunas distr. Tel (8 689) 17160, e-mail: gerda.silingiene@asu.lt

Regina VASINAUSKIENĖ. Aleksandro Stulginskio universiteto Miškų ir ekologijos fakulteto Miškų biologijos ir miškininkystės instituto vyresnė mokslo darbuotoja, (technikos) mokslų daktarė. Studentų g.11, LT-53361 Akademija, Kauno raj. Tel. (8 615) 23684, el. paštas regina.vasinauskiene@asu.lt

Regina VASINAUSKIENĖ. Aleksandras Stulginskis University, Faculty of Forestry and ecology, Institute of Forest Biology and Silviculture, senior research, doctor of technology sciences. Address: Studentu 11, LT-53361 Akademija, Kaunas distr. Tel (8 689) 17160, e-mail: regina.vasinauskiene@asu.lt