Patogeniczne grzyby zasiedlające nasiona lubinu wąskolistnego

BOGDAN NOWICKI

Katedra Fitopatologii, Wydział Ogrodniczy, SGGW,
Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa

(Otrzymano dn. 28.08.1995)

B. N o w i c k i (Department of Plant Pathology, Warsaw Agricultural University, Nowoursynowska 166, 02-787 Warsaw, Poland). Acta Agrobotanica 48 (2): 59-64, 1995. *Patogenic fungi associated with blue lupine seeds.*

A b s t r a c t

Over 10 % of seeds harvested in 1991 and 1992 (50 samples, 400 seeds in each sample) proved to be infested with various fungi. *Fusarium* spp. and *Botrytis cinerea* were the most common pathogens isolated. *Fusarium avenaceum* was the most common and highly pathogenic species. *Fusarium semitectum* and *F. tricinctum* were highly pathogenic to lupin seedlings but they were the least common *Fusarium* isolated from seeds. Similarly, *Sclerotinia sclerotiorum* was isolated only from 0.2 % seeds tested but this fungus was highly pathogenic to lupin seedlings. Some other fungi known as lupin pathogens (*F. oxysporum*, *Stemphylium botryosum*, *Pleiochaeta setosa* and *Phomopsis leptostromiformis*) were also noted in tested seeds.

WSTĘP

Lubin wąskolistny (*Lupinus angustifolius* L.) jest bardzo wartościową rośliną pastewną. Jego nasiona zawierają ponad 30 % wysokiej jakości białka. Wymagania środowiskowe tego gatunku są niższe niż wymagania innych roślin motylkowych użytkowanych na pasze.

Z tego też względu powierzchnia uprawy tej rośliny stale wzrasta. Z drugiej jednak strony obserwacje upraw lubinu wąskolistnego prowadzone przez autora oraz wcześniejsze badania F i l i p o w i c z a (1989) wskazują, że gatunek ten jest silniej porażany przez różne patogeny roślin niż np. lubin żółty.

Z nasionami łubinu może być przenoszonych wiele grzybów pasożytniczych. Powszechnie przenoszą się w ten sposób grzyby z rodzaju *Fusarium*, a także *Botrytis cinerea* i *Sclerotinia sclerotiorum* (Filipowicz i Wagner, 1987; Filipowicz, 1989). Ważnymi patogenami porażającymi nadziemne części roślin łubinu wąskolistnego są *Stemphylium botryosum* i *Pleiochaeta setosa* (Zgórkiewicz i Staniszevska, 1987; Staniszevska, 1990). *P. setosa* zasiedla też nasiona łubinu wąskolistnego (Ostaszewski, 1960) i łubinu białego (Pulitz i Atlin, 1992). Nasiona łubinu mogą też być powszechnie zasiedlane przez grzyby z rodzaju *Phoma* (Faluży i in., 1993). Mając na uwadze to, że z jednej strony nasiona są ważnym źródłem patogenów, a z drugiej strony źródło to stosunkowo łatwo można wyeliminować i tym samym znacznie podnieść zdrowotność upraw, podjęto badania mające na celu poznanie patogenicznych gatunków grzybów zasiedlających nasiona łubinu wąskolistnego.

MATERIAŁ I METODY

Próby nasion łubinu wąskolistnego odmiany Emir pochodzące ze zbiorów w 1991 i 1992 roku z terenów woj. warszawskiego i ciechanowskiego uzyskano ze Stacji Oceny Nasion. Badano po 25 prób nasion z każdego roku pobierając z każdej partii po 400 nasion do szczegółowych testów. Nasiona odkażano powierzchniowo (5 minut w 0,5 % roztworze podchlorynu sodu) i wykładano po 25 sztuk do szalek Petriego wysłanych bibułą filtracyjną. Nasiona inkubowano w cieplarni o temperaturze 24°C aż do rozpoczęcia kiełkowania, kiedy to poddawano je przemrażaniu (15 godzin, -20°C w zamrażarce), po czym przenoszono ponownie do cieplarki. Oceny porażenia nasion dokonano po 10-12 dniach inkubacji przeglądając nasiona przy użyciu mikroskopu stereoskopowego. Widoczne na nasionach grzyby przenoszono do probówek na skosy z pożywki ziemniaczano-glukozowej (wyciąg z 50 g ziemniaków oraz 3 g glukozy i 18 g agaru w 1 dm³ pożywki). Kultury te przetrzymywano w warunkach temperatury pokojowej i doświetlano lampami fluorescencyjnymi.

Patogeniczność uzyskanych izolatów grzybów badano w doświadczeniu szklarniowym. Każdy uzyskany z nasion gatunek grzyba w doświadczeniu reprezentowały 3 izolaty. Do doniczek o średnicy 10 cm wypełnionych częściowo drobnoziarnistym piaskiem rzecznym wykładano kultury grzybów z szalek Petriego o średnicy 9 cm i przykrywano jednocentymetrową warstwą piasku. Następnie wysiewano po 20 odkażonych powierzchniowo nasion łubinu odm. Emir do każdej z doniczek, po czym wysiane nasiona przykrywano trzycentymetrową warstwą piasku. Każdy badany izolat grzyba reprezentowany był przez 5 doniczek. Do momentu wschodów pierwszych siewek doniczki przetrzymywano w kabinie szklarni, w której temperatura wynosiła 8-9°C, a później przenoszono je do kabiny, w której utrzymywano temperaturę 17-23°C. Ostatecznej oceny patogeniczności (procent porażonych siewek) dokonano, kiedy rośliny w kombinacji kontrolnej (doniczki bez kultur grzybów) wytworzyły po 5 liści.

WYNIKI

Ogółem przebadano 20 tys. nasion łubinu wąskolistnego odmiany Emir reprezentujących 50 prób. Z nasion tych uzyskano ponad 3 tys. izolatów grzybów, z których 2150 okazało się izolatami grzybów patogenicznych w stosunku do siewek łubinu. Ponad 10 % nasion okazało się zasiedlonych przez patogeniczne grzyby (tabela 1). Nie zaobserwowano zależności pomiędzy wyglądem nasion a ich zasiedleniem przez grzyby. Stwierdzono natomiast, że próby nasion dobrze kiełkujących były słabiej porażone w porównaniu z próbami o niskiej zdolności kiełkowania.

Największy udział wśród grzybów izolowanych z zasiedlonych nasion miały gatunki z rodzaju *Fusarium*, które stwierdzono u prawie 6 % badanych nasion oraz *Botrytis cinerea*, którego izolaty uzyskano z ponad 3,5 % nasion (tabela 1). Pozostałe, patogeniczne dla siewek łubinu gatunki grzybów izolowano z nasion znacznie rzadziej. Grzyby z rodzaju *Phoma* oraz izolaty *Stemphylium botryosum* Wallr. stwierdzono na mniej niż 0,5 % badanych nasion, a grzyby *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de By, *Pleiochaeta setosa* (Kirchn) Hughes i *Phomopsis leptostromiformis* (Kühn) Bubak zasiedlały zaledwie 0,1-0,2 % badanych nasion (tabela 1).

Tabela 1 – Table 1

Patogeniczne grzyby uzyskane z nasion łubinu wąskolistnego
Pathogenic fungi isolated from blue lupine seeds

Nazwa grzyba Fungus species	Procent porażonych nasion Percent of infected seeds	Liczba porażonych nasion Number of infected seeds	Patogeniczność (% porażonych siewek) Pathogenicity (% of infected seedlings)
<i>Fusarium</i> spp.	5,8	1160	–
<i>Botrytis cinerea</i>	3,6	740	69
<i>Phoma</i> spp.	0,4	80	32
<i>Stemphylium botryosum</i>	0,4	80	plamistość liści leaves spots
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0,2	40	100
<i>Pleiochaeta setosa</i>	0,15	30	87
<i>Phomopsis leptostromiformis</i>	0,1	20	79
Ogółem	10,6	2150	–

Grzyby z rodzaju *Fusarium* stanowiły 54 % wszystkich uzyskanych z nasion patogenicznych izolatów (tabela 1). Najczęściej izolowanymi z nasion łubinu gatunkami *Fusarium* były *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. i *F. culmorum* (W. G. Smith) Sacc., których izolaty stanowiły ponad 30 lub prawie 30 % izolatów *Fusarium* spp. (tabela 2). Po około 10 % uzyskanych izolatów *Fusarium* spp. należało do gatunków *F. poae* (Peck.) Wollenw., *F. equiseti* (Corda) Sacc. i *F. oxysporum* Schlecht. emend. Snyd. et Hans. Pozostałe 3 gatunki – *F. solani* (Mart.) App. et Wollenw., *F. semitectum* Berk. et Rav. i *F. tricinctum* (Corda) Sacc. – izolowano znacznie rzadziej (tabela 2).

Tabela 2 – Table 2

Gatunki *Fusarium* uzyskane z nasion łubinu wąskolistnego i ich patogeniczność
Fusarium isolated from blue lupine seeds and their pathogenicity

Nazwa gatunku <i>Fusarium</i> <i>Fusarium</i> spp.	Procentowy udział Percent of <i>Fusarium</i> population	Patogeniczność (% porażonych siewek) Pathogenicity (% of infected seedlings)
<i>F. avenaceum</i>	35,0	100
<i>F. culmorum</i>	29,2	84
<i>F. poae</i>	10,5	83
<i>F. equiseti</i>	9,6	76
<i>F. oxysporum</i>	9,4	20
<i>F. solani</i>	2,8	67
<i>F. semitectum</i>	1,9	100
<i>F. tricinctum</i>	1,6	100

Najsilniej patogenicznymi w stosunku do siewek łubinu wąskolistnego okazały się *F. semitectum* i *F. tricinctum* (tabela 2). Grzyby te powodowały zgorzel przedwchodową, niszcząc kielki i powodując całkowity brak wschodów. Silnie patogeniczne były też grzyby *F. avenaceum* (tabela 2) i *Sclerotinia sclerotiorum* (tabela 1), powodujące przedwchodową lub późniejszą zgorzel u wszystkich siewek. Grupę mniej, choć również dość silnie patogenicznych grzybów stanowiły *Phomopsis leptostromiformis*, *Pleiochaeta setosa*, *Botrytis cinerea* i 4 gatunki *Fusarium* – *F. culmorum*, *F. poae*, *F. equiseti* i *F. solani* – które spowodowały zgorzel od 67 do 84 % siewek (tabele 1 i 2). Słabo patogeniczne okazały się *F. oxysporum* (tabela 2) i grzyby z rodzaju *Phoma* (tabela 1).

Występujący na nasionach grzyb *Stemphylium botryosum* nie wywoływał wprawdzie zgorzeli siewek, ale był patogeniczny dla roślin łubinu wąskolistnego i powodował plamistości liści.

Z badanych nasion często izolowano również grzyby *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler i *Penicillium* spp., a rzadziej inne gatunki – *Aspergillus* spp., *Chaetomium* spp., *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries, *Epicoccum purpurascens* Ehrenb. ex Schlecht., *Gonatobotrys* spp., *Mucor* spp., *Trichotecium roseum* (Pers.) Link ex S. F. Gray i *Ulocladium* spp. – z których żaden nie wykazał patogeniczności w stosunku do siewek łubinu.

DYSKUSJA

Przeprowadzone badania wykazały, że nasiona łubinu wąskolistnego są zasiedlane przez liczne gatunki grzybów, z których część nie jest wprawdzie patogeniczna, natomiast inne są poważnymi patogenami nasion, siewek i starszych roślin. Gatunki z rodzaju *Fusarium* stanowiły ponad 54 % uzyskanych izolatów

grzybów patogenicznych dla łubinu, co potwierdza wyniki uzyskane wcześniej przez Filipowicz i Wagner (1987, 1988, 1989) oraz przez Filipowicz a (1989). Co więcej określony tu skład gatunkowy grzybów z rodzaju *Fusarium* był bardzo zbliżony do składu gatunkowego w cytowanych wyżej pracach. W prezentowanych badaniach stwierdzono obecność *F. tricinctum* na niewielkiej liczbie nasion. Grzyb ten nie był dotychczas notowany w Polsce na nasionach łubinu. Jest on bardzo podobny do *F. sporotrichoides* i może być z tym gatunkiem mylony. Poprawna identyfikacja *F. tricinctum* jest o tyle ważna, że grzyb ten, choć stosunkowo rzadko występujący, okazał się silnym patogenem siewek łubinu. Inne, drobne różnice w nasileniu występowania różnych gatunków z rodzaju *Fusarium* na nasionach łubinu pomiędzy obecnie uzyskanymi wynikami a wynikami Filipowicz i Wagner (1987, 1988, 1989) oraz Filipowicz a (1989) z pewnością wynikają z warunków lokalnych lub też różnic w kształtowaniu się warunków środowiska. Słabym patogenem siewek łubinu okazał się grzyb *F. oxysporum*. Trzeba jednak pamiętać, że grzyb ten jest ważnym patogenem naczyniowym i może być najważniejszym, spośród gatunków *Fusarium*, patogenem łubinu (Filipowicz i Wagner, 1989).

Z innych, poza *Fusarium* spp., grzybów stwierdzonych na nasionach łubinu na uwagę zasługują *Sclerotinia sclerotiorum* i *Botrytis cinerea*, które okazały się groźnymi patogenami siewek nie tylko w relacjonowanych tu badaniach, ale i we wcześniejszych pracach (Filipowicz i Wagner, 1987; Filipowicz, 1989). Grzyb *Pleiochaeta setosa* opisywany wcześniej na nasionach łubinów (Ostaszewski, 1960; Paulitz i Atlin, 1992) był dość patogeniczny dla siewek choć w dotychczasowych badaniach w Polsce okazywał się raczej patogenem nadziemnych części roślin łubinu, podobnie jak *Stemphylium botryosum* (Zagórkiewicz i Staniszevska, 1987; Staniszevska, 1990). Nie zidentyfikowano wyizolowanych z 0,4 % nasion łubinu gatunków grzybów z rodzaju *Phoma*. Grzybom tym warto poświęcić w przyszłości więcej uwagi ze względu na to, że notowane są na nasionach łubinu i w innych krajach (Falużyński, 1993), i są patogeniczne dla siewek. Słabo natomiast patogeniczny dla siewek i rzadko izolowany z nasion był grzyb *Phomopsis leptostromiformis*. Jest to groźny patogen łubinów, w tym i łubinu wąskolistnego (Kochmani i Kubicka, 1974), a nasiona mogą stanowić źródło jego infekcji.

Na badanych nasionach stwierdzono także liczne grzyby, które nie były patogenami siewek łubinu wąskolistnego. Wśród gatunków tych uwagę zwracają *Alternaria alternata* oraz *Penicillium* spp. ze względu na dość powszechne występowanie i potencjalne zagrożenie. Grzyby te bywają patogenami roślin, w tym nasion i siewek.

Streszczenie

Stosując test bibułowy przebadano 50 prób nasion łubinu wąskolistnego. Nasiona pochodziły ze zbiorów w 1991 i 1992 r. Patogeniczność uzyskanych izolatów badano w warunkach szklarniowych, w czystym piasku. Stwierdzono, że 10,6 % badanych nasion było porażonych przez grzyby patogeniczne.

Najwięcej nasion zasiedlały grzyby z rodzaju *Fusarium* – 5,8 % i *Botrytis cinerea* – 3,6 %. Inne patogeny występowały w mniejszym nasileniu. *Phoma* spp. i *Stemphylium botryosum* – 0,4 %, *Sclerotinia sclerotiorum* – 0,2 %, *Pleiochaeta setosa* – 0,15 % i *Phomopsis leptostromiformis* – 0,1 %.

Stwierdzono występowanie następujących gatunków *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. solani*, *F. semitectum* i *F. tricinctum*. Najpowszechniej występowały *F. avenaceum* i *F. culmorum*. Silnie patogenicznymi były *F. semitectum* i *F. tricinctum*, które powodowały zgorzel przedwchodową i całkowity brak wschodów, oraz *F. avenaceum* i *Sclerotinia sclerotiorum*, które poraziły wszystkie siewki.

LITERATURA

- Faluyi M. A., Mather D. E., Atlin G. N., Merrick L. and Paulitz T. C., 1993. Field evaluation of seed, pod and stem rot in white lupine germ plasm. *Plant Dis.* 77: 926-929.
- Filipowicz A., Wagner A., 1987. Mikoflora nasion łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) uprawianego na terenie Polski. *Biul. IHAR* 163: 149-156.
- Filipowicz A., Wagner A., 1988. Pathogenic mycoflora of *Vicia fabae* var. *minor*, of *Lupinus albus*, of *Lupinus angustifolius* and of *Lupinus luteus* cultivated in Poland. *Annales ANPP* (Second International Conference on Plant Diseases), t. 2: 1015-1022.
- Filipowicz A., Wagner A., 1989. Występowanie fuzarioz łubinu w południowo-wschodniej Polsce. *Biul. IHAR* 170: 39-48.
- Filipowicz A., 1989. Mikoflora nasion łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.) i łubinu białego (*L. albus* L.) uprawianego w Polsce. *Biul. HRiN* 5-6: 11-14.
- Kochman J., Kubicka H., 1974. Agresywność i patogeniczność *Phomopsis leptostromiformis* (Kühn) Bubak i rozwój procesu chorobowego powodowanego przez ten grzyb. *Acta Agrobot.* 27: 5-17.
- Ostaszewski S. A., 1960. Studies on seed-borne brown spot fungus in white lupine. *Phytopathology* 50: 577.
- Paulitz T. C. and Atlin G., 1992. First report of brown spot of lupines caused by *Pleiochaeta setosa* in Canada. *Plant Dis.* 76: 1185.
- Staniszewska H., 1990. Brązowa plamistość liści łubinu. *Ochr. Rośl.* 7: 4-6.
- Zagórkiewicz A., Staniszewska H., 1987. Występowanie chorób liściowych na łubinie wąskolistnym w regionie wielkopolski. *Ochr. Rośl.* 8: 5-7.