Grzyby występujące na nasionach rutwicy wschodniej (*Galega orientalis* Lam.)

BOŻENA CWALINA-AMBROZIAK, BARBARA MAJCHRZAK

Katedra Fitopatologii i Entomologii, UW-M, ul. Prawocheńskiego 17, 10-722 Olsztyn
University of Warmia and Mazury, Department of Phytopathology and Entomology,
ul. Prawocheńskiego 17, 10-722 Olsztyn. Fungi occurring on seeds of fodder galega
(*Galega orientalis* Lam.)

(Otrzymano: 20.09.2000)

Summary

Laboratory experiment were carried out to isolate fungi from the seeds of goat rue cultivated with and without fertilization. Additionally, kind of medium (PDA and mineral medium) and mean of preparation seeds, were factors differentiated number of fungi.

Species such as *Alternaria alternata* (51,6%) and *Botrytis cinerea* (20,4% of total colony) were isolated from seeds most frequently. From combination without fertilization 7,2% more isolates were obtained. Mineral medium and superficial disinfection of seeds had reducing influence on number of isolates.

Key words: seeds, fodder galega (*Galega orientalis* Lam.), pathogenic fungi, saprofitic fungi

WSTĘP

Rutwica wschodnia, obok takich roślin jak koniczyna i lucerna, należy do motylkowatych wieloletnich. Jako roślina alternatywna może być uprawiana z przeznaczeniem na paszę. Charakteryzuje się wysoką zawartością białka tak w części wegetatywnej jak i w nasionach. W okresie wegetacji na rutwicy wschodniej stwierdzono występowanie nielicznych chorób (C w a l i n a - A m b r o z i a k i in., 1999).

Nasiona roślin stanowią liczące się źródło patogenów. Z nasionami powszechnie są przenoszone grzyby z rodzaju *Fusarium*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* (F i l i p o w i c z, 1989; N o w i c k i, 1995). Poznanie zatem składu gatunkowego grzybów zasiedlających nasiona daje możliwość wyeliminowania ich, a zarazem podniesienia zdrowotności roślin.

Celem przeprowadzonych badań była ocena mikologiczna nasion rutwicy wschodniej.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono w latach 1997 – 1999 na obiekcie doświadczalnym Katedry Chemii Rolnej Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego, zlokalizowanym w Bałcynach na glebie kompleksu pszennego. Doświadczenie założono metodą losowanych bloków w czterech powtórzeniach. W badaniach fitopatologicznych uwzględniono kombinacje: bez nawożenia (kontrola) i z nawożeniem (dawka startowa N – 30 kg/ha – saletrzak magnezowy, P_2O_5 – 120 kg/ha – superfosfat, K_2 – 240 kg/ha – sól potasowa). Materiał badań stanowiły losowo pobrane dojrzałe nasiona, w ilości 400 sztuk z każdej kombinacji. Izolacje grzybów zasiedlających nasiona przeprowadzano na dwóch rodzajach pożywek; glukozowo-ziemniaczanej i mineralnej (Ł a c i c o w a, 1970). Z analizowanej próby nasion bezpośrednio na pożywkę wykładano 100 nasion – trzykrotnie płukanych w sterylnej wodzie, a pozostałe 100 nasion przed wyłożeniem dezynfekowano w 50% alkoholu etylowym i w sublimacie 0,01% po 30 sekund, po czym 3-krotnie płukano w sterylnej wodzie. Po 7-dniowym okresie inkubacji w temperaturze 22°C wyrosłe grzyby przeszczepiano na skosy agarowe, a następnie oznaczano do gatunków.

WYNIKI

Podczas badań laboratoryjnych z nasion rutwicy wschodniej otrzymano ogółem 1444 kolonii grzybów (tab. 1, 2 i 3). Liczebność izolatów w poszczególnych latach można określić jako średnią. Największą liczbę wyosobnień otrzymano w roku 1998 (42,3%) w stosunku do najuboższego 1997 (23,8% ogółu izolatów). Nie stwierdzono natomiast większych różnic w składzie gatunkowym grzybów. Najliczniej izolowany z nasion gatunek *Alternaria alternata* stanowił 51,6 % ogółu kolonii (rys.1). Pozostałe grzyby saprofityczne zasiedlające nasiona to: *Epicoccum purpurascens* (6,1%), *Cladosporium cladosporioides* (2,8%), *Rhizopus nigricans* (2,3%) oraz gatunki z rodzaju *Penicillium* (2,6%). Wśród grzybów patogenicznych duży udział w ogólnej liczbie izolatów stanowił gatunek *Botrytis cinerea* (20,4%). Zdecydowanie mniej wyosobniono grzybów z rodzaju *Fusarium* (3,2%), w obrębie którego zidentyfikowano następujące gatunki: najczęściej izolowane *F. culmorum* i *F. oxysporum* oraz nieliczne *F. avenaceum*, *F. equiseti* i *F. solani*. Sporadycznie występowały *Phoma medicaginis* i *Sclerotinia sclerotiorum*.

Tabela 1. Grzyby wyizolowane z nasion *Galega orientalis* w 1997 rokuTable 1. Fungi isolated from seeds of *Galega orientalis* in 1997

Grzyby Fungi	Pożywka glukozowo - ziemniaczana PDA					Pożywka mineralna Mineral medium				
	Nawożenie Fertilization		Bez nawożenia Without fertilization		Ogółem Total	Nawożenie Fertilization		Bez nawożenia Without fertilization		Ogółem Total
	Odkazane Disinfection	Nie odkazane No disinfection	Odkazane Disinfection	Nie odkazane No disinfection		Odkazane Disinfection	Nie odkazane No disinfection	Odkazane Disinfection	Nie odkazane No disinfection	
<i>Acremonium charticola</i> (Lindau) W. Gams	2	1	1		4	2	1	1		4
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	21	31	28	37	117	17	21	15	24	77
<i>Arthrinium sphaerospermum</i> Fuckel			1		1			1	2	3
<i>Ascochyta</i> spp.				1	1		1	1		2
<i>Aureobasidium pullulans</i> (De Bary) Arnaud	1				1	1	1	2	1	5
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	5	8	7	11	31	2	5	3	6	16
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	2				2		2	1	1	4
<i>Epicoccum purpurascens</i> Ehrenb. ex Schlecht.		2	2	1	5	3	2	4	3	12
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.				1	1					
<i>Fusarium culmorum</i> (W.G.Sm.) Sacc.				1	1		1			1
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht			1	1	2		2			2
<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom)		1	2		3	2	2	2	1	7
<i>Penicillium</i> spp.	2	1			3	1	3	1	1	6
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg	2			3	5	2	1	1		4
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary		2			2		1			1
<i>Trichocladium asperum</i> Harz		1			1					
Grzyby drożdżopodobne – Yeast – like fungi	1		2		3	1		3	4	8
Grzyby niezarodnikujące – Non sporulating fungi	2		1		3	1		1	3	5
Ogółem – Total	38	47	45	56	186	32	43	36	46	157

Tabela 2. Grzyby wyizolowane z nasion *Galega orientalis* w 1998 roku
Table 2. Fungi isolated from seeds of *Galega orientalis* in 1998

Grzyby Fungi	Pożywka glukozowo - ziemniaczana PDA					Pożywka mineralna Mineral medium				
	Nawożenie Fertilization		Bez nawożenia Without fertilization		Ogółem Total	Nawożenie Fertilization		Bez nawożenia Without fertilization		Ogółem Total
	Odkazane Disinfection	Nie odkazane No disinfection	Odkazane Disinfection	Nie odkazane No disinfection		Odkazane Disinfection	Nie odkazane No disinfection	Odkazane Disinfection	Nie odkazane No disinfection	
<i>Acremonium charticola</i> (Lindau) W. Gams	3		1		4		1			1
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	40	59	52	63	214	38	53	41	46	178
<i>Arthrinium sphaerospermum</i> Fuckel	1		1		2					
<i>Ascochyta</i> spp.	1	1	1		3		2			2
<i>Aureobasidium pullulans</i> (De Bary) Arnaud			1		1		1	1		2
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	4	11	12	19	46	1	8	11	17	37
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	6	1	3	1	11	1	1	2	1	5
<i>Epicoecum purpurascens</i> Ehrenb. ex Schlecht.	1	3		3	7	2	14	4	21	41
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.			1	2	3	1	1		1	3
<i>Fusarium culmorum</i> (W.G.Sm.) Sacc.			2	2	4				2	2
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht				1	1					
<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom)						1	1			2
<i>Penicillium</i> spp.	2	5		3	10	1		3	1	5
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg		7		2	9	1				1
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary				2	2			1		1
<i>Trichocladium asperum</i> Harz			1		1					
Grzyby drożdżopodobne – Yeast – like fungi	2	1			3		1	1		2
Grzyby niezarodnikujące – Non sporulating fungi	4		2		6	10		7	1	18
Ogółem – Total	64	88	77	98	327	56	83	71	90	292

Tabela 3. Grzyby wyizolowane z nasion *Galega orientalis* w 1999 roku
Table3. Fungi isolated from seeds of *Galega orientalis* in 1999

Grzyby Fungi	Pożywka glukozowo - ziemniaczana PDA				Pożywka mineralna Mineral medium					
	Nawożenie Fertilization		Bez nawożenia Without fertilization		Ogółem Total	Nawożenie Fertilization		Bez nawożenia Without fertilization		Ogółem Total
	Odkazane Disinfection	Nie odkazane No disinfection	Odkazane Disinfection	Nie odkazane No disinfection		Odkazane Disinfection	Nie odkazane No disinfection	Odkazane Disinfection	Nie odkazane No disinfection	
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	18	23	26	23	90	14	25	11	21	71
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) Arnaud	3	3		2	8	1	2	1	4	8
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	19	31	22	32	104	10	15	14	22	61
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	5	1	2	3	11		2	2	4	8
<i>Epicoccum purpurascens</i> Ehrenb. ex Schlecht	3	4	2	2	11	1	3		8	12
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.		1		1	2					
<i>Fusarium culmorum</i> (W.G.Sm.) Sacc.		1		3	4					
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht	1		3	3	7	1		2	1	4
<i>Fusarium poae</i> (Peck) Wollenweber			1	1	2		1		2	3
<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom)		1	2	2	5				1	1
<i>Penicillium</i> spp.		4		3	7		4		3	7
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg			7	3	10		2		2	4
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary			1	3	4		1		1	2
Grzyby drożdżopodobne – Yeast – like fungi	4	2	3	2	11	7	4	4	3	18
Grzyby niezarodnikujące – Non sporulating fungi				1	1	2		4		6
Ogółem – Total	53	71	69	84	277	36	59	38	72	205

Z nasion rutwicy uprawianej w kombinacji bez nawożenia otrzymano o 7,2% więcej kolonii grzybów w porównaniu z kombinacją z nawożeniem (rys. 2a). Częściej izolowano tutaj, tj. z uprawy bez nawożenia, potencjalnie patogeniczne gatunki z rodzaju *Fusarium* i *Botrytis cinerea*.

Rodzaj podłoża modyfikował liczebność zbiorowiska grzybów. Pożywka glukozowo-ziemniaczana sprzyjała rozwojowi grzybów, a wyrosłe na niej kolonie stanowiły 54,7% ogółu wyosobnień (rys. 2b). Uboga w składniki pokarmowe pożywka mineralna ograniczała występowanie grzybów z rodzaju *Botrytis*, *Fusarium*, *Alternaria* i *Rhizopus*.

Odkazanie nasion zmniejszyło ogólną liczebność kolonii grzybów. Największy spadek liczby izolatów w porównaniu z kombinacją bez odkazania był obserwowany w przypadku *Botrytis cinerea* i wynosił 4,3% (rys. 2c).

Rekapitułując, nie stwierdzono większych różnic w składzie gatunkowym grzybów uzyskanych w poszczególnych latach. Można to wytłumaczyć podobnymi warunkami meteorologicznymi w badanych sezonach wegetacyjnych. Natomiast zmiany w liczebności izolatów pomiędzy kombinacjami uwzględniającymi rodzaj uprawy, podłoża i sposób odkazania nasion, sugerują wpływ tych czynników na rozwój grzybów.

DYSKUSJA

Wyniki przeprowadzonych badań dowodzą liczne zasiedlenia nasion rutwicy przez grzyby. Do najczęściej izolowanych należały: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum purpurascens* oraz grzyby z rodzaju *Fusarium*. Określa się je mianem „grzybów polowych”. W literaturze znajdujemy doniesienia o powszechnym występowaniu tych grzybów na nasionach wielu roślin motylkowatych (S i m a y, 1994; M a r c i n k o w s k a, 1997; S a b e r i in., 1998; S i n h a i in., 1999). Do najliczniej izolowanych należał gatunek *Alternaria alternata*, który stanowił 51,6% ogółu izolatów. Grzyb ten uznawany jest jako słaby patogen. Według G r z e l a k (1977), grzyb *Alternaria alternata* wytwarzający metabolit alternariol, powoduje pogorszenie wartości siewnej nasion roślin motylkowatych.

Spśród grzybów potencjalnie patogenicznych o charakterze polifagicznym izolowano *Botrytis cinerea*, grzyby z rodzaju *Fusarium* i *Sclerotinia sclerotiorum*. Dominującym gatunkiem okazał się *Botrytis cinerea*, a jego udział wśród ogółu kolonii wynosił 20,4%. Grzyby z rodzaju *Fusarium* i *Sclerotinia sclerotiorum* wystąpiły nielicznie. Według F i l i p o w i c z a (1989) i N o w i c k i e g o (1995) grzyby te są przenoszone z nasionami. Także T r u s z k o w s k a i in. (1971) oraz N a r k i e w i c z - J o d k o i S c h n e i d e r (1983) z nasion koniczyny czerwonej najczęściej wyosobniały *Botrytis anthophila*, jak też gatunki *Alternaria alternata* i *Stemphylium botryosum*.

Grzyby z rodzaju *Penicillium* znane są ze względu na powszechne występowanie i duże właściwości enzymatyczne. W badaniach własnych otrzymano nieliczne izolaty tych grzybów.

LITERATURA

- Cwalina-Ambroziak B., Czajka W., Wojnowska T. 1999. Research on the health state of goats rue (*Galega orientalis* Lam.). Acta Acad. Agricult. Techn. Olst. Natur. Sc., No 2, 17-26.
- Filipowicz A. 1989. Mikoflora łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.) i łubinu białego (*L. albus* L.) uprawianego w Polsce. Biul. HRiN 5-6: 11-14.
- Grzelak K., 1977. Mykoflora i wartość siewna nasion konicyzny czerwonej (*Trifolium pratense* L.) w zależności od wilgotności środowiska. Hod. Rośl. Aklim. 21, 6: 537-574.
- Łacicowa B., 1970. Badania szczepów *Helminthosporium sorokinianum* (H. sativum) oraz odporności odmian jęczmienia jarego na ten czynnik chorobotwórczy. Acta Mycol., 2: 187-248.
- Marcinkowska J. 1997. Micromycetes on *Pisum sativum* var. *arvense*. Acta Mycol., 32: 31-39.
- Narkiewicz-Jodko M., Schneider J. 1983. Wartość siewna i mikoflora nasion roślin motylkowatych w czasie pięcioletniego przechowywania. I. Nasiona konicyzny czerwonej. Hod. Rośl. Aklim. 23 (5/6): 51-60.
- Nowicki B. 1995. Patogeniczne grzyby zasiedlające nasiona łubinu wąskolistnego. Acta Agrobot. 48: 59-64.
- Saber S.M., Aboul-Nasr M.B. El-Maghaby. 1998. Contamination of pea (*Pisum sativum* L.) seeds by fungi and mycotoxin. African Journal 6: 53-64.
- Simay E.I. 1994. Survey of fungi observable on seeds of faba bean germinating on blotter. FABIS-Newsletter, 34-35: 29-36.
- Sinha A., Singh S.K., Qaisar J. 1999. Seed mycoflora of French bean and its control by means of fungicides. Tropenlandwirt. 100: 59-67.
- Truszkowska W., Piekarska J., Pietruszka B. 1971. Obserwacje wartości siewnej nasion niektórych odmian konicyzny czerwonej. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 113: 329-341.

Grzyby występujące na nasionach rutwicy wschodniej (*Galega orientalis* Lam.)

Streszczenie

Przeprowadzone badania laboratoryjne dotyczyły izolacji grzybów zasiedlających nasiona rutwicy wschodniej uprawianej w kombinacji z nawożeniem i bez nawożenia. Dodatkowo czynnikami różnicującymi liczebność grzybów były: rodzaj podłoża (pożywka glukozowo-ziemniaczana i mineralna) oraz sposób przygotowania materiału (nasiona odkażane i nie odkażane).

Do najczęściej izolowanych z nasion należały gatunki: *Alternaria alternata* (51,6%) i *Botrytis cinerea* (20,4% ogółu wyosobnień). Z kombinacji bez nawożeniem otrzymano o 7,2% izolatów więcej. Pożywka mineralna i proces odkażania nasion miały redukujący wpływ na liczbę izolatów.

Rys. 1. Grzyby wyizolowane z nasion *Galega orientalis* (Lam.)

Fig. 1. Fungi isolated from seeds of *Galega orientalis* (Lam.)

a. od rodzaju uprawy - kind of cultivation

b. rodzaj podłoża - kind of medium

c. od sposobu powierzchniowego odkażania nasion - surfacing disinfection of seeds

Rys. 2. Procent grzybów wyizolowanych z nasion *Galega orientalis* (Lam.) w zależności:
 Fig. 2. Percentage of fungi isolated from seeds of *Galega orientalis* (Lam.) in relation to: