**Grzyby zasiedlające nadziemne organy roślin rutwicy wschodniej
(*Galega orientalis* Lam.) uprawianej w siewie czystym
i w mieszance ze stokłosą bezostną (*Bromus inermis* Leyss.)**

BOŻENA CWALINA-AMBROZIAK¹, JÓZEF KOC²

¹Katedra Fitopatologii i Entomologii, UW M,

²Katedra Melioracji i Kształtowania Środowiska,

Cwalina Ambroziak B., Koc J. (¹Department of Phytopathology and Entomology,
University of Warmia and Mazury, Licznarskiego 4, 10 722 Olsztyn, Poland;

²Department Land Reclamation and Environmental Management,

University of Warmia and Mazury, Plac Łódzki 2, 10 719 Olsztyn, Poland)

Fungi colonising the above ground parts of fodder galega (*Galega orientalis* Lam.)
cultivated in pure sowing and mixed with smooth brome grass (*Bromus inermis* Leyss.)

Otrzymano: 22.09.2004

S u m m a r y

Field experiments were carried out in 1999-2001 in the experimental field in Knopin near Dobre Miasto to determine the intensity of fodder galega diseases cultivated in pure sowing and mixed with smooth brome-grass (the Hillstrand and Auld's modified scale, 1982). The fungi colonising the phyllosphere of fodder galega were analysed in a laboratory (Chruściak, 1974).

The following symptoms were observed in fodder galega: ascochyta blight (*Ascochyta* sp.), gray mould (*Botrytis cinerea*) and plant wilting (*Fusarium oxysporum*). The climatic conditions had an effect on the development of diseases. The greatest intensity of gray mould ($I_i = 24.3\%$) and plant wilting (17.9% of plants with the disease symptoms) were observed in 2001. Ascochyta blight occurred with the lowest intensity and the highest infection index in 1999 in the cultivation of fodder galega mixed with smooth brome-grass was only 12.1%.

The type of cultivation also modified fodder galega disease intensity. Gray mould and plant wilting developed better in pure sowing than in mixed sowing with smooth brome-grass. Throughout the entire experiment period the average infection index was 22.8% and 15.9% of plants with the wilt symptoms. Ascochyta blight found better conditions for development in plants cultivated in a mix with smooth brome-grass (average infection index 10.0%).

The fodder galega phyllosphere provided 4149 fungal isolates represented by 17 species and yeast-like fungi. Yeast-like fungi dominated (75.6% of the total isolates). The following species were less numerous: *Botrytis cinerea*, *Humicola brevis*,

Acremonium strictum and *Cladosporium cladosporioides*. From the leaves of fodder galega cultivated in pure sowing, 3.8% more fungi were obtained than from the leaves of plants cultivated with a mix of smooth brome-grass, including more frequently isolated pathogenic fungi representing the genera of *Fusarium* and the species of *Botrytis cinerea*.

Key words: fodder galega, phyllosphere, kind of cultivation, disease, fungi

WSTĘP

Rutwica wschodnia (*Galega orientalis* Lam.), motylkowata drobnonasienna roślina wieloletnia, charakteryzuje się dużą odpornością na choroby (Valkonen, 1993; Kögler, Spaar, 1996). Badania nad zdrowotnością tej rośliny prowadzone w olsztyńskim ośrodku naukowym (Cwalina-Ambroziak i in., 1999) dowiodły występowania na rutwicy nielicznych chorób. Dodatkowo autorzy stwierdzili, że nawożenie mineralne różnicowało porażenie rutwicy przez patogeny. Wyniki późniejszych badań (Cwalina-Ambroziak, Majchrzak, 2000) dostarczyły informacji o zasiedleniu środowiska glebowego rutwicy przez patogeniczne grzyby z rodzaju *Fusarium*, *Phoma* i *Rhizoctonia*. Uprawa rutwicy w kombinacji z nawożeniem sprzyjała rozwojowi saprotroficznych grzybów z rodzaju *Trichoderma* i *Gliocladium*, uznawanych w literaturze (Łacikowa, 1988) za antagonistów patogenów. Z innych doniesień naukowych (Kowalik, 1997; Mikołajska, Majchrzak, 1988) dowiadujemy się o korzystnym wpływie uprawy roślin motylkowatych drobnonasiennych, takich jak lucerna i koniczyna, w mieszance z trawami na zdrowotność roślin oraz na wzrost plonu.

Celem pracy było uzyskanie odpowiedzi na pytanie, jak uprawa rutwicy w siewie czystym i w mieszance ze stokłosą bezostną wpływa na jej porażenie przez patogeny oraz na strukturę zbiorowiska grzybów fytosfery.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono w latach 1999-2001 na polu doświadczalnym w Kniepinie koło Dobrego Miasta. Materiał badań stanowiła rutwica wschodnia uprawiana w siewie czystym i w siewie mieszanym ze stokłosą bezostną ($15\text{-}20\text{ kg} + 10\text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$). W okresie wegetacji przeprowadzono ocenę nasilenia chorób rutwicy na 30 roślinach w czterech punktach wzdłuż przekątnej pola. Nasilenie askochytozy i szarej pleśni szacowano według zmodyfikowanej skali Hillstranda i Aulda (1982), a wyniki przedstawiono w postaci indeksu porażenia. Rośliny z objawami więdnienia wykazano w procentach porażonych roślin.

W laboratorium dokonano analizy zbiorowiska grzybów z górnych i dolnych liści rutwicy wschodniej z obydwu kombinacji. Materiał roślinny pobierano w okresie przed zawiązywaniem strąków. Izolacje grzybów przeprowadzono według metodyki Chruściak (1974). Z nasadowej części liści wycinano fragmenty o powierzchni

1cm², które następnie wytrząsano w kolbach zawierających po 200 ml sterylnej wody. Z tak przyrządzonej zawiesiny pobierano po 0,2 ml do płytek Petriego i zalewano płynną pożywką PDA z różem bengalskim i streptomycyną. Grzyby wyrosłe po 7-dniowym okresie inkubacji w temperaturze 22°C, przeszczepiano na skosy agarowe celem późniejszej identyfikacji gatunkowej według kluczy: Arx, 1970; Booth, 1971; Ellis, 1971; Nelson i in., 1983. Liczbę koloni grzybów drożdżopodobnych policzono.

WYNIKI

Na rutwicy wschodniej wystąpiły następujące choroby: askochytoza (*Ascochyta* sp.), szara pleśń (*Botrytis cinerea*) oraz więdnienie roślin (*Fusarium* spp.). Zaobserwowano najsilniejsze objawy szarej pleśni i więdnienia roślin. Największe porażenie przez *Botrytis cinerea* 24% stwierdzono na rutwicy uprawianej w siewie czystym w 1999 i 2001 roku (tab. 1). Istotnie mniejsze porażenie 17,5% zanotowano w 2000 roku. Najbardziej wyraźne objawy więdnienia roślin spowodowane infekcją grzybami z rodzaju *Fusarium* wystąpiły także na rutwicy w siewie czystym. Największy procent więdnących roślin 17,9 stwierdzono w 2001 roku, z istotną różnicą do wartości zanotowanych we wcześniejszych latach badań. Spośród badanych chorób askochytoza rozwinęła się najslabiej, a porażenie roślin nie przekraczało 10%, jedynie w pierwszym roku badań indeks porażenia zanotowany na rutwicy uprawianej w mieszance ze stokłosą bezostną osiągnął wartość 12,1%.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że rodzaj uprawy miał wpływ na porażenie rutwicy wschodniej przez patogeny. Analiza średnich z całego okresu badań jest potwierdzeniem wyników w kolejnych latach. Wyższy indeks porażenia przez *Botrytis cinerea* (22,8%) oraz większy procent więdnących roślin (15,9) otrzymano w uprawie rutwicy w siewie czystym (rys. 1). Nieznacznie większe nasilenie askochytozy ($I_p = 10\%$) zanotowano na rutwicy w uprawie ze stokłosą bezostną.

Podczas badań laboratoryjnych z liści rutwicy uprawianej w obydwu kombinacjach otrzymano 995 izolatów, reprezentowanych przez 17 gatunków, 18 kultur niezarodnikujących oraz 3136 kolonii grzybów drożdżopodobnych (tab. 2). Grzyby drożdżopodobne stanowiły dominującą grupę wśród wyosobnień (75,6% ogółu wyosobnień). Zdecydowanie mniej licznie wystąpiły gatunki grzybów saprotroficznych takich jak: *Cladosporium cladosporioides* (7,3%), *Humicola brevis* (4,7%), *Acremonium strictum* (3,7%) i *Alternaria alternata* (1,6%). Grzyby patogeniczne miały nieznaczny udział wśród ogółu izolatów zasiedlających liście rutwicy; *Botrytis cinerea* (1,8%) i grzyby z rodzaju *Fusarium* (0,7%). Te ostatnie były reprezentowane przez 3 gatunki: *F. avenaceum*, *F. fusarioides* i *F. poae*.

Z liści rutwicy uprawianej w siewie czystym otrzymano o 3,8% więcej izolatów niż z rutwicy w siewie mieszanym. Liczniej wyosobniano patogeniczny gatunek *Botrytis cinerea* i grzyby z rodzaju *Fusarium*.

Większą liczebność kolonii grzybów stwierdzono na liściach dolnych w porównaniu z górnymi; tak w kombinacji w siewie czystym rutwicy (54,1% ogółu izolatów), jak i ze stokłosą bezostną (51,6%). Grzyby drożdżopodobne częściej kolonizo-

Tabela 1. Porażenie rutwy wschodniej przez grzyby patogeniczne
Table 1. Infestation of fodder galega by pathogenic fungi

Choroba Disease Pathogen	Lata badaD Years of investigation								
	1999		2000		2001				
	Siew czysty Pure sowing	Siew mieszany Mixed sowing	Zrednio Mean	Siew czysty Pure sowing	Siew mieszany Mixed sowing	Zrednio Mean	Siew czysty Pure sowing	Siew mieszany Mixed sowing	Zrednio Mean
Indeks choroby w % Disease index in %									
<i>Ascochyta</i> sp. Aschochytoza	10,3	12,1	11,2	8,0	9,9	9,0	9,4	8,3	8,9
NIR _(0,05) LSD _(0,05)	cz. I rodzaj uprawy cz. II lata		factor I kind of cultivation factor II years		n. ist.				
	cz. I x II wsp		BdziaB		2,2				
	19,8		21,7		17,5		24,3		21,5
<i>Botrytis cinerea</i> Szara ple[D]	23,6	19,8	21,7	20,6	17,5	19,1	24,3	18,6	21,5
NIR p _(0,05) LSD _(0,05)	cz. I rodzaj uprawy cz. II lata		factor I kind of cultivation factor II years		2,5 3,1				
	cz. I x II wsp		BdziaB		4,4				
	19,8		21,7		17,5		24,3		21,5
% of infected stems % poraonych Bodyg									
<i>Fusarium oxysporu</i> Widnie ro[lin]	14,1	12,7	13,4	15,8	13,9	14,9	17,9	14,8	16,4
NIR _(0,05) LSD _(0,05)	cz. I rodzaj uprawy cz. II lata		factor I kind of cultivation factor II years		1,5 1,8				
	cz. I x II wsp		BdziaB		2,6				
	19,8		21,7		17,5		24,3		21,5

Rys. 1. Nasilenie chorób rutwicy wschodniej w okresie wegetacji
 Fig. 1. Intensity of diseases of fodder galega in vegetation period

Rys. 2. Najczęściej izolowane grzyby z liści rutwicy wschodniej
 Fig. 2. Most often isolated fungi from fodder galega leaves

wały liście górne.

DYSKUSJA

Podczas trzyletniego okresu badań na rutwicy wschodniej w największym nasileniu zaobserwowano objawy szarej pleśni (*Botrytis cinerea*) i wędnięcia roślin (*Fusarium* spp.). Mniej korzystne warunki były dla rozwoju askochytozy (*Ascochyta* sp.). Wielu autorów (Mikołajska i Majchrzak, 1988; Gorsen i in., 1994; Leath i in., 1994) informuje o porażeniu roślin motylkowatych drobnonasiennych przez grzyby z rodzaju *Ascochyta* i *Botrytis*. Ważną rolę w środowisku uprawnym takich roślin jak: koniczyna, lucerna i rutwica, przypisuje się grzybom z rodzaju *Fusarium*, głównie *F. oxysporum* (Dorenda, 1986; Leath i Hower, 1993; Cwalina-Ambroziak i Majchrzak, 2000). Gatunek ten, obok grzybów z rodzaju *Verticillium*, powoduje zaczopowanie wiązek przewodzących i jest przyczyną wędnięcia roślin.

Najsilniejsze objawy szarej pleśni i wędnięcia zanotowano w 2000 i 2001 roku, co zapewne było związane z wysokimi opadami i umiarkowanymi temperaturami. Gorsen i in., (1994) informują, że wilgotna i chłodna pogoda stymuluje rozwój szarej pleśni, aż do jej epidemicznego wystąpienia.

Większe nasilenie szarej pleśni i wędnięcia roślin stwierdzono w siewie czystym rutwicy w porównaniu z jej uprawą w mieszance ze stokłosą bezostną. Silniejsze objawy askochytozy natomiast zauważono na rutwicy w siewie mieszanym. Z literatury (Mikołajska i Majchrzak, 1988; Kowalik, 1997) dowiadujemy się o korzystnym wpływie uprawy roślin motylkowatych drobnonasiennych, jak koniczyna i lucerna, w mieszance z trawami na zdrowotność roślin oraz na wzrost plonu. Na podstawie wcześniejszych badań (Cwalina-Ambroziak i Majchrzak, 2000) dowiedziono, że spod uprawy rutwicy wschodniej w siewie czystym częściej wyosobniano patogeniczne grzyby z rodzaju *Fusarium*, *Phoma* i *Rhizoctonia* niż w siewie mieszanym ze stokłosą bezostną.

Badania laboratoryjne dowiodły liczne zasiedlenia liści rutwicy przez grzyby drożdżopodobne. Rzadziej występowały gatunki: *Cladosporium cladosporioides*, *Humicola brevis*, *Acremonium strictum*, *Alternaria alternata* i *Botryodiplodia* spp., Chruściak (1974), Mikołajska i in. (1991) i Madej (1997) zaliczają powyższe grzyby do pospolitych mikroorganizmów zasiedlających liście wielu gatunków roślin uprawnych. Simay (1989) z fylosfery bobiku wyizolował głównie grzyby należące do rodzajów: *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Cladosporium* i *Epicoccum*.

Liczebność izolatów otrzymanych z liści rutwicy uprawianej w siewie czystym była nieznacznie większa w porównaniu z rutwicą w uprawie mieszanej; z częstszym udziałem grzybów z rodzaju *Fusarium* i *Botrytis cinerea* w pierwszej kombinacji.

Więcej kolonii grzybów zasiedlało liście dolne w porównaniu z górnymi. Jednak grzyby drożdżopodobne częściej kolonizowały liście górne. Fakt ów ma swoje potwierdzenie w literaturze (Wozniakowska, 1962; Kermen, 1968; Chruściak, 1974), skąd dowiadujemy się, że te mikroorganizmy jako pionierskie zasiedlają głównie liście młode i zdrowe.

LITERATURA

- Arx von J. A. 1970. The genera of fungi sporulating in pure culture. Verlag von J. Cramer.
- Booth T. C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute Kew Surrey, England.
- Chruściak E., 1974. Mikoflora fyllosfery. Acta Mycol. 10 (1): 173 180.
- 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.
- Cwalina Ambroziak B., Majchrzak B. 2000. The structure of fungal population from *Galega orientalis* root system formed as the result of fertilization. Acta Mycol. 35 (2): 311 321.
- Dorenda M. 1986. Badania mikoflory środowiska uprawnego koniczyzny czerwonej i kupkówki pospolitej w aspekcie fitopatologicznym. Acta Mycol. 22 (1): 15 34.
- Ellis M. B. 1971. *Dematiaceous, Hyphomycetes*. CMI, KEW, Surrey.
- Gorsen B. D., Smith S. R., Platford R. G. 1994. *Botrytis cinerea* blossom blight of alfalfa on the Canadian prines. Plant Dis. 78 (12): 1218.
- Hilstrand D. S., Auld D. J. 1982. Comparative evaluation four techniques for screening winter peas for resistance to *Phoma medicaginis* var. *pinodella*. Crop Sci. 22 (2): 282 287.
- Kegler H., Spaar D. 1996. On the virus susceptibility of *Galega orientalis* Lam. Arch. Phytopath. Plant Protect. 30 (3): 187 190.
- Kermen J. 1968. Mikoflora fyllosfery. Postępy Mikrobiologii VII, 1: 103 116.
- Kowalik M., 1997. Grzyby z rodzaju *Trichoderma* i *Gliocladium* jako czynnik ograniczający występowanie grzybów patogenicznych w uprawie mieszanki lucerny z trawami. Progress Plant Protect. 37(2): 390 393.
- Leath K. T., DeGregorio R. E., Ashley R. A. 1994. Foliar blight of bigflower vetch caused by *Ascochyta fabae* f. sp. *vicia*. Plant Dis. 78 (6): 637 639.
- Leath K. T., Hower A. A. 1993. Interaction of *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis* with feeding activity of flower root curculio larvae in alfalfa. Plant Dis. 77 (8): 799 802.
- Łacikowa B. 1988. Niektóre aspekty wykorzystania grzybów z rodzaju *Trichoderma* i *Gliocladium* w biologicznej ochronie roślin. Ochr. Rośl. 3: 8 10.
- Madej T. 1997. Grzyby następco zasiedlające liście ziemniaka. Ochr. Rośl. 11: 6 7.
- Mikołajska J., Majchrzak B., 1988. Zdrowotność odmiany koniczyzny czerwonej w zależności od sposobu siewu. Biul. IHAR, 168: 73 86.
- Mikołajska J., Majchrzak B., Kurowski T., 1991. Effect of pesticides phyllosphere fungi of horse bean (*Vicia faba* L.). Phytopath. Pol., 1 (XIII): 77 80.
- Nelson P. E., Toussoun T. A., Marasas W. F. O. 1983. *Fusarium* species. The Pennsylvania State University Press, University Park and London.
- Simay E. I. 1989. Adatok az *Uromyces fabae* (Pers.) de Bary uredatelepeinek mykoflorajard. Bot. Kozl. 76 (1/2): 139 145.
- Valkonnen J. P. T. 1993. Resistance to six viruses in the legume goat's rue (*Galega orientalis* Lam.). Ann. Appl. Biol. 123 (2): 309 314.
- Wozniakowska J. M. 1962. Epiphytic yeast organisms. Mikrobiologia 31: 616 622.

**Grzyby zasiedlające nadziemne organy roślin rutwicy wschodniej
(*Galega orientalis* Lam.) uprawianej w siewie czystym i w mieszance
ze stokłosą bezostną (*Bromus inermis* Leyss.)**

S t r e s z c z e n i e

Badania polowe przeprowadzono w latach 1999-2001 na polu doświadczalnym w Knopinie k. Dobrego Miasta. Obejmowały one ocenę nasilenia chorób rutwicy wschodniej uprawianej w siewie czystym i w mieszance ze stokłosą bezostną (zmodyfikowana skala Hillstranda i Aulda, 1982). W laboratorium dokonano analizy zbiorowiska grzybów fyllosfery rutwicy (Chruściak, 1974).

Na rutwicy wschodniej stwierdzono objawy askochytozy (*Ascochyta* sp.), szarej pleśni (*Botrytis cinerea*) i więdnienia roślin (*Fusarium* spp.). Wpływ na rozwój chorób miały warunki pogodowe. Największe nasilenie szarej pleśni ($I_p = 24,3\%$) i więdnienia roślin ($17,9\%$ porażonych łodyg) zaobserwowano w 2001 roku. Najślabiej na roślinach rozwinęła się askochytoza, a zanotowany najwyższy indeks porażenia w 1999 roku w uprawie rutwicy ze stokłosą bezostną wynosił zaledwie $12,1\%$.

Modyfikujący wpływ na nasilenie chorób rutwicy wschodniej miał też rodzaj uprawy. Szara pleśń i więdnienia roślin rozwijały się silniej w kombinacji w siewie czystym niż w siewie mieszanym ze stokłosą bezostną; podczas całego okresu badań zanotowano średni indeks porażenia $22,8\%$ oraz $15,9\%$ roślin z objawami więdnienia. Askochytoza lepsze warunki rozwoju znalazła na roślinach uprawianych na obiektach w siewie mieszanym ze stokłosą (średni indeks porażenia $10,0\%$).

Z fyllosfery rutwicy otrzymano 4149 izolatów grzybów, reprezentowanych przez 17 gatunków oraz grzyby drożdżopodobne. Dominującymi okazały się grzyby drożdżopodobne ($75,6\%$ ogółu wyosobnień), mniej liczne były gatunki: *Botrytis cinerea*, *Humicola brevis*, *Acremonium strictum* i *Cladosporium cladosporioides*. Z liści rutwicy uprawianej w siewie czystym otrzymano o $3,8\%$ grzybów więcej niż w siewie mieszanym ze stokłosą bezostną, w tym z częściej izolowanymi grzybami patogenicznymi z rodzaju *Fusarium* oraz gatunkiem *Botrytis cinerea*.