

Grzyby zasiedlające nasiona bobu w zależności od sposobu ochrony roślin

Katarzyna Gleń, Elżbieta Boligłowa, Janina Gospodarek

Katedra Ochrony Środowiska Rolniczego, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków, Polska

Abstrakt. Przedmiotem badań były nasiona bobu odmiany Windsor Biały pochodzące ze ścisłego doświadczenia polowego przeprowadzonego w latach 2010–2011, w którym zastosowano ochronę biologiczną z wykorzystaniem preparatów: Polyversum WP, Biocos BR, Biosept 33 SL, oraz chemiczną obejmującą użycie fungicydów: Vitavax 200 FS (zaprawa), Penncozeb 80 WP, oraz insektycydów Decis 2,5 EC, Fastac 100 EC. Analizę liczebności grzybów wyizolowanych z nasion bobu poddano obliczeniom statystycznym z wykorzystaniem metody Warda – hierarchiczna analiza skupień. Zmienne przed analizą przeskalowano na przedział odległości [0, 1], ze względu na zróżnicowanie rozkładów zmiennych w poszczególnych latach.

Z nasion bobu otrzymano ogółem 1043 kolonii grzybów. Niezależnie od zastosowanej ochrony do najliczniej izolowanych należały grzyby z rodzaju *Fusarium* – 21,4% oraz gatunki: *Alternaria alternata* – 18,6%, *Cladosporium herbarum* – 18,2% i *Botrytis cinerea* – 8,4% ogółu wyosobnień. Nasiona pochodzące z uprawy chronionej biologicznie charakteryzowały się bogatszym pod względem ilościowym zbiorowiskiem grzybów (śr. dla roku 235 kolonii) w porównaniu z ochroną chemiczną (124). Większy udział gatunków patogenicznych, 68%, stwierdzono w nasionach chronionych preparatami chemicznymi, wśród nich z największą częstotliwością izolowano grzyby należące do rodzaju *Fusarium* (40,8) oraz gatunki *B. cinerea* (11,9) i *Epicoccum purpurascens* (8,0). Biologiczna ochrona ograniczała występowanie grzybów patogenicznych (43%), ale sprzyjała zasiedlaniu nasion przez saprobionty (54%) reprezentowane przez *C. herbarum* (24,3%) i *A. alternata* (21,8%).

słowa kluczowe: nasiona, grzyby patogeniczne, bób, ochrona biologiczna i chemiczna

Autor do kontaktu:

Katarzyna Gleń
e-mail: rrglen@cyf-kr.edu.pl
tel. +48 12 6624400

Praca wpłynęła do redakcji 28 lipca 2012 r.

WSTĘP

Mikrobiologiczna czystość nasion jest bardzo ważnym aspektem w agrotechnice i wykorzystaniu plonu. Decyduje o ich przydatności zarówno w żywieniu ludzi i zwierząt, jak i jako materiału siewnego. W nasionach bytuje szereg grzybów patogenicznych i saprotroficznym, które mogą wytwarzać wyjątkowo groźne dla organizmów stałocieplnych mykotoksyny (Sadowski, Łukanowski, 2005; Watanabe i in., 2007). Ponadto grzyby obecne w nasionach mogą znacznie obniżać ich zdolność kiełkowania i powodować choroby infekcyjne roślin w czasie wegetacji.

Czystość mikrobiologiczną nasion w pewnym stopniu może polepszać stosowanie odpowiedniej ochrony roślin. Szczególnie dużą skuteczność w zwalczaniu fitopatogenów wykazują syntetyczne fungicydy. Jednak nie można stosować ich w ekologicznych systemach uprawy roślin. Kategoryczny zakaz stosowania pestycydów sprawia, że plon jest niższy w porównaniu z roślinami chronionymi chemicznie, a uprawy są częściej niszczone przez agrofagi. Wykorzystywane w uprawach ekologicznych preparaty wytwarzane na bazie substancji naturalnych oraz mikroorganizmów nie zawsze są skuteczne w walce z patogenami. Całkowita eliminacja zabiegów ochronnych bądź ich mała skuteczność może narażać konsumentów na obecność mykotoksyn w podstawowych produktach żywnościowych (Sadowski, Łukanowski, 2005). Dlatego istotna jest ocena wpływu metody ochrony na mikroorganizmy w odniesieniu do konkretnej rośliny uprawnej. Celem badań było określenie zbiorowisk grzybów zasiedlających nasiona bobu odmiany Windsor Biały chronionego syntetycznymi środkami chemicznymi oraz biopreparatami.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badawczym w doświadczeniu były nasiona bobu odmiany Windsor Białe pochodzące ze ścisłego eksperymentu polowego przeprowadzonego w latach 2010–2011 w Stacji Doświadczalnej Uniwersytetu Rolniczego w Prusach koło Krakowa. Czynnikiem badawczym był rodzaj zastosowanej ochrony. Ochrona biologiczna obejmowała: przedsięwzięcie zaprawianie nasion bobu preparatem biologicznym Polyversum WP (*Pythium oligandrum*) i w okresie wegetacji czterokrotną aplikację nalistną preparatu biotechnicznego Bioczso BR (miazga czosnkowa w otoczce parafiny) i pojedynczą Bioseptu 33 SL (ekstrakt z nasion i miąższu grejpfruta). W ochronie chemicznej uwzględniono zaprawianie nasion Vitavaxem 200 FS (karboksyna i tiuram) oraz trzykrotną aplikację insektycydów – 2 x Decis 2,5 EC (deltametryna), 1 x Fastac 100 EC (alfa-cypermetyryna), oraz pojedynczą fungicydu Penncozeb 80 WP (mankozeb). W obiekcie kontrolnym

nie stosowano ochrony bobu. W fazie dojrzałości pełnej z każdego powtórzenia zebrano ręcznie nasiona bobu i dla każdej kombinacji utworzono próbę zbiorczą (z trzech powtórzeń). Nasiona przechowywano przez 2 miesiące w suchym pomieszczeniu (w temperaturze około 15°C). Do badań laboratoryjnych po dokładnym wymieszaniu próby zbiorczej pobrano losowo po 200 sztuk nasion bobu z każdej kombinacji. Izolację grzybów wykonano według metodyki Királya i in. (1977). Całe nasiona dezynfekowano powierzchniowo w 50% etanolu, opłukiwano trzykrotnie w sterylnej wodzie destylowanej, osuszano na jałowej bibule i wykładano na zestalone podłoże PDA (Potato Dextrose Agar) z dodatkiem chloramfenikolu w płytkach Petriego o średnicy 150 mm. Hodowlę prowadzono w komorze klimatyzacyjnej przez 10 dni w temperaturze 23°C. Pojawiające się kolonie grzybów sukcesywnie odczepiano na skosy agarowe. Następnie prowadzono obserwacje makro- i mikroskopowe, na podstawie których większość grzybów zidentyfikowano do gatunku, posługując się klu-

Tabela 1. Grzyby wyizolowane z nasion bobu w zależności od zastosowanej ochrony (liczba kolonii)

Table 1. Fungi isolated from broad bean seeds depending on the applied protection (number of colonies).

Gatunek grzyba Species of fungi	Ochrona biologiczna Biological protection			Ochrona chemiczna Chemical protection			Kontrola Control			Suma Sum
	rok; year			rok; year			rok; year			
	2010	2011	Σ	2010	2011	Σ	2010	2011	Σ	
<i>Acremonium</i> spp.	-	1	1	-	-	-	2	-	2	3
<i>Alternaria alternata</i> (Fr. ex Fr.) Keissler	64	41	105	17	3	20	52	17	69	194
<i>Aspergillus</i> spp.	-	-	-	8	10	18	8	6	14	32
<i>Botrytis cinerea</i> Person	19	27	49	7	22	29	4	9	13	88
<i>Cladosporium herbarum</i> Link ex Fr.	78	39	117	12	20	32	22	19	41	190
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz.	22	12	34	6	-	6	13	21	34	74
<i>Epicoccum purpurascens</i> Ehrenb. ex Schlecht	14	21	35	11	9	20	9	12	21	76
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.	10	3	13	12	5	17	4	5	9	39
<i>Fusarium culmorum</i> (W.G. Smith) Sacc.	10	-	10	4	4	8	8	2	10	28
<i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Sacc.	-	-	-	2	10	12	-	1	1	13
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.	12	6	18	14	20	34	18	11	29	81
<i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb.	1	5	6	-	5	5	-	-	-	11
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	3	14	17	18	7	25	4	5	9	51
<i>Mucor</i> spp.	-	2	2	3	-	3	-	-	-	5
<i>Penicillium</i> spp.	8	11	19	-	4	4	5	12	17	40
<i>Phoma glomerata</i> (Corda) Wollenweber et Hochapfel	5	2	7	3	1	4	1	-	1	12
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg	-	12	12	-	-	-	14	10	24	36
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary	6	6	12	8	-	8	11	8	19	39
Grzyby niezarodnikujące Non-sporulating cultures	7	4	11	2	1	3	5	2	7	21
Grzyby drożdżopodobne Yeast-like fungi	1	3	4	-	-	-	2	4	6	10
Razem; Total	260	209	469	127	121	248	182	144	326	1043

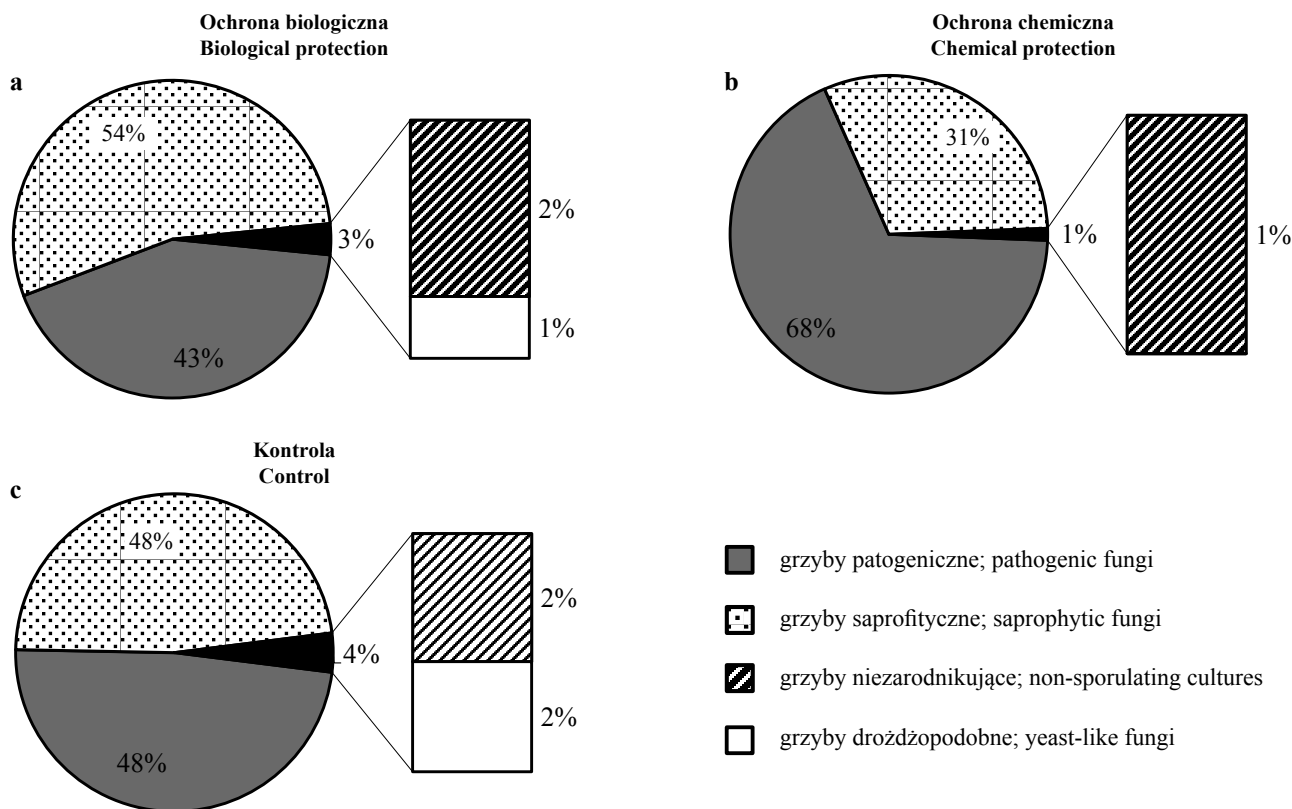
czami mykologicznymi i opracowaniami monograficznymi (Pidopliczko, 1978; Domsch i in., 1980; Cook, 1981; Nelson i in., 1983; Kwaśna i in., 1991; Marcinkowska, 2003). Na podstawie liczby uzyskanych izolatów danego grzyba ustalono częstotliwość występowania poszczególnych gatunków i rodzajów. Jej wartość wyrażono w procentach, odnosząc do liczby wszystkich izolatów (100%) uzyskanych dla danej partii nasion. Do bardziej szczegółowej analizy liczebności grzybów wyizolowanych z nasion bobu wykonano obliczenia statystyczne z wykorzystaniem metody aglomeracji Warda (hierarchiczna analiza skupień). Zmienne przed analizą przeskalowano na przedział odległości [0,1] ze względu na różnicowanie rozkładów zmiennych w poszczególnych latach.

WYNIKI

W wyniku analizy mykologicznej z nasion bobu odmiany Windsor Białe łącznie uzyskano 1043 kolonie grzybów (tab. 1). Oznaczono 14 gatunków grzybów, które zaliczono do 9 rodzajów, ponadto zidentyfikowano 4 rodzaje: *Acremonium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium* oraz kultury niezarodnikujące i grzyby drożdżopodobne. Zastosowana ochrona nie różnicowała pod względem ja-

kościowym zbiorowiska grzybów zasiedlających nasiona bobu. Dominowały grzyby należące do rodzaju *Fusarium*, których łącznie wyizolowano 223 kolonie (21,4% udział wśród ogółu izolatów), reprezentowane przez sześć gatunków, wśród których dominował *F. oxysporum*. Duży udział w ogólnej populacji grzybów bytujących w nasionach bobu stanowiły również gatunki *Alternaria alternata* – 18,6% i *Cladosporium herbarum* – 18,2%. Stwierdzono różnicowanie liczebności wyosobnionych kolonii grzybów w zależności od stosowanej ochrony roślin. W każdym roku z partii nasion pochodzących z uprawy chronionej preparatami biotechnicznymi i biologicznymi izolowano prawie dwukrotnie większą liczbę kolonii grzybów niż z obiektów z ochroną chemiczną (tab. 1).

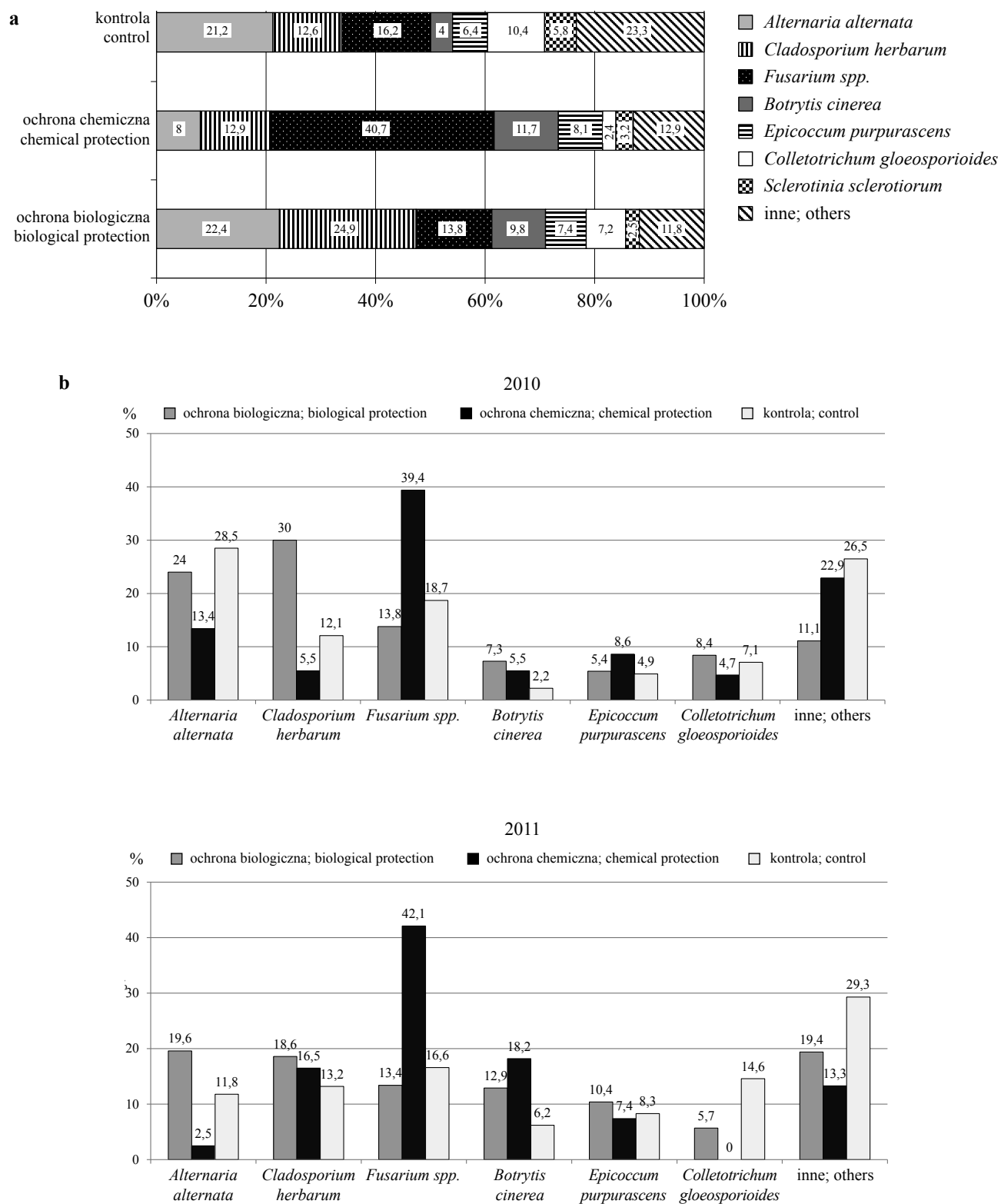
Metoda Warda umożliwiła podział grzybów w zależności od ich liczebności w nasionach. W przypadku biologicznej ochrony bobu do pierwszej grupy zaseregowano 3 rodzaje grzybów, 7 gatunków oraz grzyby niezarodnikujące i drożdżopodobne, które występowały w nasionach najmniej licznie (tab. 2). Grupę drugą stanowiły dwa gatunki, *A. alternata* i *C. herbarum*, odznaczające się największym udziałem w ogólnej populacji grzybów. Natomiast w trzeciej grupie znalazły się *Botrytis cinerea* i *Epicoccum purpurascens*, a w czwartej *Colletotrichum gloeosporioides*,



Rys. 1. Wpływ zastosowanej ochrony na procentowy udział grzybów patogenicznych i saprotroficznych wyodrębnionych z nasion bobu
Fig. 1. The effect of applied protection treatments on percent share of pathogenic and saprophytic fungi isolated from broad bean seeds.

Tabela 2. Wyodrębnienie grup grzybów i ich liczebność w biologicznej i chemicznej ochronie (hierarchiczna analiza skupień)
 Table 2. Grouping of fungi into clusters and numerical force within biological and chemical protection treatments (hierarchical cluster analysis).

Grupy grzybów Groups of fungi	Gatunki grzybów Species of fungi	2010		2011	
		wielkość średnia mean	odchylenie standardowe standard deviation	wielkość średnia mean	odchylenie standardowe standard deviation
Ochrona biologiczna; Biological protection					
1	Acremonium spp.				
	Aspergillus spp.				
	Fusarium avenaceum				
	F. culmorum				
	F. equiseti				
	F. oxysporum				
	F. sporotrichioides	4,33	4,58	2,67	2,33
	Mucor spp.				
	Phoma glomerata				
	Sclerotinia sclerotiorum				
	grzyby niezarodnikujące non-sporulating cultures				
grzyby drożdżopodobne yeast-like fungi					
2	Alternaria alternate	71,00	9,90	40,00	1,41
	Cladosporium herbarum				
3	Botrytis cinerea	16,50	3,54	24,00	4,25
	Epicoccum purpurascens				
4	Colletotrichum gloeosporioides				
	F. solani	8,25	9,74	12,25	1,26
	Penicillium spp.				
	Rhizopus nigricans				
Ogółem; In general		13	20,99	10,45	12,42
Ochrona chemiczna; Chemical protection					
1	Acremonium spp.				
	F. culmorum				
	F. equiseti				
	F. sporotrichioides				
	Mucor spp.	2,89	2,80	0,67	1,32
	Phoma glomerata				
	grzyby niezarodnikujące non-sporulating cultures				
	grzyby drożdżopodobne yeast-like fungi				
2	Aspergillus spp.				
	Fusarium avenaceum				
	F. solani	17,50	0,71	5,00	2,83
	Penicillium spp.				
	Rhizopus nigricans				
	Sclerotinia sclerotiorum				
3	Alternaria alternata	10,33	2,08	8,00	2,65
4	Cladosporium herbarum	11,00	3,61	20,67	1,15
5	Botrytis cinerea				
	Epicoccum purpurascens	0,67	1,15	6,33	3,21
	F. oxysporum				
6	Colletotrichum gloeosporioides	0,00	0,00	0,00	0,00
Ogółem; In general		6,35	5,92	6,05	7,16



Rys. 2. Procentowy udział najczęściej izolowanych grzybów z nasion bobu w zależności od: a. zastosowanej ochrony, b. lat badań
 Fig. 2. Percentage of most often isolated fungi from broad bean seeds in dependence on: a. the applied protection, b. the study years.

Fusarium solani, *Penicillium* spp., *Rhizopus nigricans*, których średnia liczebność w analizowanych latach była mniejsza.

W nasionach bobu pochodzących z obiektów chronionych chemicznie wyodrębniono sześć grup grzybów. Najbardziej zróżnicowana pod względem występujących grzybów okazała się grupa pierwsza (4 gatunki, 2 rodzaje, grzyby niezarodnikujące i drożdżopodobne). Z kolei w grupie drugiej znalazły się grzyby występujące najliczniej – 4 gatunki oraz rodzaje *Aspergillus* i *Penicillium*. Do pozostałych czterech grup zaszeregowano 6 gatunków, przy czym grupę trzecią stanowił gatunek *A. alternata*, a czwartą *C. herbarum*.

Metoda biologiczna sprzyjała zasiedlaniu nasion bobu głównie przez grzyby saprotroficzne, których udział stanowił 54% (rys. 1a). W zbiorowisku grzybów pochodzących z nasion z kombinacji z ochroną chemiczną udział patogenów wynosił 68% (rys. 1b). Wyrównany stosunek liczebności grzybów patogenicznych do saprotrofów stwierdzono w nasionach z obiektu kontrolnego (rys. 1c).

Zastosowana ochrona w okresie wegetacji znacząco modyfikowała częstotliwość wyosobnień dominujących gatunków grzybów (rys. 2 a, b). W zbiorowisku grzybów zasiedlających nasiona pochodzące z roślin chronionych preparatami biotechnicznymi i biologicznymi zdecydowanie przeważały saprobionty, tj.: *C. herbarum* – 24,9% i *A. alternata* – 22,4%. Spośród grzybów patogenicznych największy udział stanowiły gatunki *Botrytis cinerea* (9,8%), *Epicoccum purpurascens* (7,4%), *Colletotrichum gloeosporioides* (7,2%) oraz grzyby z rodzaju *Fusarium* (13,8%) (rys. 2 a). Zbiorowisko grzybów wyizolowanych z nasion bobu chronionego chemicznie było zdominowane przez gatunki należące do rodzaju *Fusarium*, a ich udział wynosił 40,7%.

DYSKUSJA

Niezależnie od zastosowanej w okresie wegetacji ochrony z nasion bobu odmiany Windsor Biały uzyskano 1043 izolaty grzybów, spośród których nieznaczną przewagę z 50,9% udziałem miały patogeny. Reprezentowane były przez 11 gatunków, w tym 6 należących do rodzaju *Fusarium* o łącznym udziale 21,4%; najczęściej izolowano *F. oxysporum*, *F. solani* i *F. avenaceum* i, z mniejszą częstotliwością, *F. culmorum*. Z kolei wśród innych gatunków patogenicznych dominowały *Botrytis cinerea*, *Epicoccum purpurascens*, *Colletotrichum gloeosporioides*. Ponadto notowano mniej liczne wyosobnienia *Sclerotinia sclerotiorum* oraz pojedyncze *Phoma glomerata*, *F. equiseti* oraz *F. sporotrichioides*. W dostępnej literaturze brakuje informacji na temat kolonizacji nasion bobu przez grzyby patogeniczne. Jednakże uzyskane wyniki badań pokrywają się z wcześniej przeprowadzoną przez autorki analizą mykologiczną nasion bobu odmiany Windsor Biały (Gleń, Gospodarek, 2009; Gleń i in., 2011a; 2011b). Również z

nasion innych gatunków roślin motylkowatych, takich jak łubin, bobik, groch czy fasola, izolowano wymienione wyżej gatunki grzybów (Filipowicz, Wagner, 1987; Filipowicz, 1989; Khan, Saad, 1993; Nowicki, 1995; Kurowski, Bieniaszewski, 2001; Okorski, Majchrzak, 2008; Al-Abdalall, 2010). Według Jędryczki i in. (1993) grzyb *F. oxysporum* powoduje wędnięcia łubinu i grochu, z kolei gatunki takie jak: *F. solani*, *F. culmorum*, *F. avenaceum* przyczyniają się do powstawania zgorzeli pędów tych roślin. Użycie jako materiału reprodukcyjnego nasion zasiedlonych przez te gatunki patogeniczne może okazać się wyjątkowo ryzykowne, ponieważ grozi rozwojem chorób zgorzelowych pędów lub obumieraniem roślin wskutek fusaryjnego wędnięcia.

Na podstawie przeprowadzonych badań własnych stwierdzono ilościowe różnice w populacji grzybów zasiedlających nasiona bobu w zależności od zastosowanej ochrony roślin. Ochrona chemiczna w porównaniu z biologiczną przyczyniła się do znacznego ograniczenia ogólnej liczebności izolowanych grzybów, a przede wszystkim wpływała na zmniejszenie udziału gatunków saprotroficznych na korzyść patogenów. Szczególnie grzyby z rodzaju *Fusarium* znajdowały lepsze warunki do rozwoju w partii nasion pochodzących z kombinacji chronionej chemicznie i stanowiły aż 40,7% w stosunku do 13,8% w nasionach chronionych preparatami biologicznymi. Ponadto stosowanie preparatów syntetycznych sprzyjało zasiedlaniu nasion przez *B. cinerea* i *E. purpurascens*. Natomiast ograniczało kolonizację nasion przez takie patogeny jak: *C. gloeosporioides* i *S. sclerotiorum*. Przedsięwzięcie zaprawienie nasion bobu preparatem Vitavax 200 FS i późniejsza nalistna aplikacja fungicydu Penncozeb 80 WP spowodowały silne ograniczenie rozwoju na nasionach grzybów saprofitycznych. W porównaniu z nasionami roślin chronionych preparatami biotechnicznymi i biologicznymi stwierdzono aż pięcio- i czterokrotną redukcję liczby ogólnie dominujących saprobiontów *A. alternata* i *C. herbarum* oraz zupełny brak zasiedlania nasion przez *Rhizopus nigricans* i grzyby drożdżopodobne. Ponadto z partii nasion bobu pochodzących z kombinacji chronionej preparatami syntetycznymi z mniejszą częstotliwością izolowano grzyby rodzaju *Penicillium*.

Z kolei zastosowane w doświadczeniu biopreparaty Polyversum WP, Bioczys BR i Biosept 33 SL sprzyjały zasiedlaniu nasion bobu przez grzyby saprotroficzne. Szczególnie zaś w roku 2010, charakteryzującym się bardzo dużą ilością opadów atmosferycznych, gatunek *C. herbarum* stanowił 30% ogólnej liczby izolowanych grzybów, a *A. alternata* 24%. Według Filipowicza (1976) obecny w nasionach grochu grzyb *C. herbarum* może wywoływać zmiany chorobowe na roślinach. Zdaniem Skindera i in. (2007) grzyb *A. alternata* oraz inne saprobionty pojawiają się wtórnie na porażonych i zniszczonych wcześniej przez patogeny tkankach. Z doniesień literaturowych Wójcik (1993) wiadomo, że obecność powyższego gatunku w na-

sionach seradeli może przyczyniać się do wywoływania zgorzeli roślin. Również inni autorzy uważają, że *A. alternata* w okresie wegetacji może porażać wiele gatunków roślin uprawnych, atakując ich korzenie, liście, pędy i organy generatywne (Iram, Ahmad, 2005; Kowalczyk, Maciorowski, 2006; Ogórek i in., 2011). Najczęściej jednak objawy chorób na roślinach są efektem współtowarzyszenia tego gatunku innym grzybom z rodzajów: *Alternaria*, *Cladosporium* czy *Epicoccum*. Cwalina-Ambroziak i Kurowski (2005) uważają, że kształtowanie się zbiorowiska grzybów zasiedlających nasiona zależy od długości okresu przechowywania. Znacznie większe ilości gatunku *A. alternata* i grzybów rodzaju *Fusarium* autorzy izolowali bezpośrednio po zbiorze lub po krótkim przechowywaniu. W miarę wydłużania okresu przechowywania nasion do 1,5 czy 2 lat wzrasta udział grzybów rodzaju *Penicillium* i *Rhizopus*. W badaniach własnych analiza mykologiczna nasion bobu była wykonana po upływie dwóch miesięcy od zbioru, czyli po stosunkowo krótkim przechowywaniu, stąd duży udział *A. alternata* w zbiorowisku grzybów.

WNIOSKI

1. Z nasion bobu odmiany Windsor Biały najliczniej izolowano grzyby rodzaju *Fusarium* – 21,4% ogółu izolatów, *Alternaria alternata* – 18,6%, *Cladosporium herbarum* – 18,2% oraz *Botrytis cinerea* 8,4%.
2. Prawie dwukrotnie więcej izolatów grzybów uzyskano z nasion bobu chronionego biologicznie niż chemicznie.
3. Stwierdzono wzrost liczebności grzybów patogennych zasiedlających nasiona bobu chronionego fungicydami w stosunku do nasion uzyskanych z roślin niechronionych. Minimalną redukcję liczebności patogenów zanotowano w kombinacji ze stosowaną ochroną biologiczną.
4. Najbardziej liczne zbiorowisko grzybów saprotroficznych *C. herbarum* i *A. alternata* uzyskano z nasion bobu chronionego preparatami biotechnicznymi i biologicznym.

PIŚMIENNICTWO

- Al-Abdalall A.H.A., 2010. Pathogenicity of fungi associated with leguminous seeds in the Eastern kingdom of Saudi Arabia. Afr. J. Agric. Res., 5(10): 1117-1126.
- Cook R.J., 1981. *Fusarium*: Diseases, biology and taxonomy. The Pennsylvania State University Press, Park and London.
- Cwalina-Ambroziak B., Kurowski T.P., 2005. Kształtowanie się zbiorowiska grzybów izolowanych z nasion łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) pod wpływem okresu przechowywania. Acta Agrobot., 58(2): 407-416.
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H., 1980. Compendium of Soil Fungi. Academic Press, London, 619 ss.
- Filipowicz A., 1976. Badania mikroflory nasion grochu siewnego (*Pisum sativum* L.) ze szczególnym uwzględnieniem grzybów z rodzaju *Ascochyta* i *Fusarium*. Roczn. Nauk Rol., E, 5(2): 85-119.
- Filipowicz A., Wagner A., 1987. Mikoflora nasion łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) uprawianego na terenie Polski. Biul. IHAR, 163: 149-156.
- Filipowicz A., 1989. Mikoflora nasion łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.) i łubinu białego (*L. albus* L.) uprawianego w Polsce. Hod. Rośl. Nasien., 5-6: 11-14.
- Gleń K., Gospodarek J., 2009. Mikoflora nasion bobu (*Vicia faba* L. ssp. maior) uprawianego w warunkach gleby skażonej metalami ciężkimi. Progr. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl., 49(3): 1260-1263.
- Gleń K., Boligłowa E., Gospodarek J., 2011a. Wpływ zapraw nasiennych na zdrowotność nasion bobu. Progr. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl., 51(4): 1628-1632.
- Gleń K., Boligłowa E., Gospodarek J., 2011b. Wpływ stopnia uszkodzenia nasion bobu przez *Bruchus rufimanus* Boh. na mikoflorę w warunkach uprawy współrzędnej. Progr. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl., 51(4): 1525-1529.
- Iram S., Ahmad I., 2005. Analysis of variation in *Alternaria alternata* by pathogenicity and RAPD study. Polish J. Microbiol., 54(1): 13-19.
- Jędrzycka E., Lewartowska E., Frencl I., 1993. Wpływ środowiska na stopień odporności grochu siewnego i łubinu żółtego na fuzariozę (*Fusarium* spp.). Mat. Symp. Biotyczne środowisko uprawne a zagrożenie chorobowe roślin, Olsztyn, 213-220.
- Khan B.A., Saad A.T., 1993. Seed health testing of broad beans. Pakistan J. Agric. Res., 14(2,3): 227-232.
- Király Z., Klement Z., Solymosy F., Vörös J., 1977. Fitopatologia wybór metod badawczych. PWRiL, Warszawa, 459 ss.
- Kowalczyk S., Maciorowski R., 2006. Grzyby zasiedlające ziarno krótkosłomowego owsa nieoplewionego. Biul. IHAR, 239: 165-171.
- Kurowski T.P., Bieniaszewski T., 2001. Grzyby izolowane z nasion łubinu żółtego, ze szczególnym uwzględnieniem *Colletotrichum gloeosporioides* w zależności od okresu przechowywania materiału siewnego. Zesz. Nauk. AR Wrocław, 427, Rolnictwo, 82: 195-204.
- Kwaśna H., Chelkowski J., Zajkowski P., 1991. Flora Polska, Grzyby (*Mycota*), tom XXII, Sierpik (*Fusarium*). PAN, Warszawa-Kraków, 137 ss.
- Marcinkowska J., 2003. Oznaczanie rodzajów grzybów ważnych w patologii roślin. Fundacja Rozwój SGGW, 328 ss.
- Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O., 1983. *Fusarium* species. The Pennsylvania State University Press. University Park and London, 193 ss.
- Nowicki B., 1995. Patogeniczne grzyby zasiedlające nasiona łubinu wąskolistnego. Acta Agrobot., 48(2): 59-64.
- Ogórek R., Płasowska E., Kalinowska K., 2011. Charakterystyka i taksonomia grzybów z rodzaju *Alternaria*. Mikol. Lekars., 18(3): 150-155.
- Okorski A., Majchrzak B., 2008. Grzyby zasiedlające nasiona grochu siewnego po zastosowaniu preparatu mikrobiologicznego EM 1. Progr. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl., 48(4): 1314-1318.
- Pidopliczko H.M., 1978. Grzyby-parazyty kulturowych roślin. Tom 3, Naukova Dumka, 230 ss.
- Sadowski C., Łukanowski A., 2005. Z badań nad zdrowotnością pszenicy ozimej uprawianej w systemie ekologicznym, inte-

- growanym, konwencjonalnym i monokulturze w latach 1999-2004. *Progr. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl.*, 45(1): 423-425.
- Skinder Z., Lemańczyk G., Wilczewski E., 2007.** Wartość wybranych roślin motylkowatych uprawianych w międzyplonie ścierniskowym na glebie lekkiej. Cz. I. Wydajność biomasy i zdrowotność roślin. *Acta Sci. Pol., Agricultura*, 6(1): 23-33.
- Watanabe I., Kakishima M., Adachi Y., Nakajima H., 2007.** Potential mycotoxin productivity of *Alternaria alternata* isolated from garden trees. *Mycotoxins*, 57(1): 3-9.
- Wójcik U., 1993.** Grzyby zasiedlające nasiona seradeli (*Ornithopus sativus* Brot.) uprawianej z roślinami podporowymi i w siewie czystym. *Mat. Symp. Biotyczne środowisko uprawne a zagrożenie chorobowe roślin*, Olsztyn, ss. 419-426.

K. Gleń, E. Boligłowa, J. Gospodarek

FUNGI COLONISING BROAD BEAN SEEDS DEPENDING ON PROTECTION METHOD

Summary

The study focused on broad bean, White Windsor cv., from a replicated field experiment conducted in 2010–2011, in which biological protection using Polyversum WP, Bioczys BR and

Biosept 33 SL biopreparations, was compared against the treatment with chemical agents (Vitavax 200 FS, Decis 2.5EC, Fastac 100EC and Penncozeb 80WP). Analysis of the number of fungi from bean seeds were statistical calculations using Ward's method of hierarchical cluster analysis. Scaled variables prior to analysis on the interval [0, 1] because of the diversity of distributions of variables in different years.

A total of 1043 fungi colonies were obtained from broad bean seeds. Irrespective of applied protection, the most numerous isolated fungi came from the following genera: *Fusarium* – 21.4%, *Alternaria alternata* – 18.6%, *Cladosporium herbarum* 18.2% and *Botrytis cinerea* – 8.4% of isolates. Seeds from biologically protected treatments were characterized by a far more numerous fungal community (an average of 235 for the year) in comparison with those from chemically protected treatments (124). A greater number of pathogenic species accounting for 68% of the total number was found in seeds protected by chemical preparations, among which the most frequently isolated were *Fusarium* (40.8%), *B. cinerea* (11.9%) and *Epicoccum purpurascens* (8.0%). Biological protection limited the occurrence of pathogenic fungi (43%) but favoured settling of seeds by saprobionts (54%) represented by *C. herbarum* (24.3%) and *A. alternata* (21.8%).

key words: seeds, pathogenic fungi, broad bean, biological and chemical protection