

THE FUNGAL COMMUNITY COLONIZING BROAD BEAN SEEDS DEPENDING ON THE BIOLOGICAL PROTECTION

Summary

The study focused on broad bean, White Windsor cv., from a replicated field experiment conducted in 2010-2012, in which different variants of biological protection were used: Polyversum WP, Bioczos BR and Biosept 33 SL biopreparations. Altogether 2053 fungi colonies were obtained from broad bean seeds. Irrespective of applied protection, the most numerous isolated fungi: *Alternaria alternata* – 21.7%, came from the following genera *Fusarium* – 19.6% and *Penicillium* – 14.4% and species of *Botrytis cinerea* – 10.4%, *Epicoccum purpurascens* – 9.4% of isolates. Seeds from biologically protected treatments were characterized by quantitatively poorer fungal community (approximately 473 colonies) in comparison with the control (633). A major proportion of pathogenic species, 53.4% was found in the seeds protected with Polyversum WP formulation and in the control, among which the most frequently isolated were fungi of the genus *Fusarium*, *B. cinerea*, *Epicoccum purpurascens*. Foliar application: 2x and 3xBioczos BR and 1xBiosept 33 SL limited presence of pathogenic fungi (45.9%, 46.9%), but favored colonization of seeds by saprobionts represented by *A. alternata*, *Penicillium*, *C. herbarum*.

Key words: broad bean seeds, pathogenic and saprophytic fungi, biological protection

ZBIOROWISKA GRZYBÓW ZASIEDLAJĄCYCH NASIONA BOBU W ZALEŻNOŚCI OD OCHRONY BIOLOGICZNEJ

Streszczenie

Przedmiotem badań były nasiona bobu odmiany Windsor Biały pochodzące ze ścisłego doświadczenia polowego przeprowadzonego w latach 2010-2012, w którym zastosowano różne warianty ochrony biologicznej z wykorzystaniem preparatów: Polyversum WP, Bioczos BR, Biosept 33 SL. Z nasion bobu otrzymano ogółem 2053 izolatów grzybów. Niezależnie od zastosowanej ochrony do najliczniej izolowanych należały grzyby: *Alternaria alternata* – 21,7%, rodzaj *Fusarium* – 19,6% i *Penicillium* – 14,4% oraz gatunki: *Botrytis cinerea* 10,4%, *Epicoccum purpurascens* – 9,4% ogółu wyosobnień. Nasiona pochodzące z uprawy chronionej biologicznie charakteryzowały się uboższym pod względem ilościowym zbiorowiskiem grzybów (średnio 473 izolaty) w porównaniu z obiektem kontrolnym (633). Większy udział gatunków patogenicznych, 53,4%, stwierdzono w nasionach chronionych preparatem Polyversum WP i w kontroli, wśród nich z największą częstotliwością izolowano grzyby należące do rodzaju *Fusarium*, *B. cinerea*, *Epicoccum purpurascens*. Nalistna aplikacja: 2x i 3xBioczos BR i 1xBiosept 33 SL ograniczała występowanie grzybów patogenicznych (45,9%, 46,9%), ale sprzyjała zasiedlaniu nasion przez saprobionty reprezentowane przez *A. alternata*, *Penicillium*, *C. herbarum*.

Słowa kluczowe: nasiona bobu, grzyby patogeniczne i saprotroficzne, ochrona biologiczna

1. Wprowadzenie

Czystość mikrobiologiczna nasion, które są najwyższą formą przystosowania do procesu reprodukcji gatunku odgrywa ważną rolę w produkcji roślinnej. Grzyby obecne w nasionach znacznie obniżają ich wigor, zdolność kiełkowania oraz często powodują choroby infekcyjne roślin w czasie wegetacji. Ponadto niektóre gatunki grzybów patogenicznych należących do rodzaju *Fusarium*, *Sclerotinia* oraz rozwijające się szczególnie podczas okresu przechowywania saprotrofy: *Aspergillus* czy *Penicillium* mogą wytwarzać wyjątkowo groźne dla organizmów stałocieplnych mykotoksyny [1, 2]. Dlatego mikrobiologiczna czystość nasion decyduje o ich przydatności do wykorzystania zarówno w żywieniu człowieka oraz zwierząt, a także jako materiału siewnego. Stosowanie odpowiedniej ochrony roślin podczas wegetacji może w pewnym stopniu polepszać zdrowotność nasion. Dużą skuteczność w zwalczaniu fitopatogenów wykazują syntetyczne fungicydy. Niestety istnieje kategorię zakaz stosowania ich w ekologicznych systemach uprawy roślin. Konsekwencją tego są niższe plony i niszczenie upraw przez agrofagi. Wykorzystywane

w uprawach ekologicznych preparaty wytwarzane na bazie substancji naturalnych oraz mikroorganizmów nie zawsze są skuteczne w walce z patogenami. Ważnym aspektem jest także obserwowany w ostatnich latach uszczuplający się asortyment tych preparatów na polskim rynku. Z kolei całkowita rezygnacja z zabiegów ochronnych bądź ich mała skuteczność może narażać konsumentów na obecność mykotoksyn w podstawowych produktach żywnościowych [1]. Powyższe argumenty stanowią o celowości oceny wpływu biopreparatów i preparatów biotechnicznych na mikroorganizmy w odniesieniu do konkretnej rośliny uprawnej.

Celem przeprowadzonych badań było określenie zbiorowisk grzybów zasiedlających nasiona bobu odmiany Windsor Biały chronionego biopreparatem Polyversum WP oraz preparatami biotechnicznymi: Bioczos BR i Biosept 33 SL.

2. Materiał i metody badań

Materiałem badawczym w doświadczeniu były nasiona bobu odmiany Windsor Biały pochodzące ze ścisłego eksperymentu polowego przeprowadzonego w latach 2010-

2012 w Stacji Doświadczalnej Uniwersytetu Rolniczego w Prusach koło Krakowa. Czynnikiem badawczym były następujące warianty ochrony biologicznej: przedsiewne zaprawianie nasion bobu preparatem biologicznym Polyversum WP (*Pythium oligandrum*), przedsiewne zaprawianie nasion Polyversum WP (*Pythium oligandrum*) i w okresie wegetacji dwukrotna aplikacja nalistna preparatu biotechnicznego Bioczso BR (miazga czosnkowa w otoczce parafiny) i pojedynczą Bioseptu 33 SL (ekstrakt z nasion i miąższu grejpfruta), przedsiewne zaprawianie nasion Polyversum WP i w okresie wegetacji trzykrotna aplikacja nalistna Bioczso BR i pojedynczą Bioseptu 33 SL. 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 Király i in. 1977 [3]. 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 odszczepiano na skosy agarowe. Następnie prowadzono obserwacje makro- i mikroskopowe, na podstawie których większość grzybów identyfikowano do gatunku, posługując się kluczami mykologicznymi i opracowaniami monograficznymi [4-9]. 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.

3. Wyniki badań

W wyniku analizy mykologicznej z nasion bobu odmiany Windsor Biały uzyskano 2053 izolaty grzybów (tab. 1). Oznaczono 30 gatunków grzybów, które zaliczono do 16 rodzajów, ponadto zidentyfikowano 2 rodzaje: *Mucor* i *Penicillium*. Zastosowane warianty ochrony biologicznej nie różnicowały pod względem jakościowym zbiorowiska grzybów zasiedlających nasiona bobu. Największy 21,72% udział w ogólnej populacji grzybów bytujących w nasionach bobu stanowił gatunek *Alternaria alternata*. Niezależnie od zastosowanej ochrony oraz roku w grupie dominantów (stanowiących >5% zbiorowiska grzybów) najczęściej występowały: *Penicillium* spp., *Botrytis cinerea*, *Epicoccum purpurascens*, *Fusarium equiseti*. Ogólnie w zbiorowisku grzybów duży udział miał rodzaj *Fusarium* (19,63%), reprezentowany przez 11 gatunków, wśród których dominował *F. equiseti*, *F. culmorum* i *F. avenaceum*. Przy czym dwa ostatnie gatunki podobnie jak: *Ascochyta fabae*, *Cladosporium herbarium*, *F. oxysporum*, *Phoma glomerata*, *Rhizopus nigricans*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, oraz *Colletotrichum* spp. i *Mucor* spp. zaliczono do średnio liczebnych, influentów (1-5% zbiorowiska). Nie stwierdzono, zróżnicowania w liczebności wyosobnionych kolonii grzybów pomiędzy zastosowanymi wariantami ochrony biologicznej. Łącznie z partii nasion pochodzących

z uprawy chronionej preparatami biotechnicznymi i biologicznymi uzyskano od 469 do 481 izolatów, a w kontroli 633 (tab. 1). Przebieg pogody w czasie wegetacji w znaczący sposób wpływa na rozwój mikroorganizmów zasiedlających rośliny, ale również na skuteczność stosowanych preparatów ochronnych. Z wyników prezentowanych w tab. 1 wynika, że największą liczbę (799) kolonii grzybów wyosobniono z nasion bobu uprawianego w 2012 roku, który charakteryzował się największą ilością opadów atmosferycznych przypadających zwłaszcza na końcowy etap wegetacji. Z kolei w 2010 roku notowane opady atmosferyczne na początku wegetacji mogły sprzyjać wyższej skuteczności zastosowanej biologicznej zaprawy nasiennej Polyversum WP, o czym świadczy zdecydowanie mniejsza (136) liczebność izolowanych grzybów w porównaniu z obiektem kontrolnym (214) (tab. 1). Również w pozostałych dwóch wariantach ochrony biologicznej ilość wyosobnień grzybów utrzymywała się na podobnym poziomie wynoszącym 139 i 142.

Niezależnie od zastosowanej ochrony i lat, średnio stosunek liczebności grzybów pasożytniczych do saprotroficznych był wyrównany i wynosił odpowiednio 49,84% i 50,16% (rys. 1). Jednakże w poszczególnych latach obserwowano nieznaczne zmiany w udziale tych grup grzybów. Najmniejszy udział grzybów patogenicznych na poziomie 44,53%, notowano w 2010 roku, z kolei najwyższy 56,18% w 2011.

Z badań mykologicznych wynika, że nalistna aplikacja preparatów biotechnicznych takich jak Bioczso BR i Biosept 33 SL w porównaniu do przedsiewnego zaprawiania nasion biopreparatem Polyversum WP wpływała na zmniejszenie w ogólnej populacji grzybów zasiedlających nasiona bobu gatunków patogenicznych i zarazem nieznacznie zwiększała udział grzybów antagonistycznych: *Trichoderma harzianum*, *T. koningi*, *T. viride* (rys. 2). Natomiast grzyby saprotroficzne takie jak: *Acremonium glaucum*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus* spp., *Cladosporium herbarium*, *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus nigricans* z mniejszą częstotliwością bytują w nasionach bobu pochodzących z obiektów gdzie nasiona zaprawiono preparatem Polyversum WP bądź nie stosowano żadnej ochrony.

Niezależnie od lat badań z partii nasion pochodzącej z obiektu kontrolnego z największą częstotliwością izolowano gatunki należące do rodzaju *Fusarium*, które stanowiły 23,85% ogółu populacji grzybów (rys. 3). Ponadto duży udział stanowiły grzyby saprotroficzne *A. alternata* (19,43%) oraz *Penicillium* spp. Spośród analizowanych kombinacji ochrony bobu wykorzystanie zaprawy Polyversum WP oraz przedsiewne zaprawienie nasion i dwukrotna aplikacja nalistna Bioczso BR + 1x Bioseptu 33 SL najbardziej sprzyjały zasiedlaniu nasion bobu przez *A. alternata* (24,68%; 24,95) i *E. purpurascens* a w mniejszym stopniu przez rodzaj *Fusarium* i gatunek *B. cinerea*.

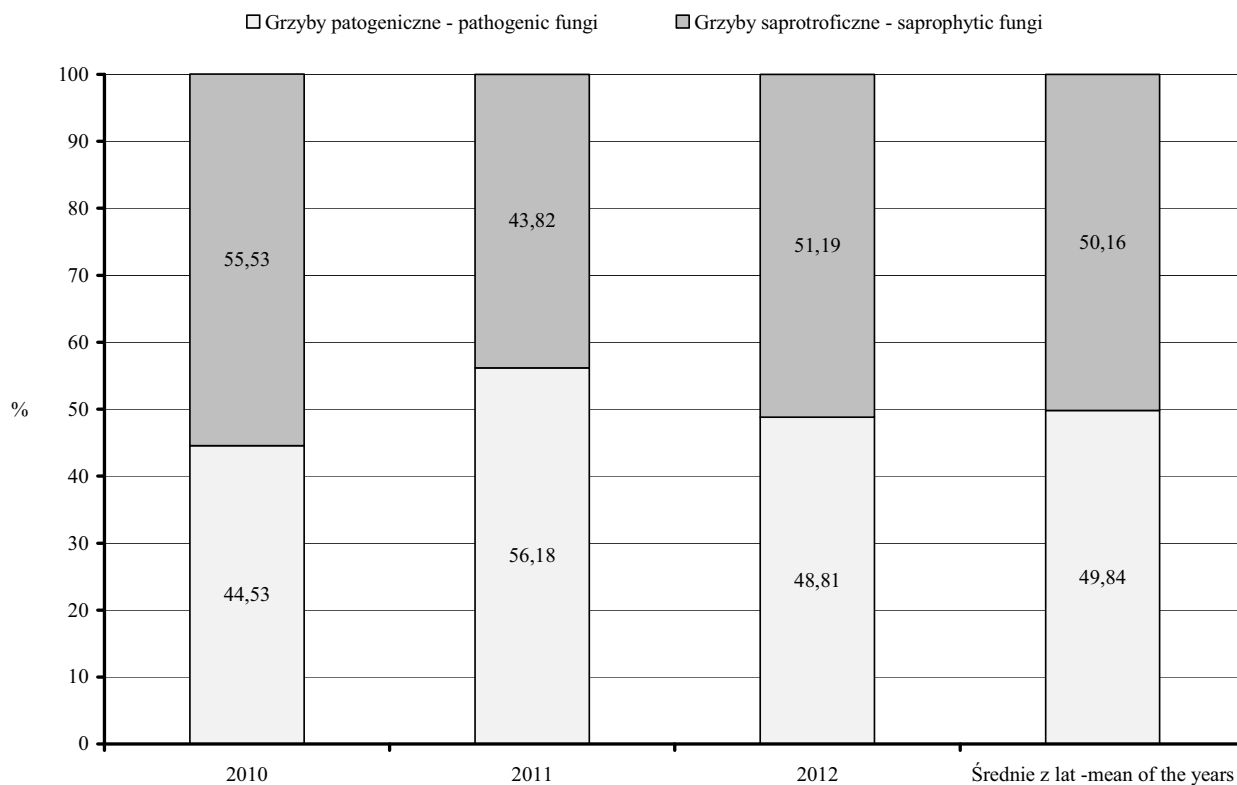
Częstotliwość występowania dominujących gatunków grzybów w nasionach bobu z poszczególnych kombinacji ochrony przebiegała zmiennie w badanych latach (rys. 4a-c). Maksymalna ochrona biologiczna (IV-Polyversum +3xBioczso+1xBiosept) w każdym roku wpływała na ograniczenie występowania w nasionach bobu *A. alternata*. Natomiast grzybów z rodzaju *Fusarium* najwięcej izolowano z nasion obiektu kontrolnego. W odniesieniu do gatunków takich jak *B. cinerea* i *E. purpurascens* oraz *Penicillium* spp. nie można jednoznacznie określić ich częstotliwości izolowania w zależności od zastosowanej ochrony.

Tab. 1. Grzyby wyizolowane z nasion bobu w zależności od ochrony biologicznej (liczba izolatów)
 Table 1. Fungi isolated from broad bean seeds depending on the biological protection (number of isolates)

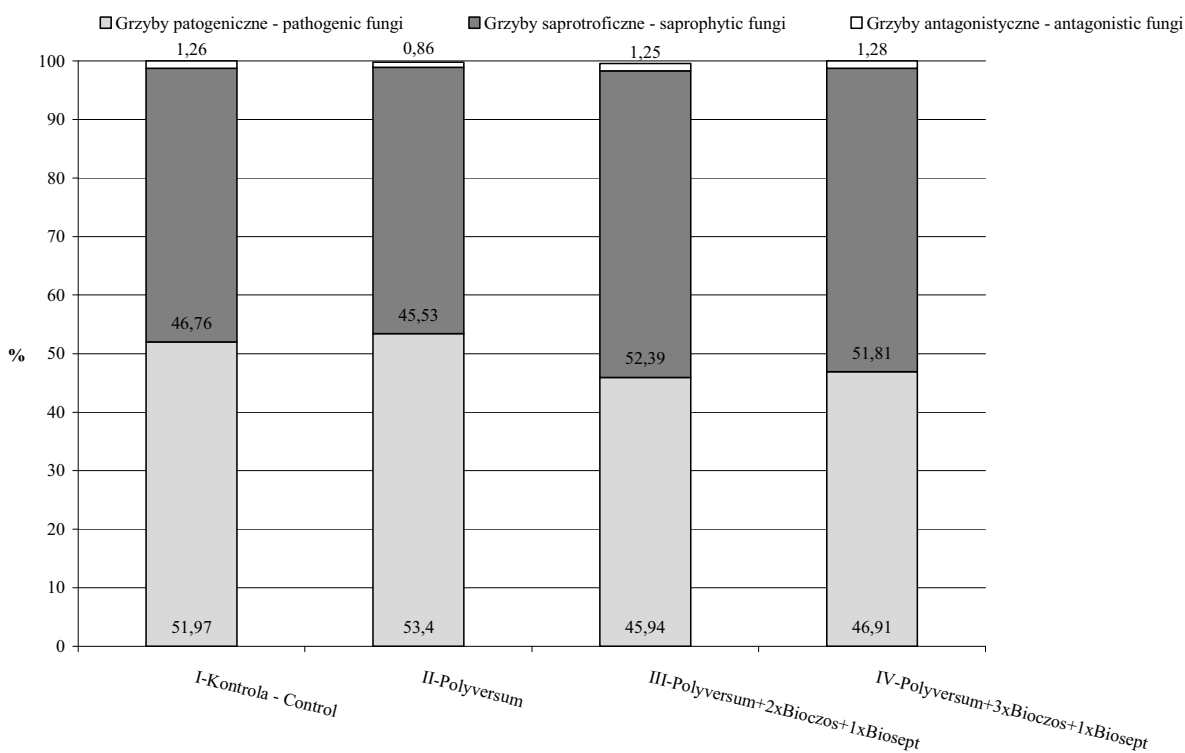
Lp. No.	Gatunek grzyba Fungal species	Obiekty / Objects												Suma Sum	Procent Per cent
		I*			II			III			IV				
		Lata – Years			Lata – Years			Lata – Years			Lata – Years				
1**	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3				
1.	<i>Acremonium glaucum</i> W. Gams						1			2			4	0,20	
2.	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	52	20	51	36	30	50	50	33	37	20	27	27	446	21,72
3.	<i>Ascochyta fabae</i> Speg.	6	4	8	2	1	4		3	5	1	2	1	37	1,80
4.	<i>Aspergillus spp.</i>	3	12		4		2	2		1	6		1	31	1,51
5.	<i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tiraboschi	1		1				1		2	3			8	0,40
6.	<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex Nozza et Balb.	16	21	36	13	18	20	7	9	25	16	17	15	213	10,37
7.	<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link ex Gray	2	9	10		5	7	2	8	15	8	12	12	90	4,38
8.	<i>Colletotrichum coccodes</i> (Wallr.) S. Hughes	1			2		2	4	2	1		2		14	0,68
9.	<i>Colletotrichum spp.</i>	2	7	1	4	2	2	2	8	4	2	5	5	44	2,14
10.	<i>Epicoccum purpurascens</i> Ehrenb. ex Schlecht	19	6	21	21	12	26	10	25	21	10	8	14	193	9,40
11.	<i>Fusarium avenaceum</i> (Corda ex Fr.) Sacc.	4	15	2	10	3	3	4	9	4	3	12	7	76	3,70
12.	<i>F. culmorum</i> (W.G. Smith) Sacc.	12	20	7	1	10	5	5	9	5	1	5	8	88	4,29
13.	<i>F. equiseti</i> (Corda) Sacc.	20	31	18	9	17	3	4	3	6	10	9	16	146	7,11
14.	<i>F. heterosporum</i> Ness. Fr.		4							1	2			7	0,34
15.	<i>F. oxysporum</i> Schlecht	2		1	1	8	2	1		4	2	3	4	28	1,36
16.	<i>F. poae</i> (Peck) Wollenweber	1		3			1	1		1	1		1	9	0,44
17.	<i>F. sambucinum</i> Fuckel			3	1	1	2			2			2	11	0,53
18.	<i>F. semitectum</i> Berk. et Rav.	1				1								2	0,10
19.	<i>F. solani</i> (Mart.) Sacc.			2		6	1		2			2	1	14	0,68
20.	<i>F. sporotrichoides</i> Sherbakoff	1	2		1		2	3	1	1	3			14	0,68
21.	<i>F. tricinctum</i> (Corda) Sacc.			2	1					2	1		2	8	0,40
22.	<i>Mucor spp.</i>	6	2	5	2	6	8	4	6	14	11	5	10	79	3,85
23.	<i>Penicillium spp.</i>	44	19	38	14	15	20	28	16	27	31	17	26	295	14,37
24.	<i>Phoma exigua</i> Desm.			2	1		1	1	1	2	1			9	0,44
25.	<i>P. glomerata</i> (Corda) Wollenweber et Hochapfel	4	1	2	2	1	4	1	3	5		2	3	28	1,36
26.	<i>P. medicargins</i> var. <i>Pinodella</i> (L. K. Jones)	2	1	1	3		2	1			1		2	13	0,63
27.	<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg	6	10	5	4	3	8	2	4		2	10	1	55	2,68
28.	<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn.	3	2	2		4	1		1	3	2		7	25	1,22
29.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary	2		1	2	6	3	6	1		2		3	26	1,27
30.	<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai		1							1			2	4	0,20
31.	<i>T. koningi</i> Oudem.			3	1					2				6	0,29
32.	<i>T. viride</i> Pers. ex Gray	3		1	1		2		2	1	1	1	2	14	0,68
33.	<i>Trichothecium roseum</i> Link		1	2			1			2		1		7	0,34
34.	<i>Verticillium albo-atrum</i> Renke et Barthold	1		3		1	1			2		1		9	0,44
Razem / Total		214	188	231	136	149	185	139	146	196	142	140	187	2053	100
Łącznie dla wariantów ochrony biologicznej / Total for variants of biological protection		633			470			481			469				
Procent / Per cent		30,83			22,89			23,43			22,84				

*I – Kontrola/Control, II - Polyversum, III - Polyversum + 2xBioczos + 1xBiosept, IV - Polyversum + 3xBioczos + 1xBiosept

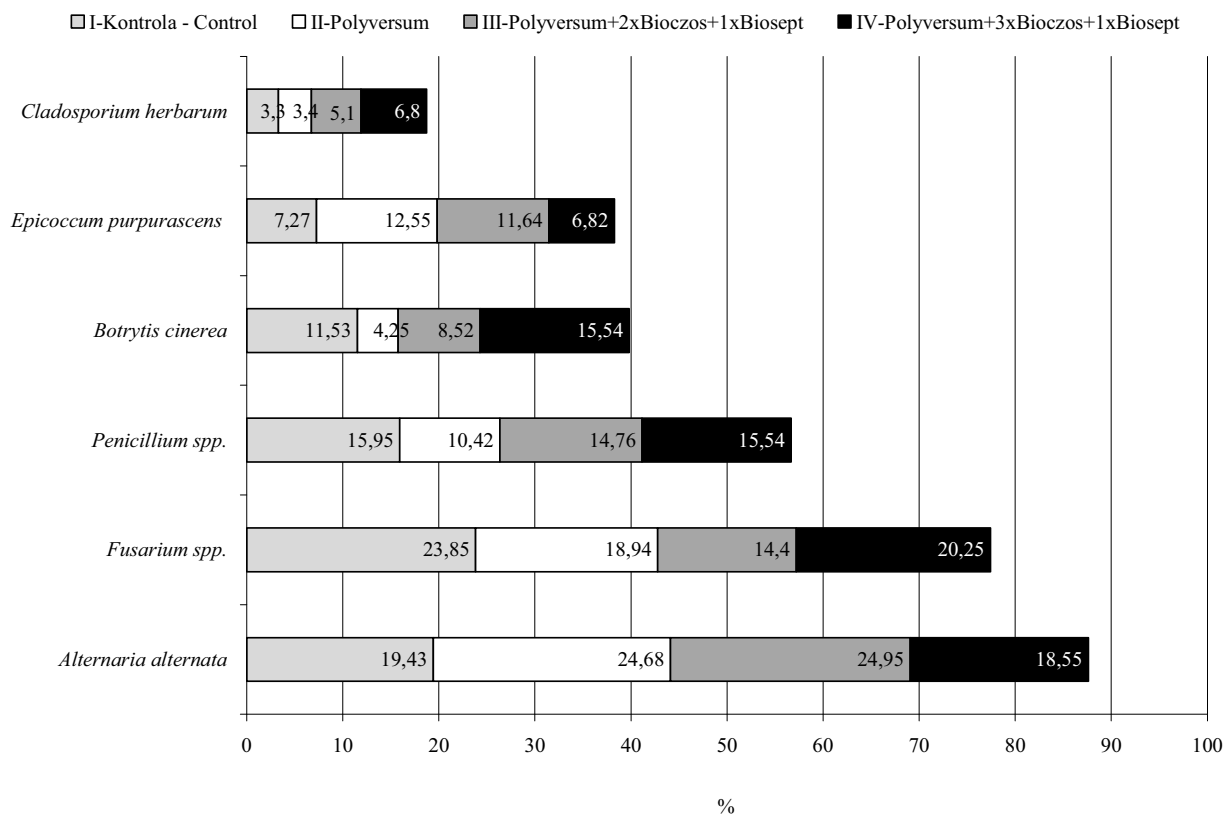
**1 -2010 r., 2 -2011r., 3 – 2012 r.



Rys. 1. Udział poszczególnych grup grzybów izolowanych z nasion bobu w zależności od roku uprawy
 Fig. 1. The share of individual groups of fungi isolated from broad bean seeds depending on the crop

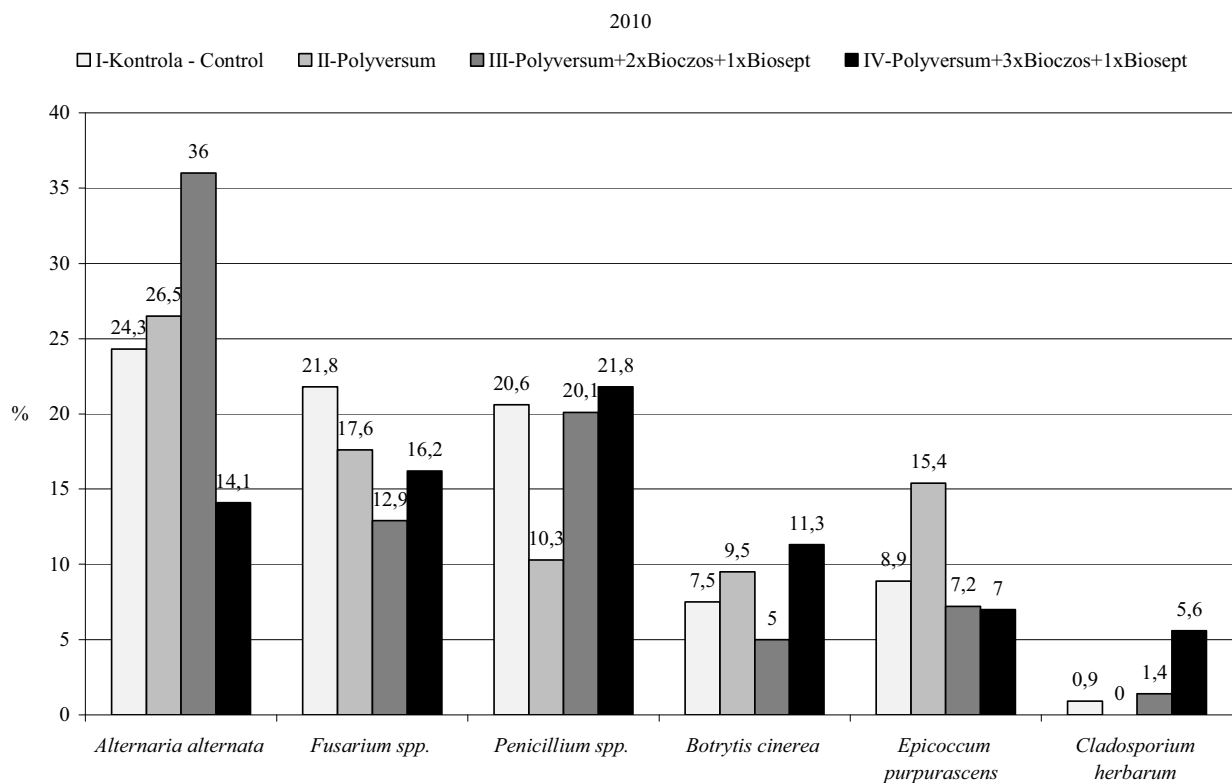


Rys. 2. Wpływ ochrony biologicznej na procentowy udział poszczególnych grup grzybów wyodrębnionych z nasion bobu
 Fig. 2. The effect of biological protection on the percentage of each group of fungi isolated from broad bean seeds

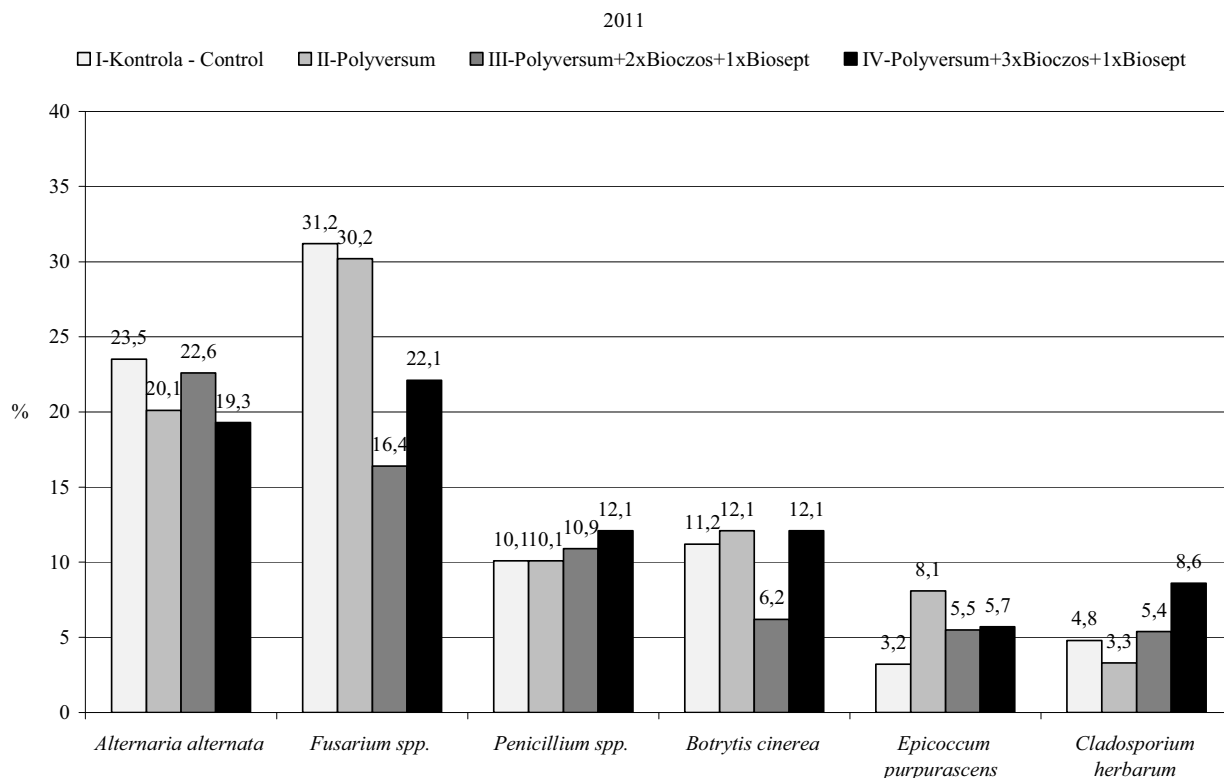


Rys. 3. Procentowy udział najczęściej izolowanych grzybów z nasion bobu w zależności od zastosowanej ochrony
 Fig. 3. Percentage of most often isolated fungi from broad bean seeds depending on the applied protection

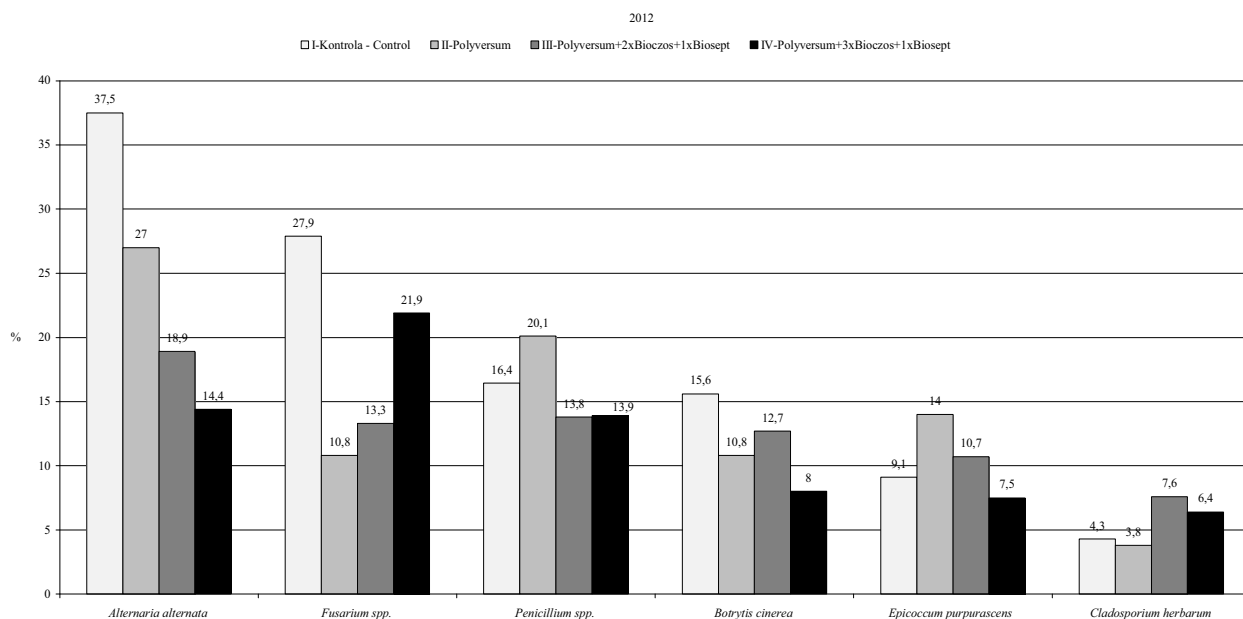
a)



b)



c)



Rys. 4. Procentowy udział najczęściej izolowanych grzybów z nasion bobu w zależności od lat badań
 Fig. 4. Percentage of most often isolated fungi from broad bean seeds depending on the study years

4. Dyskusja

Niezależnie od zastosowanej w okresie wegetacji ochrony z nasion bobu odmiany Windsor Biały uzyskano 2053 izolaty grzybów o wyrównanym stosunku patogenów do saprobiontów (49,84%; 50,16). Grzyby patogeniczne reprezentowane były przez 23 gatunki, w tym 11 należących do rodzaju *Fusarium* o łącznym udziale 19,63%. Spośród nich z największą częstotliwością izolowano *F. equiseti*

(7,11%), *F. culmorum* (4,29%) i *F. avenaceum* (3,70%), a z mniejszą *F. oxysporum*. Natomiast wśród pozostałych gatunków patogenicznych dominowały *Botrytis cinerea* (10,37%), *Epicoccum purpurascens* (9,40%). Poza tym notowano mniej liczne wyosobnienia *Colletotrichum spp.* (2,14%), *Ascochyta fabae* (1,80%), *Phoma glomerata* (1,36%), *Sclerotinia sclerotiorum* (1,27%), *Rhizoctonia solani* (1,22%) oraz pojedyncze *Colletotrichum coccodes*, *Verticillium albo-atrum*, *Trichothecium roseum*, *Phoma*

exiqua. W dostępnej literaturze brakuje informacji na temat kolonizacji nasion bobu przez grzyby patogeniczne. Użyte wyniki badań dobrze korespondują z wcześniej przeprowadzoną przez autorki analizą mykologiczną nasion bobu odmiany Windsor Biały [10-12]. Także z nasion innych gatunków roślin bobowatych, tj.: bobika, fasoli, grochu i łubinu, izolowano wymienione wyżej gatunki grzybów [13-19]. Grzyb *F. oxysporum* uznany jest za głównego sprawcę wędnięcia łubinu i grochu, natomiast gatunki: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. solani*, przyczyniają się do powstawania zgorzeli pędów tych roślin [20]. Wykorzystanie do reprodukcji zasiedlonych przez te grzyby nasion może okazać się wyjątkowo ryzykowne, ponieważ grozi rozwojem chorób zgorzelowych pędów lub obumieraniem roślin wskutek fuzaryjnego wędnięcia.

Na podstawie przeprowadzonych badań własnych stwierdzono ilościowe różnice w populacji grzybów zasiedlających nasiona bobu pomiędzy obiektem kontrolnym a wariantami ochrony biologicznej. Na ogół wszystkie zastosowane warianty ochrony biologicznej przyczyniały się do ograniczenia ogólnej liczebności izolowanych grzybów w zakresie od 152 do 164 izolatów. W kombinacjach z dodatkową aplikacją nalistną preparatów biotechnicznych (Bioczos BR i Biosept 33 SL) zmniejszył się udział gatunków patogenicznych na korzyść saprobiontów. Szczególnie w roku 2010 i 2012, odznaczających się dużą ilością opadów atmosferycznych, gatunki saprotroficzne (głównie *A.alternata*, *Penicillium* spp., *C. herbarium*) stanowiły odpowiednio 55,53 i 51,19% ogólnej liczby izolowanych grzybów. Zdaniem Filipowicza (1976) [21] obecny w nasionach grochu grzyb *C. herbarum* może wywoływać zmiany chorobowe na roślinach. Z kolei według Skindera i in. (2007) [22] grzyb *A.alternata* oraz inne saprobionty pojawiają się wtórnie na porażonych i zniszczonych wcześniej przez patogeny tkankach. Powyższy gatunek obecny w nasionach seradeli może przyczyniać się do zgorzeli roślin [23]. Niektórzy donoszą, że *A. alternata* w okresie wegetacji może atakować korzenie, pędy, liście oraz organy generatywne wielu gatunków roślin uprawnych [24-26]. Objawy chorób na roślinach najczęściej są efektem współtowarzyszenia tego saprofitycznego gatunku innym grzybem z rodzajów: *Alternaria*, *Cladosporium* oraz *Epicoccum*. Kształtowanie się zbiorowiska grzybów zasiedlających nasiona zależy od długości okresu przechowywania [27]. Z większą częstotliwością *A. alternata* i gatunki grzybów rodzaju *Fusarium* izoluje się bezpośrednio po zbiorze lub krótkim przechowywaniu. Natomiast wydłużanie okresu przechowywania nasion do 1,5 czy 2 lat sprzyja większej liczebności grzybów rodzaju *Penicillium* i *Rhizopus*. W badaniach własnych analizę mykologiczną nasion bobu wykonano po upływie dwóch miesięcy od zbioru, czyli po stosunkowo krótkim przechowywaniu, stąd duży udział *A. alternata* w zbiorowisku grzybów.

5. Wnioski

1. Z nasion bobu odmiany Windsor Biały najliczniej izolowano gatunek *Alternaria alternata* z 21,7% udziałem ogółu izolatów oraz grzyby rodzaju *Fusarium* - 19,6%, *Penicillium* spp. - 14,4%, *Botrytis cinerea* 10,4%, *Epicoccum purpurascens* - 9,4%.

2. We wszystkich wariantach ochrony biologicznej liczebność izolatów grzybów wyosobnionych z nasion bobu była na bardzo zbliżonym poziomie i średnio o 160 mniejsza niż

w obiekcie kontrolnym.

3. Stwierdzono zmniejszenie liczebności grzybów patogenicznych zasiedlających nasiona bobu w kombinacjach z dwu i trzykrotną aplikacją nalistną Bioczosu BR i jednokrotną Bioseptu 33 SL. Minimalny wzrost liczebności patogenów zanotowano w kombinacji z zastosowaniem preparatu Polyversum WP.

6. Bibliografia

- [1] Sadowski C., Łukanowski A.: Z badań nad zdrowotnością pszenicy ozimej uprawianej w systemie ekologicznym, integrowanym, konwencjonalnym i monokulturze w latach 1999-2004. Prog. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl., 2005, 45 (1): 423-425.
- [2] Watanabe I., Kakishima M., Adachi Y., Nakajima H.: Potential mycotoxin productivity of *Alternaria alternata* isolated from garden trees. Mycotoxins, 2007, 57 (1): 3-9.
- [3] Király Z., Klement Z., Solymosy F., Voros J.: Fitopatologia wybór metod badawczych. PWRiL, Warszawa, 1977, 459 ss.
- [4] Pidopliczko H. M.: Gryby-parazyty kulturowych roślin. Tom 3. Naukowska Dumka, 1978, 230 ss.
- [5] Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H.: Compendium of Soil Fungi. Academic Press, (London), 1980, 619 pp.
- [6] Cook R. J.: *Fusarium*: Diseases, biology and taxonomy. The Pennsylv. St. Univ. Press., Park and London, 1981.
- [7] Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O.: *Fusarium* species. The Pennsylvania State University Press. University Park and London, 1983, 193 pp.
- [8] Kwaśna H., Chełkowski J., Zajkowski P.: Flora Polska, Grzyby (*Mycota*), tom XXII, Sierpik (*Fusarium*). PAN, Warszawa-Kraków, 1991, 137 ss.
- [9] Marcinkowska J.: Oznaczanie Rodzajów Grzybów Ważnych w Patologii Roślin. Fundacja Rozwój SGGW, 2003, 328 ss.
- [10] Gleń K., Gospodarek J.: Mikroflora nasion bobu (*Vicia faba* L. ssp. major) uprawianego w warunkach gleby skażonej metalami ciężkimi. Prog. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl., 2009, 49 (3): 1260-1263.
- [11] Gleń K., Boligłowa E., Gospodarek J.: Wpływ zapraw nasiennych na zdrowotność nasion bobu. Prog. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl., 2011, 51 (4): 1628-1632.
- [12] Gleń K., Boligłowa E., Gospodarek J.: Wpływ stopnia uszkodzenia nasion bobu przez *Bruchus rufimanus* Boh. Na mikroflorę w warunkach uprawy współrzędnej. Prog. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl., 2011, 51 (4): 1525-1529.
- [13] Filipowicz A., Wagner A.: Mikroflora nasion łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) uprawianego na terenie Polski. Biul. IHAR, 1987, 163: 146-156.
- [14] Filipowicz A.: Mikroflora nasion łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.) i łubinu białego (*L. albus* L.) uprawianego w Polsce. Hod. Rośl. Nasien., 1989, 5-6: 11-14.
- [15] Khan B.A., Saad A.T.: Seed health testing of broad beans. Pakistan, J. Agric. Res., 1993, 14 (2,3): 227-232.
- [16] Nowicki B.: Patogeniczne grzyby zasiedlające nasiona łubinu wąskolistnego. Acta Agrobot., 1995, 48 (2): 59-64.
- [17] Kurowski T.P., Bieniaszewski T.: Grzyby izolowane z nasion łubinu żółtego, ze szczególnym uwzględnieniem *Colletotrichum gloeosporioides* w zależności od okresu przechowywania materiału siewnego. Zesz. Nauk. Akad. Rol. Wroc. 427, Roln., 2001, 82: 195-204.
- [18] Okorski A., Majchrzak B.: Grzyby zasiedlające nasiona grochu siewnego po zastosowaniu preparatu mikrobiologicznego EM 1. Prog. Plant Protect./Post. Ochr. Roślin, 2008, 48 (4): 1314-1318.
- [19] Al-Abdalall A.H.A.: Pathogenicity of fungi associated with leguminous seeds in the Eastern kingdom of Saudi Arabia. Afr. J. Agric. Res., 2010, 5 (10), 1117-1126.
- [20] Jędrzycka E., Lewartowska E., Frencl I.: Wpływ środowiska na stopień odporności grochu siewnego i łubinu żółtego na fuzariozę (*Fusarium* spp.). Mat. Symp. Biotyczne środowisko

- uprawne a zagrożenie chorobowe roślin. Olsztyn, 1993, 213-220.
- [21] Filipowicz A.: Badania mikroflory nasion grochu siewnego (*Pisum sativum* L.) ze szczególnym uwzględnieniem grzybów z rodzaju *Ascochyta* i *Fusarium*. Roczn. Nauk Rol., 1976, E 5 (2), 85-119.
- [22] Skinder Z., Lemańczyk G., Wilczewski E.: Wartość wybranych roślin motylkowatych uprawianych w międzyplonie ścierniskowym na glebie lekkiej. Cz. I. Wydajność biomasy i zdrowotność roślin. Acta Sci. Pol., Agricultura, 2007, 6 (1): 23-33.
- [23] Wójcik U.: Grzyby zasiedlające nasiona seradeli (*Ornithopus sativus* Brot.) uprawianej z roślinami podporowymi i w siewie czystym. Mat. Symp. Biotyczne środowisko a zagrożenie chorobowe roślin. Olsztyn, 1993, 419-426.
- [24] Iram S., Ahmad I.: Analysis of variation in *Alternaria alternata* by pathogenicity and RAPD study. Polish J. Microbiol., 54 (1): 13-19, 2005.
- [25] Kowalczyk S., Maciorowski R.: Grzyby zasiedlające ziarno krótkosłomego owsa nieoplewionego. Biul. IHAR, 2006, 239: 165-171.
- [26] Ogórek R., Płasowska E., Kalinowska K.: Charakterystyka i taksonomia grzybów z rodzaju *Alternaria*. Mikologia lekarska, 1 2011, 8 (3): 150-155.
- [27] Cwalina-Ambroziak B., Kurowski T.P.: Kształtowanie się zbiorowiska grzybów izolowanych z nasion łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) pod wpływem okresu przechowywania. Acta Agrobotanica, 2005, Vol. 58, z. 2: 407-416.

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2010/2013 jako projekt badawczy – NN310038438.