

Oddziaływanie zbiorowisk grzybów ze środowiska uprawnego *Trifolium pratense* L. i *Dactylis glomerata* L. na grzyby patogeniczne dla koniczyny

MARIA DORENDA

D o r e n d a M.: (Institute of Plant Protection, Laboratory of Phytopathology, Agricultural Academy, 50-205 Wrocław, Cybulskiego 32, Poland). *Effect of fungal communities from the environment of cultures of Trifolium pratense L. and Dactylis glomerata L. on fungi pathogenic for clover.* Acta Mycol. 19 (1): 47-53, 1983.

The biotic function of communities of saprophytic fungi in the soil, rhizosphere, planosphere and roots of clover, orchard grass and their mixed cultures in respect to selected pathogens of clover was examined. The pathogens were *Fusarium oxysporum* f. sp. *trifolii* and *Sclerotinia trifoliorum*. These communities were not able to resist *Fusarium oxysporum* f. sp. *trifolii*. However, most of the components of these communities limited the development of *Sclerotinia trifoliorum*.

WSTĘP

Opracowanie metod ochrony roślin przed grzybami patogenicznymi występującymi w glebie zależy w dużej mierze od poznania zjawisk zachodzących wśród mikroorganizmów glebowych oraz poznania układu stosunków między mikroflorą a roślinami wyższymi.

Ustalenie ewentualnych zależności między grzybami z gleby oraz ryzosfery, planosfery i korzeni roślin uprawnych a ich zdrowotnością pozwoli może na poznanie zjawiska określanego przez M a n k ę (1975) jako odporność roślin uwarunkowana ekologicznie.

Wielu badaczy pisało o antagonistycznym potencjale gleby (B o c h o w 1967) lub antagonistycznym oddziaływaniu mikroflory gleby na określone gatunki grzybów (L i n g a p p a, L o o k w o o d 1961; W i l l i a m s, K a u f m a n 1962; B o c h o w, S e i d e l 1964; P o h j a k a l l i o 1957, H a l k i l a t h i 1964).

L o u v e t, R o u x e l i A l a b o u v e t t e (1975) stwierdzili, że odporność melonów na chorobę zgorzeli naczyń, powodowaną przez *Fusarium*

oxysporum f. melonis, uwarunkowana jest właściwościami gleby, nie sprzyjającej patogenowi. Zjawisko to sugeruje, według tych autorów, że w danej glebie występują mikroorganizmy zdolne do ograniczania rozwoju patogena.

Znając skład jakościowy i liczbowy zbiorowisk grzybów, środowiska uprawnego koniczyny, kupkówki i upraw mieszanych (D o r e n d a 1980), uzyskanych z gleby, ryzosfery, planosfery i korzeni można uczynić dalszy krok w kierunku poznania ich funkcji w stosunku do grzybów patogenicznych dla obu roślin uprawnych.

Wyniki badań wpływu zbiorowisk grzybów na określone gatunki patogeniczne, uzyskane metodą szeregów biotycznych (M a ń k a, K o w a l s k i 1968; M a ń k a 1969, 1974; G i e r c z a k 1972), można z dużym prawdopodobieństwem odnieść do stosunków naturalnych zachodzących w przyrodzie.

Wobec takich możliwości poznane zbiorowiska grzybów z gleby, ryzosfery, planosfery i korzeni koniczyny oraz kupkówki uprawianych w czystym siewie i w mieszankach (D o r e n d a 1980) wykorzystano do poznania biotycznych właściwości tych zbiorowisk w stosunku do dwóch patogenów koniczyny czerwonej: *Fusarium oxysporum* Schl. f.sp. *trifolii* (Jacz.) Bilay i *Sclerotinia trifoliorum* Erikss.

Fusarium oxysporum f.sp. *trifolii* jest patogenem koniczyny (B o o t h 1971), który dokonuje zakażenia przez korzenie, czego następstwem jest zgorzel naczyń podstawy pędu i obumieranie roślin.

Wybór drugiego patogena, *Sclerotinia trifoliorum*, może budzić zastrzeżenia. Najczęściej bowiem zarodniki workowe dokonują infekcji liści i dopiero następuje opanowywanie podstawy pędu (K e i t l o w, S p r a g u e 1951; Ł a c i c o w a, W a g n e r 1976). P o h j a k a l l i o (1957) i H a l k i l a t h i (1964) stwierdzili jednakże, że grzybnia może przerastać glebę. D i x o n i D o o d s o n (1974) jako jedną z metod zakażenia koniczyny, przy ocenie odporności odmian, stosowali rozdrobnioną grzybnię.

Zadecydowano więc przetestować poznane zbiorowiska grzybów w stosunku do obu patogenów.

Wykorzystano metodę szeregów biotycznych (M a ń k a 1974) do przebadania oddziaływania opracowanych zbiorowisk (D o r e n d a 1980) w kombinacjach:

- I – koniczyna w czystym siewie,
- II – kupkówka w czystym siewie,
- III – mieszanka koniczyny i kupkówki w stosunku 3:1,
- IV – mieszanka koniczyny i kupkówki w stosunku 1:3.

We wszystkich kombinacjach badano funkcję biotyczną zbiorowisk grzybów z gleby, ryzosfery, planosfery i korzeni.

Oddziaływanie zborowisk przybów (sumaryczny efekt bietyczny) uzyskanych w ujęciu kończy ry w czynnym stanie, kupkówki w czynnym stanie i ich miazanek w stanunku do: Państwem orzypomom f. sp. rnfoli | Sclerowicie rnfobomom

Cataunek	Zborowiska plety																
	pletu przed stewart		kończyna w czynnym stanie			kupkówka w czynnym stanie			miazanka kończyry 75% i kupkówki 25%			miazanka kończyry 25% i kupkówki 75%					
	1973	1974	1975	1976	1973	1974	1975	1976	1973	1974	1975	1976	1973	1974	1975	1976	
Państwem orzypomom f. sp. rnfoli	+166	-756	-1101	-1642	-911	-641	-665	-397	-369	-899	-1001	-459	-613	-772	-546	-542	-617
Sclerowicie rnfobomom	+445	+407	-3	-4	+440	+569	+152	+81	+55	+335	-11	-9	+139	+445	+47	+31	+199

Cataunek	kończyna w miazanance (kończyna 75% + kupkówki 25%)						kupkówka w miazanance (kończyna 25% + kupkówki 75%)						kupkówka w miazanance (kończyna 25% + kupkówki 75%)										
	1973	1974	1975	1976	1973	1974	1975	1976	1973	1974	1975	1976	1973	1974	1975	1976	1973	1974	1975	1976			
Państwem orzypomom f. sp. rnfoli	-3356	-2534	-3143	-448	-2100	-2079	-441	-2331	-2717	-698	-410	-1017	-277	-584	-385	-137	-783	-431	-174	-460	-436	-377	-218
Sclerowicie rnfobomom	+71	+70	+60	+137	+103	0	+189	+291	+101	+191	+64	+239	+150	+121	-15	+968	+242	+170	+233	+365	+286	+250	+160
Zborowiska pletowery																							
Państwem orzypomom f. sp. rnfoli	-2598	-2968	-2434	-718	-2057	-1351	-331	-2523	-1638	-1030	-459	-1125	-379	-587	-244	-421	-679	-447	-326	-998	-626	-684	-317
Sclerowicie rnfobomom	-34	+69	-22	+106	+57	+43	+58	+251	-13	+75	+115	+173	+268	-7	+112	+380	+177	+91	+248	+140	+59	+85	+5
Zborowiska korzeni																							
Państwem orzypomom f. sp. rnfoli	-403	-533	-282	-169	-646	-567	-363	-340	-366	-332	-364	+294	-157	-174	-191	+625	-223	-155	-366	+437	-232	-149	-448
Sclerowicie rnfobomom	+323	+396	+347	+383	+97	+292	+388	+314	+293	+257	+341	+735	+304	+262	+186	+838	+361	+296	+304	+772	+477	+387	+209

METODY BADAŃ

Badania funkcji zbiorowisk uzyskanych z gleby, ryzosfery, planosfery i korzeni koniczyny i kupkówki wobec wybranych patogenów przeprowadzono metodą szeregów biotycznych (M a ñ k a 1974). W tym celu testowano grzyby saprofityczne reprezentujące dane zbiorowiska (70-80% ogólnej liczby kolonii).

Kultury patogenów zastosowanych do doświadczenia uzyskano z Zakładu Fitopatologii IOR AR w Lublinie. Pochodziły one z chorych roślin. Gatunek *Sclerotinia trifoliorum* wyhodowany został ze sklerocjów, a *Fusarium oxysporum* wyizolowano z naczyń podstawy pędu.

Doświadczenie przeprowadzono na szalkach Petriego o średnicy 10 cm na pożywce glukozowo-ziemniaczanej. Grzyb patogeniczny testowany i saprofit wyszczepiane były parami, równocześnie, w odległości 2 cm. Wyniki odczytywano po 10 dniach, posługując się odpowiednią skalą (M a ñ k a 1974). Przy ocenie według skali uwzględnia się otoczenie jednej kolonii przez drugą, obecność ewentualnej strefy inhibicyjnej oraz wielkość kolonii w stosunku do kolonii kontrolnych. Hamujące oddziaływanie gatunku saprofitycznego w stosunku do testowanego patogena oceniane jest jako dodatnie (+), brak ograniczenia patogena ujemnie (-).

Zdecydowano się na przetestowanie każdego z uzyskanych zbiorowisk oddzielnie z korzeni, gleby i pierwszej płuczki, celowe natomiast okazało się połączenie w jeden szereg zbiorowisk z 2 i 9 płuczki. W ten sposób skonstruowano 17 szeregów z gleby, a z korzeni, ryzosfery (1 płuczka) i planosfery (2 i 9 płuczka) skonstruowano po 23 szeregi.

WYNIKI BADAŃ

Oddziaływanie zbiorowisk grzybów określone jako sumaryczny efekt biotyczny przedstawiono w tabeli 9.

I — *Fusarium oxysporum* f.sp. *trifolii*

Sumaryczny efekt biotyczny zbiorowisk grzybów glebowych (tab. 9) wyrażał się zawsze wartościami ujemnymi. Wyjątkiem było zbiorowisko uzyskane w wyniku wstępnej analizy mikologicznej gleby wykonanej przed siewem roślin. W zbiorowisku tym *Fusarium* napotkało takie gatunki jak *Rhizopus nigricans*, *Trichoderma koningii* czy *Mucor hiemalis* ograniczające jego rozwój w stopniu +7.

W wyniku pozostałych analiz okazało się, że grzyby mogące przeciwstawić się *Fusarium* były bardzo nieliczne, zwłaszcza w zbiorowiskach grzybów glebowych spod koniczyny (tab. 1). Ujemne wartości sumarycznego efektu biotycznego były bardzo wysokie. W innych zbiorowiskach, zwłaszcza spod kupkówki, zagrożenie przez patogena było mniejsze.

Zbiorowiska grzybów wyosobnione z korzeni koniczyny (tab. 3) nie były zdolne ograniczyć wzrostu *Fusarium oxysporum*. Podobnie grzyby wyosobnione z korzeni kupkówki w okresie wiosny sprzyjały patogenowi. Tylko zbiorowiska grzybów wyosobnione z korzeni kupkówki w jesieni 1973 r. były zdolne stawić mu opór, co wyraziło się dodatnimi sumarycznymi efektami biotycznymi.

Na korzeniach kupkówki we wszystkich kombinacjach licznie wyosobniano wówczas gatunki z rodzaju *Trichoderma*, a następnie *Mucor hiemalis* i *Mortierella stylospora*, hamujące wzrost testowanego grzyba. W kolejnych latach (1974 - 76), w wyniku badania zbiorowisk grzybów z korzeni kupkówki w okresie wiosny patogen nie napotykał już w środowisku oporu.

W zbiorowiskach grzybów z ryzosfery i planosfery (tab. 5 i 7) sumaryczny efekt biotyczny był zawsze ujemny bez względu na porę pobierania prób i kombinację doświadczenia.

II — *Sclerotinia trifoliorum*

W przeciwieństwie do *Fusarium oxysporum* f.sp. *trifolii* ten. patogen we wszystkich zbiorowiskach napotykał liczne gatunki konkurencyjne.

W glebie (tab. 2), zarówno w zbiorowisku ukształtowanym przed założeniem doświadczenia jak i w czasie kolejnych czterech lat gatunki reprezentujące zbiorowiska hamowały wzrost *S. trifoliorum*. Zwłaszcza sumaryczny efekt biotyczny był bardzo wysoki w wyniku analizy mikologicznej wykonanej jesienią. Jednakże i w następnych latach w zbiorowiskach grzybów związanych z koniczyną i kupków warunki dla patogena nie układały się korzystnie.

Zbiorowiska grzybów pochodzące z korzeni obu roślin (tab. 4) prawie całkowicie były zdolne zahamować rozwój testowanego grzyba. Niemalże wszystkie saprofity wykazywały właściwości ograniczania jego wzrostu.

Jedynie dla zbiorowisk grzybów z ryzosfery i planosfery (tab. 6 i 8) sumaryczne efekty biotyczne miały niewielkie, jednak z reguły dodatnie wartości.

Ogólnie można powiedzieć, że większość saprofitów takich jak *Mortierella stylospora*, *M. parvispora*, *M. vinacea*, *Mucor hiemalis*, *Papularia arundinis*, *P. rosea*, *Zygorhynchus moelleri*, *Trichoderma* ssp. charakteryzowało ograniczające wzrost patogena oddziaływanie, nieraz w silnym stopniu.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Niebezpieczeństwo porażenia koniczyny czerwonej przez *Fusarium oxysporum* f.sp. *trifolii* istniało w badanym środowisku bardzo duże, gdyż zbiorowiska jako całość nie zdołałyby się jemu przeciwstawić.

Takim właśnie ujemnym sumarycznym efektem biotycznym charakteryzowały się wyniki testu biotycznego dla wszystkich kombinacji doświadczenia, zarówno z gleby spod upraw, jak i z korzeni, z ryzosfery i planosfery koniczyny i kupkówki.

Z prac G i e r c z a k (1972) i autorki (D o r e n d a 1974) wynikało, że *Fusarium oxysporum* z reguły nie napotyka w środowisku oporu ze strony innych grzybów. Tylko nieliczne gatunki, takie jak *Mucor hiemalis*, *Zygorhynchus moelleri*, *Rhizopus nigricans*, *Mortierella stylospora* i *Papularia arundinis* mogą się okazać w stosunku do niego antagonistyczne, ograniczając jego rozwój (i liczebność) przez swój dynamiczny wzrost.

Wśród antagonistów *Fusarium oxysporum* znajdują się również gatunki z rodzaju *Trichoderma*. Wiele z tych gatunków produkuje substancje antybiotyczne oddziałujące ograniczająco na wiele grzybów (Dennis, Webster 1971 a). Ponadto lotne substancje wytwarzane przez różne szczepy *T. viride* mogą ograniczyć wzrost *F. oxysporum* nawet o dziewiętnaście procent (Dennis, Webster 1971 b).

Jednakże możliwość przeżycia w glebie, w warunkach górskich, populacji tego patogena wydaje się niewielka. *Fusarium oxysporum* dla rozwoju potrzebuje stosunkowo wysokiej temperatury. Natomiast w warunkach uprawy w Mostowicach w miesiącach letnich notowano średnie temperatury w granicach 12-17°C (Dorenda 1980). Pohjakallio i Salonen (1959) stwierdzili, że w północnej Finlandii koniczyny plonują dobrze w ciągu sześciu lat, a wczesne zimy i długotrwałe zaleganie pokrywy śnieżnej są bardzo korzystne.

Odmienne przedstawia się zagadnienie zagrożenia badanych upraw przez *Sclerotinia trifoliorum*. Mimo, że jest to patogen przystosowany do niskiej temperatury i chociaż w rejonie Mostowic warunki jesienią mogłyby sprzyjać infekcji (mżawki i opady jesienne), to jednak w zbiorowiskach grzybów w uprawach koniczyny występowały gatunki grzybów antagonistycznych. Właściwie większość grzybów saprofitycznych wyosabnianych z tego środowiska ograniczała jego rozwój. Potwierdzają to także dane z literatury. Pohjakallio (1957) stwierdził, że ponad połowa badanych przez niego mikroorganizmów okazała się antagonistyczna w stosunku do *S. trifoliorum*. Również z doświadczeń Halckilathi (1964) wynikało, że mikroorganizmy glebowe odgrywają niemałą rolę w ochronie koniczyny przed zakażeniem przez grzybnie *S. trifoliorum*.

WNIOSKI

1. Uprawa koniczyny czerwonej w górskim rejonie uprawnym Mostowic (ok. 900 m n.p.m.) nie stwarza sprzyjających warunków do rozwoju *Sclerotinia trifoliorum*, powodującej raka koniczyny, szczególnie przy uprawie koniczyny w mieszance z kupkówką.

2. Mimo, że potencjał antyfitopatogeniczny zbiorowisk grzybów glebowych i strefy korzeni w uprawach był w stosunku do *Fusarium oxysporum* f.sp. *trifolii* ujemny, można teren uprawny w Mostowicach uważać za korzystny dla koniczyny czerwonej, szczególnie gdy jest ona uprawiana w mieszankach z trawami.

Badania były dofinansowywane przez Komitet Ochrony Roślin PAN.

SUMMARY

The effects of fungi communities from the soil, roots, rhizosphere and planosphere in clover and orchard grass cultures on species pathogenic for clover *Fusarium oxysporum* f.sp. *trifolii* and *Sclerotinia trifoliorum* were examined. These plants were grown in pure and mixed cultures. The investigations were performed by the method of biotic series (M a ñ k a 1974). Saprophytic fungi representing the given community (70-80% of the number of colonies) were tested in respect to both pathogens. An appropriate scale was used in analyzing the result taking into consideration the extent of surrounding of one colony by the other, the presence of a possible zone of inhibition and the size of the colony as compared to the control. The inhibitory effect of saprophytic species in respect to pathogens was considered as positive, the lack of inhibition as negative. Each of the communities was tested separately, only the communities from the second and ninth washers were pooled and tested jointly as the planosphere. Thus 17 series were constructed from the soil, and 23 each from the roots, rhizosphere and planosphere.

The danger of infection of clover by *Fusarium oxysporum* f.sp. *trifolii* is very high in the investigated habitat as the communities were in able to withstand the pathogen. Such a negative biotic effect was found for all tested combinations, in the soil, rhizosphere, planosphere, and roots of clover, orchard grass. This indicates that most saprophytes in the habitat do not affect *F. oxysporum*.

The danger presented by *Sclerotinia trifoliorum* is different. Most of the examined saprophytic fungi inhibited its development. The growth conditions for this pathogen in the examined environment were not favorable. This was true for communities of soil fungi, and fungi from the roots were also capable of limiting its development. Only for the communities of the rhizosphere and planosphere the biotic effects were small, though in general positive.

LITERATURA

- Bochow H., 1967, Antiphytopathogene Wirkungen des Bodens und ihre Nutzung für den Pflanzenschutz, Nachrbl. f. d. D. Pflanzenschutz 21: 47.
 Bochow H., Seidel D., 1964, Bodenhygienische Günstige Wirkungen der organischen Düngung, Dtsch. Landwirtschaft 15: 445-448.

- Booth C., 1971, The Genus *Fusarium*, C.A.B., Kew.
- Dennis C., Webster J., 1971, Antagonistic properties of species – groups of *Trichoderma*. I. Trans. Brit. Mycol. Soc. 57: 25-39. 1971, ditto II, *ibid.*. 57: 41-48.
- Dorenda M., 1974, Badania fitopatologicznego aspektu mikoflory kształtującej się w środowisku uprawnym pod wpływem zmianowania, Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. E, 160: 113-150.
- Dorenda M., 1982, Kształtowanie się zbiorowisk grzybów z górskiego środowiska uprawnego *Trifolium pratense* L. i *Dactylis glomerata* L., Acta Mycol. 18 (2):
- Gierczak M., 1972, Zbiorowiska grzybów glebowych i ściółkowych w niektórych roślinnych zespołach leśnych Puszczy Bukowej pod Szczecinem, Pozn. Tow. Przyj. Nauk 34: 13-59.
- Halkilathi A. M., 1964, The significance of soil microorganisms as a limiting factor of clover by *Sclerotinia trifoliorum* Erikss. at different times of the year, Maataloustieteellinen Aikakauskirja 36: 120-134.
- Kreitlow K. W., Sprague V. G., 1951, Effect of temperature on growth and pathogenicity of *Sclerotinia trifoliorum*, Phytopath. 41: 752-757.
- Lingappa B. T., Lockwood J. L., 1963, Direct assay of soil for fungistasis, Phytopath. 53: 529-531.
- Louvet J., Rouxel F., Alabouvette C., 1975, Soil resistants aux maladies et perspectives de la lutte biologique, Ann. Phytopath. 7: 204-207.
- Łacicowa B., Wagner A., 1976, Występowanie raka koniczyny (*Sclerotinia trifoliorum* Erikss.) w bieszczadzkiem rejonie rolniczym, Ann. UMCS 31: 31-40.
- Mańka K., Kowalski S., 1968, Wpływ zespołów grzybów glebowych z dwóch szkółek leśnych (sosnowej i jesionowej) na rozwój grzyba zgorzelowego *Fusarium oxysporium* Schlecht., Pozn. Tow. Przyj. Nauk 25: 197-205.
- Mańka K., 1974, Zbiorowiska grzybów jako kryteria oceny wpływu środowiska na choroby roślin, Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 160: 9-23.
- Mańka K., 1975, Biologiczne metody zwalczania chorób, ich postęp w ciągu 30 lat i perspektywy na przyszłość, Biul. IOR, 59: 19-30.
- Pohjakallio O. A., 1957, Untersuchungen über Antagonisten der Erreger von Pflanzenkrankheiten, Vorh. IV Internationalen Pflanzensch.-Kongress, Hamburg: 1541-1543.
- Pohjakallio O., Salonen A., 1959, Puna-Apilan Viljelyn Mahdollisuuksista Takalappisa, Maatalous ja Koetointiminta 13: 179-186.
- Williams L. E., Kaufman D. D., 1962, Influence of continuous cropping on soil fungi antagonistic to *F. roseum*, Phytopath. 52: 778-781.