

Studia nad chorobami lucerny powodowanymi przez grzyby. II
Badania mikoflory siedlisk lucerny w 1, 2 i 3 roku użytkowania ze
szczególnym uwzględnieniem gatunków antagonistycznych w stosunku
do patogenów: *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold oraz
Ascochyta imperfecta Peck

S. CZAPLIŃSKA

Instytut Ochrony Roślin Akademii Rolniczej we Wrocławiu

Czaplińska S. (Institute of Plant Protection Academy of Agriculture, Wrocław, Cybulskiego 30, Poland): *Studies on alfalfa diseases caused by fungi*. II, Acta Mycol. 9(1):23-52, 1973.

The specific and quantitative composition of the microflora was investigated within the range of the roots of 1-, 2- and 3-year plants in alfalfa cultures with the aim of finding effective new methods of control or prevention of diseases of alfalfa caused by *Verticillium albo-atrum* and *Ascochyta imperfecta*. The biotic relations between the most numerous saprophytes found on the same sites and the above named pathogens were also studied.

WSTĘP

W pierwszej części pracy przedstawiono wyniki badań składu gatunkowego i ilościowego mikoflory zasiedlającej krajowe oraz importowane nasiona lucerny w zależności od różnych warunków wilgotności w okresie ich przechowywania (Czaplińska 1971). Celem tych obserwacji było określenie warunków przechowywania nasion lucerny zapewniających optymalną ich żywotność oraz zdrowotność.

Drugą część opracowania poświęcono na przebadanie mikoflory żyjącej w glebie, jak również zasiedlającej korzenie lucerny w 1, 2 i 3 roku uprawy, oraz określenie rodzaju stosunków biotycznych zachodzących pomiędzy saprofitycznymi i patogenicznymi grzybami i wpływem ich na zdrowotność roślin.

PRZEGLĄD LITERATURY

Dowodem dużego znaczenia gospodarczego chorób lucerny powodowanych przez *Verticillium albo-atrum* R. et B. oraz *Ascochyta imperfecta* Peck jest bogata literatura na temat ich występowania, szkodliwości i bio-

logii (Cormack 1945; Noble, Robertson i Dowson 1953; At-
how 1957; Engelhard 1957; Kiessig i Haller-Kiessig 1958;
Gerasimova i in. 1960; Isaac i Heale 1961; Kreitlow 1962;
Banttari i Wilcexson 1964; Mead 1964; Panton 1964; Mi-
chail i Carr 1966; Golenia 1968; Powelson 1968; Rösner
1968; Skadow 1969; Aube i Sackston 1969; Schmiedek-
necht 1969; Aubury i Rogers 1969; Bell 1969; Müller 1969;
Hempel 1970). Dzięki zaawansowaniu prac nad ekologią grzybów gle-
bowych uzyskano wiadomości na temat dynamiki zmian zachodzących w
mikoflorze gleby w zależności od warunków ekologicznych tego środo-
wiska (Sternberg 1951; Wilhelm i Ferguson 1953; Garret
1956; Niekrasz 1956; Krasilnikov 1958; Weltzien 1963;
Berg 1964; Rovira 1965; Chen i in. 1966; Gams 1967; Bochow
1967; Catani i Peterson 1967; Kamyszko 1968; Schönbeck
1968; Kulik-Lisina i Maksimova 1968; Benken 1969; Bon-
darcewa 1969; Solovjowa i Madumarov 1969; Popov
i Zdrożevskaja 1969; Gilbert i Griebel 1969; Adams
i Papavizas 1969; Puškariova i Ubajdullajev 1969; Bo-
chow 1970; Kamilova i in. 1970). Wyniki badań wielu autorów wska-
zują, że w glebie dzięki zasobom substancji organicznej występuje wiele
grzybów saprofitycznych, wśród których licznie reprezentowane są anta-
gonistyczne dla patogenów roślin uprawnych (Green 1954; Garret
1956; Krasilnikov 1958, Mańka i in. 1961; Hastie 1962; Ba-
licka 1964; Talboys 1964; Fedorinčyk 1964; Stoddart
i Carr 1966; Schreiber i Green 1966; Bochow 1967; Gier-
czak 1967; Novotielnova i Pistina 1968; Green i Papa-
vizas 1968; Ezruch i Babuškina 1969; Emmaty i Green
1969; Howell 1970; Pudelko 1970; Truszkowska i Narkie-
wicz-Jodko 1969; Šmotina i Gorlenko 1970). Liczni badacze
zwrócili uwagę na sezonowe wahania w składzie gatunkowym mikoflory
gleby, zależne zarówno od stopnia rozwoju roślin, jak i warunków atmosf-
rycznych (Badura 1957; Kuprewicz 1959; Maciejowska 1964;
Gams 1967).

Należy tu jeszcze nadmienić, że w ostatnich latach ukazało się w lite-
raturze wiele opracowań o specyficznym oddziaływaniu lucerny na rośliny
wyższe, jak też na mikroorganizmy glebowe (Stachurska-Bac
i Szuwalska 1965; Adams i Papavizas 1969). Wyjaśnieniem
dla tych zjawisk są wyniki prac Gilberta i Griebela (1969), którzy
zaobserwowali, że substancje lotne destylatów siana lucerny powodowały
stymulację rozwoju mikoflory w glebie. W takich warunkach gatunki pa-
sożytnicze nie były zdolne do przetrwania i ulegały przewadze saprofitów.
Ponadto znane jest antagonistyczne oddziaływanie bakterii brodawkowych
korzeni lucerny w stosunku do patogenów np. bawełny: *Fusarium vasinfec-*

tum i *Verticillium dahliae* (Dorosinski i Margo 1969). Stanowi to uzasadnienie celowości stosowania lucerny jako przedplonu dla bawełny. Omawianych zagadnień dotyczą również wyniki pracy Pudełko (1970), które zaobserwowała, że dodatek gleby z lucerniska zastosowany przy wymianie gleby w szklarniach pod uprawę pomidorów pozwolił na uniknięcie w pierwszym roku uprawy chorób powodowanych przez *Verticillium albo-atrum* i *Fusarium oxysporum*.

MATERIAL I METODY BADAN

Przedmiotem badań była lucerna 'Kleszczewska' z kolekcji odmian prowadzonej przez Katedrę Szczegółowej Uprawy Roślin WSR w Pawłowicach Wlk. Materiałem obserwacji była gleba pobrana z międzyrzędzi na poszczególnych poletkach ale w obrębie zasięgu korzeni oraz korzenie lucerny, najmłodsze o średnicy 1-2 mm, w celu poznania grzybów osiedlających się w ryzosferze i ryzoplacie roślin, a więc pozostających z lucerną w ścisłym związku (Parkinson wg Burges, Raw 1967).

Podczas obserwacji stosowano na poletkach o powierzchni 24 m² nawożenie zasilające (tab. 1). Przedplonem były buraki pastewne.

Tabela 1 — Table 1

Nawożenie zasilające poletka lucerny w 1965 roku
Fertilization of alfalfa plot in 1965

Rok uprawy Year of cultivation	Termin nawożenia Date of fertilization	Rodzaj nawozu i dawki Kind of fertilizer and dose
1	27.IV.1965. przedsiewnie before seeding	57 kg/ha P ₂ O ₅ 80 kg/ha K ₂ O
2	31.III.1965. 19.VI.1965. po 1 pokosie after 1st mowing	27 kg/ha P ₂ O ₅ 60 kg/ha K ₂ O 18 kg/ha P ₂ O ₅ 40 kg/ha K ₂ O
3	31.III.1965. 19.VI.1965. po 1 pokosie after 1st mowing	54 kg/ha P ₂ O ₅ 60 kg/ha K ₂ O 18 kg/ha P ₂ O ₅ 40 kg/ha K ₂ O

P₂O₅ — w 18% superfosfacie.
K₂O — w 40% soli potasowej.

Próbki gleby z międzyrzędzi oraz najmłodsze korzenie lucerny pobierano dwukrotnie (8.VI i 6.X.1965) w 1, 2 i trzecim roku jej uprawy. Glebę pobierano w 4 punktach każdego poletka z poziomu próchnicznego na głębokości 5-15 cm, zaś korzenie w 4 punktach każdego poletka z 2 roślin (Mańka i in. 1961). Jednocześnie z każdego poletka brano próbę gleby do analizy jej składu chemicznego i mechanicznego oraz prowadzono systematyczne lustracje zdrowotności roślin na badanych poletkach (tab. 2).

Tabela 2 —

Skład chemiczny i mechaniczny gleby z poletek lucerny
Chemical and mechanical soil composition on alfalfa plots in 1st.

Termin pobrania próby Date of sampling	Rok uprawy Year cultivation	pH w (in) In KCL	mg/100g					ppm		%
			a	b	c	d	e	f	g	
			P ₂ O ₅	K ₂ O	Mg	Mn	Mo	Cu	Bo	N
8.VI.1965	1	6,7	46,2	21,5	7,05	1,3	0,01	5,2	0,65	0,11
Wiosna	2	6,3	8,2	5,0	4,25	1,8	0,01	3,6	0,30	0,10
Spring	3	5,8	9,8	5,0	5,10	3,1	0,01	3,8	0,41	0,10
6.X.1965	1	6,2	10,0	6,5	5,70	2,55	0,05	6,2	0,33	0,08
Jesień	2	6,4	14,5	7,5	6,25	3,60	0,08	6,6	0,34	0,07
Autumn	3	5,6	12,7	6,5	4,80	2,60	0,06	5,5	0,34	0,08

a, b — vide Egner

c, d — vide Schaechtschabel

e — vide Grigg

f — vide Szarrer — Cu przyswajalne (assimilative)

g — wg (after) Kat. Chemii Roln. WSR, Wrocław — Bo przyswajalny (assimilative)

h — vide Kjeldahl

Izolację grzybów z gleby przeprowadzono przy użyciu zmodyfikowanej metody płytkowej Warcupa (Johnson i Mańka 1961). Wyosobnienie grzybów z korzeni lucerny, przemytych uprzednio bieżącą wodą i oplukanych wysterylizowaną wodą, przeprowadzono przez wykładanie na zestawioną pożywkę małych ich fragmentów (po 6 z każdej rośliny).

Celem uzyskania możliwie pełnego składu gatunkowego mikoflory środowiska glebowego w obrębie korzeni lucerny użyto do izolacji 3 pożywek o różnym składzie: Warcupa (Mańka i in. 1961), Waksmana (Mańka i Truszkowska 1958) zmodyfikowaną przez dodatek streptomycyny, alkoholowej (Nadakovurani i Horner 1959). Wszystkie izolacje wykonano w szalkach Petriego o ϕ 10 cm w 8 powtórzeniach dla każdej serii, a inkubowano w termostacie o temp. 23°C.

Po doprowadzeniu do czystych kultur metodą wielokrotnych rozcieńczeń (Railló 1950) oznaczano je na pożywce glukozowo-ziemniaczanej

lub na pożywkach standardowych dla poszczególnych rodzajów grzybów. Przy tej pracy posługiwano się powszechnie znanymi opracowaniami monograficznymi.

Celem określenia charakteru stosunków biotycznych zachodzących pomiędzy gatunkami grzybów saprofitycznych najliczniej reprezentowanych w mikoflorze gleby upraw oraz korzeni lucerny w poszczególnych terminach badań a 2 patogenami tej rośliny wykonano doświadczenie w warun-

Table 2

w 1, 2 i 3 roku uprawy w RZD Pawłowice Wlk.

2nd, and 3rd year of cultivation in Experimental Station Pawłowice

Procentowa zawartość frakcji mechanicznych w ϕ w mm Percentual content of mechanical fractions with diameter in mm											
1,0	1,0-0,5	0,5-0,25	0,25-0,10	0,10-0,05	0,05-0,02	0,02-0,006	0,006-0,002	0,002	1,0-0,1	0,1-0,02	<0,02
2,60	6,3	17,8	29,9	9	9	10	6	12	54	18	28
2,00	7,5	19,4	31,1	8	7	8	7	12	58	15	27
3,40	9,8	20,3	31,9	8	8	7	5	10	62	16	22
4,90	7,1	19,4	29,5	11	6	11	4	12	56	17	27
11,00	8,2	20,8	31,0	10	7	10	5	8	60	17	23
19,20	8,1	20,0	29,9	12	7	9	5	9	58	19	23

kach laboratoryjnych. Chodziło w nim o prześledzenie wzajemnego bezpośredniego oddziaływania pomiędzy wybranymi gatunkami patogenicznymi i saprofitycznymi. Przeprowadzono je na szalkach Petriego o ϕ 10 cm na 2 pożywkach: glukozowo-ziemniaczanej i Czapek-Doxa w 3 kombinacjach (Johnson i in. 1959), polegających na zastosowaniu 3 terminów wyszczenia grzyba patogenicznego oraz saprofitycznego. Pierwsza kombinacja polegała na równoczesnym wyszczeniu grzyba patogenicznego i saprofitycznego w środku szalki w odległości 2 cm od siebie, w drugiej — wyszczeno o 3 dni wcześniej gatunki saprofityczne, natomiast w trzeciej — o trzy dni wcześniej wyszczeno gatunki patogeniczne.

W obrębie każdej serii doświadczenia wykonano 4 powtórzenia oraz próbę kontrolną (również w 4 powtórzeniach) polegającą na wyszczeniu 2 inokulów patogena na odpowiednim podłożu z zachowaniem między nimi odległości 2 cm (Mańka i Kowalski 1968). Obserwacje wzajemnego

oddziaływania pomiędzy badanymi grzybami przeprowadzono po 10 dniach od inokulacji. Uwzględniono w nich stopień otoczenia kolonii patogena, szerokość strefy inhibicyjnej i stopień zmniejszenia kolonii patogena, co określano liczbowo wg skali (Mańka i Kowalski 1968).

Do doświadczeń użyto z gatunków patogenicznych kultur: *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold oraz *Ascochyta imperfecta* Peck wyizolowanych z chorej lucerny (ryc. 1 i 2). Spośród grzybów saprofitycznych wybrano do doświadczeń 18 gatunków, których liczebność wyosobnień z gleby, jak również z korzeni lucerny — na pożywce Waksmana — wynosiła w poszczególnych terminach badań 75% ogólnej ilości uzyskanych wówczas izolatów. Na tej podstawie gatunki pogrupowano w szeregi biotyczne jako charakterystyczne dla danych środowisk w poszczególnych terminach badań (Mańka i in. 1961; Gierczak 1967). Należały do nich *Alternaria tenuis*, *Bisporomyces chlamydosporis*, *Coniothyrium fückelii*, *Cylindrocarpon radicolola*, *Fusarium oxysporum*, *F. roseum*, *F. solani*, *Humicola grisea*, *Mortierella polycephala*, *Penicillium janthinellum*, *P. vermiculatum*, *Phytophthora* sp., *Pythium artotrogus*, *Spicaria violacea*, *Torula* sp., *Trichoderma glaucum*, *T. koningi*, *T. lignorum*.

WYNIKI BADAŃ

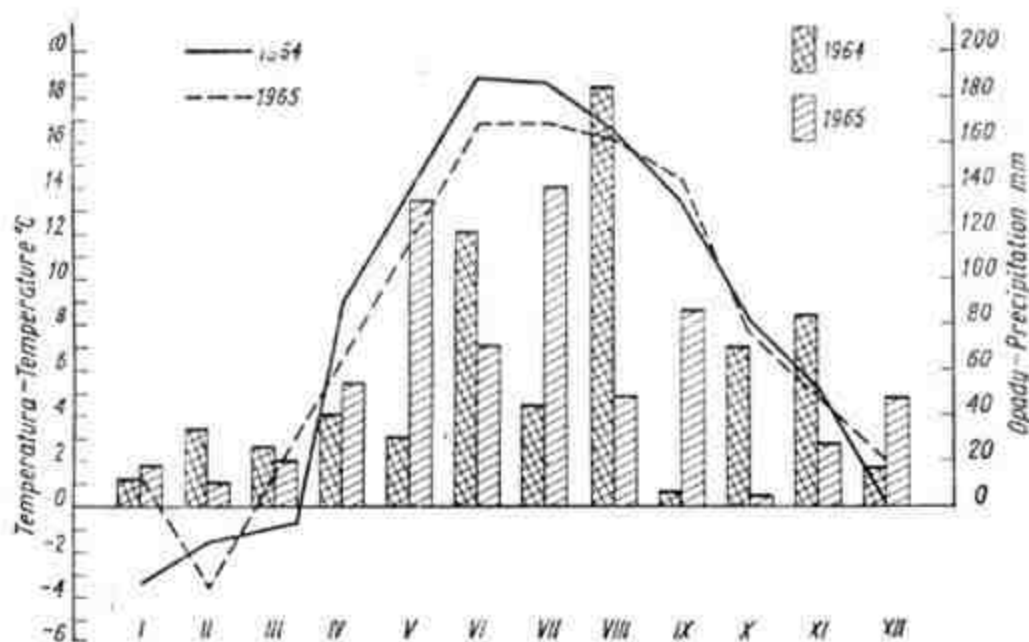
Skład chemiczny i mechaniczny gleby oraz przebieg pogody

Na podstawie analizy próbek gleby z poletek w kolejnych 3 latach uprawy lucerny stwierdzono, że badane obiekty nie różniły się między sobą pod względem składu mechanicznego (tab. 2). Warstwa próchniczna została wytworzona z gliny zwałowej (Giedrojć 1958). Odczyn tych gleb wymienny w 1n KCl wahał się w granicach od 6,7 w pierwszym roku do 5,6 w trzecim roku uprawy. Zawartość azotu ogólnego oznaczona wiosną na poletkach w pierwszym, drugim i trzecim roku uprawy lucerny utrzymywała się na prawie jednakowym poziomie, natomiast oznaczona w okresie jesiennym wykazywała zmniejszenie o ca 20% tego składnika na wszystkich poletkach w ciągu trzech lat uprawy lucerny. Było to następstwem pobrania tego składnika przez rośliny jak też wskutek mineralizacji. Zawartość Bo w pierwszym roku uprawy oznaczona wiosną była prawie dwukrotnie wyższa od zawartości tego składnika w glebie w 2 i 3 roku. Miało to związek z lepszą zdrowotnością roślin w pierwszym roku uprawy lucerny. W próbach gleby oznaczonych w jesieni stwierdzono zwykłą zawartość Cu w stosunku do badanych na wiosnę w poszczególnych latach uprawy. Stwarzało to korzystne warunki dla rozwoju grzybów, szczególnie w okresie jesiennym każdego roku, ponieważ uzyskiwano wówczas większą liczebność wyosobnień ich z gleby. Również w przypadku Mn zaobserwowano zwiększenie się jego zawartości w próbkach gleb oznaczonych w jesieni z wyjątkiem 3 roku

uprawy lucerny, w którym stwierdzono wyraźny spadek jego zawartości. To zróżnicowanie należy tłumaczyć zmianą pH gleby (p. wyżej), a wiadomo, że w takich glebach zwiększa się zawartość Mn. W takich warunkach obserwowano zwiększenie nasilenia chorób lucerny właśnie w trzecim roku uprawy.

Największą zawartość P_2O_5 oraz K_2O stwierdzono na wiosnę na poletkach w pierwszym roku uprawy. Pomimo zasilania gleby w okresie wegetacji tymi składnikami zawartość ich na poletkach z lucerną 2 i 3-letnią, badanych na wiosnę oraz na wszystkich trzech badanych w jesieni, utrzymywała się na prawie jednakowym poziomie. Była ona niższa jednak od ocenionej w pierwszym roku uprawy na wiosnę. Wydaje się, że można to wytłumaczyć częściowym pobraniem tych składników przez rośliny, jak również przemieszczeniem ich do głębszych warstw gleby.

Interpretację przebiegu pogody podano dla lat 1964 i 1965 (ryc. 3).



Ryc. 3. Średnie miesięczne temperatury powietrza w °C, miesięczne sumy opadów w mm w 1964 i 1965 r. wg notowań Stacji Meteorologicznej III Rzędu w PZD Pawłowice

Mean monthly air temperatures (°C), mean sum of precipitation (mm) in 1964 and 1965 according to records of III Order Meteorological Station in Pawłowice

Warunki termiczne w obydwu okresach wegetacyjnych były w zakresie średnich temperatur maksymalnych mało zróżnicowane. W ciągu obydwu lat notowano jednak odmienny rozkład opadów, roczna ich suma była wyższa w 1964 r. (665,4 mm) zaś w 1965 r. wynosiła 618,5 mm. Warunki

pogody w okresie pobierania prób do badań były następujące:

w czerwcu (1 dekada — śr. temp. max. 14,8°C, suma opad. 23,2 mm
w październiku „ — „ „ „ 11,3°C, „ „ 0,0 mm

Mikoflora ryzosfery

W okresie badań wyizolowano z gleby upraw lucerny w 1, 2 i 3 roku uprawy 3182 kolonie grzybów, należących do 62 gatunków. Liczebność mikoflory oraz jej skład gatunkowy zależały od terminu analizy, roku uprawy lucerny oraz rodzaju podłoża zastosowanego do izolacji grzybów.

W pierwszym roku uzyskano największą ilość izolatów zwłaszcza w okresie jesiennym. W miarę upływu czasu uprawy lucerny, bogaty początkowo skład gatunkowy wyosobnień ulegał ograniczeniu, co mogłoby świadczyć o selekcji dokonującej się w mikoflorze gleby pod wpływem rośliny. W każdym jednak roku liczebność wyosobnień grzybów z gleby lucernisk była większa w jesieni aniżeli na wiosnę (tab. 3).

Spośród podłoży użytych do izolacji grzybów najbardziej uniwersalną okazała się pożywka Waksmana, gdyż skład gatunkowy wyizolowanych na niej grzybów był najbardziej urozmaicony. Na pożywce Warcupa natomiast wyosobniono niemal wyłącznie gatunki z rodzaju *Penicillium*, *Trichoderma* i *Gliocladium*. Gatunki patogenicznych grzybów stanowiące przedmiot szczególnego zainteresowania, tj. *Verticillium albo-atrum* i *Ascochyta imperfecta*, wyizolowano na pożywce Waksmana oraz alkoholowej. W obydwu przypadkach były to nieliczne kolonie.

Do gatunków wyosobnionych z gleby wyłącznie na pożywce Waksmana należały: *Mucor racemosus*, *Myrothecium verrucaria*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Spicaria elegans*. Natomiast na pożywce „alkoholowej” wyizolowano kolonie *Alternaria tenuis*, *Botrytis cinerea*, *Cephalosporium roseum*, *Cylindrocarpon didymum*, *Dendryphium* sp., *Monilia acremonium*, *Monocillium* sp., *Papulaspora* sp., *Pullularia pullulans*, *Spicaria silvatica*, *Stachybotrys atra*, *Arthrobotrys superba* (ryc. 4) i *Tilachlidium humicola*.

W składzie gatunkowym mikoflory gleb badanych poletek zajętych pod uprawę lucerny wyróżniono trzy grupy grzybów, w których liczebność wyosobnień różniła się w zależności od wieku plantacji. Do pierwszej zaliczono gatunki, których największą liczbę kolonii wyizolowano w pierwszym i drugim roku uprawy: z rodzaju *Trichoderma*, *Penicillium (janthinellum)*, *Coniothyrium fuckelii* i *Bisporomyces chlamydosporis*. Drugą grupę stanowiły gatunki pasożytnicze z rodzaju *Fusarium*, *Phytophthora* i *Verticillium* izolowane najliczniej w trzecim roku uprawy. W trzeciej grupie uwzględniono gatunki grzybów wyosobnionych rów-

nomiennie przez cały okres badań, jak: *Spicaria violacea*, *Pythium artotrogus* (ryc. 5), *Pestalotia hartigii* (ryc. 6), *Torula* sp., (tab. 3).

Interpretację zróżnicowania składu gatunkowego mikoflory gleby w zależności od wieku plantacji i terminu analizy przeprowadzono na podstawie wyników uzyskanych na pożywce Waksmana. Rozpatrując udział poszczególnych gatunków w szeregach biotycznych, stwierdzono, że najbardziej urozmaicony gatunkowo był uzyskany na wiosnę w pierwszym roku uprawy lucerny. Wyizolowano wówczas z gleby kolonie 20 gatunków, z których tylko 10 stanowiło 75% ogólnej ilości izolatów. Dominowały wśród nich gatunki: *Trichoderma koningi* i *Pythium artotrogus*. Mniejszy natomiast był udział gatunków z rodzaju *Fusarium*, *Bisporomyces chlamydosporis*, *Coniothyrium fuckelii*, jak też *Trichoderma glaucum* i *T. lignorum*. Pod koniec pierwszego roku wegetacji (w jesieni) zwiększyła się znacznie ilość wyosobnień *T. lignorum*, która przeważała także w okresie wiosennym i jesiennym drugiego roku uprawy. W jesieni trzeciego roku użytkowania plantacji wzrosła liczba wyosobnień gatunków z rodzaju *Fusarium*, szczególnie *F. oxysporum* i *F. roseum*, które są znane również jako patogeny lucerny. Spośród gatunków z rodzaju *Penicillium* wyosobnionych z gleby lucernisk — *Penicillium janthinellum* należało do grupy grzybów dominujących w okresie jesiennym pierwszego roku uprawy, natomiast *P. vermiculatum* było najliczniej izolowane w drugim roku użytkowania plantacji, po czym udział jego w mikoflorze gleby uległ stopniowemu ograniczeniu. W jesieni w trzecim roku uprawy izolowano kolonie tego grzyba już tylko sporadycznie. Liczebność izolatów *Pythium artotrogus* utrzymywała się na prawie jednakowym poziomie przez 3 lata użytkowania plantacji. W miarę upływu lat sukcesywnie zwiększał się udział *Phytophthora* sp. wynoszący 13% w jesieni w trzecim roku uprawy lucerny (tab. 3).

Izolacja grzybów z ryzoplanu

Ogólnie z korzeni lucerny wyosobniono na trzech pożywkach 802 kolonie należące do 46 gatunków grzybów. Liczebność tych wyosobnień uzyskanych w okresie badań była bardziej zróżnicowana w zależności od rodzaju zastosowanego podłoża aniżeli od terminu analizy. Na pożywce Warcupa wyizolowano głównie gatunki z rodzaju *Penicillium*. Wyłącznie na tym podłożu wyosobniono z korzeni *P. granulatum*, *P. notatum*, *P. roseo-purpureum*, *P. simplicissimum* i *P. vermiculatum*. Natomiast tylko na pożywce Waksmana wyizolowano z korzeni lucerny: *Aspergillus versicolor*, *Cylindrocarpon didymum* oraz *Chaetomium globosum*. Pożywka alkoholowa okazała się w tym przypadku wybiórcza dla *Bisporomyces chlamydosporis*, *Geotrichum candidum*, *Myrothecium verrucaria*, *Verticillium albo-atrum* i *V. terrestre* (tab. 4).

Analizę zmiany składu gatunkowego mikoflory korzeni w zależności

od roku uprawy lucerny przeprowadzono na podstawie liczebności izolatów poszczególnych gatunków grzybów uzyskanych na pożywce Waksmana. W okresie wiosennym pierwszego roku uprawy wyizolowano z korzeni lucerny kolonie 7 gatunków grzybów, z których do szeregu biotycznego weszły: *Trichoderma lignorum* (39%) oraz *Fusarium solani* i *F. oxysporum* (po 18%). W jesieni tego roku przewagę uzyskały *F. solani* (27%) i *Mortierella polycephala* (27%). W drugim roku dominowała na wiosnę *Trichoderma lignorum* (26%), a w jesieni *Mortierella polycephala* (19%) oraz gatunki z rodzaju *Fusarium*. W trzecim roku uprawy zarówno na wiosnę, jak i w jesieni, wyizolowano z korzeni lucerny przede wszystkim gatunki z rodzaju *Fusarium*. Udział *Cylindrocarpon radicum* utrzymywał się w szeregach biotycznych uzyskanych z korzeni lucerny na jednakowym poziomie od wiosny drugiego roku do jesieni trzeciego roku uprawy. Do grupy grzybów dominujących w jesieni w trzecim roku należała również *Alternaria tenuis* wyosobniona z korzeni lucerny tylko w tym okresie (tab. 4).

Stosunki biotyczne pomiędzy grzybami saprofitycznymi dominującymi liczebnie wśród wyizolowanych z gleby i korzeni lucerny a jej patogenami, *Verticillium albo-atrum* i *Ascochyta imperfecta*

Układ stosunków biotycznych zachodzących pomiędzy badanymi grzybami, określony na podstawie oceny ich wzajemnego oddziaływania, zależał od zastosowanego podłoża, terminu wyszczepienia oraz gatunku testowego patogena (tab. 5). Ogólnie wyróżniono 3 typy stosunków ekologicznych. Pierwszy wyrażał się hamowaniem przez saprofita rozwoju patogena, drugi oznaczał jednakowy rozwój obydwu partnerów, w trzecim rozwój patogena był stymulowany przez saprofita.

W przypadku równoczesnego wyszczepienia na obydwu zastosowanych podłożach *Verticillium albo-atrum* z grzybami saprofitycznymi stwierdzono, że rozwój tego grzyba ulegał hamującemu oddziaływaniu większości gatunków saprofitycznych (ryc. 7). Największą przewagę, co wyrażało się w całkowitym otoczeniu nikłej kolonii patogena wykazały *Trichoderma lignorum*, *T. koningi* i *Pythium artotrogus* (+8). Nieco słabsze działanie hamujące (+7) stwierdzono w przypadku *T. glaucum*, *Phytophthora* sp., *Mortierella polycephala*, *Fusarium roseum* i *F. oxysporum*. *Spicaria violacea* oraz *Humicola grisea* były raczej obojętne w stosunku do patogena, a kolonie partnerów rozwijały się jednakowo (0). Natomiast *Torula* sp. lekko stymulowała rozwój *Verticillium albo-atrum* (-2).

O 3 dni wcześniejsze wyszczepienie saprofitów na pożywce glukozowo-ziemniaczanej spowodowało prawie całkowite zarośnięcie kolonii patogena przez gatunki z rodzaju *Fusarium*, *Trichoderma*, *Phytophthora* i *Pythium*. Odchylenia od tego obserwowano na pożywce Czapek-Doxa, na której stwierdzono nieco słabsze hamowanie rozwoju patogena ze

strony *Phytophthora* sp., zaś *Penicillium vermiculatum* wykazało obojętny stosunek do *Verticillium albo-atrum*.

Nawet o 3 dni wcześniejsze wyszczepienie *Verticillium albo-atrum* nie zabezpieczyło tego gatunku przed hamującym oddziaływaniem partnerów, szczególnie z rodzajów: *Fusarium*, *Trichoderma*, *Phytophthora* i *Pythium*. Oddziaływanie to było jednak słabsze niż w poprzednich kombinacjach doświadczenia, a poszczególne wartości w stopniach skali zastosowane do jego oceny były wyższe na pożywce glukozowo-ziemniaczanej aniżeli na pożywce Czapek-Doxa. Dotyczyło to głównie 3 gatunków z rodzaju *Trichoderma*, ponadto *Pythium* i *Mortierella*. Świadczyłyby to przypuszczalnie o wzmożonym wydzielaniu metabolitów przez wymienione grzyby właśnie na tej pożywce. Nikłą przewagę uzyskał patogen w tej kombinacji doświadczenia nad gatunkami, które w poprzednich były obojętne lub wykazywały słabe działanie hamujące: *Bisporomyces chlamydosporis* (-1), *Humicola grisea* (-1), *Spicaria violacea* (-1), *Torula* sp. (-3). Na pożywce Czapek-Doxa patogen uzyskał w tym przypadku większą przewagę nad *Penicillium vermiculatum* (-2), podczas gdy na glukozowo-ziemniaczanej rozwój obydwu partnerów był równy (tab. 5).

Podobnie jak w przypadku z *Verticillium albo-atrum* układały się stosunki biotyczne pomiędzy *Ascochyta imperfecta* i gatunkami grzybów saprofitycznych (ryc. 8). Patogen ten okazał się słabym partnerem w konkurencji z gatunkami saprofitycznymi, z których większość ograniczała jego rozwój. Efekt wzajemnego oddziaływania partnerów był zależny od rodzaju zastosowanego podłoża, terminu wyszczepienia i gatunku saprofita (tab. 5).

Rozwój *Ascochyta imperfecta* na obydwu pożywkach był hamowany przez gatunki z rodzaju *Pythium*, *Trichoderma* i *Fusarium*, natomiast sąsiedztwo *Torula* sp. wpływało korzystnie stymulując wzrost jego kolonii. Wpływ rodzaju pożywki na wartość efektu biotycznego uwidocznił się szczególnie w przypadku równoczesnego wyszczepienia patogena i *Alternaria tenuis*. Na pożywce glukozowo-ziemniaczanej saprofita słabo hamował rozwój patogena (+1), natomiast na pożywce Czapek-Doxa oddziaływanie to było znacznie silniejsze (+6). Uprzywilejowanie saprofitytów przez wyszczepienie wcześniejsze o 3 dni dało im szansę lepszego rozwoju, a przez to zwiększenia hamującego oddziaływania względem patogena. Przykładem jest oddziaływanie na pożywce glukozowo-ziemniaczanej gatunków: *Phytophthora* sp. (+8), *Mortierella polycephala* (+8) i *Alternaria tenuis* (+8). Stopnie oceny wzajemnego oddziaływania pozostałych gatunków grzybów saprofitycznych oraz *Ascochyta imperfecta* świadczyły o prawie obojętnym stosunku ich do siebie. Wyrazem tego był efekt słabej stymulacji lub nikłego hamowania (od -2 do +2), co było zależne od terminu wyszczepienia partnerów, jak też od pod-

łoża. Takie oddziaływanie wykazały gatunki: *Bisporomyces chlamydo-sporis*, *Coniothyrium fuckelii*, *Cylindrocarpon radiclecola*, *Hemicola grisea* i *Spicaria violacea* (tab. 5).

Stopnie oddziaływania poszczególnych gatunków saprofitycznych na obydwie badane patogeny posłużyły do opracowania sumy efektu biotycznego grupy grzybów ujętych w szeregi biotyczne jako reprezentujące mikroflorę środowiska glebowego lucernisk w okresach wiosny i jesieni w trzech kolejnych latach uprawy lucerny. Wartości te różniły się zależnie

Tabela 5 — Table 5

Skala oddziaływania grzybów wchodzących w skład szeregów biotycznych z gleby i korzeni lucerny w stosunku do *Verticillium albo-atrum* i *Ascochyta imperfecta* w zależności od rodzaju pożywki i terminu wyszczepienia

Score of influence of fungi included in the "biotic series" from the soil and alfalfa roots on *Verticillium albo-atrum* and *Ascochyta imperfecta* in dependence on medium and time of inoculation

Gatunek Species	Rodzaj pożywki — Medium											
	ziemniaczano-glukozowa glucose-potato			Czapek — Doxa								
	1		2		3		1		2		3	
	V	A	V	A	V	A	V	A	V	A	V	A
<i>Alternaria tenuis</i>	+4	+1	+8	-6	+4	-1	+4	+6	+7	+8	+4	+4
<i>Bisporomyces chlamydo-sporis</i>	+1	-1	0	-2	-1	-4	0	+2	-2	-1	-1	-2
<i>Coniothyrium fuckelii</i>	+2	-1	+3	+2	+1	-2	+1	+1	+1	+1	0	0
<i>Cylindrocarpon radiclecola</i>	+2	0	+6	+4	0	-3	+3	-1	+5	+3	+2	+1
<i>Fusarium oxysporum</i>	+7	+3	+8	+7	+5	-1	+7	+6	+8	+8	+5	+5
<i>Fusarium roseum</i>	+7	+6	+8	+8	+6	+4	+7	+7	+8	+8	+6	+6
<i>Fusarium solani</i>	+6	0	+6	+4	+3	-2	+6	+5	+7	+6	+5	+3
<i>Hemicola grisea</i>	0	-4	0	-3	-1	-4	0	+2	0	0	-1	0
<i>Mortierella polycephala</i>	+7	+2	+8	+8	+6	-3	+1	+3	+4	+2	+1	+1
<i>Penicillium janthinellum</i>	+3	+4	+3	+6	+2	+4	+3	+4	+5	+5	+3	-4
<i>Penicillium vermiculatum</i>	+4	-1	+2	+1	0	-2	0	+1	0	+2	-2	-1
<i>Phytophthora</i> sp.	+7	+1	+8	+8	+6	-4	+3	+2	+5	+3	+1	+1
<i>Pythium artotrogus</i>	+8	+3	+8	+8	+7	+6	+8	+8	+8	+8	+5	+7
<i>Spicaria violacea</i>	0	-1	0	-1	-1	-4	-1	-1	0	0	0	0
<i>Torula</i> sp.	-2	-5	-1	-3	-3	-4	-1	-3	-1	-2	-2	-2
<i>Trichoderma glaucum</i>	+7	+6	+8	+7	+6	+4	+3	+5	+7	+7	+1	0
<i>Trichoderma koningi</i>	+8	+7	+8	+8	+7	+4	+5	+5	+8	+8	+4	+6
<i>Trichoderma lignorum</i>	+8	+7	+8	+8	+7	+4	+7	+7	+8	+8	+4	+6

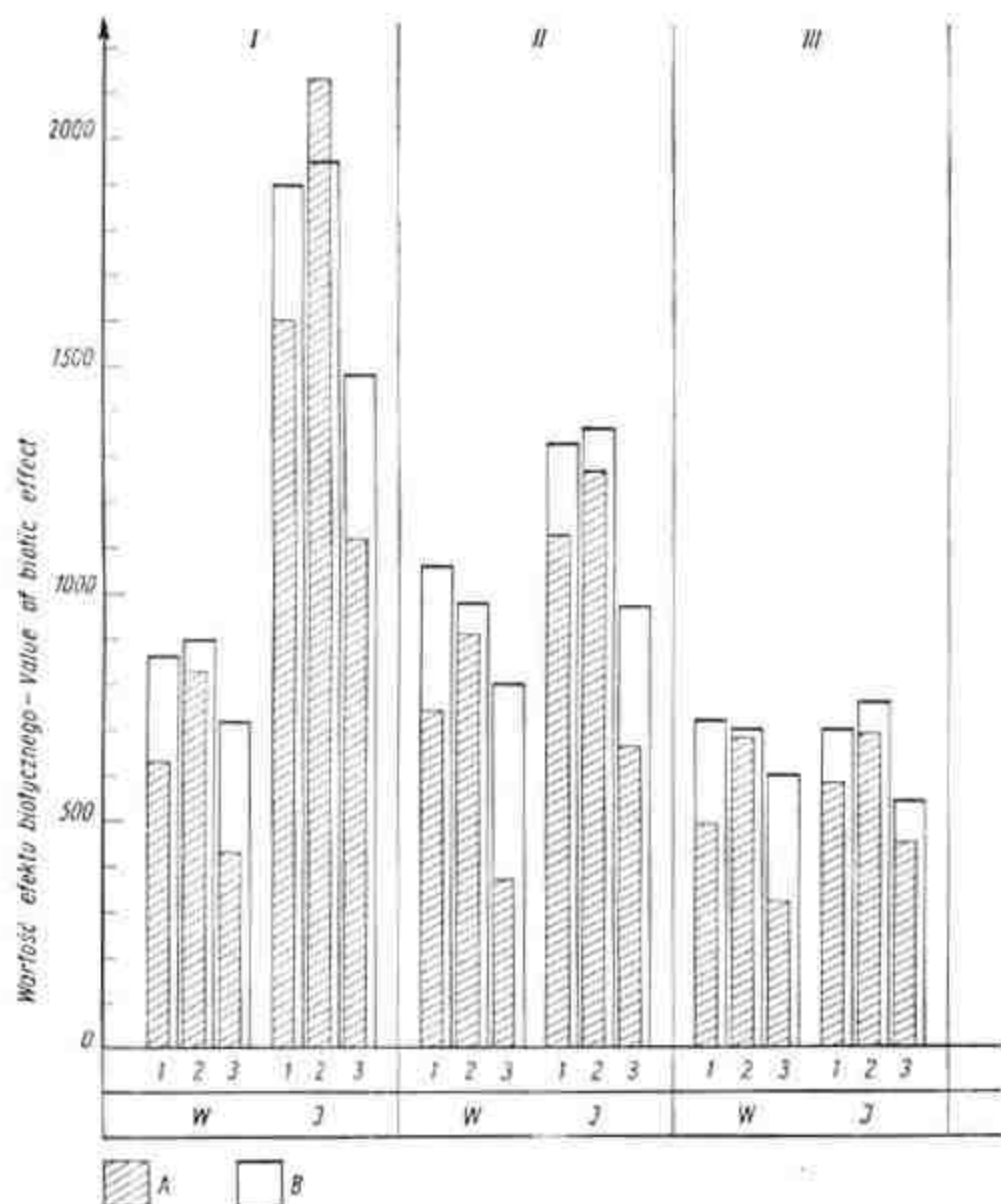
Objaśnienie: 1 — jednoczesne wyszczepienie grzybów; 2 — o 3 dni wcześniej wyszczepienie saprofitów; 3 — o 3 dni wcześniej wyszczepienie patogenów; V — *Verticillium albo-atrum*; A — *Ascochyta imperfecta*.

Explanations: 1 — simultaneous inoculation of the fungi; 2 — saprophytes inoculated 3 days earlier; 3 — pathogens inoculated 3 days earlier; V — *Verticillium albo-atrum*; A — *Ascochyta imperfecta*.

Cyfry w kolumnach — stopień zmniejszenia kolonii (Mańka i Kowalski 1963).

The figures in the columns denote the degree of reduction of the colony (Mańka and Kowalski 1963).

od rodzaju pożywki i terminu wyszczepienia partnerów. Zaobserwowano, że wartość efektu biotycznego grup grzybów zależała głównie od terminu wyszczepienia. W związku z tym najwyższą ocenę sumy oddziaływania biotycznego grupy grzybów otrzymano w jesieni w pierwszym roku uprawy

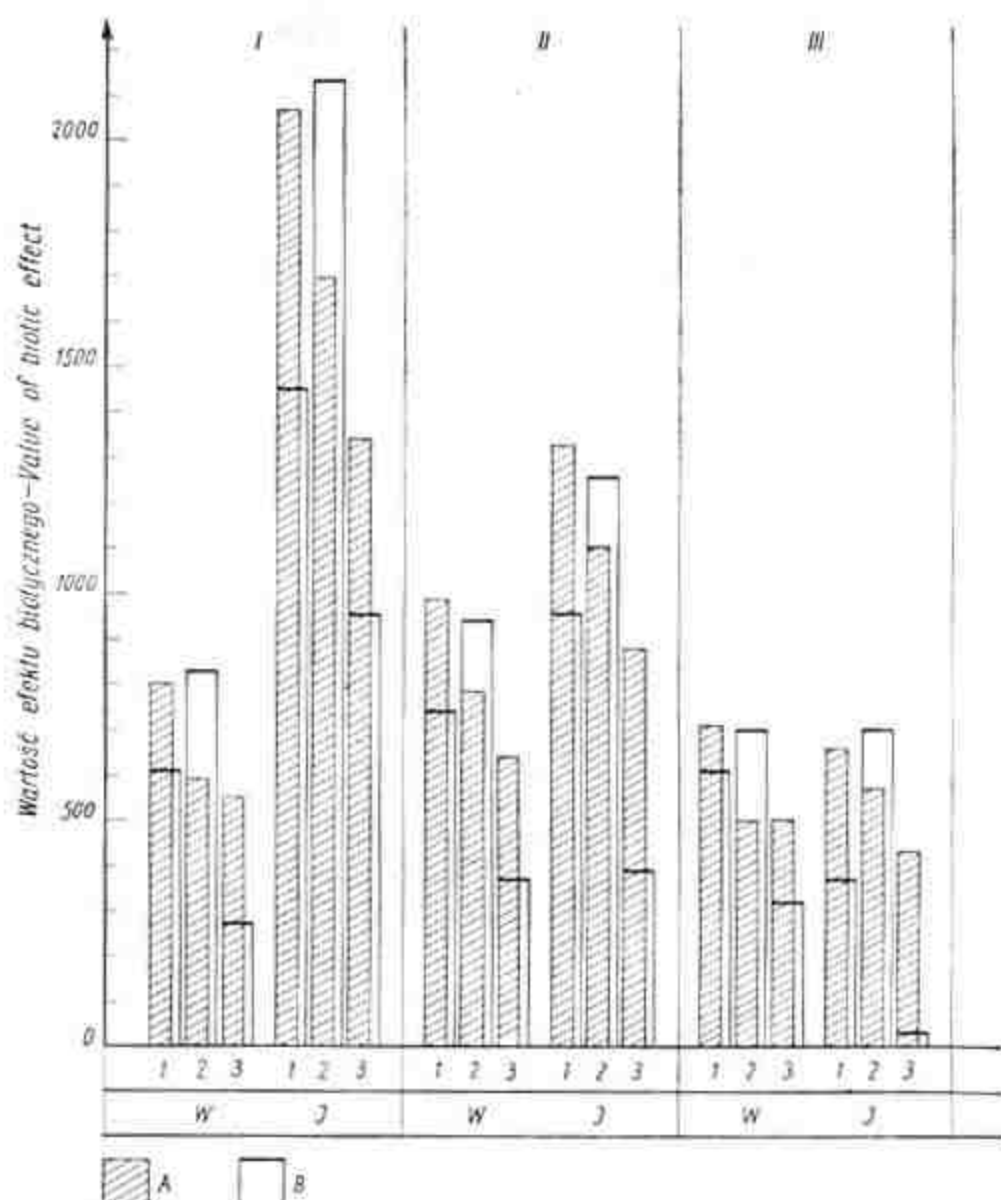


Ryc. 9. Efekt biotyczny zbiorowiska grzybów saprofitycznych wyizolowanych z gleby w stosunku do *Verticillium albo-atrum* w zależności od rodzaju pożywki, terminu wyszczepienia i wieku plantacji (w I, II, III roku uprawy)

A — pożywka Czapek-Doxa; B — pożywka glukozowo-ziemniaczana; W — wiosna; J — jesień; 1 — równoczesne wyszczepienie partnerów; 2 — o 3 dni wcześniej wyszczepienie saprofitów; 3 — o 3 dni wcześniej wyszczepienie patogena

Biotic effect of saprophytic fungi community isolated from soil, in relation to *Verticillium albo-atrum* in dependence on the kind of medium, time of inoculation and age of plantation (Year of cultivation: I, II, III)

A — Czapek-Dox medium; B — glucose-potato medium; W — spring; J — autumn; 1 — partners inoculated simultaneously; 2 — saprophytes inoculated 3 days earlier; 3 — pathogen inoculated 3 days earlier



Ryc. 10. Efekt biotyczny zbiorowiska grzybów saprofitycznych wyizolowanych z gleby lucerniska w stosunku do *Ascochyta imperfecta* w zależności od rodzaju pożywki, terminu wyszczepienia i wieku plantacji (w I, II, III roku uprawy)

A — pożywka Czapek-Doxa; B — pożywka glukozowo-ziemniaczana; W — wiosna; J — jesień; 1 — równoczesne wyszczepienie partnerów; 2 — o 3 dni wcześniejsze wyszczepienie saprofitów; 3 — o 3 dni wcześniejsze wyszczepienie patogena

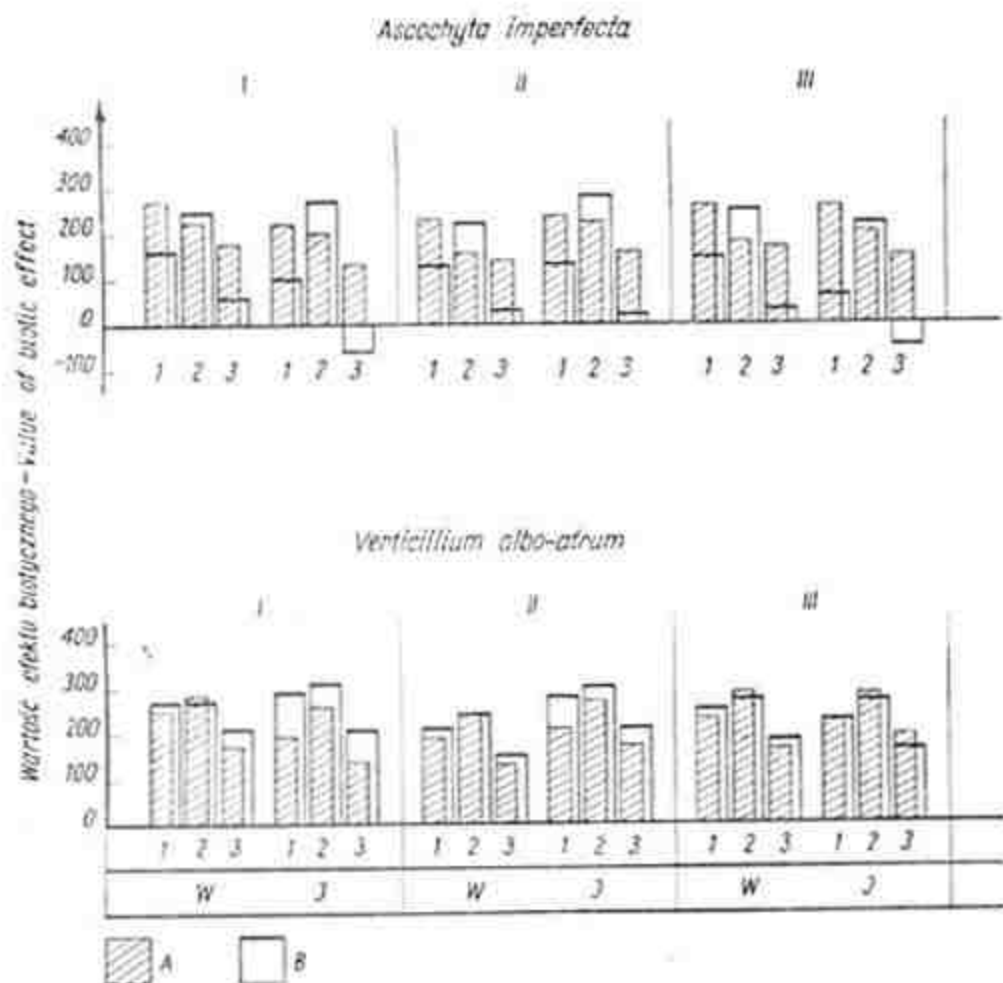
Biotic effect of saprophytic fungi community isolated from soil under alfalfa, in relation to *Ascochyta imperfecta* in dependence on the kind of medium, time of inoculation and age of alfalfa plantation (Year of cultivation: I, II, III)

A — Czapek-Dox medium; B — glucose-potato medium; W — spring; J — autumn; 1 — simultaneous inoculation of partners; 2 — 3 days earlier inoculation of saprophyte; 3 — 3 days earlier inoculation of pathogen

wy i to w odniesieniu do każdego z badanych patogenów. Po wiosennym obniżeniu następował wzrost tej wartości w jesieni drugiego roku. W trzecim roku suma efektu biotycznego ulegała dalszemu zmniejszeniu wykazując stosunkowo małe zróżnicowanie pomiędzy wartościami uzyskany-

mi na wiosnę i w jesieni. W związku z tym przyjęto do interpretacji wartości efektu biotycznego uzyskane na pożywce glukozowo-ziemniaczanej w przypadku równoczesnego wyszczepienia partnerów (ryc. 9, 10, 11).

W odniesieniu do *Verticillium albo-atrum* najwyższą wartość oddziaływania biotycznego grupy grzybów reprezentujących mikoflorę gleby (rozumianą jako opór środowiska w stosunku do patogena) uzyskano w jesieni w pierwszym roku uprawy lucerny. Ogólnie we wszystkich kombinacjach doświadczalnych wyższe wartości efektu biotycznego grupy



Ryc. 11. Efekt biotyczny zbiorowiska grzybów saprofitycznych wyizolowanych z korzeni lucerny — w zależności od rodzaju pożywki, terminu wyszczepienia i wieku roślin — w stosunku do: *Ascochyta imperfecta* i *Verticillium albo-atrum* (w I, II, III roku uprawy)

A — pożywka Czapek-Doxa; B — pożywka glukozowo-ziemniaczana; W — wiosna; J — jesień; 1, 2, 3 — terminy wyszczepienia partnerów (grzyb saprof.-patogen)

Biotic effect of saprophytic fungi community isolated from alfalfa roots, in dependence of the kind of medium the time of inoculation and the age of the plants, towards: *Ascochyta imperfecta* and *Verticillium albo-atrum* (Year of cultivation: I, II, III)

A — Czapek-Dox medium; B — glucose-potato medium; W — spring; J — autumn; 1, 2, 3 — times of inoculation of partners (saprophytic fungus-pathogen)

grzybów z gleby w stosunku do *Verticillium albo-atrum* uzyskano na pożywce glukozowo-ziemniaczanej aniżeli na Czapek-Doxa (ryc. 9). Podobnie wartość efektu biotycznego grupy grzybów z korzeni lucerny względem *Verticillium albo-atrum* była wyższa na pożywce glukozowo-ziemniaczanej niż na pożywce Czapek-Doxa (ryc. 11). Utrzymywała się ona w tym przypadku na prawie jednakowym poziomie w poszczególnych latach uprawy, wykazując niedużą zwyżkę w okresach jesiennych.

Wyraźny wpływ podłoża na ocenę sumy oddziaływania biotycznego grupy grzybów dominujących wśród wyizolowanych z gleby, jak też z korzeni lucerny, uwydatnił się w przypadku analizowania oporu środowiska w stosunku do *Ascochyta imperfecta* (ryc. 10).

Wartość efektu biotycznego szeregów grzybów zarówno z gleby, jak i z korzeni lucerny, po równoczesnym wyszczepieniu patogena i poszczególnych saprofitów, jak też po wyszczepieniu patogena o 3 dni wcześniej, była wyższa na pożywce Czapek-Doxa aniżeli na glukozowo-ziemniaczanej. Również i w tym przypadku zaobserwowano, że wartość efektu biotycznego grup grzybów reprezentujących mikoflorę gleby była w stosunku do *Ascochyta imperfecta* najwyższa w jesieni pierwszego roku uprawy lucerny, po czym sukcesywnie, w miarę jej użytkowania, ulegała ograniczeniu i była najniższa w jesieni w trzecim roku uprawy. Suma oddziaływania biotycznego grupy grzybów saprofitycznych z korzeni lucerny względem *Ascochyta imperfecta* była w poszczególnych latach mało zróżnicowana i utrzymywała się na prawie jednakowym poziomie. Jednakże w przypadku wyszczepienia patogena o 3 dni wcześniej od saprofitów uzyskano wyniki wyraźnie zależne od rodzaju pożywki, zwłaszcza w okresie jesieni pierwszego i trzeciego roku uprawy lucerny. Wyłącznie na pożywce glukozowo-ziemniaczanej stwierdzono wówczas bujniejszy rozwój patogena, podczas gdy na pożywce Czapek-Doxa obserwowano hamujące oddziaływanie saprofitów (ryc. 11).

Aby ułatwić poznanie roli poszczególnych grzybów wchodzących w skład szeregów biotycznych pogrupowano je według sposobu oddziaływania w stosunku do poszczególnych patogenów. Wartości te zależały od rodzaju pożywki i terminu wyszczepienia. Analizę uzyskanych wyników przeprowadzono na podstawie rezultatów otrzymanych na pożywce glukozowo-ziemniaczanej w przypadku równoczesnego wyszczepienia partnerów.

W okresie wiosennym w pierwszym roku uprawy lucerny rozwój *Verticillium albo-atrum* był hamowany najsilniej przez *Trichoderma lignorum*, *T. koningi* i *Pythium artotrogus*. Udział ich w grupie grzybów saprofitycznych charakterystycznych dla tego okresu uprawy wynosił 58%, a ich oddziaływanie oceniono jako wybitnie hamujące (+8). Mniej liczna była w tym czasie w środowisku glebowym różnogatunkowa populacja grzybów z rodzaju *Fusarium* (24%) oraz *Phytophthora* wykazujących również działanie hamujące rozwój patogena (+6, +7). Najmniejszy (10%) był w tej gru-

pie grzybów udział gatunków słabo hamujących rozwój *Verticillium albo-atrum* takich jak: *Bisporomyces chlamydosporis* i *Coniothyrium fuckelii* (+1, +2).

W związku ze zwiększoną liczebnością izolatów grzybów saprofitycznych z gleby i korzeni lucerny w jesieni pierwszego roku, wzrosła także suma oddziaływania biotycznego tego szeregu do +1911. Grupa grzybów o działaniu biotycznym +6 do +8 obejmowała wówczas ok. 66% i należały do niej gatunki z rodzaju *Trichoderma*, *Fusarium* i *Phytophthora*. Udział *Penicillium janthinellum* słabo hamującego rozwój patogena (+3) wzrósł w tym okresie do 30%, podobnie jak i *Spicaria violacea*.

Okres wiosenny drugiego roku uprawy lucerny charakteryzowała nadal przewaga gatunków grzybów silnie hamujących rozwój *Verticillium albo-atrum*, sięgająca 74%. Były to gatunki z rodzaju *Trichoderma* (*T. lignorum*, *T. koningi*). Nie bez znaczenia był w tym okresie udział *Penicillium vermiculatum* (+4) wynoszący 26%. W jesieni drugiego roku uprawy opór środowiska względem *Verticillium albo-atrum* był nieco niższy od analogicznego okresu w poprzednim roku i wynosił +1332. W tym czasie do najsilniej hamujących rozwój patogena (+6, +8) należały gatunki z rodzaju *Trichoderma* (40%), *Pythium* i *Fusarium* (33%). Słabsze działanie hamujące wykazało *Penicillium vermiculatum* (+4), a udział jego wynosił 16%. Do gatunków słabo stymulujących rozwój patogena (-2) należały w tym czasie nieliczne występujące kolonie *Torula* sp. (1%).

W trzecim roku uprawy lucerny na wiosnę obniżeniu uległa suma oddziaływania biotycznego grzybów w stosunku do *Verticillium albo-atrum*. Nadal do gatunków najsilniej hamujących rozwój patogena należały wówczas *Trichoderma lignorum* i *T. koningi*, których liczebność stanowiła wówczas 89% izolatów. Do słabiej hamujących rozwój patogena należało w tym czasie *Penicillium vermiculatum* (+4). W okresie jesiennym tegoż roku suma oddziaływania grzybów należących do szeregu biotycznego była już niższa od wiosennej. Było to następstwem braku wśród izolatów gatunków z rodzaju *Trichoderma* a szczególnie *T. lignorum*. Miejsca ich zajęły *Fusarium roseum* i *F. solani* oraz *Phytophthora* sp., będąc silnymi antagonistami *Verticillium albo-atrum*. Dzięki temu utrzymywała się wysoka stosunkowo wartość sumy oddziaływania biotycznego całej grupy grzybów saprofitycznych. Do gatunków obojętnych względem patogena należały wówczas *Spicaria violacea* i *Humicola grisea* (0). Ponieważ udział wspomnianych grzybów w tej grupie saprofitów wyniósł aż 14%, znalazło to swój wyraz w zmniejszeniu oporu środowiska.

W odniesieniu do *Ascochyta imperfecta* opór środowiska był wyraźnie słabszy i uzależniony od terminu analizy w ciągu trzech kolejnych lat uprawy lucerny. Ogólnie zwraca uwagę stosunkowo duży udział gatunków słabo stymulujących rozwój tego patogena lub obojętnych względem niego.

W okresie wiosny w pierwszym roku uprawy lucerny rozwój patogena

słabo stymulowały *Bisporomyces chlamydosporis* i *Coniothyrium fuckelii* (-1), zaś ich udział wynosił 14%. Liczebność gatunków silnie hamujących *Ascochyta imperfecta* (+6 do +8) sięgała wówczas 67%, z czego 42% przypadało na gatunki z rodzaju *Trichoderma*, a pozostałe 25% na *Pythium artotrogus* i *Fusarium roseum*. W jesieni tego roku wśród gatunków hamujących rozwój patogena nadal dominowała *Trichoderma lignorum*. W tym czasie wzrosło znaczenie *Penicillium janthinellum* (+4), którego liczebność wyosobnień wynosiła 30%. *Fusarium solani* (0) był wówczas obojętny w stosunku do patogena, natomiast *Spicaria violacea* wskazywała oddziaływanie lekko stymulujące.

Na wiosnę drugiego roku uprawy lucerny *Trichoderma lignorum* i *T. koningi* silnie hamowały rozwój patogena (+7), a liczebność ich wyosobnień wynosiła wówczas 74%, zaś *Penicillium vermiculatum* (36%) wykazało słabe działanie stymulujące. W jesieni tego roku niewiele wzrósł opór środowiska, pomimo zwiększenia liczby kolonii grzybów saprofitycznych. Uległa bowiem ograniczeniu liczebność izolatów *Trichoderma lignorum*, natomiast wzrosła ilość wyosobnień *Pythium artotrogus* (16%) oraz *Fusarium roseum* (19%). Zwiększył się również udział gatunków stymulujących rozwój patogena. Należały do nich *Penicillium vermiculatum* (-1) do 18% oraz *Torula* sp. (-5) do 10%.

Na wiosnę w trzecim roku uprawy lucerny opór środowiska względem *Ascochyta imperfecta* uległ dalszemu spadkowi. Niemniej jednak i w tym okresie *Trichoderma lignorum* i *T. koningi* były najpoważniejszymi antagonistami patogena, a udział ich sięgał 90%. W jesieni tego roku do grupy najsilniej hamujących rozwój *Ascochyta imperfecta* gatunków grzybów należały *Pythium artotrogus* (+8) 18%, *Fusarium roseum* (+6) 40% i *F. oxysporum* (+3) 30%. *Penicillium vermiculatum* i *Spicaria violacea* należały do słabo stymulujących (-1) 13%, natomiast nielicznie reprezentowany (6%) gatunek *Humicola grisea* do silniej oddziaływujących (-4).

Reasumując wyniki analizy stosunków ekologicznych zachodzących pomiędzy grupami grzybów saprofitycznych dominujących liczebnie w środowisku glebowym w okresie wiosny i jesieni w trzech kolejnych latach uprawy lucerny a jej patogenami, *Verticillium albo-atrum* i *Ascochyta imperfecta*, można przyjąć, że układały się one podobnie. Spadek liczebności populacji gatunków z rodzaju *Trichoderma*, szczególnie *T. lignorum*, w jesieni w trzecim roku uprawy warunkował obniżenie wartości sumy oddziaływania biotycznego grupy grzybów charakterystycznych dla tego okresu. Należy to rozumieć jako zmniejszenie oporu środowiska w stosunku do obydwu patogenów. Fakt ten może służyć jako wyjaśnienie mechanizmu regulującego zmiany w składzie gatunkowym mikoflory w środowisku glebowym, co miało również pośredni wpływ na zdrowotność roślin. Wyrazem tego było masowe opanowanie (tj. zakażenie dużej ilości roślin) przez oba patogeny na poletkach w trzecim roku uprawy lucerny.

DYSKUSJA

Wyniki przedstawionych obserwacji pozwoliły na poznanie przyczyn zróżnicowania składu gatunkowego mikoflory w badanych siedliskach. Uwidocznił się w tym przypadku wpływ warunków środowiska w poszczególnych okresach badań, jak też przypuszczalnie oddziaływanie samej rośliny (lucerny) na mikoflorę gleby w zasięgu jej korzeni. Potwierdza to wyniki badań Stachurskiej-Bac i Szuwalskiej (1965) oraz Krasilnikova (1958) na temat hamującego wpływu lucerny na rozwój roślin wyższych oraz niektórych mikroorganizmów. Dowodem tego jest fakt, że największą liczbę izolatów grzybów i o najbogatszym składzie gatunkowym uzyskano w pierwszym roku uprawy, po czym — w miarę upływu czasu użytkowania plantacji — liczebność wyosobnień ulegała ograniczeniu. Także Kamińska (1968) porównując skład gatunkowy i ilościowy mikoflory gleby z upraw różnych roślin zaobserwowała, że pod lucerną był on najuboższy.

Wyrazem sezonowych wahań w składzie gatunkowym i ilościowym mikoflory w okresie wegetacyjnym w poszczególnych latach uprawy lucerny było zwiększenie liczebności izolatów grzybów zarówno z gleby, jak i z korzeni lucerny w okresie jesiennym każdego roku. O analogicznych wynikach obserwacji w odniesieniu do innych roślin donosili Krasilnikov (1958), Maciejowska (1964) i Pudełko (1970) uzasadniając to zjawisko wzmożonym rozwojem w tym czasie różnych drobnoustrojów, w tym również grzybów, uczestniczących w rozkładzie resztek roślin i asymilujących produkty tego rozkładu.

Dotychczasowe wiadomości w literaturze na temat mikoflory gleby w uprawach lucerny (Kamińska 1968) ograniczały się do poznania i określenia jej składu gatunkowego tylko w jednym roku. Nie uwzględniały one zmian zachodzących w mikoflorze środowiska glebowego w miarę użytkowania plantacji przez parę lat. W przedstawionej pracy dokonano próby poznania grzybów żyjących w zasięgu korzeni lucerny w poszczególnych latach uprawy i podzielono je na 3 grupy. Do pierwszej zaliczono grzyby saprofityczne, szczególnie charakterystyczne dla pierwszego roku uprawy, z czasem stopniowo zanikające, wśród których dominowały gatunki z rodzaju *Penicillium*, *Spicaria* oraz *Trichoderma* (*T. lignorum*). Drugą grupę stanowiły gatunki, których liczebność wzrastała z wiekiem upraw. Zamieszczono w niej gatunki z rodzaju *Fusarium*, *Verticillium* i *Phytophthora*. Trzecia grupa objęła gatunki grzybów występujące równomiernie w kolejnych latach uprawy. Dominowały wśród nich gatunki z rodzaju *Gliocladium*, *Torula* i *Pythium*. W miarę upływu lat uprawy liczba izolatów grzybów z gleby w zasięgu korzeni lucerny zmniejszała się, podczas gdy liczebność izolatów grzybów z korzeni tych roślin utrzymywała się na prawie jednakowym poziomie.

W wyniku badań nad grzybami wyizolowanymi z korzeni lucerny stwierdzono, że skład gatunkowy mikoflory, jak też liczebność izolatów zależały przede wszystkim od rodzaju podłoża zastosowanego do izolacji, a mniej od terminu analizy, jednak i w tym przypadku więcej grzybów wyosobniono w okresie jesiennym aniżeli na wiosnę w każdym okresie uprawy lucerny. Większość grzybów wyizolowanych z korzeni lucerny była wspólna również dla środowiska glebowego. Wyłącznie z korzeni lucerny wyosobniono *Cylindrocarpon radicolola* i *Mortierella polycephala*.

W składzie gatunkowym flory grzybów wyizolowanych z korzeni lucerny zwraca uwagę przewaga wyosobnień gatunków z rodzaju *Fusarium*, szczególnie w drugim, a zwłaszcza w trzecim roku użytkowania plantacji.

O odmienności składu gatunkowego flory grzybów wyosobnionych z gleby i z korzeni różnych roślin były już wcześniejsze doniesienia (Garret 1956; Krasilnikov 1958; Gams 1967; Pudełko 1970). Wydaje się, że w danym przypadku przy interpretacji przewagi grzybów z rodzaju *Fusarium* w mikoflorze zasiedlającej korzenie lucerny należy uwzględnić nie tylko oddziaływanie samej rośliny za pośrednictwem wydzielin korzeni, ale również warunki atmosferyczne panujące w okresie pobierania prób do analiz. Uzasadnieniem takiego rozumowania jest fakt, że liczne gatunki z rodzaju *Fusarium* mogą występować w glebie w formie saprofitycznej (Bochow 1967; Puškariova i Ubajdullajev 1969). Jak zaobserwował Kuprewicz (1959), w przypadku długotrwałej suszy i stąd zbyt niskiej wilgotności gleby, grzyby te mogą zasiedlać korzenie roślin uprawnych zmieniając tym samym tryb życia na pasożytniczy.

Wśród grzybów wyosobnionych z gleby w małej ilości zwracała uwagę *Arthrotrrys superba* uzyskana głównie na pożywce alkoholowej w trzecim roku uprawy lucerny. Grzyb ten jest zaliczany do tzw. pułapkowych dla nicieni (Jarowaja 1970). Wykonując analizy fitopatologiczne lucerny przy okazji prowadzenia innych prac autorka kilkakrotnie izolowała ten grzyb na pożywce glukozowo-ziemniaczanej. Należy tu nadmienić, że ostatnio ukazuje się coraz więcej doniesień na temat specjalnie dużej roli nicieni w rozprzestrzenianiu choroby uwiądu lucerny powodowanej przez *Verticillium albo-atrum*.

Spośród grzybów z rodzaju *Penicillium* szczególną uwagę zwrócono na *P. janthinellum*. Zdaniem Kulik-Lisinej i Maksimowej (1968) wytwarza on antybiotyk jantynelinę; stwierdziły one także, że grzyb ten występował w glebach łąkowych, na których rosły trawy i rośliny motylkowate. W przedstawionych badaniach kolonie tego gatunku uzyskano z gleby na wszystkich trzech pożywkach w jesieni w pierwszym roku uprawy. Należał on do grupy grzybów hamujących rozwój badanych patogenów działając silniej na *Verticillium albo-atrum* (+5, +6) aniżeli na *Ascochyta imperfecta* (+3, +4).

Właściwego wyjaśnienia przyczyn zmian w składzie gatunkowym mikoflory wyosobnionej z gleby i korzeni lucerny w trzech kolejnych latach jej uprawy dostarczyły dopiero wyniki obserwacji stosunków biotycznych, jakie zachodziły w poszczególnych okresach badań pomiędzy najliczniej występującymi grzybami saprofitycznymi a patogenami lucerny, *Verticillium albo-atrum* i *Ascochyta imperfecta*. Badania te wykazały, że obydwie grzyby pasożytnicze są słabymi partnerami w konkurencyjnej walce o byt, ponieważ ulegały hamującemu ich rozwój oddziaływaniu większości saprofitów. Szczególnie słabym partnerem było *Verticillium albo-atrum*, co już stwierdziły Truszkowska i Narkiewicz-Jodko (1969) oraz Pudełko (1970). Zaobserwowano też, że do gatunków saprofitycznych najsilniej hamujących rozwój obydwu patogenów należały *Trichoderma lignorum* i *T. koningi*, *Fusarium solani*, *F. roseum*, *F. oxysporum*, *Phytophthora* i *Pythium*. Natomiast słabą stymulację rozwoju patogenów wykazały *Spicaria violacea* i *Torula* sp., co zresztą zależało od terminu wyszczepienia partnerów w doświadczeniu.

Wyniki obserwacji wzajemnego oddziaływania biotycznego grzybów saprofitycznych wyizolowanych z gleby i korzeni lucerny, zebranych w szeregi biotyczne, oraz gatunków patogenicznych, *Verticillium albo-atrum* i *Ascochyta imperfecta*, posłużyły do przeanalizowania oporu środowiska względem patogenów i jego wpływu na zdrowotność roślin w trzech kolejnych latach uprawy lucerny. W rezultacie przeprowadzonych badań zaobserwowano, że wartość sumy efektu biotycznego odpowiadająca wartości oporu środowiska zależała od liczebności różnogatunkowej populacji grzybów z rodzaju *Trichoderma*, a zwłaszcza *T. lignorum*. Grzyb ten jest znany z antagonistycznego oddziaływania w stosunku do różnych patogenów (Krasilnikow 1958, Fedorinčyk 1964). Truszkowska i Narkiewicz-Jodko (1969) zaobserwowały wystąpienie zasadniczej różnicy w oddziaływaniu żywej *Trichoderma lignorum* w stosunku do *Verticillium albo-atrum* jako patogena pomidorów a działaniem jej metabolitów w podłożu. W danym przypadku zaznaczył się typ współżycia określony przez niektórych badaczy (Butler — wg Truszkowskiej i Narkiewicz-Jodko 1969) jako niespecyficzna forma pasożytnictwa spotykana wśród grzybów glebowych a uzależniona od warunków ekologicznych. Polegała ona na tym, że strzępki *Trichoderma lignorum* przy zetknięciu z inną napotkaną grzybnią powodowały zahamowanie jej rozwoju, natomiast metabolity tego grzyba zawarte w podłożu wykazały tylko znikome działanie hamujące.

Tego rodzaju badań nie prowadzono dotychczas nad *Ascochyta imperfecta*.

Próba oceny charakteru stosunków biotycznych zachodzących w środowisku glebowym pomiędzy gatunkami saprofitycznymi dominującymi w nim liczebnie a patogenami lucerny pozwoliła na stwierdzenie istnienia

swoistego mechanizmu warunkującego obniżenie się wartości oporu środowiska glebowego szczególnie w trzecim roku uprawy lucerny. W roku tym obserwowano największe nasilenie choroby uwiędnięcia lucerny powodowanej przez *Verticillium albo-atrum*, jak też czarnej plamistości łodyg, której przyczyną była *Ascochyta imperfecta*.

Wydaje się że przy wyjaśnieniu tych zjawisk można oprzeć się na 4 kryteriach (Garret 1956): szybkość kiełkowania i wzrostu grzybów, szybkość wytwarzania enzymów, zdolność wytwarzania antybiotyków i tolerancja na antybiotyki, które warunkują rozwój mikroorganizmów saprofitycznych w glebie. Znaczenie czwartego kryterium wzrasta szczególnie w odniesieniu do „kolonizatorów” zasiedlających środowisko glebowe oraz korzenie roślin w terminie późniejszym, w kolejności sukcesji. Występuje wówczas osłabienie działania drobnoustrojów wskutek ograniczenia ich ilości, czego następstwem jest obniżenie poziomu substancji hamujących. Pozwala to na opanowanie środowiska przez organizmy później rozwijające się, jak np. patogeny, pomimo ich słabej konkurencji w walce o byt z gatunkami saprofitycznymi. Odpowiednikiem czy potwierdzeniem tego działania było eliminowanie w ciągu pierwszych lat uprawy lucerny gatunków saprofitycznych jako antagonistów dla obydwu badanych patogenów oraz spotęgowany rozwój zbiorowiska grzybów patogenicznych w miarę użytkowania plantacji, zwłaszcza w trzecim roku jej uprawy.

Szczegółowe badania mikologiczne środowiska glebowego potwierdziły i udokumentowały wyniki wcześniejszych obserwacji odnoszące się do występowania i nasilenia chorób lucerny w poszczególnych latach jej uprawy (Czaplińska 1963, 1967, 1968).

WNIOSKI

Na podstawie wyników uzyskanych z przeprowadzonych badań można wyciągnąć następujące wnioski:

1. Skład gatunkowy i ilościowy mikoflory środowiska glebowego w zasięgu korzeni lucerny w trzech kolejnych latach jej uprawy zależał od wieku plantacji oraz od terminu analizy (wiosna — jesień).

2. Zmniejszająca się z czasem ilość wyosobnień grzybów z gleby oraz z korzeni roślin wydaje się świadczyć o selektywnym oddziaływaniu lucerny na skład gatunkowy oraz ilościowy mikoflory.

3. Zarówno *Verticillium albo-atrum*, jak i *Ascochyta imperfecta* okazały się słabymi partnerami w walce o byt z grzybami saprofitycznymi, z których większość hamowała ich rozwój. Do najsilniejszych antagonistów w stosunku do obydwu patogenów należały: *Trichoderma lignorum*, *T. koningi* ponadto *Fusarium roseum*, *F. oxysporum*, *F. solani* oraz *Pythium artotrogus* i *Phytophthora* sp.

4. Zastosowanie 3 pożywek o różnym składzie do izolacji grzybów ze

środowiska glebowego w zasięgu korzeni lucerny pozwoliło na ocenę pożytki Waksmana z dodatkiem streptomycyny jako najlepszej i godnej polecenia do tego rodzaju badań.

5. Ocena zjawiska hamowania rozwoju patogenów przez grzyby saprofityczne zależała głównie od gatunku saprofita, a tylko w nieznacznym stopniu od rodzaju zastosowanego podłoża i terminu wyszczepienia grzybów.

6. Największa liczebność populacji grzybów z rodzaju *Trichoderma* warunkowała dobrą zdrowotność roślin lucerny w 1 i 2 roku jej uprawy. Było to wyrazem układu stosunków biotycznych zachodzących w środowisku glebowym pomiędzy zbiorowiskiem grzybów saprofitycznych a patogenami lucerny, na niekorzyść ostatnich.

7. Stworzenie przez uprawę warunków korzystnych dla rozwoju antagonistów w stosunku do patogenów lucerny (zwłaszcza przy końcu drugiego i w trzecim roku jej użytkowania) zmniejszyłoby zagrożenie chorobowe roślin przez *Verticillium albo-atrum* i *Ascochyta imperfecta*.

Pragnę serdecznie podziękować Prof. dr Wandzie Truszkowskiej za życzliwe rady i wskazówki, z których korzystałam podczas wykonywania niniejszej pracy.

LITERATURA

- Aubé C., Sackston W. E., 1969, *Verticillium wilt* of forage legumes in Canada, *Canad. J. Plant Sci.* 44: 427-432.
- Aubury R. G., Rogers H. H., 1969, The determination of resistance to *Verticillium wilt* (*V. albo-atrum*) in lucerne, *J. Br. Grassld. Soc.* 24: 235-237.
- Badura L., 1957, Grzyby glebowe, ich występowanie i rola w rozkładzie substancji organicznej w glebie, *Acta Agrobot.* 9: 33-53.
- Balicka N., 1964, Rizosfera, *Acta Agrobot.* 16: 55-70.
- Berg W., 1964, Wechselwirkungen zwischen Parasit und Wirt bei Tracheomykosen, *Vergl. Übers. Beitr. Biol. Pfl.* 40: 389-449.
- Bochow H., 1967, Antiphytopathogene Wirkungen des Bodens und ihre Nutzung für den Pflanzenschutz, *Nachrbl. Pflanzsch.* 21, 47, 6.
- Bochow H., 1970, Bericht über den I Internationalen Kongress für Phytopathologie, 3. Biologie und Bekämpfung phytopathogener Bodenpilze, *Nachrbl. Pflanzsch.* 1: 15-17.
- Burges A., Raw F., 1967, *Soil biology*, Akad. Press. Inc. London.
- Chen Alice Whei-Chu, Griffin D. M., 1966, Soil physical factors and the ecology of fungi. V, *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 49: 419-426.
- Czaplińska S., 1963, Badania nad biologią grzybów powodujących choroby lucerny ze szczególnym uwzględnieniem chorób uwiądnienia na terenie Dolnego Śląska, *Acta Agrobot.* 14: 101-130.
- Czaplińska S., 1967, Mikoflora nasion kilku polskich odmian lucerny pochodzących z rozmnożeń w Jugosławii i w Polsce, *Biul. IHAR*, 1-2: 129-132.
- Czaplińska S., 1968, Obserwacje zdrowotności roślin kilku polskich odmian lucerny pochodzącej z nasion reprodukowanych w Jugosławii i w Polsce, *Hod. Rośl. Aklim. Nas.* 12: 687-701.

- Czaplińska S., 1971, Studia nad chorobami lucerny powodowanymi przez grzyby. I, Zesz. probl. Post. Nauk rol. (w druku).
- Dorosinski L. M., Margo A. A., 1969, Antibiotyczne swojstwa klubenkowych bakterij i klubenkow lucerny po odnośeniu k *Verticillium dahliae* i *Fusarium vasinfectum*, Selchoz. Biol. 1: 57-62.
- Engelhard A. W., 1957, Host index of *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth. (including *Verticillium dahliae* Kleb.), Plant Dis. Repr., 244: 23-49.
- Fedorinčyk N. S., 1964, Biologiczski metod borby z bolezniami rastienij, Trudy Wsesoj. Nauč. Isledovat. Inst. Zašč. Rast. 23: 201-210.
- Gams W., 1967, Mikroorganismen in der Wurzelregion von Weizen, Mittail. Biol. Bundesanst. Land. Forstwirtschaft. Berlin-Dahlem, 123.
- Garret S. D., 1956, Biology of root infecting fungi, Cambridge.
- Gerasimova A. I., Miniajeva O. M., 1960, Vrediteli i bolezni kormovych trav, Gos. Izdat. Sel. Lit., Moskva.
- Giedrojć B., 1958, Gleby gospodarstwa doświadczałnego Pawłowice Wielkie, Zesz. Nauk. WSR Wrocław, 17: 51-68.
- Gierczak M., 1967, Mikoflora gleb w szkółkach leśnych a pasożytnicza zgorzel siewek, Acta Mycol. 3: 3-49.
- Golenia A., 1968, Grzybowe choroby lucerny w województwie poznańskim, Prace Naukowe IOR 9: 129-151.
- Hastie A. C., 1962, Genetic recombination in the hop-wilt fungus *Verticillium albo-atrum*, J. Gen. Microb. 27: 373-382.
- Hempel I., 1970, Ergebnisse in der Resistenzzüchtung bei Luzerne gegen *Verticillium albo-atrum*, Dtsch. Akad. Landwirtschaft.-Wiss. Berlin, Tag.-Ber., 111.
- Isaac I., Heale J. B., 1961, Wilt of lucerne caused by species of *Verticillium*. III. Variability of *Verticillium albo-atrum* carried with lucerne seed: effects of seed dressings and fumigants, Ann. app. Biol. 49: 675-691.
- Jarowaja N., 1970, Rodzaj *Arthrotrix Corda*, Acta Mycol. 6: 337-400.
- Johnson L. F., Curl E. A., Bond J. H., Fribourg N. A., 1959, Methode for studying soil microflora plant disease relationships, Minneapolis.
- Johnson L. F., Mańka K., 1961, Modyfikacja glebowej metody płytkowej Warcupa do izolowania grzybów glebowych, Prace Naukowe IOR 3: 233-243.
- Kiessig R., Haller-Kiessig R., 1958, Beitrag zur Kenntnis einer infektiösen Welkekrankheit der Luzerne (*Verticillium albo-atrum* R. et B.), Phytopath. Zeitschr. 31: 183-222.
- Krasilnikow N. A., 1958, Mikroorganizmy počvy i wyżsije rastienija, Moskva.
- Kreitlow K. W., 1962, *Verticillium wilt* of alfalfa a destructive disease in Britain and Europe not yet observed in the United States, Crops Research Agricult. Res. Serv. US Dep. Agric.
- Kulik-Lisina E. S., Maksimova P. A., 1968, Ekologia niekötorych mikroskopizczeskich gribov producentov antibiotikov, Acta Mycol. 4: 405-410.
- Kuprewicz W. F., 1959, Physiology of the diseased plant, Proceedings of the ninth Intern. Bot. Congr. Montreal, Phytopath. 2: 210, Univ. Press.
- Maciejowska Z., 1964, Choroby korzeni roślin na tle ekologii grzybów glebowych, Biul. IOR, 26: 177-203.
- Maciejowska Z., 1964, Wpływ zabiegów ochronnych i mikroflory glebowej na występowanie niektórych chorób korzeni warzyw, Prace Nauk. IOR 7: 153-162.
- Mańka K., Truszkowska W., 1958, Próba mikologicznej analizy korzeni świerka (*Picea excelsa* Lk.), Acta Soc. Bot. Pol. 27: 45-73.
- Mańka K., Błońska A., Wnękowski S., 1961, Badania nad składem mikroflory kilku rodzajów gleb i jej oddziaływania na rozwój niektórych pasożytniczych grzybów glebowych, Prace Nauk. IOR 3(2): 145-229.

- Mańka K., Kowalski S., 1968, Wpływ zespołów grzybów glebowych z dwóch szkółek leśnych (sosnowej i jesionowej) na rozwój grzyba zgorzelowego *Fusarium oxysporum* Schlecht, Pozn. Tow. Przyj. Nauk Roln. Leśn. 25: 197-205.
- Mead A. W., 1964, Infection of Alfalfa seed by *Ascochyta imperfecta* Peck through the pod, Canad. J. Bot. 42: 1101-1102.
- Michail S. H., Carr J. H., 1966, Use of culture filtrates as a rapid technique for screening lucerne for resistance to *Verticillium albo-atrum*, Trans. Brit. Mycol. Soc. 43: 133-138.
- Müller H. L., 1969, Ergänzende Untersuchungen über die Luzerneverticilliose (*Verticillium albo-atrum* R. et Berth.) insbesondere die Möglichkeit einer systematischen Auslese resistenter Luzernepflanzen, Phytopath. Zeitschr. 65: 69-97.
- Niekrasz A., 1956, Mykorhiza u *Medicago falcata* L., Zesz. Nauk. Uniw. Łódz. Nauk. Matem.-Przyr. S. II, 2: 69-75.
- Noble M., Robertson N. F., Dowson W. I., 1953, *Verticillium wilt* of lucerne in Britain, Plant Path. 2: 31-33.
- Panton Ch. A., 1964, A review of some aspects of the wilt pathogen *Verticillium albo-atrum* Rke. et Berth., Acta Agricult. Scand. 14 (2/3): 97-112.
- Powelson R. L., 1968, Significance of population level of *Verticillium* in soil, Oregon Agric. Exp. St. Techn. Paper No 2602.
- Pudelko Z., 1970, Próba ustalenia niektórych przyczyn dużego nasilenia chorób uwiędnięcia pomidorów w szklarniach i poszukiwanie środków zaradczych, Acta Mycol. 6: 277-313.
- Roberts E. T., Large E. C., 1963, Surveys of *Verticillium wilt* in lucerne England and Wales 1958-1960, Plant Path. 12: 47-58.
- Rovira A. D., 1965, Plant root exudates and their influence on soil microorganisms, Ecology of soil borne plant pathogens, Berkeley-Calif. 170-186.
- Rösner H., 1968, Untersuchungen über den Erreger der Phomakrankheit der Luzerne (*Phoma medicaginis* Malb. et Roum.), Phytopath. Zeitschr. 63: 8-123.
- Schmiedeknecht M., 1969, Topographische Untersuchungen an welkekranken Luzernepflanzen, Arch. Pflanzschut. 5: 143-148.
- Schönbeck F., 1968, Untersuchungen über den Einfluss von Wurzelausscheidungen auf die Entwicklung von Bodenzpilzen, Naturwiss. 45: 63-64.
- Skadow K., 1969, Untersuchungen über die Welkeerreger *Verticillium albo-atrum* Rke et Berth. und *V. dahliae* Kleb. I, Zbl. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankh. Hyg. 2(123): 715-735.
- Stachurska-Bac A., Szuwalska Z., 1965, O wpływie wyciągów z niektórych roślin strukturotwórczych na wzrost pomidorów, pszenicy i jęczmienia w kulturach wodnych, Zesz. Nauk. Roln. WSR 19: 165-174.
- Sternberg P. M., 1951, Die Pilzflora in den Wurzeln der Feldfrüchte, Agrobiol. 4: 63-79, Odessa.
- Stoddart J. L., Carr A. J. H., 1966, Properties of wilt toxins produced by *Verticillium albo-atrum* R. et B., Ann. Appl. Biol. 58: 81-92.
- Talboys P. W., 1964, A concept of the host parasite relationship in *Verticillium wilt* disease, Nature 4930, A, 4: 361-364.
- Truszkowska W., Narkiewicz-Jodko M., 1969, Badania oddziaływania grzybów saprofitycznych na patogeniczne dla pomidorów, Acta Mycol. 5: 23-49.
- Weltzien C., 1963, Untersuchungen über die Ursachen der Keimhemmung von Pilzsporen im Boden, Zbl. Bakt. 2 (116):131-170.
- Mikologia i Fitopatologia, 1968, 2: 290-301, Novotielnova N. S., Pistina L. A.; 2: 367-377, Kamyško O. P., — 1969, 3: 3-12, Bondarcewa M. A.; 3 (1): 48-52, Popov J., Zdrożevskaja S. D.; 3: 307-315, Ezruch E. N., Babuszkina J. N.; 3: 342-345, Solovjova A. I., Madumarov T.; 3:

- 442-445, Puškariova M. M., Ubajdullajev Ch. Ch. 3: 507-517, Benken A. A.; — 1970, 4: 122-129, Kamilova M. Ch., Kičanova I. M., Mirpulatova N. S., Urunov I. S., Učevaikin F. I.; 4: 412-418, Smotina G. E., Gorlenko M. V.
- Phytopathology, 1945, 35: 838-855, Cormack M. W.; — 1953, 43: 593-596, Wilhelm S., Ferguson J.; — 1954, 44: 433, Green R.; — 1957, 47: 504-506, Athow K. L.; — 1959, 49: 527-528, Nadakavuranen M. J., Horner C. E.; — 1964, 54: 1415-1417, Banttari E. E., Wilcexson R. D.; — 1965, 56: 1110-1112, Schreiber R., Green R. J.; — 1967, 57: 363-367, Catani S. C., Peterson J. L.; — 1968, 58: 567-570, Green R. J., Papavizas G. C.; — 1959, 59: 135-138, Adams P. B., Papavizas G. S.; 59: 1119-1127, Bell A. A.; 59: 1400-1403, Gilbert R. G., Griebel G. E.; 59: 1590-1595, Emmaty D. A., Green R. J. jr.; — 1970, 60: 488-490, Howell C. R.; 60: 1578-1583, Katan J., Lockwood J. L.

SUMMARY

As some agriculturally important diseases of alfalfa occur with the greatest force in the second and third year of culture, and as methods of effective preventing or curing them are not known, attempts were made to isolate and determine the species composition of the mycoflora located in the range of the roots in one, two and three year old cultures. A further aim of the investigations was to find the relationships between the isolated saprophytic fungi placed in so-called "biotic row" which are parasitic to alfalfa. This was performed under laboratory conditions. Two species of parasitic fungi were used in the experiments: *Verticillium albo-atrum* (which causes wilt of alfalfa and *Ascochyta imperfecta* causes black stem of alfalfa). As a result of the investigations fungi isolated from the soil in the range of alfalfa roots in particular years of culture were divided into three groups. Species *Penicillium*, *Spicaria* and *Trichoderma lignorum* were dominant in the first year of culture and then gradually disappeared. The second group consisted of species the frequency of which increased with the age of culture. Here species of *Fusarium*, *Verticillium* and *Phytophthora* were included. The third group consisted of saprophytic species which were equally numerous in subsequent years of culture. Species of *Gliocladium*, *Torula* and *Pythium* were dominant in this group. During the passage of years less and less isolates were obtained from the range of alfalfa roots, whilst the number of isolates from the roots themselves remained almost constant. It was found that species dominating in associations of fungi in the range of roots more inhibited the growth of *Verticillium albo-atrum* than that of *Ascochyta imperfecta*. The development of both pathogens was mainly inhibited by *Trichoderma lignorum*, *Fusarium roseum*, *F. oxysporum*, *Phytophthora* sp. and *Pythium artotrogus*. Species of *Fusarium* were considered in this case as biotopic fungi, as they were isolated from soil and from roots of plants. Occasionally a stimulating influence of some saprophytic fungi also occurred in relation to both pathogens. Creating conditions favourable to the development of antagonists of alfalfa pathogens by means of agricultural techniques would decrease the risk of infection of plants by *Verticillium albo-atrum* and *Ascochyta imperfecta*.