UNIWERSYTET WARMIŃSKO-MAZURSKI
W OLSZTYNIE
WYDZIAŁ ROLNICTWA I LEŚNICTWA

mgr Edyta Alicja Kwiatkowska

Biologia i zwalczanie *Colletotrichum lupini* występującego na łubinach

Rozprawa doktorska wykonana
w Katedrze Entomologii, Fitopatologii
i Diagnostyki Molekularnej
pod kierunkiem
prof. dr hab. Tomasza P. Kurowskiego

Olsztyn 2022

UNIVERSITY OF WARMIA AND MAZURY
IN OLSZTYN
FACULTY OF AGRICULTURE AND FORESTRY

M.Sc. Edyta Alicja Kwiatkowska

The biology and protection against *Colletotrichum lupini* on lupines

Doctorate Thesis carried out in the Department of Entomology, Phytopathology and Molecular Diagnostics under the supervision of prof. Tomasz P. Kurowski

Olsztyn 2022

Spis treści

1. Wstęp……...…….5
2. Cel, zakres pracy i hipotezy badawcze……...……..7
3. Przegląd literatury...……...……...9
   3.1. Pochodzenie łubinu……..……...9
   3.2. Uprawa i znaczenie łubinu……..…10
   3.3. Antraknoza łubinu……..15
4. Materiał i metody badań……...……....25
   4.1. Materiał……..…25
      4.1.1. Charakterystyka gatunków i odmian łubinów użytych w badaniach……..25
      4.1.2. Fungicydy użyte w doświadczeniu polowym i wazonowym w latach 2004-2006……...……..28
      4.1.3. Czynniki ochronne użyte w doświadczeniu polowym w latach 2011-2015…...29
      4.1.4. Czynniki ochronne użyte w doświadczeniu polowym w latach 2016-2018…...30
      4.1.5. Czynniki ochronne użyte w pracach laboratoryjnych w 2015 roku……....31
   4.2. Metody badań……..……33
      4.2.1. Doświadczenia polowe……..……..…33
         4.2.1.1. Ocena nasilenia antraknozy w zależności od gatunku, odmiany łubinu i ochrony chemicznej (lata 2004-2006)…….……..33
         4.2.1.2. Ocena nasilenia antraknozy w zależności od sposobu ochrony (lata 2011-2015) ……..……...34
         4.2.1.3. Ocena nasilenia antraknozy łubinu w zależności od czynnika ochrony biologicznej (lata 2016-2018)……....….34
      4.2.2. Doświadczenia wazonowe…….…….35
         4.2.2.1. Ochrona przed antraknozą łubinu poprzez zaprawianie nasion (dośw. I) …36
         4.2.2.2. Miejsce wnikania *C. lupini* do roślin łubinu (dośw. II)...…….....36
         4.2.2.3. Podatność odmian łubinu na inokulację roślin zarorodnikami *C.lupini* (dośw. III)……..……...36
   4.3. Prace laboratoryjne……..…...37
      4.3.1. Badania nad biologią *C. lupini* ……..…….37
         4.3.1.1. Tempo wzrostu *C. lupini* na sztucznych podłożach……...…….37
         4.3.1.2. Oddziaływanie *C. lupini* na wzrost liniowy wybranych gatunków grzybów najczęściej izolowanych z nasion łubinu…….….38
         4.3.1.3. Indywidualny efekt biotyczny (IEB) *C. lupini* w stosunku do wybranych mikroorganizmów …….……...…..39
         4.3.1.4. Patogeniczność *C. lupini* w stosunku do gatunku łubinu…..……41
         4.3.1.5. Wpływ wybranych czynników ochronnych na rozwój *C. lupini* ...…..…41
      4.3.2. Identyfikacja wybranych izolatów *C. lupini* metodą molekularną …….…...42
      4.3.3. Próg infekcyjności zarodników *C. lupini* ……..43
      4.3.4. Izolacja grzybów z wykazujących objawy chorobowe części podliścieniowych i korzeni łubinu…….....……..…….45
      4.3.5. Izolacja grzybów zasiedlających nasiona łubinu…..……..46
      4.3.6. Wpływ okresu przechowywania nasion łubinu na występowanie *C. lupini*.....46

5. Przebieg pogody……..……..……47
6. Wyniki badań…….……..49
6.1. Doświadczenia polowe……..……..……..49
6.1.1. Nasilenie antraknozy łubinu w zależności od ochrony chemicznej (lata 2004-2006)..…….49
6.1.2. Nasilenie antraknozy łubinu w zależności od ochrony (lata 2011-2015)..…….....49
6.1.3. Nasilenie antraknozy łubinu w zależności od czynnika ochrony biologicznej (lata 2016-2018)…...……...……...….50
6.2. Doświadczenia wazonowe……51
6.2.1. Wpływ zaprawiania nasion łubinu na nasilenie antraknozy (dośw. I)..……51
6.2.2. Nasilenie antraknozy łubinu w zależności od miejsca wnikania *C. lupini* do rośliny (dośw. II)……..……...……..…..52
6.2.3. Nasilenie antraknozy łubinu inokulowanego *C. lupini* (dośw. III)…….53
6.3. Prace laboratoryjne…….…...54
6.3.1. Badania nad biologią *C. lupini* ……..….54
6.3.1.1. Tempo wzrostu *C. lupini* ……..…54
6.3.1.2. Oddziaływanie *C. lupini* na wzrost liniowy wybranych gatunków grzybów najczęściej izolowanych z nasion łubinu ….……..…….....55
6.3.1.3. Indywidualny efekt biotyczny (IEB) *C. lupini* w stosunku do wybranych mikroorganizmów.……..…….……56
6.3.1.4. Patogeniczność *C. lupini* wobec siewek łubinu…….……..56
6.3.1.5. Wpływ wybranych czynników ochrony roślin na rozwój *C. lupini*…..…57
6.3.2. Identyfikacja wybranych izolatów *C. lupini* metodą molekularną…….…..…57
6.3.3. Próg infekcyjności zarodników *C. lupini* ……..…….57
6.3.4. Grzyby wyizolowane z porażonych części podliścieniowych i korzeni łubinu……..….58
6.3.5. Grzyby wyizolowane z nasion łubinu……..…...59
6.3.6. Wpływ okresu przechowywania nasion na występowanie *C. lupini*…….……65
7. Dyskusja wyników…….……..68
8. Wnioski……77
9. Piśmiennictwo…….……79
Załączniki…….……93
Streszczenie…….……..….135
Summary……..…….137

1. WSTĘP

Rodzaj *Lupinus* jest jednym z najszerzej rozpowszechnionych geograficznie taksonów roślin o dużej różnorodności gatunków. Zakres stref klimatycznych, jakie zasiedlają rośliny rodzaju *Lupinus* jest bardzo szeroki. Występują w regionach: subarktycznych (Alaska), wyżynnych i górskich Afryki Wschodniej, Meksyku, Andów, klimatu śródziemnomorskiego, półpustynnego i subtropikalnego (Wolko i wsp. 2011, Abraham i wsp. 2019).

W Europie północnej pierwsze próby wprowadzenia łubinu (*L. albus*) do uprawy podjęto pod koniec XVIII wieku, jednak dopiero w XIX wieku, wykorzystując *L. luteus* i *L. angustifolius*, odnotowano pewne sukcesy w wykorzystaniu tych roślin. Łubin był uprawiany z przeznaczeniem na paszę dla bydła (Francja), jako zielony nawóz (Niemcy), w celu poprawienia struktury gleb piaszczystych (Anglia) (Wolko i wsp. 2011).

Korzystne oddziaływanie łubinu na glebę znano i wykorzystywano od wielu lat. Łubin stosowano jako nawóz zielony, wprowadzający do gleby substancje organiczne, poprawiający strukturę i zasobność gleby, a także zmniejszający ryzyko erozji (Howieson i wsp. 2000). Pomimo korzystnego wpływu łubinu na glebę i środowisko oraz możliwości wykorzystania go jako źródła białka w paszach dla zwierząt, już na przełomie XIX i XX wieku odnotowano znaczący spadek powierzchni uprawy łubinu gorzkiego. Przyczyniły się do tego zmiany gospodarcze, wzrost wartości ziemi, produkcja tanich nawozów azotowych i intensyfikacja produkcji rolniczej (Wolko i wsp. 2011). W ostatnim okresie powierzchnia zasiewu łubinu jest niewielka, chociaż ulega dużym wahaniom w poszczególnych latach.

W Polsce w latach 80-tych XX wieku prowadzono szerokie badania nad możliwością zastosowania nasion łubinu w żywieniu zwierząt i zastąpienia nimi sprowadzanej spoza kraju soi, jednak już w latach 90-tych nastąpił duży spadek powierzchni uprawy łubinu. Za główne przyczyny tego zjawiska uważa się: wzrost powierzchni uprawy pszenicy w związku z uprawą jej w skrajnie uproszczonych płodozmianach lub nawet w krótkookresowych monokulturach, możliwość importu dużej ilości śruty sojowej w przystępnej cenie oraz pojawienie się i rozprzestrzenienie na szeroką skalę choroby grzybowej - antraknozy łubinu (Jerzak 2016).

Pojawienie się w latach 90-tych w większości krajów Europy, w tym w Polsce, patogena powodującego antraknozę łubinu skutkowało tym, że w niektórych regionach kraju plantacje łubinu zostały niemal całkowicie zniszczone (Frencel 1998). Najbardziej podatnymi na infekcje przez *C. lupini* okazały się odmiany łubinu białego i łubinu żółtego. Za znacznie bardziej odporny uchodził łubin wąskolistny (Horoszkiewicz-Janka i wsp. 2011). Pojawienie

się antraknozy łubinu w Europie było gwałtowne, a choroba szybko się rozprzestrzeniła. Epidemia nie ograniczyła się do jednego roku, lecz duże nasilenie objawów chorobowych notowano przez wiele lat. Trwa to do dzisiejszego dnia, chociaż ze zmiennym nasileniem w poszczególnych latach (Talhinhas i wsp. 2016). W początkowym okresie występowania choroby nie było wśród badaczy zgodności, co do przynależności gatunkowej patogena powodującego chorobę. Jako sprawców wskazywano różne gatunki grzybów rodzaju *Colletotrichum*. Prowadzone przez wiele lat badania doprowadziły do uznania gatunku *Colletotrichum lupini* za sprawcę antraknozy łubinu. Grzyb zaliczany jest do kompleksu gatunków *C. acutatum* (Hyde i wsp. 2009, Baroncelli i wsp. 2017, Damm i wsp. 2021). Duża różnorodność wewnątrzgatunkowa grzybów rodzaju *Colletotrichum* sprawia, że do poprawnego ustalenia sprawcy antraknozy łubinu zalecane jest zastosowanie identyfikacji zarówno metodami klasycznymi, jak i molekularnymi (Cai i wsp. 2009, Dubrulle i wsp 2020a).

Ogromna szkodliwość antraknozy łubinu, objawiająca się zniszczeniem w niektórych latach nawet 90% plantacji nasiennych, spowodowała, że podjęto intensywne prace nad sposobem ograniczania występowania choroby i ochrony upraw łubinu. Badania prowadzono wielokierunkowo. Poszukiwano odmian łubinu odpornych na patogena i analizowano metody agrotechniczne (Alkemade i wsp. 2021, Talhinhas i wsp. 2016). Przebadano dostępne chemiczne środki ochrony roślin korzystnie wpływające na ograniczenie występowania *C. lupini*. W ostatnich latach nowe dyrektywy unijne, powodujące wycofywanie coraz większej liczby chemicznych substancji czynnych i szeroko rozpowszechnione w Unii Europejskiej trendy proekologiczne doprowadziły do poszukiwania na szerszą skalę metod ochrony łubinu nie obciążających środowiska (Horoszkiewicz-Janka i wsp. 2020).

2. CEL, ZAKRES PRACY I HIPOTEZY BADAWCZE

Początkowa niejednomyślność fitopatologów co do gatunku patogena powodującego antraknozę łubinu, próba poznania jego biologii, poszukiwania dróg przenoszenia się sprawcy choroby, a także opracowania metod ograniczenia rozprzestrzeniania się patogena spowodowała potrzebę podjęcia i przeprowadzenia badań, które pomogłyby zrozumieć sposób transmisji *C. lupini*, a w konsekwencji ograniczyć nasilenie choroby.

Celem badań było określenie: gatunku patogena powodującego antraknozę łubinu, dróg jego wnikania do rośliny, wpływu warunków środowiska na tempo wzrostu *C. lupini*, nasilenia występowania choroby w zależności od gatunku i odmiany łubinu, interakcji między patogenem a mikroorganizmami powszechnie występującymi w środowisku rolniczym, możliwości i celowości stosowania ochrony chemicznej bądź biologicznej, wpływu badanych czynników na liczebność oraz skład gatunkowy grzybów zasiedlających części podliścieniowe, korzenie i nasiona łubinu.

Zakres pracy

Badania obejmowały doświadczenia polowe, wazonowe i prace laboratoryjne. W ramach badań polowych i wazonowych przeprowadzono ocenę występowania antraknozy łubinu na: *Lupinus albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus*, *L. nanus*, *L. polyphyllus*, *L. albus* var. *graecus*, *L. hispanicus* i *L. mutabilis* oraz możliwości jego ograniczania. Z wybranych gatunków i odmian łubinu pobrano części podliścieniowe, korzenie i nasiona w celu izolacji grzybów zasiedlających w/w organy roślin.

W laboratorium analizowano wpływ wybranych czynników fizycznych, związków chemicznych oraz mikroorganizmów na tempo wzrostu patogena. Badano próg infekcyjności dla wybranych gatunków łubinu. Izolowano i identyfikowano grzyby zasiedlające pobrane z doświadczeń polowych i wazonowych organy roślin.

Hipotezy badawcze

1. Pierwotnym źródłem infekcji łubinu są nasiona, a wtórnym zarodniki przenoszone przez prądy powietrza.
2. Zalecane do stosowania chemiczne środki ochrony roślin skutecznie ograniczają występowanie sprawcy antraknozy łubinu.

3. Warunki meteorologiczne znacząco wpływają na nasilenie objawów antraknozy łubinu.
4. Wybrane mikroorganizmy zasiedlające łubin mogą hamować rozwój *C. lupini*.
5. Przechowywanie nasion łubinu przez sześć miesięcy zmniejsza liczebność patogena na nasionach.

3. PRZEGLĄD LITERATURY

3.1. Pochodzenie łubinu

Rząd: *Fabales* - bobowce

Rodzina: *Fabaceae* - bobowate

Rodzaj: *Lupinus* - łubin

Do rodzaju *Lupinus* L. należy ok. 300 gatunków rośliny na całym świecie, zarówno jednorocznych jak i wieloletnich. Są to głównie byliny górskie i drobnonasienne. Słowo *Lupinus* pochodzi od łacińskiego słowa *lupus* oznaczającego wilka. Według jednej z teorii roślinę nazwano tak z powodu wyglądu liści, które przypominają odcisk łapy wilka (Kurlovich 2002). Natomiast z hipotezy Christou przedstawionej przez Yorgancilar i wsp. (2009) wynika, że nazwę *lupinus* nadano tej roślinie, ponieważ sądzono, iż powoduje ona ubożenie gleby. Przeczą temu inne doniesienia, wskazujące, że już w starożytności znane były korzyści z uprawy roślin strączkowych, w tym łubinu, czego dowodzą nasiona *Lupius termis* Forsk (forma botaniczna *Lupinus albus* L.) znalezione w grobowcach egipskich XII dynastii sprzed 2000 lat (Jasińska, Kotecki 1993, Sulibursk a i wsp. 2009). Łubin jest rodzajem bogatym w gatunki, które występują w różnorodnych strefach klimatycznych - od subarktycznej po subtropikalną (Abraham i wsp. 2019).

Od tysięcy lat łubin był używany jako roślina międzyplonowa w regionie Morza Śródziemnego (Howieson i wsp. 2000), a zdolności adaptacji do chłodnego klimatu zapewniały mu możliwość poszerzenia zasięgu występowania (Adomas i wsp. 2005). W Europie rozpowszechnione są gatunki jednoroczne i wieloletnie pochodzące ze strefy śródziemnomorskiej. Na świecie, jako rośliny uprawne, wykorzystywane są głównie cztery gatunki: łubin biały (*Lupinus albus* L.), żółty (*L. luteus* L.), wąskolistny (*L. angustifolius* L.) i zmienny (*L. mutabilis* Sweet.) (Jasińska, Kotecki 1993, Yorgancilar i wsp. 2009, Abraham i wsp. 2019). Każdy z nich ma inną historię. Łubin biały był uprawiany w basenie Morza Śródziemnego i wzdłuż doliny Nilu (Huyghe 1997). Istnieją dwie teorie odnośnie migracji tego gatunku. Według jednej z nich ł. biały pochodzi z Egiptu, gdzie był uprawiany około 330 r. p.n.e. Stamtąd dotarł do Grecji, a później do Włoch. Według drugiej hipotezy łubin biały pierwotnie występował w starożytnej Grecji i z tego regionu rozprzestrzenił się na otaczające tereny, gdzie wytworzył nowe rasy (Kurlovich 2002). Gatunek ten po odgoryczeniu w popiele lub wodzie stanowił pożywienie najuboższych ludzi. Był też powszechnie używany jako nawóz zielony i pasza dla bydła (Jasińska, Kotecki 1993, Huyghe

1997). Łubin wąskolistny wywodzi swój rodowód z basenu Morza Śródziemnego. Pierwotnie był wykorzystywany jako roślina ozdobna, a także jako nawóz zielony (Jasińska, Kotecki 1993). Łubin żółty pochodzi z Sycylii. W średniowieczu użytkowano go jako roślinę ozdobną, a z czasem zaczęto wykorzystywać jako nawóz zielony (Jasińska, Kotecki 1993, Podleśny 2008). Łubin zmienny (*Lupinus mutabilis* Sweet.) zwany jest również łubinem andyjskim. Pochodzenie tego gatunku nie jest do końca ustalone. Według danych Gross i wsp. (1988) pochodzi z południowego Chile, gdzie wzbogacał glebę obszarów górskich, a także był elementem diety ludzi. Natomiast Eastwood i Hughes (2008) sądzą, że łubin ten wywodzi się z północnego Peru i południowego Ekwadoru. Obecnie w Ameryce jest wykorzystywany jako zielony nawóz, a w Europie Środkowej jako roślina ozdobna (Szweykowska, Szweykowski 2003). Znaczenie gospodarcze poszczególnych gatunków łubinu jest różne w różnych regionach świata. W Ameryce Południowej znaczenie ma łubin zmienny, w Australii łubin wąskolistny, natomiast w Europie łubin żółty, łubin wąskolistny i łubin biały (Jasińska, Kotecki 1993).

3.2. Uprawa i znaczenie łubinu

Już od wieloleci znany jest ograniczający wpływ uprawy łubinu na rozwój patogenów i szkodników poprzez niedopuszczenie do zbyt częstego wysiewu zbóż po sobie (Chudy i Święcicki 2006, Podleśny 2005). Pojawienie się pod koniec lat 20-tych XX wieku odmian o niższym stężeniu alkaloidów wpłynęło na szersze wykorzystanie łubinu (Suliburska i wsp. 2009), jednak na początku XXI wieku powierzchnia zasiewu roślin bobowatych, w tym również łubinu, drastycznie zmalała. W 2007 roku odnotowano krótkotrwały wzrost powierzchni uprawy, a w 2008 roku ponowne zmniejszenie. Powierzchnia uprawy łubinu w Polsce przed 2007 rokiem wahała się miedzy 25-29 tys. hektarów. W kolejnych latach polityka UE (dopłaty do upraw roślin bobowatych) spowodowała ponowny wzrost powierzchni uprawy roślin bobowatych, w tym łubinu (Jerzak 2016). W 2015 roku powierzchnia uprawy wzrosła do ponad 207 tys. ha, jednak kolejne lata przyniosły ponowny spadek powierzchni uprawy łubinu, chociaż obecnie wynosi ona powyżej 100 tys. ha (Rocznik GUS 2017, Bojarszczuk, Księżak 2018).

Łubin żółty i wąskolistny wymaga gleb mineralnych, przepuszczalnych, generalnie gleb lżejszych klas bonitacyjnych (IVb–VI), a łubin biały wymaga gleb mocniejszych kl. II-IVa. Bardzo dobre do uprawy łubinu jest stanowisko po zbożach, 3 lata po oborniku i min. 4 lata po roślinach bobowatych. Optymalny termin siewu łubinu na nasiona przypada na 20.III-10.IV, a na zielonkę po 15.IV. W uprawie nie stosuje się nawożenia azotowego,

natomiast zalecane jest nawożenie potasowe aplikowane jest w dawce 70-90 kg/ha K_2O i fosforowe w dawce 50-70 kg/ha P_2O_5.

Najkorzystniejszy wpływ łubinu na rośliny zbożowe uprawiane następczo uwidacznia się na glebach kompleksu żytniego dobrego oraz żytniego słabego - odpowiednio łubin biały i łubin żółty (Księżak, Borowiecki 2001). Łubiny wysiewa się w rozstawie 12-20 cm na następującą głębokość: łubin biały 3-5 cm, łubin żółty 2-4 cm, łubin wąskolistny 3-4 cm. Nasiona przed siewem należy zaprawić, konieczne jest również zaszczepienie ich nitraginą łubinową. W pierwszych latach XXI wieku do zwalczania chwastów stosowano bezpośrednio po siewie Azotop New 80 WP i ewentualnie po wschodach Gladiator 70 WG lub Goltix S 700 SC. W celu ochrony przed patogenami nasiona przed siewem zaprawiano preparatem Sarfun 500 SC (s.a. karbendazym), a w okresie wegetacji (w fazie 10 cm wysokości łubinu) opryskiwano fungicydami Gwarant 500 SC lub Bravo 500 SC (s.a. chlorotalonil). W przypadku wilgotnej i ciepłej pogody zabiegi powtarzano w odstępach co najmniej 2-tygodniowych (Zalecenia IOR 2003). Zalecane uprzednio środki ochrony roślin dopuszczone do zwalczania antraknozy łubinu bazowały na tiofanacie metylowym - substancji czynnej z grupy benzimidazoli. Substancja ta w połowie października 2021 została definitywnie wycofana z obrotu. W chwili obecnej na rynku znajduje się jedynie Prokarb 40 EC (s.a. prochloraz) zalecany do ochrony łubinu przed antraknozą (Zalecenia IOR 2021).

Pomimo korzystnego wpływu roślin bobowatych na środowisko glebowe, za jedną z głównych przyczyn uprawy ich na stosunkowo niewielkiej powierzchni uchodzi niestabilne plonowanie (Chudy, Święcicki 2006). Podjęto próby ustabilizowania plonowania poprzez wprowadzenie do uprawy mieszanek międzyodmianowych i międzygatunkowych, wychodząc z założenia, że wpłyną one korzystnie na ogólny stan uprawy. Jednak kolejne badania nie w pełni potwierdziły te opinie. Według Księżaka (2006) uprawa w mieszaninach międzygatunkowych wpływała hamująco na rozwój łubinu przy jednoczesnym braku wywierania widocznego wpływu na rozwój zbóż. Kotwica i Rudnicki (2004) wykazali, że uprawa mieszanek zbożowych z łubinem sprzyja wierności plonowania oraz, że dzięki takiemu rozwiązaniu możliwe jest uzyskanie wartościowej paszy treściwej. Z kolei według Bieniaszewskiego i wsp. (2006a) wykorzystanie mieszanek odmianowych łubinu żółtego o niezdeterminowanym wzroście na glebach lekkich nie wpływa na stabilizację i jakość plonów. Jednocześnie ci sami autorzy wskazują, że odmiany samokończące łubinu żółtego w takich uprawach wykazują zwiększoną zawartość białka i włókien surowych (Bieniaszewski i wsp. 2006b), a ich zdrowotność nie poprawia się w stosunku do uprawy czystej (Kurowski i wsp. 2006).

W celu zwiększenia areału uprawy łubinu trwają badania nad poprawą takich jego cech jak plenność, wierność plonowania, termoneutralność, niższa zawartość alkaloidów, większa odporność na szkodniki i choroby i krótszy okres wegetacji (Prusiński 2005, 2007).

Najważniejszą korzyścią z uprawy łubinu i innych roślin bobowatych jest wprowadzanie do gleby azotu w sposób „naturalny". Możliwe jest to dzięki symbiozie łubinu z bakteriami rodzaju *Rhizobium* i *Bradyrhizobium* asymilującymi wolny azot atmosferyczny. Pierwiastek ten może być uwalniany bezpośrednio do gleby przez roślinę, gdy występuje jego nadmiar, lub gromadzony w resztkach pożniwnych. Między innymi dlatego łubin jest powszechnie zalecany jako nawóz zielony (Księżak, Borowiecki 2001). Ilość asymilowanego azotu w skali kraju może sięgać 15 tys. ton, a rośliny w okresie wegetacyjnym mogą dostarczyć do gleby 120-150 kg azotu na ha. W efekcie uprawa łubinu nie wymaga drogiego i zakwaszającego glebę nawożenia azotowego, a co za tym idzie, zostają ograniczone koszty produkcji rośliny następczej (Jasińska, Kotecki 1993, Bhardwaj 2002, Januszewicz i Suchowilska 2003). Według Kennedy'ego i Cockinga (1997) koszt wyprodukowania 1 tony nawozu azotowego jest równy kosztowi 1,3 tony ropy, a więc uprawa łubinu daje wymierne oszczędności finansowe. Pośrednio wpływa też na ochronę wód przed zanieczyszczeniem związkami azotu pochodzącymi z wymywanych nawozów sztucznych, co wpisuje się w ogólnoświatowy proekologiczny trend produkcji rolniczej (Bhardwaj 2002).

Uniezależnienie się łubinu od zasobu azotu w glebie zależy m.in. od pogody, która wpływa pośrednio na rozwój bakterii brodawkowych. Jak donosi Januszewicz i Suchowilska (2003), susza glebowa wiosną, gdy rośliny są w stadium siewki, powoduje ograniczenie symbiozy z bakteriami rodzaju *Rhizobium* i zahamowanie wzrostu korzeni bocznych, na których symbioza zachodzi (Cocking 2003). Pomimo dużego wpływu pogody na rozwój, zdrowotność i plonowanie łubinu, jego uprawa zwiększa wydajność i potencjał stałości gospodarki rolnej, co szczególnie wyraźnie objawia się w latach z niedoborem wody (Howieson i wsp. 2000, Podleśny 2005). Spowodowane jest to niewątpliwie jego dobroczynnym wpływem na stan gleby niszczonej monokulturą zbożową, czy intensywną uprawą na biopaliwa (kukurydza). Zastosowanie łubinu jako nawozu zielonego powoduje wzbogacenie gleby w substancje organiczne, korzystnie wpływając na jej żyzność i właściwości fizyczne, a także zmniejsza ryzyko jej erozji (Howieson i wsp. 2000). Polepszenie jakości gleby następuje poprzez zwiększenie zawartości próchnicy i wzbogacenie kompleksu sorpcyjnego gleby, co przeciwdziała wypłukiwaniu składników pokarmowych, a także poprzez poprawę stanu agregatowania i gruzełkowatości gleby (Księżak, Borowiecki 2001). Palowy system korzeniowy łubinu sprzyja swoistej melioracji gleby, ułatwia jej

napowietrzanie oraz podsiąkanie wody, dzięki czemu poprawiają się stosunki powietrzno-wodne. Dodatkowo silnie rozwinięty system korzeniowy umożliwia pobieranie z głębszych warstw gleby związków wapnia, fosforu i potasu, oraz innych składników pokarmowych i dostarczanie ich do warstw wyższych, gdzie stają się dostępne dla roślin o płytszym systemie korzeniowym. Ponadto wydzieliny korzeniowe łubinu uruchamiają uwstecznione związki fosforu, czyniąc je dostępnymi dla innych roślin w zmianowaniu (Jasińska, Kotecki 1993, Księżak, Borowiecki 2001, Kotecki i wsp. 2001). Te właściwości roślin bobowatych, w tym łubinu, są szeroko wykorzystywane w rolnictwie ekologicznym. Łubin uważany jest za idealną roślinę proekologiczną, nie wymagającą nawożenia azotem i pozostawiającą stanowisko w lepszej kondycji niż je zastał (Ciesiołka i wsp. 2005).

Rośliny bobowate, oprócz korzyści, jakie ich uprawa daje glebie i otaczającemu środowisku, są także źródłem składników pokarmowych: białka, tłuszczu, minerałów i błonnika pokarmowego w nasionach oraz w zielonej masie (Sulibursk a i wsp. 2009). Do skarmiania zwierząt mogą być wykorzystywane nasiona (w formie całej, zmielonej albo przetworzone) lub część wegetatywna (w formie świeżej, siana albo kiszonek) (Abraham i wsp. 2019). Dlatego też jednym z pomysłów wykorzystania bogatego w białko i aminokwasy łubinu, jest produkcja paszy dla bydła, jagniąt, trzody chlewnej, drobiu i ryb (Gdala i wsp. 1995, Katańska-Kaczmarek i wsp. 2006, Mazurkiewicz i wsp. 2006, Fychan i wsp. 2008, Pieper i wsp. 2016). Białko pozyskiwane z łubinu miałoby zastąpić śrutę sojową, szeroko stosowaną po wprowadzeniu w 2001 roku zakazu karmienia zwierząt mączką mięsno-kostną (MBM).

W innych krajach europejskich łubin jest również alternatywą dla śruty rzepakowej czy oleju kokosowego (Fychan i wsp. 2008). Według Pastuszewskiej (2008) łubin żółty wraz z grochem wykazują największą przydatność paszową dla trzody chlewnej, wzajemnie się uzupełniając. Z kolei Lusje (2009) wykazała wyższość łubinu nad soją pod względem wartości energetycznych (łubin biały), a poziom składników pokarmowych szkodliwych dla drobiu, a dokładnie dla brojlerów, jest w łubinie wąskolistnym niższy niż w soi. Stosowanie łubinu jako paszy jest powszechnie praktykowane w Australii i północnej Afryce (Howieson i wsp. 2000).

Możliwości szerszego wykorzystania łubinu jako źródła cennego białka i innych składników odżywczych powodują, że wciąż prowadzone są badania nad obniżeniem stężenia elementów antyżywieniowych ograniczających biodostępność np. składników mineralnych w paszy. W tym celu opracowano wiele technik, np. wytłaczanie, fermentacja, moczenie w roztworach o różnym pH, gotowanie, czy ługowanie (Howieson i wsp. 2000, Sulibursk a

i wsp. 2009). Podczas w/w procesów powstaje wyciąg łubinowy, dla którego znaleziono szereg zastosowań. Wykorzystuje się go między innymi do biosyntezy białek drożdży, czyli tzw. drożdży paszowych, będących źródłem łatwo przyswajalnego białka, witamin z grupy B i soli mineralnych. Ekstrakt ten może być również źródłem probiotyku, który wpływa korzystnie na zdrowotność zwierząt (Ciesiołka i wsp. 2005). Badania wykazały, że glikozydy znajdujące się w wyciągu łubinowym, po naniesieniu na roślinę, wpływają stymulująco na jej wzrost i akumulację azotanów. W ten sposób uzyskano stymulator wzrostu roślin (Ciesiołka i wsp. 2005). Wyciąg łubinowy można stosować również w ochronie roślin. Odkryto jego hamujący wpływ na populację *Acyrthosiphon pisum* Harris (mszyca grochowa), *Leptinotarsa decemlineata* (stonka ziemniaczana), *Apanteles glomerata* L. (baryłkarz bieliniak), *Pieris brassicae* L. (bielinek kapustnik) i *Pieris rapae* L. (bielinek rzepnik). Odnotowano właściwości fungistatyczne wyciągu w stosunku do niektórych grzybów powodujących choroby ziemniaka. Z kolei po zastosowaniu kompostu łubinowego stwierdzono jego hamujący wpływ na rozwój grzybów (Ciesiołka i wsp. 2005, Stachowiak i wsp. 2006). Ekstrakt z łubinu może także wpływać hamująco na wzrost niektórych chwastów (Barłog i wsp. za Księżakiem i Borowieckim 2001). Stwierdzono również antybiotyczny wpływ wybranych szczepów bakterii rodzaju *Bacillus*, pozyskiwanych z kompostu słomy łubinowej, na grzyby (Trojanowska i wsp. 1997).

W strefie Morza Śródziemnego, skąd łubin dotarł do strefy umiarkowanej, oprócz zastosowania w żywieniu zwierząt, był on wykorzystywany także jako źródło białka dla człowieka (Naruszewicz 2006). W wielu regionach świata roślina ta jest wykorzystywana w zbilansowanej diecie człowieka. Używa się go w piekarnictwie i cukiernictwie, gdzie mąka łubinowa jest dodawana do chleba, ciastek, makaronu czy chrupek w celu zwiększenia zawartości białka, błonnika oraz bilansu aminokwasów (Römer 1999, Pollard i wsp. 2002, Adomas i wsp. 2005, Hodgson, Lee 2008). Dodatkowo zawartość mąki łubinowej wpływa na poprawę świeżości i struktury, dłuższy okres trwałości i zdolności emulgowania, a także na walory estetyczne poprawiając kolorystykę pożywienia (Dijkink i wsp. 2008, Neoh 2008). Oleje uzyskiwane z nasion łubinu również mają wartości odżywcze, a także odpowiedni stosunek kwasów tłuszczowych (omega 6 i omega 3) oraz wysokie stężenie witaminy E i steroli (Bhardwaj i wsp. 2004, Dijkink i wsp. 2008, Andrzejewska i wsp. 2016). Według Erbas i wsp. (2005) nasiona łubinu są dobrym materiałem żywieniowym o wysokiej wartości odżywczej, a jednocześnie niskim indeksie glikemicznym (Hall i wsp. 2005). Białka łubinu zawarte w tzw. mleku łubinowym i wyciągu łubinowym wykazują oddziaływanie obniżające ciśnienie skurczowe i rozkurczowe, a także poziom cholesterolu całkowitego i cholesterolu

LDL. Wpływają też ogólnie na redukcję czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego na tle miażdżycy (Sirtori i wsp 2004, Ciesiołka i wsp. 2005, Naruszewicz 2006, Arnoldi 2008). Obecność w diecie białka i błonnika pochodzącego z łubinu wpływa korzystnie na funkcjonowanie jelita grubego poprzez stymulację perystaltyki, a także obniżenie pH, dzięki czemu minimalizuje znaczenie tzw. czynników rakotwórczych. Zawartość błonnika w łubinie sprzyja w walce z otyłością (Johnso i wsp. 2006, Hodgson, Lee 2008). Dodatkowo, produkty żywieniowe zawierające oligosacharydy pochodzące z łubinu mogą mieć zastosowanie w diecie diabetyków (Adomas i wsp. 2005, Wolko i wsp. 2011). Prowadzone są także badania nad wykorzystaniem luteiny pochodzącej z łubinu w spowolnieniu lub zahamowaniu degeneracji plamki żółtej, a w konsekwencji ślepnięcia (Fryirs i wsp. 2008). Jednak według Kłos, Lampart-Szczapy (2006) łubiny uprawiane w naszej strefie klimatycznej nie mogą być stosowane w diecie ludzkiej, między innymi ze względu na występowanie białek o właściwościach alergennych. Potwierdza to Prusiński (2017), choć zdaniem Adomas i wsp. (2005) stopień alergenności tych białek jest niższy niż białek sojowych.

Kontynuuje się próby rozpowszechnienia uprawy oraz znalezienia nowych zastosowań łubinu. Szymański i wsp. (2006) oceniali przydatność łubinu jako rośliny wskaźnikowej na uciążliwość dla środowiska ścieków technologicznych z zakładów spożywczych. Natomiast Szejniuk ze współpracownikami (2007) badali możliwość inaktywacji bakterii *Salmonella* w glebie wykorzystywanej do uprawy łubinu. W Nowej Zelandii natomiast, łubin odgrywa dużą rolę w stabilizacji i umacnianiu ruchomych nadbrzeżnych wydm (Dick 1994). Ponadto, jak podają Howieson i wsp. (2000), uprawa łubinu zapewnia różnorodność biologiczną i naturalne piękno krajobrazu.

3.3. Antraknoza łubinu

Łubin może być porażany przez szereg patogenów powodujących choroby o różnym stopniu nasilenia. Odnotowuje się pojedyncze infekcje łubinu przez wirusa żółtaczki nerwów koniczyny (clover yellow vein virus, CYVV), zwykłej mozaiki fasoli (bean common mosaic virus, BCMV) oraz ospowatości (Frencel 1993). Zdecydowanie częściej notowanwe są: wąskolistność łubinu na łubinie żółtym (BYMV) oraz mozaika łubinu białego (BYMV), brunatnienie łubinu (CMV), fuzaryjna zgorzel oraz fuzaryjne więdnięcie łubinu (*Fusarium* spp.), opadzina liści łubinu (*Pleospora herbarum*), brunatna plamistość liści łubinu (*Ceratophorum setosum*), szara pleśń (*Botrytis cinerea*), rdza brunatna (*Uromyces renovatus*), zgnilizna twardzikowa (*Sclerotinia sclerotiorum*), czy fomoza łubinu (*Phomopsis*

leptostromiformis) (Cowling i wsp. 1987, Jasińska, Kotecki 1993, Nowicki 1995, Huyghe 1997, Kuptsov, Kuptsov 1999, Jańczak i wsp. 2002, Tivoli i wsp. 2006, Marcinkowska 2007, Buirchell 2008, Fiedorow i wsp. 2008).

Aktualnie za najgroźniejszą chorobę uznaje się antraknozę łubinu. W Polsce pojawiła się w latach dziewięćdziesiątych XX wieku. Patogen poraża wszystkie gatunki łubinu rosnące w Polsce, ale najbardziej podatny jest łubin biały i żółty.

Sprawcą antraknozy łubinu jest grzyb rodzaju *Colletotrichum*. Rodzaj ten występuje na całym świecie, ale najbardziej rozpowszechniony jest w regionach tropiku i subtropiku. Zalicza się go do najgroźniejszych patogenów roślin, powodujących duże straty gospodarcze w uprawie roślin rolniczych, w tym bobowatych, warzyw i roślin sadowniczych. Grzyby należące do rodzaju *Colletotrichum* są zarówno monofagami, ściśle związanymi ze swoim żywicielem, jak i polifagami. Posiadają duże zdolności adaptacyjne i tworzą liczne formy specjalne, rasy i patotypy (Frencel 1998, Dean i wsp. 2012). Grzyby tego rodzaju mogą być endofitami, hemibiotrofami albo nekrotrofami. Poszczególne gatunki mogą prowadzić różne style życia w zależności od fazy infekcji (Jayawardena i wsp. 2020). Rodzaj *Colletotrichum* został uznany za ósmą najważniejszą grupę grzybów chorobotwórczych dla roślin na świecie (Cannon i wsp.2012). Patogeny te, oprócz chorób roślin, wywołują także szereg infekcji ludzi i owadów (Cano i wsp. 2004, Natarajan i wsp. 2013, Damm i wsp. 2012). Rodzaj ten po raz pierwszy szczegółowo został opisany przez Corda w 1837 roku. i określa go 17 synonimów, ale w powszechnym użytku jest nazwa *Colletotrichum*. Do rodzaju *Colletotrichum* należało ok. 1219 gatunków grzybów, które różnicowano ze względu na budowę. Ogólny trend w mykologii w latach 80-tych do ograniczania taksonów spowodował spadek liczby gatunków należących do tego rodzaju wg Suttona (1992) do 25, a wg Marcinkowskiej (2003) do 39 gatunków. W 2009 roku do rodzaju *Colletotrichum* należały 62 gatunki zawarte na liście „Catalogue of life: 2009 Annuale checklist". W 2021 według Talhinhas i Baroncelli (2021) określonych zostało 257 gatunków rodzaju *Colletotrichum* należących do 15 kompleksów gatunkowych.

C. gloeosporioides [(Penz.) Penz. & Sacc.] należy do kompleksu gloeosporioides. Jest to gatunek polifagiczny powodujący wiele jednostek chorobowych. *C. acutatum* (Simmonds), a także *C. lupini* [(Bondar) Nirenberg, Feiler & Hagedorn] należą do kompleksu acutatum (Talhinhas i Baroncelli 2021). *C. lupini* został wyodrębniony jako osobny gatunek na początku XXI wieku. Wszystkie powyżej wymienione gatunki opisywano jako czynnik sprawczy antraknozy łubinu (Hyde i wsp. 2009).

W latach 90-tych XX w. z różnych stron świata napływały liczne informacje o pojawieniu się i szybkim rozprzestrzenianiu antraknozy wielu gatunków roślin,

powodowanej przez *C. gloeosporioides* (Penz. Sacc., telomorfa: *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et Schrenk). Gatunek ten znany jest jako sprawca gorzkiej zgnilizny wiśni, jabłek i pomidora (Hyde i wsp. 2009). Występowanie patogena odnotowano na gatunkach roślin, które wcześniej nie były przez niego porażane, m.in. Debrunner i Rauber (2000) w Szwajcarii, a Schwarczinger, Vajna (1998a) na Węgrzech donosili o pojawieniu się antraknozy na dziurawcu (*Hyperum performatum*). Schwarczinger, Vajna (1998b) odkryli również *C. gloeosporioides* na ostrożeniu rosyjskim (*Salsola tragus*) na Węgrzech. Podobne zjawisko Berner i wsp. (2006) odnotowali w Grecji. W tych latach również zanotowano masowe występowanie antraknozy na roślinach rodzaju *Lupinus* - zarówno na gatunkach dziko rosnących, jak i uprawianych (Reed i wsp. 1996, Frencel 1998, Jańczak 2000).

W 1912 roku Bondar w Brazylii jako sprawcę antraknozy łubinu opisał *Gloeosporium lupinus* (Nirenberg i wsp. 2002). Według Pieczul i Rataj-Guranowskiej (2004) antraknoza łubinu została odnotowana i opisana po raz pierwszy w 1939 roku w Ameryce Północnej przez Weimera (1942). Pierwsze epidemiologiczne występowanie antraknozy łubinu odnotowano w latach 40-50 XX wieku. Wówczas porażeniu uległy uprawy łubinu wąskolistnego i żółtego (Valente i wsp. 2002). Ponowne pojawienie się choroby zanotowano w latach 80-tych i 90-tych XX w. W mniejszym lub większym nasileniu trwa ona do dzisiaj (Talhinhas i wsp. 2016). Z upływem czasu dokumentowano pojawianie się antraknozy w różnych regionach świata: w Ameryce Południowej, Nowej Zelandii (Dick 1994), Australii w 1994 r., w 1972 na Białorusi na łubinie wąskolistnym i białym (Kuptsov, Kuptsov 1999), (Sweetingham i wsp. 1995) we Francji w 1985 roku, (Feiler i wsp. 1999, Elmer 2001),. W Wielkiej Brytanii oznaczono ją w 1989 roku na łubinie ozdobnym (Reed i wsp. 1996), a w 1993 r. w Kanadzie na łubinie białym (Paulitz 1995). Straty plonu nasion na porażonych plantacjach łubinu wahają się od 50 do 100% (Valente i wsp. 2002).

Antraknoza łubinu powodowana jest przez grzyb rodzaju *Colletotrichum*. Pochodzi on z klimatu tropikalnego i subtropikalnego (Frencel i wsp. 1997, Frencel 1999). Choroba szeroko rozpowszechniona jest w Ameryce Południowej i Środkowej, czyli w regionie geograficznym, skąd pochodzi łubin i gdzie jest on szeroko uprawiany od najdawniejszych czasów. W tych regionach świata odnotowywano również największą różnorodność genetyczną patogena (Alkemade i wsp. 2021).

Według Arxa (1970) antraknozę łubinu wywołuje *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. telomorfa *Gromerella cingulata* Stoment. Teoria ta utrzymywała się przez wiele lat, aż gwałtowne rozpowszechnienie się choroby na całym świecie oraz duże straty, jakie powodowała w gospodarce przyczyniły się do rozpoczęcia szerokich badań nad antraknozą.

Wśród badaczy pojawiły się różnice opini, co do przynależności gatunkowej sprawcy antraknozy łubinu. Liczne doniesienia w latach dziewięćdziesiątych, z różnych krajów i kontynentów: Australii (Sweetingham 1995), Kanady (Paulitz 1995), Białorusi (Kuptsov, Kuptsov 1999) potwierdzały, że sprawcą antraknozy łubinu jest podany przez Arxa gatunek *C. gloeosporioides*. Równocześnie pojawiły się artykuły, w których autorzy wskazywali na *C. acutatum* Simmonds ex Simmonds, gatunek powodujący antraknozę papai, truskawki (Arroyo 2002, Than i wsp. 2008, Hyde 2009), jako sprawcę antraknozy łubinu (Reed i wsp. 1996, Talhinhas i wsp.(2002), Jednocześnie pojawiła się propozycja, którą przedstawił Feiler i wsp. (1999), wyodrębnienia sprawcy antraknozy łubinu jako osobnego gatunku, a Nirenberg wraz ze współpracownikami (2002) wskazali *C. lupini* jako gatunek powodujący antraknozę łubinu. Dodatkowo wydzielili dwie odmiany *C. lupini* var. *lupini* i *C. lupini* var. *setosum*. Propozycja ta nie od razu została zaakceptowana przez badaczy, ale z czasem został wypracowany kompromis i zaczęto powszechnie stosować nazwę *C. lupini* jako część kompleksu gatunków *C. acutatum* (Damm i wsp. 2012).

W Polsce antraknozę łubinu po raz pierwszy odnotowano i udokumentowano w 1995 roku w Wiatrowie. Choroba wystąpiła na różnych gatunkach łubinu, ale najbardziej porażony został łubin biały (Frencel i wsp. 1997, Filoda 2004). Do tego czasu dominowała opinia, iż patogen pochodzący z rejonu tropikalnego i subtropikalnego nie jest zagrożeniem dla upraw łubinu w Polsce, z powodu niekorzystnego dla jego rozwoju patogena klimatu (Frencel 1993, Jańczak 2000). Epidemiczne występowanie antraknozy łubinu nie ograniczyło się do jednego roku. W kolejnych latach występowanie choroby nasiliło się, co spowodowało prawie całkowite wyeliminowanie z uprawy łubinu białego oraz w znacznym stopniu ograniczenie upraw łubinu żółtego i wąskolistnego (Jańczak 2000). W następnych latach nie odnotowano na niektórych plantacjach objawów antraknozy łubinu, co potwierdza zmienność porażenia przez patogena (Jańczak i wsp 2002).

Objawy antraknozy łubinu występują na wszystkich gatunkach łubinu. Na nadziemnych organach widoczne są skręcone łodygi, ogonki liściowe albo strąki z pomarańczową masą zarodników konidialnych (Talhinhas i wsp. 2016). Wpływ na nasilenie objawów ma kilka czynników: gatunek i odmiana łubinu, typ wzrostu, faza rozwojowa żywiciela, warunki pogodowe (Kurowski i wsp. 2006).

Porażeniu ulegają siewki, na których patogen może powodować przedwschodową i powschodową zgorzel siewek. Wówczas występują objawy chorobowe widoczne w postaci różowych plam oraz przewężeń na epi- i hipokotylu oraz na korzeniach i prowadzą do zamierania rośliny (Jańczak i wsp. 2002, Semaskienė i wsp. 2008). Choroba na polu często

występuje gniazdowo. Najbardziej charakterystyczne dla antraknozy są łodygi z eliptycznymi, bladoróżowymi w środku przebarwieniami z brunatnym obrzeżem. W pierwszym etapie infekcji objawy chorobowe mają postać nekroz na łodydze, które z czasem powiększają się, a w środku zaczynają tworzyć się łoża z zarodnikami konidialnymi, powodującymi różowawe zabarwienie plam. W miejscu plam następuje obumieranie tkanki, w efekcie czego łodyga skręca się. Tak porażony organ przybiera pastorałowaty pokrój, a wierzchołki pędów kwiatostanowych więdną i zwisają. Wgłębione łososiowe plamy pojawiają się również na strąkach. Plamy infekcyjne na strąkach są duże, okrągłe i mogą zlewać się w nieregularny kształt. Grzybnia przerasta tkanki aż do nasion. Silne porażenie przed oraz w czasie kwitnienia powoduje brak zawiązywania, nie wytworzenie lub zamieranie kwiatostanów i strąków. Słabo porażone rośliny mogą wytworzyć zarówno strąki, jak i nasiona, ale zazwyczaj są one zainfekowane, przebarwione na brązowo oraz zniekształcone (Sweetingham 1999). W efekcie dużego nasilenia choroby rośliny całkowicie obumierają. Słabe nasilenie infekcji może spowodować brak widocznych objawów, a porażone nasiona staną się źródłem infekcji pierwotnej w kolejnym sezonie wegetacyjnym (Frencel i wsp. 1997, Frencel 1998, Nirenberg i wsp. 2002, Semaskienė i wsp. 2008).

Zanim sprawca antraknozy łubinu został wyodrębniony i nadano mu rangę gatunku, *C. lupini* identyfikowany był jako *C. acutatum* lub *C. gloeosporioides*. Uważano go za gatunek polifagiczny, który wykazuje bardzo szeroki przedział żywicieli zarówno wśród roślin uprawnych, jak i dziko rosnących (Jańczak i wsp. 1999, Baroncelli i wsp. 2015). Reed i wsp. (1996) wskazują, że żywicielem patogena może być łubin zmienny (*L. polyphyllus*) rosnący dziko i w ogródkach. Schwarczinger, Vajna (1998a) oraz Filoda (2007) wymieniają dziurawiec (*Hyperum performatum*), Remlein-Starosta i Nijak (2007) ślazowiec pensylwański (*Sida hermaphrodita* Rusby), który jest uprawiany jako roślina energetyczna. Frencel (1993) wśród żywicieli *C. gloeosporioides* wymienia również fasolę, gatunki rodzaju *Prunus, Malus, Ligustrum*. Duża różnorodność żywicieli była wskazywana jako czynnik sprzyjający epidemicznemu występowaniu choroby. Dzięki temu miała zwiększać się możliwość przetrwania niekorzystnych warunków i rozprzestrzenienia patogena.

Od czasu, gdy w 2002 roku Nirenberg i wsp. zaproponowali i wyodrębnili sprawcę antraknozy łubinu jako osobny gatunek (*C. lupini*), zaczęto traktować go jako gatunek monofagiczny, ściśle powiązany z *Lupinus* spp. Autorzy wskazywali na możliwość infekowania roślin innego gatunku przez *C. lupini*, ale twierdzili, że ma to charakter okazjonalny. Występowanie patogena na innych gatunkach roślin potwierdzają doniesienia kolejnych badaczy, którzy identyfikują *C. lupini* z manioku (*Manihot*), kamelii (*Camellia*),

drzewa cynamonowego cejlońskiego (*Cinnamomum zeylanicum*) (Damm i wsp 2012), drzewa oliwnego *Olea europaea* L. (Msairi i wsp. 2020). Dodatkowo Nirenberg wraz ze współpracownikami (2002) nie odrzuca również możliwości infekowania łubinu przez inne gatunki rodzaju *Colletotrichum* np. *C. trifolii*.

Obecnie *C. lupini* jest zaliczany do jednej z ośmiu grup wewnątrzgatunkowych kompleksu gatunków *C. acutatum*. Kompleks ten opisywany jest jako polifagiczny (Baroncelli i wsp. 2017). *C. lupini* określany jest jako grupa jednorodna genetycznie i morfologicznie z dwiema grupami genetycznymi (I i II) stworzonymi na podstawie wegetatywnych grup zgodności (VCG) (Shivas i wsp. 1998). Dzięki wykorzystaniu dostępnych technik identyfikacji Alkemade wraz ze współpracownikami (2021) rozróżnił już 6 grup genetycznych i 10 odrębnych morfotypów *C. lupini*. W celu prawidłowego rozróżnienia *C. lupini* od *C. acutatum* zalecane jest podejście wielofazowe, które pozwala z większym prawdopodobieństwem właściwie identyfikować patogena. Zastosowanie wielofazowej identyfikacji grzybów rodzaju *Colletotrichum* zawiera w sobie połączenie filogenezy wielogenowej z cechami polifazowymi, (morfologia, fizjologia, patogeniczność, cechy kultur i metabolity wtórne). Użycie każdej z technik osobno jest obarczone błędami, które w sumie mogą skutkować błędną identyfikacją (Cai i wsp. 2009). Identyfikacja przy pomocy metod molekularnych np. ITS i RAPD opiera się na filogenezie wielogenowej np. sekwencjonowania genu GAPDH, TUB2 (β-tubulina 2), CHS1 (chityna), ACT (aktyna), HIS3 (histon) czy konserwatywnego regionu HMG (Damm i wsp. 2012, Dubrulle i wsp. 2020a). Ciągle poszukiwane i proponowane są nowe geny pozwalające na różnicowanie gatunkowe np. geny mitochondrialne (Pszczółkowska i wsp. 2020) czy gen Apn2-Mat1-2-1 (APN/MAT1) (Dubrulle i wsp. 2020a). Badania przeprowadzone przez Dubrulle i współpracowników (2020b) wskazują, że *C. lupini* prawdopodobnie jest patogenem określanym jako hemibiotroficzny, a przejście do fazy nekrotroficznej następuje w 72-84 godzinie od infekcji. Kamber wraz z wsp. (2021) wskazuje, że transmisja patogena w roślinie nie zachodzi poprzez układ naczyń, czyli systemicznie.

C. lupini na sztucznym podłożu tworzy kulturę od płaskiej - pożywka SNA (syntetyczne podłoże agarowe ubogie w składniki odżywcze), filcowatej do wełnistej - pożywka OA (agar owsiany) i PDA (agar glukozowo-ziemniaczany) z całym brzegiem. Grzybnia jest krótka o barwie od białej do jasnoszarej, spotykana jest również barwa jasnooliwkowa. Rewers grzybni może być koloru od bezbarwnego, białego, poprzez bladożółty do jasnoszarego, a nawet do ciemno brązowego (Damm i wsp. 2012, Dubrulle i

wsp. 2020a). Szybkość przyrostu grzybni 7 dnia wynosi 15–21 mm (10 dnia 25–31 mm) na podłożu SNA; a 15-19 mm - 7 dnia (24-27 mm - 10 dnia) na pożywce OA. Odnotowano również izolaty o szybszym tempie wzrostu (Damm i wsp. 2012). Strzępki wegetatywne patogena mają średnicę 1,0–6,5 μm, są szkliste, gładkie, podzielone i rozgałęzione. Nie występują konidiomaty i szczecinki. Nie zaobserwowano występowania chlamydospor (Damm i wsp 2012). Dubrulle ze wsp. (2020a) zaobserwował, że niektóre izolaty *C. lupini* tworzą mikroskleroty. Konidiofory tworzą się bezpośrednio na strzępkach wegetatywnych grzybni. Mają kształt cylindryczny (2,5-20x1,5-2,5 μm), są szkliste, gładkościenne, rozgałęzione, z przegrodami lub bez. Konidia są również szkliste, gładkościenne, bez przegród, proste, zwykle cylindryczne. Z jednej strony ich koniec jest zaokrąglony a z drugiej szpiczasty (ostry). Przeciętna wielkość zarodników to 12,0 × 4,1 μm, stosunek długości do szerokości wynosi 2,9. Masa zarodników konidialnych ma kolor łososiowy. Appresoria są pojedyncze lub w małych skupiskach koloru brązowego (Damm i wsp. 2012).

Do chwili obecnej nie zaobserwowano formy doskonałej *C. lupini*. Nieliczne tylko gatunki *Colletotrichum* mają zidentyfikowaną formę płciową (Nirenberg i wsp. 2002, Damm i wsp. 2012, Baroncelli i wsp. 2017).

Jednym ze sposobów rozprzestrzeniania się patogena są nasiona żywiciela. To zainfekowane nasiona są odpowiedzialne za infekcję pierwotną i rozprzestrzenianie się sprawcy choroby w okresie wegetacji (Filoda, Horoszkiewicz–Janka 2003a, Frencel i wsp. 1998, Jańczak i wsp. 1999, Lisova, Nedzinskiene 2006, Semaskienė i wsp. 2008). Porażenie nasion bez widocznych objawów sprzyja rozprzestrzenianiu się patogena wraz z importowanym materiałem siewnym (Elmer 2001), a międzynarodowy transport nasion ułatwia szybkie rozprzestrzenianie się patogena na świecie (Alkemade i wsp. 2021).

Według Talhinhas i wsp. (2016) pozostawione na polu resztki zainfekowanych roślin mogą również być źródłem infekcji. Lindbeck i wsp. (1998) podają, że łososioworóżowe skupiska zarodników konidialnych mogą być rozpraszane przez rozprysk kropli deszczu, a także przenosić się przez pojazdy, odzież, zwierzęta i owady. Ci sami autorzy ustalili jako próg szkodliwości dla *C. lupini* taką infekcję nasion, która prowadzi do 5% utraty plonu nasion.

Nasilaniu objawów antraknozy łubinu według Filody, Horoszkiewicz (2001) oraz Filody i Horoszkiewicz-Janki (2003b) sprzyja utrzymująca się wysoka, dochodząca do 70-80%, wilgotność powietrza, a dodatkowo częste i długotrwałe opady deszczu w okresie od kwietnia do czerwca. Optymalna temperatura rozwoju grzyba według Frencel (1998) stanowi powyżej 26°C, a Thomas i wsp. (2008b) określili ją na poziomie 25°C. Według Jańczak

i wsp. (2002) do udanej infekcji dochodzi już od 15°C. Z doniesień przedstawionych przez Talhinhas i wsp. (2016) wynika, że wystarczy temperatura powyżej 10°C (16 godz. w temp. 12°C lub 4 godz. w temp. 24°C) i jednocześnie wysoka wilgotność do zainicjowania kiełkowania konidiów i początku choroby. Korelacja tych wszystkich czynników w czasie może doprowadzić do szybkiego nasilania objawów chorobyi pojawienia się wielu pokoleń patogena w okresie wegetacyjnym żywiciela, co z kolei może doprowadzić do epifitozy. Po inokulacji patogen rozwija się szybko, wymagając ośmiu dni w temp. 24°C (16 dni w temp. 12°C) do wytworzenia i uwolnienia zarodników (Talhinhasi wsp. 2016). Wystarczy, że jeden z czynników pogodowych będzie odbiegał od preferowanego optimum, a nasilenie choroby spada (Jańczak i wsp. 2003). Długotrwała, utrzymująca się susza w okresie wiosenno-letnim powoduje opóźnienie wschodów, a zarazem obniża stopień porażenia łubinu (Podleśny 2006).

Do czynników agrotechnicznych, które przyczyniają się do zmniejszenia stopnia porażenia roślin należą: zachowanie płodozmianu i unikanie siewu łubinu na tym samym obszarze sezon po sezonie (Shea i wsp. 2008), a także zastosowanie siewu punktowego, który wg Podleśnego (2006), poprawia stan fitosanitarny uprawy. Wyniki badań Kurowskiego i wsp. (2005) również wskazywały na poprawę zdrowotności łubinu w siewie punktowym, ale nie była to poprawa istotna w przypadku antraknozy łubinu. Doniesienia Podleśnego nie zostały potwierdzone również w badaniach Bieniaszewskiego i wsp. (2007), gdzie siew punktowy nie miał znaczącego wpływu na zdrowotność łubinu, którą raczej determinowały cechy odmianowe. Według danych uzyskanych przez Lisovą i Nedzinskiene (2006) aktywność patogena na przechowywanym materiale siewnym po trzech latach zanika. Potwierdzają to również Cwalina-Ambroziak, Kurowski (2005), którzy wykazali że już po 1,5 rocznym przechowywaniu nasion przeżywalność patogena znacznie spada, a po 2,5 roku przechowywania przeżywalność sprawcy antraknozy spada do zera, niezależnie od odmiany.

Od momentu stwierdzenia w Polsce antraknozy poszukiwane są sposoby przeciwdziałania jej skutkom. Jedną z metod jest hodowla odmian łubinu o zwiększonej oporności na antraknozę, co wiąże się z identyfikacją genów związanych z odpornością roślin na tę chorobę. Pojawiają się doniesienia o identyfikacji odpowiednich genów odmiany Tanjil i Wonga, posiadających gen *Lanr1*, odpowiadający za odporność na antraknozę (Tivoli i wsp. 2006, Yang i wsp. 2008). Fisher i wsp. (2015) wskazują na gen *LanrBo*, jako odpowiadający za odporność na *C. lupini*. Mapowane są również geny innych gatunków, np. łubinu białego, w poszukiwaniu genu oporności na antraknozę (Phan i wsp. 2007, Alkemade i wsp. 2022a), lecz badania te są ciągle nieliczne i związane z jednym dominującym lokus. Poszukiwane są

linie hodowlane posiadające markery odpowiadające za odporność na patogena (You i wsp. 2004). Pod tym kątem analizowane są znane gatunki i odmiany lokalne oraz dziko rosnące łubiny, a badacze kierują swoje poszukiwania w regiony geograficzne, które uważane są za kolebkę łubinu. Taką właśnie lokalną odmianę odnaleziono w Etiopii (Adhikari i wsp. 2009).

Polifagiczność patogena stała się źródłem zainteresowania nim jako bioherbicydem. Poszukiwane były szczepy patogeniczne dla ściśle określonych gatunków roślin (Jackson i Bothast 1990, Schiller i wsp. 1991, Jackson i Schiller 1995). Niektórzy twierdzą, że powstanie mykoherbicydu „College", w którym wykorzystano szczep *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* mogło leżeć u podstaw szerokiego rozprzestrzenienia się patogena (Dick 1994).

Próby ograniczania występowania antraknozy łubinu na świecie w praktyce skupiają się na kilku podstawowych sposobach. Pierwszy z nich, na który zwraca się szczególną uwagę, to stosowanie materiału siewnego wolnego od sprawcy choroby. Niestety do określenia poziomu infekcji przy wykorzystaniu metody klasycznej, czyli identyfikacji mikroskopowej, potrzeba czasu, a metody diagnostyki molekularnej (np. Test Taq Man PCR [test qPCR] - pozwalający na ilościowe określenie rzeczywistego występowania patogena na nasionach) nie są jeszcze powszechnie dostępne (Kamber i wsp. 2021).

Kolejnym sposobem ograniczenia rozprzestrzeniania się antraknozy łubinu jest hodowla łubinu pod kątem odporności. Wielu badaczy uważa, że poszukiwanie genów odporności jest jedynym skutecznym sposobem walki z patogenem (Alkemade i wsp. 2022a). Inną metodą zwalczania *C. lupini* jest stosowanie środków chemicznych (fungicydów), zarówno w formie zapraw nasiennych, jak i opryskiwania roślin. Od samego początku masowego występowania choroby badacze z różnych regionów świata analizowali dostępne chemiczne substancje czynne, które były zarejestrowane do zwalczania innych chorób roślin bobowatych. Testowaniu poddano substancje zarówno o działaniu ogólnoustrojowym, jak i kontaktowym (Thomas i wsp. 2008a, Horoszkiewicz-Janka i wsp. 2012, Horoszkiewicz-Janka i wsp. 2020). Wyniki badań prowadzonych przez Thomas i wsp. (2008a) potwierdziły, że istotny wpływ na skuteczność fungicydów ma termin ich aplikacji w stosunku do momentu infekcji rośliny przez *C. lupini*. Najbardziej skuteczne było stosowanie ochrony chemicznej na 1-2 dni przed infekcją, jak również przed opadami deszczu. Badane środki chemiczne nie zabezpieczały rośliny przed rozwojem patogena, gdy były aplikowane po infekcji. Mimo skuteczności, dostępne chemiczne środki ochrony roślin stosowane w formie nalistnej, w warunkach polowych nie zabezpieczały przed stratami z powodu występowania antraknozy łubinu.

Ogólnoświatowe tendencje proekologiczne, mające na celu ograniczanie do minimum stosowania chemicznych środków ochrony roślin, spowodowały wycofanie z użytku wielu substancji czynnych, które miały potwierdzony badaniami hamujący wpływ na *C. lupini*. Obecnie wg zaleceń Instytutu Ochrony Roślin PIB w Poznaniu z 2022 roku do zwalczania antraknozy łubinu rekomendowana jest tylko jedna substancja czynna - prochloraz (związek z grupy imidazoli), o działaniu wgłębnym, do stosowania zapobiegawczego. Według Horoszkiewicz-Janki i wsp. (2020) tak ograniczona pula dostępnych substancji czynnych sprzyja zjawisku uodporniania się sprawcy antraknozy. Wszystkie wymienione powyżej czynniki oraz potrzeba zwalczania choroby w gospodarstwach ekologicznych skłoniły badaczy do poszukiwania nowych rozwiązań. Prowadzono badania nad zaprawami nasiennymi zawierającymi dostępne substancje czynne, a także nad biopreparatami (Horoszkiewicz-Janka i wsp. 2012), olejkami roślin np. olejekiem tymiankowym, zawiesinami mikroorganizmów np. *Bacillus*, czy fizycznymi metodami ograniczenia infekcji pierwotnej - obróbka termiczna (gorącą wodą, parą lub suchym ciepłym powietrzem) oraz promieniowaniem jonizującym (Falconi, Yanez-Mendizabal 2016, Haesen 2018).

4. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

4.1. Materiał

4.1.1. Charakterystyka gatunków i odmian łubinów użytych w badaniach

Materiał do badań stanowiły uprawiane w Polsce wybrane odmiany łubinu białego, wąskolistnego i żółtego oraz *Lupinus mutabilis* i łubiny dziko rosnące. Odmiany łubinów uprawnych, w okresie prowadzenia badań, znajdowały się na liście odmian roślin rolniczych COBORU. *L. albus* var. *graecus*, *L. hispanicus* oraz *L. mutabilis* pochodzą z kolekcji dr. hab. Jerzego Przyborowskiego, prof. UWM. *L. polyphyllus* został pozyskany z Nadleśnictwa Braniewo. Nasiona *L. nanus* zakupiono w sklepie ogrodniczym.

Łubin biały *Lupinus albus* L.

Odmiana wczesna **Bardo** została zarejestrowana w 1990 roku. Rośliny tej odmiany posiadają antocyjanowe zabarwienie na łodydze, nasilające się ku górze; ciemnozielone, palczaste liście oraz niebieskozielone kwiaty. Rośliny te cechuje tradycyjny typ wzrostu. Nasiona odznaczają się wysoką zawartością białka i tłuszczu, a także niskim poziomem alkaloidów. (https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=2941)

Odmiana **Boros** została zarejestrowana w 2003 roku jako odmiana słodka, bardzo wczesna. Roślina charakteryzuje się samokończącym typem wzrostu oraz wczesnym terminem kwitnienia i dojrzewania. Wytwarzane kwiaty maja zabarwienie niebieskobiałe, a strąki nie pękają. Nasiona są białe i wykazują się niską zawartością alkaloidów, przy jednocześnie wysokiej zawartości białka (pow. 30%) i tłuszczu (pow. 10%). Zalecana obsada 90-100 roślin/m^2 (250-290 kg/ha). (https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=7917)

Butan – odmiana wczesna, pastewna, zarejestrowana w 2000 roku, o niezdeterminowanym typie wzrostu i krótkich pędach bocznych. Rośliny mają słabe, antocyjanowe zabarwienie łodygi oraz liści, a kwiaty koloru niebieskobiałego. Małe nasiona o białej okrywie nasiennej i obniżonej o ok. 30-40% zawartości alkaloidów, są wytwarzane w dużych i szerokich strąkach. Odmiana charakteryzuje się obniżoną podatnością na choroby fuzaryjne. Wymagana obsada 70–80 roślin/m^2.
(https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=3625)

Łubin wąskolistny *Lupinus angustifolius* L.

Baron – odmiana zarejestrowana w 2002 roku, charakteryzująca się niezdeterminowanym typem wzrostu, dobrze plonująca. Roślina należy do odmian bardzo wczesnych, ale dobrze znosi opóźniony wysiew. Wykazuje zmniejszoną podatność na choroby fuzaryjne. Łubin tej odmiany wytwarza kwiaty barwy niebieskiej, a następnie niepękające strąki

z szarymi nasionami o niskiej zawartości alkaloidów i podwyższonej zawartości białka. Wymagana obsada: 100 roślin/m^2 (140-160 kg/ha) na glebach kompleksu żytniego bardzo dobrego (Malicki 2002). (https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=6908)

Boruta – odmiana zarejestrowana w 2002 roku, zaliczana jest do odmian nasiennych, wczesnych, o zmniejszonej podatności na choroby fuzaryjne. Roślina nie rozgałęzia się silnie, ale charakteryzuje się równomiernym dojrzewaniem i niepękającymi strąkami. Nasiona są białe, o bardzo niskiej zawartości alkaloidów. Zalecana do uprawy na glebach kompleksu żytniego bardzo dobrego w obsadzie 90-100/m^2 (140-155 kg/ha).
(https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=6912)

Elf – odmiana Polska zarejestrowana w 2001 roku, o tradycyjnym typie wzrostu z małą skłonności do otwierania strąków. Nasiona zawierają małą ilość alkaloidów. Może być uprawiana z przeznaczeniem na paszę. Odmiana zalecana jest do uprawy na glebach kompleksu żytniego bardzo dobrego (Malicki 2001). (https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=3626)

Sonet – odmiana łubinu zarejestrowana w 1999 roku. Jest to odmiana bardzo wczesna, nasienna, równomiernie dojrzewająca o niepękających strąkach. Rośliny charakteryzują się zmniejszoną podatnością na choroby wirusowe i fuzaryjne. Kwiaty są niebieskie, nakrapiane. Nasiona charakteryzuje niska ilością alkaloidów i wysoka zawartościa białka. Zalecana do uprawy na glebach dobrych i średnich kompleksu żytniego w obsadzie 100-120 roślin na m^2 (180 kg/ha) (Malicki 2002). (https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=2938)

Odmianę **Zeus** zarejestrowano w 2002 roku jako odmianę pastewną, wczesną, o niezdeterminowanym typie wzrostu. Roślina odznacza się zmniejszoną wrażliwością na choroby fuzaryjne i brunatną plamistość liści oraz dużą tolerancją na wysoką temperaturę przy spóźnionym siewie. Odmiana charakteryzuje się szybkim tempem wzrostu. Kwiaty są kremowej barwy, a strąki całkowicie niepękające. Wytwarza białe nasiona o niskiej zawartości alkaloidów i przeciętnej zawartości białka. Łubin nadający się do uprawy poplonowej, nasienno-zielonkowej. Zalecany do uprawy na glebach kompleksu żytniego bardzo dobrego w obsadzie 100 roślin/m^2 (140-160 kg/ha).
(https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=6910)

Łubin żółty *Lupinus luteus* L.

Legat – odmiana wczesna, zarejestrowana w 2000 roku. Rośliny charakteryzują się równomiernym dojrzewaniem i są odporne na wyleganie. Odmianę cechje niska podatność na choroby wirusowe, fuzaryjne oraz antraknozę. Kwiaty są pomarańczowożółte, a strąki nie pękają. Nasiona są białe, z czarnym, równomiernym ornamentem oraz rozmytym, białym sierpem. Zawierają mała ilość białka i alkaloidów. Legat zalecany jest do uprawy na nasiona

w rejonach o opóźnionym terminie dojrzewania. (https://www.agrospis.pl/odmiany-upraw/legat-lubin-zolty)

Markiz – zarejestrowany w 1998 roku jako odmiana o zdeterminowanym typie wzrostu. Rośliny są odporne na wyleganie i charakteryzują się dużą płodnością, a także wykazują zwiększoną odporność na choroby fuzaryjne oraz tolerancję na choroby wirusowe. Kwiaty są żółte, a strąki niepękające. Nasiona szare, z półksiężycem, charakteryzują się wysoką zawartością białka, przy jednocześnie niskiej zawartości alkaloidów. Odmiana zapewnia plon w uprawie na glebach dobrych i słabych kompleksu żytniego w całym kraju. (https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=6902)

Mister – średniowczesna odmiana zarejestrowana w 2003 roku, o tradycyjnym typie wzrostu, z niską wrażliwością na opóźniony siew, odznaczająca się dużą płodnością. Rośliny charakteryzują się odpornością na antraknozę oraz wyleganie. Kwiaty są w kolorze pomarańczowożółtym, a wytwarzane strąki nie pękają. Nasiona tej odmiany są białe, z czarnym, równomiernie rozmieszczonym ornamentem oraz białym rozmytym sierpem. Zawartość białka w nasionach jest duża, przy jednoczenie niskiej ilości alkaloidów. Główne przeznaczenie tej odmiany to uprawa na nasiona paszowe, na glebach kompleksu dobrego żytniego. Wysiew 120-130 kg/ha. (https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=6902)

Taper został zarejestrowany w 2002 roku jako odmiana samokończąca, bez rozgałęzień bocznych, wcześnie dojrzewająca. Rośliny charakteryzują się odpornością na choroby fuzaryjne oraz tolerancją na choroby wirusowe. Dzięki krótkiemu okresowi wegetacji odmiana odznacza się również pozorną odpornością na antraknozę. Rośliny wytwarzają kwiaty o barwie żółtej oraz niepękające strąki. Nasiona są białe, o wysokiej zawartości białek i śladowej ilości alkaloidów. Odmiana zalecana jest do uprawy nasiennej i wymaga bardzo wczesnego terminu siewu na glebach dobrych i słabych kompleksu żytniego w obsadzie 120 – 130 roślin/m^2 (150 – 160 kg /ha). (https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=5825)

Łubin wieloletni (trwały) *Lupinus polyphyllus* Lindl. opisany przez Świejkowskiego (1990) jako gatunek posiadający duże niebieskie kwiaty i 13-15 lancetowatych, dłoniastozłożonych liści oraz krzaczasty pokrój. Roślina osiąga wysokość do 1,5 metra i kwitnie od czerwca do września, wytwarzając owłosione strąki. Łubin trwały jest trującym antropofitem, który przybył wraz z człowiekiem z Ameryki Północnej w XX wieku. Łubin trwały był uprawiany w lasach dla zwierzyny. Z czasem zdziczał. Na obszarze Polski zadomowił się na stałe, zajmując przydroża, przypłocia, nieużytki oraz lasy (Urbisz, Urbisz 2004, Sobisz i wsp. 2020).

***Lupinus albus* L. var. *graecus* (Boiss. & Spruner) Gladst** jest to dziko rosnąca forma łubinu białego rozpowszechniona w Grecji, występująca również w innych krajach bałkańskich oraz w południowych Włoszech i zachodniej Turcji. Odmiana ta cechuje się niskim pokrojem. Roślina ma krótką łodygę, oraz kwiaty o ciemnoniebieskiej barwie. Obficie wytwarza rozsypujące się strąki. Nasiona tej odmiany są kolorowe i mają nieprzemakalną łupinę nasienną (Maxted, Bennett 2001, Kurlovich 2002, Singh, Jauhar 2005).

***Lupinus hispanicus* (Boiss et Reut)** to gatunek endemiczny półwyspu iberyjskiego. Rozpowszechniony głównie w Hiszpanii i Portugalii. Uważa się, że jest blisko spokrewniony z *L. luteus* (Singh, Jauhar 2005). Kwiaty mogą być koloru niebieskiego lub niebiesko-białe (Belén Monteagudo i wsp. 2005).

***Lupinus mutabilis* Sweet.**, zwany również łubinem zmiennym lub andyjskim. Roślinę tę uprawia się; występuje ona też jako efemerofit. Gatunek ten może dorastać do 1,5 metra wysokości, ma biało-żółte kwiaty zmieniające się do ciemnoniebieskich, strąk podłużny, a nasiona białe. W Andach był wykorzystywany jako roślina uprawna na pasze, nawóz zielony oraz w celu ochrony gleb. Nasiona charakteryzują się wysoka zawartością białka (53%), tłuszczy (24%) i alkaloidów. Obecnie już występują linie o niskiej zawartości alkaloidów (Bebeli i wsp. 2020, Guilengue i wsp. 2020).

***Lupinus nanus* Benth.** Jest to roślina zielna, jednoroczna dorastająca do 50 cm o dużej zmienności genetycznej dotyczącej kolorystyki i wielkości kwiatów oraz czasu kwitnienia. Spotykana w siedliskach jak łąki czy stare zadrzewienia (Knops, Barthell 1996).

4.1.2. Fungicydy użyte w doświadczeniu polowym i wazonowym w latach 2004-2006

W badaniach użyto zalecanych wówczas przez Instytut Ochrony Roślin w Poznaniu fungicydów służących zapobieganiu i zwalczaniu antraknozy łubinu (Zalecenia Ochrony Roślin 2004-2006).

a/ w formie zapraw nasiennych

Funaben T 480 FS – środek ochrony roślin w proszku. Stosowany jako zaprawa w formie suchej lub zawiesiny wodnej. Funicyd wykazuje działanie układowe i kontaktowe. W skład preparatu jako substancje czynne wchodzą: 20% karbendazymu (ester metylowy kwasu 2-benzimidazolokarbaminowego) grupy benzimidazoli i 45% tiuramu (dwusiarczek tetrametylotiuramu) grupy ditiokarbaminianów. Zaliczany jest do IV klasy toksyczności dla ludzi. (http://ochronaroslin.agro.pl/index.php?page=preparat&id=344)

Sarfun 65 DS – fungicyd w formie proszku, stosowany jako zaprawa na sucho lub zawiesina wodna. Preparat wykazuje działanie układowe i kontaktowe. Stosowany do zaprawiania nasion, bulw i cebul. Substancje biologicznie aktywne to: 20% karbendazymu (ester metylowy kwasu 2-benzimidazolokarbaminowego) i 45% tiuramu (dwusiarczek tetrametylotiuramu). Środek jest bardzo toksyczny dla organizmów wodnych. (https://www.agrospis.pl/srodki-ochrony-roslin/sarfun-t-65-ds)

b/ w formie preparatów do opryskiwania roślin

Bravo 500 SC – fungicyd o działaniu kontaktowym. Substancją biologicznie czynną jest 40% chlorotalonil (tetrachloroizoftalonitryl) z dodatkiem cynku jako mikroelementu. Związek należy do grupy węglowodorów aromatycznych o szerokim zakresie działania. Preparat wpływa na zahamowanie kiełkowania zarodników oraz motorykę zoospor. IOR zaleca go jako środek zapobiegawczy przed antraknozą łubinu, szczególnie w warunkach atmosferycznych sprzyjających rozwojowi choroby. Fungicyd należy do IV klasy toksyczności dla ludzi i I klasy toksyczności dla organizmów wodnych. (https://www.gov.pl/documents/912055/913531/Bravo_500_SC.pdf/5964e159-7780-6806-c57c-4d5360874d09?version=1.0)

Sarfun 500 SC – środek grzybobójczy o działaniu układowym, stosowany w postaci zawiesiny. Substancją biologicznie czynną jest karbendazym, związek z grupy benzimidazoli. Fungicyd o działaniu układowym, wpływa na zahamowanie mitozy i podziału komórki. Preparat używany między innymi w zwalczaniu antraknozy łubinu oraz fuzaryjnego więdnięcia roślin w dawce 0,7 l/ha. Środek zalecany jest do przeprowadzania oprysków zapobiegawczych, szczególnie w czasie utrzymywania się wysokiej wilgotności powietrza. Stosuje się o też interwencyjnie, natychmiast po zaobserwowaniu pierwszych objawów choroby, a w razie potrzeby powtarza zabieg po dwóch tygodniach. Jest bardzo toksyczny dla organizmów wodnych. (https://www.agrospis.pl/srodki-ochrony-roslin/sarfun-500-sc).

4.1.3. Czynniki ochronne użyte w doświadczeniu polowym w latach 2011-2015

BIOLOGICZNE

Biochikol 020 PC – substancją czynną preparatu jest 2 % chitozan (ß-1,4D glukozaminy), polisacharyd, jest to pochodna chityny. Stymuluje odporność rośliny poprzez akumulację chitynazy, syntezę inhibitorów proteinazy, lignifikację i indukcję syntezy kalusa oraz zakłóca rozwój grzybów. (https://img.yumpu.com/19758887/1/500x640/0-46-830-00-47-fax-themar.jpg)

EM (Efektywne Mikroorganizmy) – preparat zawiera m.in. bakterie kwasu mlekowego i fotosyntetyczne, drożdże, promieniowce oraz grzyby. Produkt poprawia żyzność gleby oraz wspomaga odporność i wzrost uprawianych roślin (Mayer i wsp. 2010).

BIOTECHNICZNE

Asahi SL – stymulator wzrostu, który zawiera trzy substancje czynne należące do grupy pochodnych nitrofenoli tj. para-nitrofenolan sodu 3 g/l (0,3%), orto-nitrofenolan sodu 2 g/l (0,2%), 5-nitrogwajakolan sodu 1 g/l (0,1%). Wpływa stymulująco na wzrost i jakość plonowania w warunkach stresogennych. (www.gov.pl/web/rolnictwo/etykiety-srodkow-ochrony-roslin)

Grevit 200 SL – substancją czynną jest ekstrakt z grejpfruta. Środek bakteriobójczy i grzybobójczy ograniczający działanie enzymów zmniejszających przepuszczalność błon komórkowych agrofagów, a także zaburzający cykl oddechowy komórek fitopatogena. Dane z etykiety produktu.

CHEMICZNE

Gwarant 500 SC – fungicyd o działaniu powierzchniowym. Substancją czynną jest chlorotalonil, z grupy ftalanów, wpływający hamująco na kiełkowanie zarodników grzybów. Stosowany zapobiegawczo lub przy pierwszych objawach choroby. https://www.gov.pl/documents/912055/913531/Gwarant+500+SC.pdf/3ac79f70-510c-1340-a01d-f366a519ee54?version=1.0

Sarfun 500 SC – opisany powyżej

4.1.4. Czynniki ochronne użyte w doświadczeniu polowym w latach 2016-2018

BAKTERIE I GRZYBY

LAC MIX – mieszanina izolatów *Lactobacillus brevis*

PS 1 – izolat z rodziny *Pseudomonace* nr 1

PS15 – izolat z rodziny *Pseudomonace* nr 15

19 PSDM – izolat nr 19 uzyskany z wyziewów z komory napowietrzania w oczyszczalni ścieków w Dobrym Mieście

20 PSDM – izolat nr 20 uzyskany z wyziewów z komory napowietrzania w oczyszczalni ścieków w Dobrym Mieście

MP_2A – endofity korzeni pszenicy

EN 40 – endofity korzeni pszenicy pozyskane z 40-letniej monokultury

Wszystkie w/w szczepy bakterii i izolaty grzybów pochodzą z kolekcji Katedry Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej UWM w Olsztynie.

BIOTECHNICZNE

Asahi SL – opisany powyżej

Bio-Algeen S90 – stymulator wzrostu będący naturalnym wyciągiem z glonów morskich i wodorostów. Dzięki dużej zawartości fitohormonów, makro- i mikroelementów biostymulator pobudza rozrost rośliny oraz ułatwia regenerację i przetrwanie w stresujących warunkach (Szmagara i wsp. 2019)

CHEMICZNE

Gwarant 500 SC – opisany powyżej

Ridomil Gold MZ Pepite 67,8 WG – fungicyd o działaniu układowym i kontaktowym. Zawiera dwie substancje czynne: metalaksyl-M (związek z grupy fenyloamidów o działaniu układowym) oraz mankozeb (związek z grupy ditiokarbaminianów o działaniu powierzchniowym) https://www.gov.pl/documents/912055/913531/Ridomil_Gold_MZ_ Pepite_67%2C8_WG_zast.prof.pdf/9f1403c7-ce7e-586c-251f 9f9cc8e36c95?version=1.0

CZĄSTECZKI I NANOCZĄSTKI

$AgNO_3$ azotan (V) srebra (nazywany lapisem) – związek nieorganiczny, sól kwasu azotowego i srebra. Związek posiada właściwości bakteriobójcze i grzybobójcze. https://pl.wikipedia. org/wiki/Azotan_srebra

SBTC (srebro koloidalne) – srebro w postaci nanocząstek wielkości 10nm, stabilizowanych w cytrynianie trisodu, zsyntetyzowane w Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera PAN w Krakowie przez dr M. Oćwieja.

TiO_2 tlenek tytanu (IV) (zwany bielą tytanową) – związek nieorganiczny, nierozpuszczalny w wodzie.

Tytan nanocząstkowy – nanocząstki o wielkości 21nm. Podobnie jak forma cząsteczkowa występuje w formie tlenku i jest nierozpuszczalny w wodzie. (Sigma Aldrich, USA)

4.1.5. Czynniki ochronne użyte w pracach laboratoryjnych w 2015 roku

BIOLOGICZNE

Biochikol 020 PC – opisany powyżej

EM – opisany powyżej

BIOTECHNICZNE

Asahi SL – opisany powyżej

Bio-Algeen S90 – opisany powyżej

Hurricane PRO+ 0,05%, Hurricane PRO+ 0,2% – adiuwant - niejonowy środek zwilżający. Substancja czynna na bazie żywicy sosny. https://www.procam.pl/produkt /hurricane-pro/

IsotakPRO+ 0,15%, IsotakPRO+ 0,35% – kondycjoner wody oraz adiuwant. Środek przeznaczony jest do stosowania łącznie z systemicznymi środkami ochrony roślin. Dane o produkcie dostępne na stronie producenta https://www.procam.pl/produkt/isotak-pro/

Kelpak SL – stymulator wzrostu pochodzący z alg. Główne substancje czynne preparatu: auksyny, cytokininy, alginiany, brassinosteroidy, gibereliny, florotaniny (Eckol), poliamidy. https://chemirol.com.pl/pl_PL/product/kelpak

Terra Sorb foliar – stymulator rozwoju roślin, w skład którego wchodzą: aminokwasy ogółem 12%; wolne aminokwasy 9,3%; łącznie azot (N) 2,1%; bor (B) 0,02%; Cynk (Zn) 0,07%; mangan (Mn) 0,05%. https://osadkowski.pl/pl/srodki-ochrony-roslin-oferta/terra-sorb-foliar/

Toil – substancją czynną preparatu są estry metylowe kwasów tłuszczowych o działaniu zwilżająco-przyczepnym. Stosowany ze środkami chwastobójczymi. https://www.sumiagro.pl/en/products/other-products/

TotalHumus – stymulator wzrostu. zawierający skoncentrowane kwasy humusowe, fulwowe oraz ich sole, a także kompleks minerałów i mikroelementów, aminokwasy i witaminy. https://totalhumus.pl/the-totalhumus/

CHEMICZNE

Curzate Cu 49,5 WP – środek grzybobójczy i bakteriobójczy o działaniu wgłębnym i powierzchniowym. Preparat stosowany zapobiegawczo i interwencyjnie. Substancję czynną stanowi: cymoksanil - 4,5% i miedź w postaci tlenochlorku miedzi - 45,0%. https://gov.pl/documents/912055/913531/Curzate+Cu+49.5+WP+zast.+profesjonalne.pdf

Gwarant 500 SC – opisany powyżej

Huwa San TR5 – preparat dezynfekujący. Substancjami czynnymi preparatu są srebro jonowe i nadtlenek wodoru. https://huwasan.pl/pl/p/Huwa-San-TR50-5kg/43.

Infinito 687,5 SC – substancje czynne to chlorowodorek propamokarbu - związek z grupy pochodnych kwasu karbaminowego 55,31% oraz fluopikolid - związek z grupy acylpikolidów 5,53%. Fungicyd o działaniu wgłębnym i systemicznym stosowany zapobiegawczo i interwencyjnie. https://gov.pl/documents/912055/913531/Infinito_687%2C5_SC_zast.prof2. pdf

Inter Optimum 72,5 WP – fungicyd o działaniu wgłębnym i powierzchniowym, którego substancjami czynnymi są: mankozeb - 68% i cymoksanil - 4,5%. https://www.gov.pl/documents/912055/913531/Inter_Optimum_72%2C5_WP_-_ET_26-10-2018.pdf/730f1ce0-5d5d-15d7-11a1-ae16b9c3b4d1

Valbon 72WG 0,2% – środek grzybobójczy o działaniu kontaktowym. Substancją czynną jest bentiowalikarb - 1,75% oraz mankozeb - 70%. https://www.gov.pl/documents/912055/913531/Valbon_72_WG.pdf/a50e5fa1-1636-270e-5836-a82615d5b9af

Vondozeb 75WG – fungicyd o działaniu kontaktowym, działa zapobiegawczo. Substancję czynną stanowi mankozeb - 75%. https://www.gov.pl/documents/912055/913531/Vondozeb_75_WG2.pdf/d93c2149-6905-fd6f-7606-931561da913f

NAWOZY

Rosahumus – nawóz otrzymany z leonardytów. Zawiera kwasy humusowe (85%), K_2O (12%) i żelazo (0,6%). Informacje pobrane ze strony producenta https://agrosimex.pl/product/rosahumus-kwasy-humusowe/

4.2. Metody badań

4.2.1. Doświadczenia polowe

Doświadczenia prowadzono w latach 2004-2006, 2011-2015 i 2016-2018 w Zakładzie Dydaktyczno-Doświadczalnym w Tomaszkowie koło Olsztyna (53°71' N; 20°43' E). Łubin (po 50 nasion na poletku) wysiewano metodą losowanych bloków na mikropoletkach o powierzchni $1m^2$ na glebie kompleksu żytniego dobrego. Każda kombinacja występowała w trzech powtórzeniach.

4.2.1.1. Ocena nasilenia antraknozy w zależności od gatunku, odmiany łubinu i ochrony chemicznej (lata 2004-2006)

Pierwszym czynnikiem doświadczenia była uprawa łubinu: białego odmiany Bardo, Boros, Butan, wąskolistnego odmiany Sonet i Baron, żółtego odmiany Taper i Mister, oraz *L. polyphyllus, L. albus* var. *graecus, L. hispanicus, L. nanus* i *L. mutabilis*.

Drugim czynnikiem było stosowanie ochrony chemicznej:

1 – obiekt kontrolny, z infekcją naturalną, nie chroniony chemicznie;

2 – obiekt opryskiwany zawiesiną zarodników *C. lupini* o stężeniu $10\text{-}13x10^4$ zarodników w 1 ml roztworu w początkowej fazie pąkowania poszczególnych gatunków (BBCH 53), nie chroniony chemicznie;

3 – obiekt inokulowany jak wyżej, chroniony chemicznie na początku fazy kwitnienia (BBCH 61) i pod koniec kwitnienia (BBCH 69). Pierwszy zabieg ochronny wykonano fungicydem Bravo 500 SC (chlorotalonil), a drugi zabieg fungicydem Sarfun 500 SC

(karbendazym) - w dawkach zgodnych z zaleceniami IOR w Poznaniu (Zalecenia Instytutu Ochrony Roślin 2004-2006).

Ocenę zdrowotności (w % powierzchni porażonych tkanek) przeprowadzono dwukrotnie. Na pędach pod koniec fazy kwitnienia (BBCH 69), a na strąkach w fazie rozwoju strąków (BBCH 75-77). Uzyskane wyniki poddano analizie wariancji przy użyciu testu Tukey'a (p=0,05).

4.2.1.2. Ocena nasilenia antraknozy w zależności od sposobu ochrony (lata 2011-2015)

W jednoczynnikowym doświadczeniu wysiano łubin żółty (odm. Markiz) i łubin wąskolistny (odm. Elf). W doświadczeniu wykorzystano infekcję naturalną łubinu. Czynnikiem doświadczenia było zastosowanie do ochrony przed antraknozą następujących preparatów: biologiczne - Biochicol 020 PC i EM-1, biotechniczne - Grevit 200 SL i Asahi SL fungicydy, - Gwarant 500 SC i Sarfun 500 SC. Zabieg dokonano w fazie rozwoju kwiatostanu (BBCH 59). Próbę kontrolną stanowiły rośliny nie objęte zabiegiem ochronnym. Nasilenie antraknozy łubinu (w % powierzchni porażenia tkanek) oceniano dwukrotnie: na pędach pod koniec fazy kwitnienia (BBCH 69), a na strąkach w fazie rozwoju strąków (BBCH 75-77). Uzyskane wyniki poddano analizie wariancji z zastosowaniem testu Duncana (p=0,05) (Statistica 8).

4.2.1.3. Ocena nasilenia antraknozy w zależności od czynnika ochrony biologicznej (lata 2016-2018)

Przedmiotem badań był łubin żółty odmiany Markiz. W fazie rozwoju kwiatostanu (BBCH 53) rośliny inokulowano zawiesiną zarodników *C. lupini* w stężeniu 5-15x10^6 w 1 ml roztworu. Po 7-10 dniach od inokulacji (BBCH 61-63) przeprowadzono zabieg ochronny, w którym porównano skuteczność: chemicznych środków ochrony roślin, środków biotechnicznych, biologicznych, nanocząstek oraz szczepów bakterii i grzybów wyhodowanych w Katedrze Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej. Dostępne na rynku środki zastosowano zgodnie z zaleceniami producenta. Bakterie i grzyby były aplikowane w formie zawiesiny o zagęszczeniu 2x10^7 jtk ml^{-1}, a związki chemiczne srebra i tytanu użyto w roztworze o stężeniu 10µg ml^{-1} Obiekty kontrolne stanowiły rośliny nie inokulowane oraz inokulowane zawiesiną zarodników *C. lupini* i nie objęte zabiegiem ochronnym. Jednoczynnikowe doświadczenie obejmowało 17 kombinacji:

1 - kontrola – tło;

2 - kontrola - inokulacja C. *lupini* , brak zabiegów ochronnych, oprysk sterylna wodą;

3-4 - inokulacja C. *lupini* – zabieg ochronny: chemiczne środki ochrony roślin: 3) Gwarant 500SC; 4) Ridomil Gold MZ Pepite 67,8 WG;

5-6 - inokulacja C. *lupini* – zabieg ochronny: środki biotechniczne: 5)Asahi SL; 6) Biostymulator BioAlgeen;

7-10 - inokulacja C. *lupini* – zabieg ochronny: srebro i tytan: 7) $AgNO_3$; 8) SBTC (srebro nanocząstkowe); 9) tytan nanocząstkowy; 10) TiO_2;

11-17 - inokulacja C. *lupini* – zabieg ochronny zawiesiną kultur bakterii lub grzybów: 11) LAC MIX (Mieszanina izolatów *Lactobacillus brevis)*; 12) PS 1 (izolat z rodziny *Pseudomonace* nr1); 13) PS15 (izolat z rodziny *Pseudomonace* nr 15); 14) 19 PSDM (izolat nr 19 uzyskany z wyziewów z komory napowietrzania w oczyszczalni ścieków w Dobrym Mieście); 15) 20 PSDM – izolat nr 20 uzyskany z wyziewów z komory napowietrzania w oczyszczalni ścieków w Dobrym Mieście; 16) MP_2A - endofity korzeni pszenicy; 17) EN 40 - endofity korzeni pszenicy pozyskane z 40-letniej monokultury.

Zabieg przeprowadzono opryskiwaczem ręcznym Master 1000 plus firmy Marolex.

Procentową ocenę zdrowotności łubinu przeprowadzono trzykrotnie: pierwszą przed zabiegiem ochronnym (pojawienie się pąków - BBCH 53-55), drugą dwa tygodnie po zabiegu ochronnym (pełnia kwitnienia – BBCH 65), a trzecią po kolejnych dwóch tygodniach (zawiązywanie strąków – BBCH 75-77). Otrzymane wyniki poddano analizie wariancji z zastosowaniem testu Tukey'a (p=0,05).

4.2.2. Doświadczenia wazonowe

W latach 2004-2006 w hali wegetacyjnej UWM w Olsztynie przeprowadzono trzy dwuczynnikowe doświadczenia wazonowe w czterech powtórzeniach. Wysiewano celne nasiona łubinów pozyskane z poletek doświadczalnych. Otrzymane wyniki poddano analizie wariancji z zastosowaniem testu Tukey'a (p=0,05).

W I i II doświadczeniu na każdym obiekcie wysiano po 25 nasion do czterech donic, które stanowiły powtórzenia. Przeprowadzono procentową ocenę porażenia roślin: w fazie BBCH 25-29 przez grzyby powodujące zgorzel siewek, w fazie BBCH 63-65 nasilenie antraknozy powodowanej przez *C. lupini* - na pędach i na strąkach w fazie BBCH 75-77. Po zbiorze określono masę tysiąca nasion (MTN).

4.2.2.1. Ochrona przed antraknozą łubinu poprzez zaprawianie nasion (dośw. I)

Pierwszym czynnikiem doświadczenia były trzy gatunki łubinu: biały (odm. Bardo i Boros), wąskolistny (odm. Boruta i Zeus), żółty (odm. Legat i Markiz). Drugim czynnikiem była ochrona chemiczna nasion użytych do siewu przy użyciu zalecanych wówczas zapraw nasiennych:

- ⇒ K – nasiona nie odkażane i nie zaprawiane, stanowiące próbę kontrolną 1;
- ⇒ OL – nasiona odkażane laboratoryjnie przez 30 sekund w 50% alkoholu etylowym, następnie przez 30 sekund w 0,1% sublimacie i trzykrotnie płukane w sterylnej wodzie, będące próbą kontrolną 2;
- ⇒ Nasiona zaprawiane zaprawą nasienną Funaben T,
- ⇒ Nasiona zaprawiane zaprawą nasienną Sarfun 65 DS.

4.2.2.2. Miejsce wnikania *C. lupini* do roślin łubinu (dośw. II)

Pierwszym czynnikiem doświadczenia były trzy gatunki łubinu: biały (odm. Bardo i Boros), wąskolistny (odm. Boruta i Zeus), łubin żółty (odm. Legat i Markiz). Drugim czynnikiem było określenie drogi infekcji łubinu przez *C. lupini*.

- ⇒ K – nasiona nie odkażane, stanowiące próbę kontrolną 1;
- ⇒ OL – nasiona odkażane laboratoryjnie jw., będące próbą kontrolną 2;
- ⇒ IK - nasiona odkażane laboratoryjnie, a następnie wykładane pod nie 5 mm krążki agaru przerośniętego 7-dniową grzybnią *C. lupini*;
- ⇒ IL - nasiona odkażane laboratoryjnie, a następnie wykładane na nie 5 mm krążki agaru przerośniętego 7-dniową grzybnią *C. lupini*;
- ⇒ IO - nasiona odkażane laboratoryjnie, a na początku kwitnienia (BBCH 59-61) rośliny opryskiwane zawiesiną zarodników *C. lupini* w stężeniu ok. $13{,}3 \times 10^4$ na 1 ml.

4.2.2.3. Podatność odmian łubinu na inokulację roślin zarodnikami *C. lupini* (dośw. III)

Pierwszym czynnikiem doświadczenia były trzy gatunki łubinu: biały (odm. Bardo, Boros, Butan), wąskolistny (odm. Baron i Sonet), żółty (odm. Mister i Taper). Drugim czynnikiem była inokulacja roślin na tydzień przed kwitnieniem (BBCH 53-57) zawiesiną zarodników *C. lupini* w stężeniu 10-13 $\times 10^6$ w 1 ml. W celu zapewnienia optymalnych warunków infekcji, po naniesieniu zawiesiny zarodników, rośliny okryto folią. Próbę kontrolną stanowiły rośliny nie inokulowane, a jedynie opryskane sterylną wodą. W każdej

kombinacji wysiano po 25 nasion (5 wazonów po pięć roślin). Trzykrotnie oceniano procentowe porażenie łubinu przez *C. lupini* - dwukrotnie na pędach w fazie BBCH 61-63 i BBCH 69-71 oraz na strąkach w fazie BBCH 77-79. Po zbiorze określono masę tysiąca nasion (MTN).

4.3. Prace laboratoryjne

Prace laboratoryjne wykonano w Katedrze Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej UWM w Olsztynie i obejmowały one badania nad biologią *C. lupini* oraz izolacje grzybów z wykazujących objawy chorobowe części podliścieniowych i korzeni oraz z nasion łubinów pozyskanych z prowadzonych doświadczeń polowych i wazonowych

W pracach dotyczących izolacji grzybów, wyrastające grzyby strzępkowe odszczepiano na skosy z pożywką PDA i oznaczono według dostępnych kluczy i monografii (Arx 1970, Barnett 1965, Booth 1971, Domsch, Gams 1972, Ellis 1971, Fassatiová 1983, Gams 1971, Gilman 1957, Kwaśna i wsp. 1991, Litwinow 1967, Sałata, Rudnicka-Jezierska 1979, Skirgiełło i wsp.1979).

4.3.1. Badania nad biologią *C. lupini*

4.3.1.1. Tempo wzrostu *C. lupini* na sztucznych podłożach

Badanie przyrostu liniowego grzybni w zmiennych, kontrolowanych warunkach wzrostu patogena przeprowadzono w 2007-2009 roku wykładając 5 mm krążki kultur jednozarodnikowych na szalki Petriego i inkubując je w termostacie w ciemności. Doświadczenie przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Codziennie o zbliżonej porze prowadzano pomiar wzrostu liniowego grzybni. W tabelach przedstawiono wyniki uzyskane piątego dnia obserwacji.

Czynniki doświadczenia:

- temperatura - 5, 17, 22 °C
- rodzaj podłoża - PDA, mineralne, podłoże agarowe z mąką łubinową
- pH podłoża - pożywka PDA– pH 3,5; 4,5; 6,2 (pH zmierzone za pomocą Hanna Instruments pH 302).

Wpływ temperatury, rodzaju podłoża i pH pożywki na tempo wzrostu patogena określono wg metody Burgieła (1984), jako indeks tempa wzrostu (ITW) wyliczonego ze wzoru:

$$T = A/D+b1/d1+\ldots+bx/dx$$

gdzie:

T – indeks tempa wzrostu,

A – średnia z pomiarów średnicy kolonii,

D – czas trwania doświadczenia (dni),

b1,b2, bx – przyrost średnicy kolonii od ostatniego pomiaru,

d1,d2, dx – liczba dni od ostatniego pomiaru.

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie z wykorzystaniem testu Tukey'a.

a/ tempo wzrostu w zależności od temperatury inkubacji

Krążki agaru przerośnięte *C. lupini* wykładano na środek szalki Petriego z pożywką PDA. Następnie inkubowano je w temperaturze 5, 15, 25 °C. Wykorzystane w badaniach izolaty pozyskano z łubinu - białego odmiany Bardo (10, 64, 71), Boros (158, 177, 216), Butan (230, 246, 253), wąskolistnego odmiany Baron (269,273, 280) i Sonet (439, 432, 365), żółtego odmiany Mister (342, 362, 392), Taper (282, 299, 304) oraz wieloletniego (492, 494, 500).

b/ tempo wzrostu w zależności od zastosowanego podłoża

Wykorzystano trzy rodzaje pożywek: mineralną (Łacicowa 1970), PDA oraz agarową z mąką łubinową – zmodyfikowana kukurydziana (Kiraly i wsp.1977). Użyto tych samych izolatów, co w doświadczeniu opisanym w podpunkcie **a**. Wykrawano krążki agarowe, które wykładano na poszczególne podłoża.

c/ tempo wzrostu w zależności od pH podłoża

Analizę wzrostu *C. lupini* przeprowadzono na podłożu PDA o pH 3,5; 4,7; 6,2. Izolaty pochodziły z nasion różnych gatunków łubinu. Badano po sześć izolatów patogena pozyskanych z: *L. albus* (10, 64, 177, 216, 230, 253), *L. angustifolius* (269, 273, 280, 365, 432, 439), *L. luteus* (282, 299, 304, 342, 362, 392), *L. polyphyllus* (109, 232, 389, 492, 494, 500), *L. mutabilis* (25, 26, 94, 115, 122, 205), *L. albus* var. *graecus* (12, 30, 59, 75, 86, 92). W tabeli przedstawiono średnią dla gatunku.

4.3.1.2. Oddziaływanie *C. lupini* na wzrost liniowy wybranych gatunków grzybów najczęściej izolowanych z nasion łubinu

W 2009 roku do analizy interakcji pomiędzy *C. lupini*, a najczęściej izolowanymi, z nasion lub części podliścieniowej łubinu gatunkami grzybów wybrano po trzy izolaty: *A. alternata, B. cienerea, T. harzianum, F. culmorum, F. poae, F. oxysporum*. Dwa 5 mm

krążki przerośnięte pięciodniową kulturą badanych izolatów wyłożono na płytkę Petriego z pożywką PDA, w odległości 2 cm od siebie. Pierwszy krążek przerośnięty był grzybnią *C. lupini* (izolaty 98, 136, 174), a drugi wybranymi izolatami *A. alternata* (88, 101, 122), *B. cienerea* (60, 171, 281), *T. harzianum* (6, 67, 111), *F. culmorum* (72, 182, 292), *F. poae* (22, 126, 222), *F. oxysporum* (286, 390, 493). Doświadczenie przeprowadzono w temp. 22°C. Codziennie o zbliżonej porze mierzono wzrost liniowy grzybni. Płytki z wyłożonymi dwoma krążkami przerośniętymi tym samym izolatem, stanowiły obiekt kontrolny. Wyniki przedstawiono w postaci tabel i rysunku.

4.3.1.3. Indywidualny efekt biotyczny (IEB) *C. lupini* w stosunku do wybranych mikroorganizmów

W 2009 roku na płytki Petriego z podłożem PDA w odległości 2 cm od siebie wyszczepiono badane mikroorganizmy. Płytki z izolatami inkubowano bez dostępu światła, w temperaturze 23ºC. Następnie oceniano inwidualny efekt biotyczny posiłkując się metodyką Mańki (1974).

Ocena punktowa składała się z trzech części:

I. sposób zetknięcia się kolonii

0 → obydwie kolonie, tzn. patogen A i składnik zbiorowiska B, stykają się wzdłuż linii prostej

+1 → kolonie B stykają się z kolonią A wzdłuż lekko skrzywionej linii otaczając mniej niż jej ⅓

+2 → kolonie B stykają się z kolonią A wzdłuż lekko skrzywionej linii otaczając co najmniej jej ⅓ lecz mniej niż ½

+3 → kolonie B stykają się z kolonią A wzdłuż lekko skrzywionej linii otaczając co najmniej jej ½ lecz mniej niż ⅔

II. szerokość strefy inhibicji

+1 → każdy milimetr szerokości strefy inhibicyjnej między koloniami na płytce na korzyść kolonii B

III. wpływ na wzrost testowanego gatunku

+1 → kolonia A co najmniej o ⅓ lecz mniej niż o ½ mniejsza niż jej oddzielnie hodowana kolonia kontrolna

+2 → kolonia A co najmniej o ½ lecz mniej niż o ⅔ mniejsza niż jej oddzielnie hodowana kolonia kontrolna

+3 → kolonia A co najmniej o ⅔ mniejsza niż jej oddzielnie hodowana kolonia kontrolna

+4 → kolonia A zupełnie nierozwinięta*

* - w odwrotnej sytuacji tzn. gdy kolonie B sprzyjają wzrostowi kolonii A (patogena), oceny powinny być równie wysokie, ale ujemne.

Wzajemne oddziaływanie wyrażone jest sumą otrzymanych punktów określających trzy wyżej wymienione parametry.

a/ IEB *C. lupini* w stosunku do wybranych gatunków grzybów zasiedlających łubin

W badaniu użyto po trzy izolaty następujących gatunków: *A. alternata* (88, 101, 122), *B. cienerea* (60, 171, 281), *T. harzianum* (6, 67, 111), *F. culmorum* (72, 182, 292), *F. poae* (22, 126, 222), *F. oxysporum* (286, 390, 493), *C. lupini* (98, 136, 174). Krążki badanych grzybni układano parami w dwucentymetrowej odległości od siebie, na płytkach Petriego z pożywką PDA. Próbę kontrolną stanowiły płytki z dwoma krążkami położonymi w tej samej odległości, przerośniętymi tym samym gatunkiem grzyba. Doświadczenie przeprowadzono w temp. 22°C. Po tygodniowej inkubacji oceniano wzajemne oddziaływanie grzybów posługując się opisaną powyżej metodą Mańki (1974).

b/ IEB *C. lupini* w stosunku do wybranych mikroorganizmów o potencjalnych uzdolnieniach fungistatycznych

W doświadczeniu analizowano IEB wybranych 36 izolatów mikroorganizmów uzyskanych w innych badaniach prowadzonych w Katedrze, w stosunku do *C. lupini*. Na płytkę Petriego z pożywką PDA naniesiono 0,5 cm krążek podłoża PDA przerośnięty pięciodniową grzybnią *C.lupini*. W odległości 3 cm od grzybni naniesiono 10µl zawiesiny bakterii, o zagęszczeniu 10^8 jtk w spektrofotometrze. Użyto następujące szczepy:

- izolaty uzyskane z wyziewów z komory napowietrzania w oczyszczalni ścieków w Dobrym Mieście: PSDM–1, PSDM–2, PSDM–3 (*Pseudomonas putida*), PSDM–4, PSDM–5, PSDM–6 (*Proteus penneri*), PSDM–7 (*Proteus* sp.), PSDM–8, PSDM–9, PSDM–10, PSDM –12, PSDM–14, PSDM–15 (*Staphylococcus* sp.), PSDM–16 (*Enterobacter* sp.), PSDM–17 (*Advenella* sp.), PSDM–18, PSDM–19, PSDM–20 (*Staphylococcus* sp.), PSDM–21 (*Proteus* sp.), PSDM–22, PSDM–23, PSDM–25, PSDM–27;
- izolat A9- *Bacillus subtilis*- uzyskany z ryzosfery żyta;
- izolaty uzyskane z wyziewów z komory napowietrzania w oczyszczalni ścieków w Biskupcu: PS1- *Serratia liquefaciens*, PS3- *Pseudomonas* sp., PS9- *Pseudomonas hellei*, PS13 *Pseudomonas* sp., PS15 *Serratia* sp.;

-MP_2A – endofity korzeni pszenicy;

-EN 40 – endofity korzeni pszenicy ozimej pozyskane z 40-letniej monokultury;

-ART 4 – *Artrobacter* sp. - uzyskany z korzeni pszenicy ozimej;
- izolaty *Lactobacillus brevis* LAC 1, LAC 3, LAC6.

Próbę kontrolną stanowiły płytki z podłożem PDA zaszczepione izolatem *C. lupini*, a w odległości 3 cm naniesiona została kropla sterylnej wody. Płytki inkubowano w termostacie w temperaturze 24°C. Ocenę wzajemnego oddziaływania przeprowadzono po 5 dniach i po 14 dniach trwania doświadczenia, gdy płytka kontrolna z grzybnią *C.lupini* całkowicie zarosła. Wyniki zestawiono w tabeli korzystając z wyżej opisanej metody Mańki (1974).

4.3.1.4. Patogeniczność *C. lupini* w stosunku do gatunku łubinu

Analizę patogeniczności *C. lupini* na łubinie przeprowadzono opierając się na zmodyfikowanej metodzie Webera i wsp. (1990). Odkażone w 50% alkoholu (30 sek.) i 1% roztworze podchlorynu sodu (30 sek.) oraz płukane nasiona podkiełkowano przez 24 godziny. Następnie tak przygotowane nasiona układano w wilgotnej komorze na krążkach PDA przerośniętego sześciodniową grzybnią *C. lupini*, o średnicy 1 cm. Doświadczenie przeprowadzono w 4 powtórzeniach w temperaturze 23°C, wykorzystując po trzy izolaty *C. lupini* uzyskane z łubinu: białego (71, 158, 230), wąskolistnego (269, 273, 439), żółtego (282, 299, 341) oraz wieloletniego (392, 494, 500). Próbę kontrolną stanowiły nasiona umieszczone na krążku agaru nie przerośniętym grzybnią patogena. Do analizy użyto siewek łubinu: białego - odmiany Butan, wąskolistnego - odmiany Sonet, żółtego - odmiany Taper i łubinu wieloletniego.

Po 14 dniach dokonano oceny procentowej zdrowotności siewek. Wykonano analizę wariancji, a wyniki opracowano statystycznie przy pomocy testu Duncana (p=0,01).

4.3.1.5. Wpływ wybranych czynników ochronnych na rozwój *C. lupini*

Doświadczenie przeprowadzono w 2015 roku. Na płytkę Petriego z podłożem PDA naniesiono 1 ml zawiesiny zarodników *C. lupini* o stężeniu $2{,}8 \times 10^{-6}$ na 1 ml. Następnie kładziono 0,5 cm krążki bibuły nasączone badanymi czynnikami ochrony roślin o stężeniu zalecanym przez producenta. Zastosowano następujące czynniki:

- biologiczne – (Biochikol 020 PC, EM);
- biotechniczne – (Asahi SL, Bio-Algeen S90, Hurricane PRO+0,05%, Hurricane PRO+0,2%, IsotakPRO+0,15%, IsotakPRO+0,35%, Kelpak SL, Rosahumus, Terra Sorb foliar, Toil, TotalHumus);

- środki chemiczne – (Curzate Cu 49,5 WP, Gwarant 500 SC, Huwa San TR5, Infinito 687,5 SC, Inter Optimum 72,5 WP , Valbon 72 WG, Vondozeb 75 WG)

Płytki inkubowano w ciemności, w termostacie, w temperaturze 24°C. Ocenę wpływu badanych środków na rozwój *C. lupini* przeprowadzono po 5 i 14 dniach od założenia doświadczenia. Kontrolę stanowiły płytki z krążkami bibuły nasączonymi sterylną wodą.

4.3.2. Identyfikacja wybranych izolatów *C. lupini* metodą molekularną

Wybrane izolaty patogena pozyskiwane były z prac badawczych prowadzonych w latach 2004-2005 przez Katedrę Fitopatologii i Entomologii. Izolaty (n=31) uzyskane zostały z roślin łubinu żółtego i wąskolistnego z objawami antraknozy łubinu. Nasiona wyłożono na płytki Petriego z pożywką PDA i inkubowano w temperaturze 24ºC. Z uzyskanych szczepów, identyfikowanych na podstawie cech morfologicznych metodą mikroskopową, wyprowadzono na płytkach z pożywką PDA kultury jednozarodnikowe, z których następnie izolowano DNA do identyfikacji metodą PCR w ówczesnej Katedrze Diagnostyki i Patofizjologii Roślin. Ekstrakcję DNA przeprowadzono zgodnie z protokołem według zmodyfikowanej procedury opracowanej przez Kulika i wsp. (2005):

- około 0,2 g grzybni zeskrobano z pożywki i zamrożono w ciekłym azocie, a następnie roztarto tłuczkiem w moździerzu na drobny proszek;
- do utartego materiału dodano 20 ml buforu CTAB (CTAB - 8 g, sarkozyl - 10 g, sorbitol - 25 g, NACl - 47 g, EDTA - 8 g, PVPP - 10 g w 1litrze wody);
- mieszaninę inkubowano w 65°C przez 30 min;
- następnie dodano równą objętość chloroformu/oktanolu (24:1);
- roztwór zmieszano i odwirowano przy 14000 obr/min przez 10 min;
- supernatant przeniesiono do świeżej probówki i dodano równą objętość izopropanolu, a następnie odwirowano jak powyżej w celu wytrącenia DNA;
- osad przemyto 70% etanolem i rozpuszczono w buforze TE (Tris-HCl (pH 8) -10 mM, EDTA- 0,1 mM).

Do identyfikacji izolatów zostały wykorzystane startery: CaInt2 5′-GGGGAAGCCTCTCGCGG-3′ i ITS4 5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′ do oznaczenia *C. acutatum*, gdzie wielkość produktu wynosi 501 bp oraz CaInt 5′-GGCCTCCCGCCTCCGGGCGG i ITS4 - *C. gloeosporioides*, a wielkość produktu to 450 bp (Kulik i wsp. 2005).

Analiza została przeprowadzona w 25 µl objętości mieszaniny reakcyjnej zawierającej:

- 10 do 100 ng genomowego DNA;
- 4 mM $(NH_4)_{2SO_4}$, pH 9,0;
- 10 mM Tris- HCl;
- 2 mM MgCl2;
- 0,2 mM każdy z dATP , dTTP, dCTP i DTP;
- 0,2 U MasterAmp Tfl DNA Polymerase (Epicentre Technologies);
- 1 µM stężenie startera.

Reakcję amplifikacji przeprowadzono w Mastercycler (Eppendorf) w następujących warunkach:

- wstępna denaturacja – przez 5 min w temp. 95°C;
- 30 cykli - denaturacja – przez 30 s w temp. 95°C;
- przyłączanie starterów – przez 30 s w temp. 60°C i wydłużanie – przez 1,5 min w temp. 72°C;
- końcowy etap wydłużania (synteza nowej nici) – przez 5 min w temp. 72°C.

Otrzymane produkty PCR rozdzielono w 1,5% żelu agarozowym wybarwionym bromkiem etydyny, wykorzystując metodę elektroforezy w buforze TBE.

4.3.3. Próg infekcyjności zarodników *C. lupini*

W roku 2020 roku badano próg infekcyjności zarodników *C. lupini* wobec siewek łubinu białego odmian Boros, Butan, łubinu wąskolistnego odmian Sonet, Zeus oraz łubinu żółtego odmian Markiz, Mister. Nasiona odkażano przez 30 sek. w 50% alkoholu etylowym, a następnie również przez 30 sek. w 1% podchlorynie sodu i trzykrotnie płukano w sterylnej wodzie. Nasiona podkiełkowywano na szalkach z bibułą. Siedmiodniowe siewki umieszczano w zawiesinie zarodników *C. lupini* o czterech różnych stężeniach, a dodatkowo na liścienie była nanoszona pędzelkiem zawiesina zarodników o tym samym stężeniu. Badane stężenia: 1. $2x10^7$ zarodn./ml; 2. $16x10^3$ zarodn./ml; 3. $10x10^2$ zarodn./ml; 4. 100 zarodn./ml. Stężenie zawiesiny wyliczono z wykorzystaniem Komory Toma i obliczono ze wzoru:

$$\mathbf{Lz = a \times b \times 4x10^6}$$

gdzie:

Lz – liczba zarodników w zawiesinie;

a – średnia liczba zliczonych zarodników (w 5 dużych kwadratach = 80 małych kwadratów zliczone zarodniki podzielone przez 80);

b – objętość wody, w której jest zawiesina.

Próbę kontrolną stanowiły siewki umieszczone w sterylnej wodzie.

Po 3 i 9 dniach siewki ucierano w ciekłym azocie i izolowano DNA.

Ocenę poziomu infekcji przeprowadzono metodą qPCR.

Izolacja DNA

Izolację DNA z porażonych przez *C. lupini* roślin łubinów wykonano zgodnie z procedurą opracowaną przez Kulika (2008):

- około 70 mg analizowanego materiału roślinnego ucierano w porcelanowym moździerzu z dodatkiem ciekłego azotu;
- do utartego materiału dodano 1ml buforu homogenizacyjnego i dokładnie wymieszano;
- 1 ml otrzymanej mieszaniny przeniesiono do probówek z kulkami cyrkonowymi i wytrząsano w homogenizatorze FastPrep24 przez 30s z prędkością 4m/s;
- następnie inkubowano przez 20 min. w temp. 70ºC;
- po inkubacji próby zworteksowano, a następnie wirowano przez 5 min w 14000rpm;
- uzyskany supernatant (ok. 400µl) naniesiono na złoże mikrokolumny i wirowano przez 1 min. w 14000 rpm;
- kolumny trzykrotnie przepłukano 200µl 70% alkoholu etylowego, po każdym płukaniu wirowano przez 1 min. w14000 rpm, w celu oczyszczenia DNA;
- następnie DNA wypłukano 125µl wody dejonizowanej podgrzanej do temp. 65ºC.

Po przeprowadzeniu ekstrakcji DNA oznaczono czystość i ilość DNA z wykorzystaniem spektrofotometru NanoDrop ND 2000C (Thermo Scientific). DNA wyizolowane z zakażonych przez *C. lupini* siewek przechowywano w temperaturze − 80 °C do czasu wykonania analiz qPCR.

Reakcja qPCR

W reakcji PCR w czasie rzeczywistym wykorzystano matryce DNA pozyskane w wyniku izolacji DNA. W badaniach posłużono się zestawem starterów i sondy do identyfikacji *C. acutatum*/*C. lupini*: CaITS_F701 5'- GGATCATTACTGAGATTACCGC-3', CaITS_R699 5'-GCCCGCGAGAGGCTTC-3', CaITS_P710 FAM-TACCTAACCGTTGCT TCGGCGGG-TAMRA, dające wielkość produktu 88 bp (Debode i wsp. 2009).

Analizę przeprowadzono przy użyciu zestawów odczynników Thermofisher Scientific w aparacie ABI 7500 FAST [Applied Biosystem]. Analizy przeprowadzono w 20 µl objętości

mieszaniny reakcyjnej, której skład zaprezentowano poniżej. Reakcję qPCR przeprowadzono w trzech powtórzeniach dla każdego powtórzenia biologicznego.

Skład mieszaniny reakcyjnej wykorzystywanej do wykrywania *C. acutatum/ C. lupini* w 20 µl:

- TaqMan Fast Advanced Master Mix (10 µl),
- matryca DNA (4 µl),
- mix starterów (200 nM) (4 µl),
- sonda (120 nM) (2 µl).

Reakcję amplifikacji przeprowadzono w trzech etapach:
1. denaturacja DNA (przez 3 min) zachodząca w temperaturze 95°C,
2. hybrydyzacja (przez 15s) w temperaturze 45-65°C,
3. elongacja (przez 1 min) w temperaturze 72°C,
każdy cykl składający się z trzech powyższych etapów powtarzano 45 razy.

W celu uzyskania standardu użyto rozcieńczenia seryjnego gDNA szczepu *C. lupini* CBS 119142 wyizolowanego z łubinu białego (Afryka Południowa, 1995) pozyskanego z CBS (Central Bureau of Fungal Cultures) Westerdijk Fungal Biodiversity Institute [Utrecht, Netherlands]. Efektywność reakcji qPCR obliczono na podstawie równania krzywej standardowej Y=aX+b, na podstawie wzoru: E=10(-1/slope). Efektywność zestawu starterów i sondy do detekcji *C. lupini* wyznaczono na podstawie wzoru: E = (E-1) x100%. Na podstawie krzywej standardowej (ryc. 1) obliczono ilość DNA *C. lupini* posługując się zmodyfikowanymi metodami opisanymi przez Livak i Schmittgen (2001) oraz Pfaffl (2001).

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą oprogramowania Dell Statistica [data analysis software system, wersja 13.0, software.dell.com]. Istotność różnic pomiędzy średnimi wartościami gDNA *C. lupini*, określono testem Tukeya (HSD), przy poziomie p=0,01.

4.3.4. Izolacja grzybów z wykazujących objawy chorobowe części podliścieniowej i korzeni łubinu

Badania wykonano w latach 2004-2006. Do analizy mykologicznej porażonych organów łubinu pobierano rośliny 5-7 dni po zaobserwowaniu pierwszych objawów chorobowych. Materiał do badań stanowiły rośliny z objawami antraknozy uzyskane z dwóch doświadczeń wazonowych (1 - dotyczące zaprawiania nasion, 2 - dotyczące miejsca wnikania *C. lupini*).

Z porażonych części roślin wycinano fragmenty zmienionej chorobowo tkanki, które płukano przez 30 sekund w sterylnej wodzie. Po osuszeniu wykładano 2 mm skrawki na zakwaszoną pożywkę PDA. Wyrastające grzyby inkubowano przez 5 dni w temperaturze 25°C w ciemności, następnie odszczepiano na skosy z pożywką glukozowo-ziemniaczaną i po upływie jednego miesiąca oznaczane przy użyciu kluczy podanych w punkcie 4.3.

4.3.5. Izolacja grzybów zasiedlających nasiona łubinu

Izolację zbiorowisk grzybów zasiedlających nasiona łubinów wykonano wykorzystując zmodyfikowaną metodą ulsterską (Narkiewicz-Jodko 1986). Materiał do badań stanowiły nasiona uzyskane z doświadczeń poletkowych, przeprowadzonych w Tomaszkowie w latach 2004-2006 i 2016-2018. Z każdego obiektu pobierano po 200 nasion: 100 nasion celnych, dobrze wykształconych i 100 nasion poślednich, z objawami chorobowymi. Połowę nasion celnych i połowę poślednich odkażano przez 30 sekund w 50% alkoholu etylowym i 30 sekund w 0,1% roztworze podchlorynu sodu (NaOCl), a następnie trzykrotnie płukano w sterylnej wodzie. Drugą połowę nasion przemywano tylko sterylną wodą. Materiał odkażony i nieodkażony wykładano na płytki Petriego z zakwaszoną pożywką PDA. Inkubację prowadzono przez 5-7 dni w termostacie, w temperaturze ok. 25^{o} C, w ciemności, następnie odszczepiano na skosy z pożywką glukozowo-ziemniaczaną i po upływie jednego miesiąca oznaczano przy użyciu kluczy podanych w punkcie 4.3.

4.3.6. Wpływ okresu przechowywania nasion łubinu na występowanie *C. lupini*

W celu określenia przeżywalności *C. lupini* na materiale siewnym, z nasion uzyskanych z doświadczenia w latach 2016-2018 przeprowadzono izolację zbiorowisk grzybów bezpośrednio po zbiorze, a kolejną po 6 miesiącach przechowywania nasion w temperaturze 10-12^{o} C. Prace wykonano zgodnie z metodą opisaną w punkcie 4.3.5.

5. PRZEBIEG POGODY

Rozdział ten opracowano na podstawie danych pochodzących ze Stacji Meteorologicznej Zakładu Dydaktyczno-Doświadczalnego w Tomaszkowie. Uzyskane wyniki zamieszczono w tabeli 1.

Podczas trwania pierwszego doświadczenia polowego, w latach 2004-2006 warunki pogodowe okazały się zróżnicowane. W okresie wegetacji łubinu w 2004 roku średnia temperatura była niższa od średniej z lat 2004-2018. Jednocześnie suma opadów w omawianym roku znacznie przewyższała średnią z wielolecia. Rok okazał się sprzyjającym rozwojowi *C. lupini*. W marcu i kwietniu 2005 oraz 2006 roku średnia temperatura była nieco niższa do średniej z wielolecia. W pozostałych miesiącach sezonu wegetacyjnego łubinów średnia temperatura zbliżała się do przeciętnej z lat 2004-2018. Suma opadów w sezonie wegetacyjnym łubinu 2005 roku była zdecydowanie niższa niż średnia z wielolecia, a w 2006 roku zbliżona do niej. Suma opadów w marcu i kwietniu obydwu tych lat okazała się niższa niż średnia z wielolecia, co niekorzystnie wpływało na początkowy rozwój łubinów. W 2005 roku duża ilość opadów wystąpiła w III dekadzie lipca, co nie miało już wpływu na nasilenie antraknozy łubinu, jednak niekorzystnie wpłynęło na dojrzewanie i zasychanie łubinów, natomiast duża ilość opadów w III dekadzie maja 2006 roku spowodowała wzrost zagrożenia ze strony *C. lupini* na strąkach łubinów.

Średnia temperatura podczas trwania drugiego doświadczenia w latach 2011-2015 była zbliżona do przeciętnej z wielolecia, jednak wystąpiły różnice w wysokości temperatury w poszczególnych miesiącach. Temperatura w kolejnych miesiącach lat 2011 i 2012 była zbliżona, ale rozkład opadów się różnił. Sezon wegetacyjny 2011 roku okazał się suchy, ale obfite opady wystąpiły w I dekadzie lipca. Sezon ten nie sprzyjał rozwojowi roślin łubinu, chociaż sprzyjał późniejszemu porażeniu strąków przez *C. lupini*. W mokrym sezonie 2012 roku opady przekroczyły średnią z wielolecia w kwietniu, czerwcu i lipcu, co sprzyjało zarówno rozwojowi roślin łubinu, jak i patogenowi powodującemu antraknozę łubinu. W 2013 roku, po chłodnym marcu i kwietniu, nastąpił ciepły maj i czerwiec. Opady były zbliżone do średniej z lat 2004-2018, jedynie w II dekadzie czerwca deszcze nie padały, a w II dekadzie lipca opady były bardzo wysokie. W sezonie wegetacyjnym łubinu w 2014 roku temperatury przekraczały średnią z wielolecia, natomiast w 2015 roku kształtowały się na poziomie poniżej przeciętnej. Opady w maju, czerwcu i lipcu obydwu lat były niższe od średniej z lat 2004-2018, co nie sprzyjało rozwojowi łubinu oraz występowaniu na nim antraknozy.

Podczas trwania trzeciego doświadczenia w latach 2016-2018 warunki atmosferyczne były zróżnicowane. W 2016 roku temperatura była zbliżona do średniej z wielolecia, a jedynie w maju i czerwcu nieznacznie ją przekraczała. W 2017 roku temperatura oscylowała również w pobliżu średniej z lat 2004-2018, a w kwietniu i lipcu nieco ją przewyższała. Opady przez większą część sezonu wegetacyjnego były zbliżone do przeciętnej. W ostatnim roku badań (2018) odnotowano temperaturę przekraczającą średnią z wielolecia. Jednocześnie opady przez prawie cały okres wegetacji łubinu utrzymywały się na poziomie poniżej średniej z lat 2004-2018. Jedynie w II dekadzie lipca odnotowano bardzo obfite opady. Panująca w latach 2016-2018 pogoda nie sprzyjała rozwojowi *C. lupini*.

6. WYNIKI BADAŃ

6.1. Doświadczenia polowe

6.1.1. Nasilenie antraknozy łubinu w zależności od ochrony chemicznej (lata 2004-2006)

W doświadczeniu tym oszacowano występowanie antraknozy łubinu (*C. lupini*) na 12 gatunkach, bądź odmianach łubinów dziko rosnących i uprawnych: *Lupinus albus* var. *graecus*, *L. hispanicus, L. mutabilis, L. nanus, L. polyphyllus, L. albus* (odm. Bardo, Boros, Butan), *L. angustifolius* (odm. Baron, Sonet), *L. luteus* (odm. Mister, Taper) – tab. 2, fot. 1, fot 2.

Zarówno podczas pierwszej obserwacji zdrowotności, wykonanej na pędach w fazie BBCH 69, jak i podczas drugiej, wykonanej na strąkach w fazie BBCH 75-77, najwyższe nasilenie objawów antraknozy łubinu zaobserwowano w pierwszym (2004) roku badań (5,4% na pędach i 6,0% na strąkach). W 2005 i 2006 roku nasilenie choroby było niższe i średnio wynosiło odpowiednio 4,9% i 4,5% na pędach a 5,0% i 4,5% na strąkach (tab.2).

Inokulacja roślin przeprowadzona zarodnikami *C. lupini* zwiększyła nasilenie objawów choroby średnio o ponad 20%, a zastosowana po inokulacji ochrona fungicydami, wyraźnie je zmniejszyła o średnio ponad 30%. Podobne zależności odnotowano w obydwu terminach obserwacji.

Spośród gatunków uprawnych, najsilniej porażone okazały się rośliny odmian łubinu białego. Średnie porazenie odmian łubinu białego wynosiło 8,5% na pędach i 9,3% na strąkach. Nieco niższe nasilenie choroby odnotowano na pędach obydwu odmian łubinu żółtego (średnio 7,3%), przy czym na strąkach nasilenie choroby było jeszcze niższe (średnio 5,5%). Na odmianach łubinu wąskolistnego procent porażenia przez *C. lupini* był bardzo niski i średnio wynosił: 2,3% na pędach i 1,9% na strąkach. Na pędach gatunków dziko rosnących (*L. nanus, L. mutabilis, L. polyphyllus*) nasilenie antraknozy było zbliżone, jednak na strąkach *L. mutabilis* było istotnie wyższe niż na pozostałych dwóch gatunkach i wynosiło 6,1%. Najsłabiej porażanym gatunkiem łubinu był *L. hispanicus* (4,1% na pędach i 3,3% na strąkach).

6.1.2. Nasilenie antraknozy łubinu w zależności od ochrony (lata 2011-2015)

W latach 2011-2015 na łubinie żółtym i wąskolistnym przeprowadzono doświadczenie nad możliwością zwalczania antraknozy łubinu przy użyciu dostępnych w obrocie preparatów biologicznych, biotechnicznych i chemicznych.

Na łubinie żółtym odm. Markiz antraknoza łubinu wystąpiła we wszystkich latach badań (tab. 3), jednak przebieg pogody miał duży wpływ na porażenie roślin przez *C. lupini*. W zdecydowanie najwyższym nasileniu odnotowano chorobę w pierwszym roku badań,

a w najniższym w ostatnim roku. W obydwu terminach obserwacji najwyższe nasilenie antraknozy łubinu odnotowano na obiekcie kontrolnym (15,4% na pędach i 22% na strąkach), nieco niższe na obiektach chronionych przy użyciu preparatów biologicznych (Biochicol 020 PC i EM-1 odpowiednio 12,3% i 14,4% na pędach oraz 17,1% i 20,3 na strąkach). Jeszcze mniej objawów choroby zanotowano na obiektach chronionych przy użyciu preparatów biotechnicznych (Grevit 200 SL, Asahi SL odpowiednio 6,8% i 4,7% na pędach oraz 9,2% i 7,5% na strąkach), a najniższe przy użyciu fungicydów(Gwarant 500 SC i Sarfun 500 SC odpowiednio 2,5% i 4,1% na pędach oraz 5,7% i 6,3% na strąkach) (tab. 3).

Antraknoza łubinu wystąpiła jedynie na strąkach łubinu wąskolistnego (odm. Elf) (tab. 4). Jej nasilenie było niewielkie, chociaż zróżnicowane w poszczególnych latach. Wyższe odnotowano w pierwszym, a niższe w trzecim roku badań. W pozostałych latach badań antraknoza łubinu praktycznie nie była obserwowana. Jedynie fungicydy skutecznie hamowały rozwój choroby, średnie nasilenie wynosiło: 0,05% -Gwarant 500 SC i 0,2%-Sarfun 500 SC).

6.1.3. Nasilenie antraknozy łubinu w zależności od czynnika ochrony biologicznej (lata 2016-2018)

We wszystkich latach trwania doświadczenia podczas pierwszej oceny zdrowotności łubinu, dokonanej przed inokulacją łubinu żółtego, nie obserwowano objawów infekcji przez *C. lupini* (tab.5). Podczas drugiej oceny zdrowotności łubinu, dokonanej w pełni kwitnienia, objawy odnotowano jedynie w 2016 roku. W trzecim terminie oceny, w fazie zawiązywania strąków, objawy były odnotowane we wszystkich latach badań.

Podczas drugiej obserwacji w 2016 roku najsilniej porażone przez *C. lupini* były łubiny rosnące na obiektach chronionych bakteriami rodzaju *Pseudomonas* (PS15 i PS1), gdzie porażenie wynosiło odpowiednio 16,7 i 13,7%. Najsłabiej porażone były rośliny w kombinacjach 19 PSDM - 0,3% oraz chronionych chemicznie fungicydami Gwarant 500 SC - 2,7% i Ridomil Gold MZ Pepite 67,8 WG - 3,0%. Porażenie łubinu na obiekcie kontrolnym inokulowanym *C. lupini* wynosiło 8,3%.

Podczas trzeciej oceny zdrowotności roślin w 2016 roku najwyższe porażenie odnotowano na obiektach, gdzie stosowano zawiesinę kultur bakterii PS15 - 18,3% i PS1 - 17,7%. Najmniej objawów antraknozy łubinu zaobserwowano w kombinacjach chronionych $AgNO_3$ - 7%, a także z ochroną chemiczną fungicydami Gwarant 500 SC - 8,7% i Ridomil Gold MZ Pepite 67,8 WG-10,3%. W kontroli inokulowanej *C. lupini* wynosiło ono 15,2%.

W latach 2017 i 2018 nasilenie choroby było niewielkie. Na obiekcie kontrolnym

z infekcją naturalną nasilenie choroby wynosiło odpowiednio 0 i 0,3%, natomiast na obiekcie inokulowanym *C. lupini* wynosiło 3,3 i 5,0%. Jedynie w 2017 roku w dwóch kombinacjach nasilenie *C. lupini* było wyższe niż na obiekcie kontrolnym inokulowanym *C. lupini* - po zastosowaniu zawiesiny kultur PS1 - 5,0%, a także preparatu biologicznego Bio-algeen - 4,3%. Najmniej z kolei, bo 0,3%, na obiektach, gdzie zastosowano tlenek tytanu (TiO_2) oraz zawiesinę endofitów z korzeni pszenicy MP 2 A - 0,3%. W 2018 roku nie odnotowano objawów antraknozy łubinu po zastosowaniu zawiesiny kultur bakterii PS1, azotanu srebra ($AgNO_3$) oraz fungicydu Gwarant 500 SC.

6.2. Doświadczenia wazonowe

6.2.1. Wpływ zaprawiania nasion łubinu na nasilenie antraknozy (dośw. I)

Najwięcej objawów zgorzeli siewek wystąpiło na łubinie białym, a najmniej na łubinie wąskolistnym (tab. 6, fot. 3). Antraknoza łubinu w zdecydowanie najwyższym stopniu opanowała łubin żółty odm. Markiz, a w najniższym obydwie odm. łubinu wąskolistnego. Odkażanie laboratoryjne oraz chemiczne zaprawianie nasion łubinu wpływało korzystnie na zdrowotność uprawianych łubinów oraz na MTN.

Analiza zdrowotności siewek łubinu białego wykazała, że objawy chorobowe stwierdzono na 2,3% roślin u odm. Bardo i 2,4% u odm. Boros (tab. 6). Najwyższe nasilenie wystąpiło na obiekcie nie chronionym - odpowiednio 5 i 4%, a najniższe po zastosowaniu zaprawy nasiennej Funaben T 480 FS - odpowiednio 1 i 0%. Antraknoza łubinu, zarówno na pędach, jak i na strąkach obydwu odmian łubinu białego wystąpiła w niewielkim nasileniu - odpowiednio 0,5 i 2,5% dla odm. Bardo oraz 1 i 2% dla odm. Boros. Najwyższy stopień porażenia odnotowano na obiekcie nie chronionym - 2% na pędach obydwu odmian i 8% na strąkach obydwu odmian. Masa tysiąca nasion pozyskanych z doświadczenia wynosiła 168,8 g dla odm. Bardo i 129,2 g dla odm. Boros. Najniższa była na obiekcie kontrolnym.

Na siewkach łubinu wąskolistnego odm. Boruta (tab. 6) stwierdzono występowanie objawów chorobowych na 1,1% roślin, a na odm. Zeus u 1,0% roślin. Najwyższe nasilenie wystąpiło na obiekcie nie chronionym - odpowiednio 2,5 i 2,0%, a najniższe po zastosowaniu odkażania laboratoryjnego - odpowiednio 0 i 0,5%. Na pędach obydwu odmian łubinu wąskolistnego nie stwierdzono objawów antraknozy łubinu, natomiast choroba wystąpiła w niewielkim nasileniu na strąkach odm. Boruta, niezależnie od sposobu ochrony nasion przed siewem. Masa tysiąca nasion pozyskanych z doświadczenia wynosiła 137,1 g dla odm. Boruta i 154,6 g dla odm. Zeus. Najniższa była na obiekcie kontrolnym.

Na siewkach łubinu żółtego odmiany Legat (tab. 6) stwierdzono występowanie objawów chorobowych na 1,6%, a odm. Markiz na 1,4% roślin. Najwyższe nasilenie wystąpiło na obiekcie nie chronionym - odpowiednio 5 i 4%, a po zastosowaniu odkażania laboratoryjnego nie stwierdzono objawów chorobowych. Antraknoza łubinu, zarówno na pędach, jak i na strąkach obydwu odmian łubinu żółtego, wystąpiła w niewielkim nasileniu - odpowiednio 1,1 i 2,1% dla odm. Legat oraz 3,7 i 5,2% dla odm. Markiz. Najwyższy stopień porażenia odnotowano na obiekcie nie chronionym - 4 i 6% dla odm. Legat oraz 6 i 8% dla odm. Markiz. Masa tysiąca nasion pozyskanych z doświadczenia wynosiła 139,0 g dla odm. Legat i 133,4 g dla odm. Markiz. Dla odm. Markiz najwyższa była po zastosowaniu zapraw nasiennych.

6.2.2. Nasilenie antraknozy łubinu w zależności od miejsca wnikania *C. lupini* do rośliny (dośw. II)

Najwięcej objawów zgorzeli siewek wystąpiło na łubinie żółtym, mniej na białym, a najmniej na łubinie wąskolistnym (tab. 7). Nasilenie choroby dla poszczególnych odmian, w ramach gatunków, było zbliżone. Antraknoza łubinu w zdecydowanie najwyższym stopniu opanowała obydwie odmiany łubinu żółtego. Odkażanie laboratoryjne nasion łubinu wpłynęło korzystnie na zdrowotność uprawianych łubinów oraz na MTN. Najskuteczniejszą metodą inokulacji łubinu *C. lupini* było opryskiwanie roślin zawiesiną zarodników.

Analiza zdrowotności siewek łubinu białego wykazała, że objawy chorobowe stwierdzono na 5,1% roślin u odm. Bardo i 5,2% u odm. Boros (tab. 7). Najwyższe nasilenie wystąpiło na obiekcie inokulowanym przez opryskiwanie roślin - odpowiednio 12 i 9%, a najniższe po odkażaniu laboratoryjnym nasion łubinu białego - odpowiednio 0 i 4%. Antraknoza łubinu na pędach wystąpiła w niewielkim nasileniu - odpowiednio 0,4 i 0,8% dla poszczególnych odmian, natomiast wyższa była na strąkach obydwu odmian łubinu białego (po 4,2%). Najwyższy stopień porażenia przez *C. lupini* odnotowano na obiekcie inokulowanym przez opryskiwanie roślin zawiesiną zarodników, a infekcja nie wystąpiła po inokulacji przez liścienie i hipokotyl. Masa tysiąca nasion pozyskanych z doświadczenia wynosiła 165,8 g dla odm. Bardo i 129,7 g dla odm. Boros.

Na siewkach łubinu wąskolistnego stwierdzono występowanie objawów chorobowych na 2,5% roślin - niezależnie od odmiany (tab. 7). Najwyższe nasilenie wystąpiło na obiekcie opryskiwanym zawiesiną zarodników - 6,5% dla odm. Boruta i 8,0% dla odm. Zeus, a objawy chorobowe nie wystąpiły na obiekcie kontrolnym. Na pędach i strąkach obydwu odmian łubinu wąskolistnego antraknoza łubinu wystąpiła incydentalnie - odpowiednio 0,6 i 0,4% dla

odm. Boruta oraz 1,0 i 0% dla odm. Zeus. Nie zanotowano żadnych zależności w stosunku do odkażania i sposobu inokulacji. Masa tysiąca nasion pozyskanych z doświadczenia wynosiła 136,2 g dla odm. Boruta i 155,7 g dla odm. Zeus.

Na siewkach obydwu odmian łubinu żółtego stwierdzono występowanie objawów chorobowych na 8,2% roślin (tab. 7). Najwyższe nasilenie wystąpiło na obiekcie opryskiwanym zawiesiną zarodników *C. lupini* - 20% dla odm. Legat i 21% dla odm. Markiz, a po zastosowaniu odkażania laboratoryjnego nie stwierdzono objawów chorobowych. Antraknoza łubinu, zarówno na pędach, jak i na strąkach obydwu odmian łubinu żółtego wystąpiła w dużym nasileniu - odpowiednio 14,0 i 26,4% dla odm. Legat oraz 16,6 i 21,2% dla odm. Markiz. Najwyższy stopień porażenia odnotowano na obiekcie opryskiwanym zawiesiną zarodników *C. lupini* - 40,2 i 46,0% dla odm. Legat oraz 50,0 i 26,0% dla odm. Markiz. Masa tysiąca nasion pozyskanych z doświadczenia wynosiła 133,5 g dla odm. Legat i 127,6 g dla odm. Markiz.

6.2.3. Nasilenie antraknozy łubinu inokulowanego *C. lupini* (dośw. III)

W okresie wegetacji łubinów trzykrotnie przeprowadzono ocenę występowania antraknozy łubinu (tab. 8) - dwa razy na pędach i jeden raz na strąkach łubinu. Podczas pierwszej oceny zdrowotności łubinu widoczne były pojedyncze objawy infekcji dokonanej przez *C.lupini*, a różnice w nasileniu na poszczególnych odmianach były niewielkie. W czasie drugiej obserwacji (na pędach) i trzeciej (na strąkach) różnice w nasileniu choroby na poszczególnych odmianach stawały się coraz bardziej widoczne. Najsłabiej porażone były odm. łubinu wąskolistnego, a najsilniej łubinu żółtego. Sposób infekcji (naturalna bądź inokulacja roślin) wpłynął na stopień porażenia roślin. Na obiektach, które inokulowano był istotnie wyższy, natomiast masa tysiąca nasion z obiektów inokulowanych była istotnie niższa.

Na pędach łubinu białego antraknoza wystąpiła początkowo w niewielkim nasileniu. Najwyższe porażenie było na odm. Butan, a najniższe na odm. Bardo - odpowiednio 1,5 i 0,5% (tab. 8). Później nasilenie choroby wzrosło, a na strąkach było już stosunkowo wysokie (21-26%), jednak nie wystąpiły istotne różnice między odmianami. Inokulacja roślin spowodowała istotny wzrost porażenia wszystkich odmian łubinu białego przez *C. lupini*. Masa tysiąca nasion pozyskanych z doświadczenia wynosiła 183,9 g dla odm. Bardo, 126,0 g dla odm. Boros i 147,2 dla odm. Butan. Masa tysiąca nasion, z obiektów inokulowanych była istotnie niższa niż z obiektów nie inokulowanych.

Na pędach łubinu wąskolistnego antraknoza wystąpiła w niewielkim nasileniu (tab. 8). Obydwie testowane odmiany (Baron i Sonet) wykazały się zbliżoną podatnością na *C. lupini*. Na strąkach nasilenie było wyższe (15,8 i 14). Inokulacja roślin spowodowała istotny wzrost porażenia obydwu odmian łubinu wąskolistnego przez *C. lupini*. Masa tysiąca nasion pozyskanych z doświadczenia wynosiła 132,0 g dla odm. Baron i 130,5 dla odm. Sonet. Masa tysiąca nasion, z obiektów inokulowanych była istotnie niższa niż z obiektów nie inokulowanych.

Na pędach łubinu żółtego antraknoza wystąpiła początkowo w niewielkim nasileniu (tab. 8). Porażenie istotnie wyższe było na odm. Taper, a niższe na odm. Mister - odpowiednio 1,5 i 0,5%. Podczas drugiej obserwacji na pędach nasilenie objawów choroby wzrosło (na obydwu odmianach 7,0%). Nasilenie objawów infekcji na strąkach było wysokie (28,3% dla odm. Mister i 25,5% dla odm. Taper), jednak nie wystąpiły istotne różnice między odmianami. Inokulacja roślin spowodowała istotny wzrost porażenia obydwu odmian łubinu żółtego przez *C. lupini*. Masa tysiąca nasion pozyskanych z doświadczenia wynosiła 137,4 g dla odm. Mister i 128,3 dla odm. Taper - różnice nie istotne. Masa tysiąca nasion, z obiektów inokulowanych i nie inokulowanych nie różniła się istotnie.

6.3. Prace laboratoryjne

6.3.1. Badania nad biologią *C. lupini*

6.3.1.1. Tempo wzrostu *C. lupini*

a/ w zależności od temperatury inkubacji

W temperaturze inkubacji wynoszącej 5° C żaden z izolatów nie rozwijał się (tab. 9). Najwyższy indeks tempa wzrostu (ITW) odnotowano w temp. 15° C - 27,69, a niższy w temp. 25 °C - 25,24. Pochodzenie izolatów również wpłynęło na zróżnicowanie ITW. Najwyższym indeksem charakteryzował się izolat 273 (pochodzący z łubinu wąskolistnego odm. Baron) - 19,30, a najniższym izolat 365 (pochodzący z łubinu wąskolistnego odm. Sonet) - 13,65. Ogólnie obydwie w/w odmiany cechowały się odpowiednio najwyższym i najniższym ITW.

b/ w zależności rodzaju podłoża

Testowane podłoża zróżnicowały rozwój *C. lupini* (tab. 10). Najkorzystniejsza dla wzrostu patogena okazała się pożywka z mąką łubinową. Indeks tempa wzrostu na niej wyniósł średnio 59,86. Jedynie nieco słabiej izolaty rosły na pożywce glukozowo-ziemniaczanej (ITW 57,04), a zdecydowanie najsłabiej na podłożu mineralnym (ITW 49,36). Najbardziej dynamicznie rozwijał się izolat 299 otrzymany z łubinu żółtego odm. Taper,

którego ITW wyniósł 62.02. Najwolniej rozwijał się izolat 365 otrzymany z łubinu wąskolistnego odm. Sonet - ITW 48,25.

c/ w zależności od pH podłoża

Najwyższy indeks tempa wzrostu grzybni (63,38) otrzymano stosując pożywkę glukozowo-ziemniaczaną o pH 4,7 (tab. 11), a wzrost wszystkich testowanych izolatów był zbliżony. Analiza wzrostu *C. lupini* na podłożu o pH 3,5 wykazała, że ITW był niższy i wynosił 60,25. Również w tym przypadku różnice w tempie wzrostu pomiędzy izolatami były nieistotne. Najniższy indeks tempa wzrostu patogena odnotowano na pożywce o pH 6,2 - 57,25. W przypadku pożywki o pH 6,2 pochodzenie izoloatów wpłynęło znacząco na zahamowanie wzrostu izolatów patogena pozyskanych z *L. mutabilis* (ITW 40,50), *L. polyphyllus* (55,88) i *L. graecus* (58,50). W zmiennych warunkach pH podłoża najlepiej rozwijało się *C. lupini* pozyskane z łubinu wąskolistnego, którego średni indeks tempa wzrostu wynosił 63,25.

6.3.1.2. Oddziaływanie *C. lupini* na wzrost liniowy wybranych gatunków grzybów najczęściej izolowanych z nasion łubinu

Średni dobowy przyrost grzybni *C. lupini* na pożywce PDA (będącej obiektem kontrolnym) wynosił 5,93 mm (tab. 12 a-f, ryc. 2). Grzybnia najszybciej przyrastała w czasie drugiej i trzeciej doby, odpowiednio 7,19 i 7,79 mm. Rozrost kolonii sprawcy antraknozy w interakcji z *F. oxysporum* był większy o 5,5%, *F. poae* 2,9% a *Alternaria alternata* 3,1%. Odmienną sytuację zaobserwowano na obiektach z gatunkami szybko rosnącymi, czyli *F. culmorum, T. harzianum, B. cinerea*. W kombinacjach tych przyrost *Colletotrichum* sp. został znacznie zahamowany: był mniejszy o 31,1% przy oddziaływaniu *F. culmorum*, o 52,2% przy *T. harzianum*, a o 25,4% przy *Botrytis cinerea*. Jednocześnie wszystkie testowane gatunki pod wpływem *C. lupini* wykazywały słabszy przyrost grzybni w stosunku do obiektów kontrolnych: od 49,4% u *F. poae* do 1,9% u *A. alternata*.

Maksymalny rozrost kolonii *C. lupini*, przy oddziaływaniu *F. oxysporum*, był opóźniony w stosunku do obiektu kontrolnego i wystąpił w czasie trzeciej i czwartej doby. Wynosił on odpowiednio 7,85 i 8,00 mm. Na ten sam okres przypadał największy dobowy przyrost *F. oxysporum* – 10,56; 10,65 mm. Na obiektach z *F. poae* optymalny przyrost grzybni sprawcy antraknozy przypadał na drugą i trzecią dobę- 6,93; 7,37 mm, podczas gdy przyrost dobowy *F. poae* był raczej równomierny - ok 5 mm. Interakcja z *F. culmorum* wpłynęła na ograniczenie wzrostu grzybni *C. lupini* o 10,8 mm, przy czym najintensywniejszy przyrost przypadał, tak jak w obiektach kontrolnych, na drugą i trzecią

dobę. Jednak dobowy przyrost był o 2,8 mm mniejszy od obiektów kontrolnych. Wzajemne oddziaływanie kultur spowodowało ograniczenie wzrostu *F. culmorum* o 10,5%, a rozkład przyrostu pozostał podobny jak w próbach kontrolnych. Podobny przebieg wzrostu *C. lupini* odnotowano w interakcji z *A. alternata*. W czasie drugiej i trzeciej doby doświadczenia wystąpił największy przyrost grzybni, który wynosił 6,89 i 7,48 mm. Również na ten sam okres przypadł optymalny rozrost grzybni *A. alternata,* odpowiednio 6,91 i 7,02 mm. Na obiektach z *T. harzianum* i *B. cinerea* odnotowano znaczne zahamowanie wzrostu badanego patogena, przy czym maksymalny przyrost grzybni zaobserwowano w drugiej dobie trwania doświadczenia i wynosił 4,89 mm w interakcji z *T. harzianum*, oraz 6,98 mm z *B. cinerea*. Obydwa gatunki, w interakcji ze sprawcą antraknozy, miały o 3,6% mniejszy przyrost grzybni. Największy rozrost kolonii, zarówno przy *T. harzianum,* jak i *B. cinerea,* odnotowano drugiego i trzeciego dnia (odpowiednio 23,42 i 18,39 mm oraz 18,69 i 17,13 mm).

6.3.1.3. Indywidualny efekt biotyczny (IEB) *C. lupini* w stosunku do wybranych mikroorganizmów

a/ w stosunku do wybranych gatunków grzybów zasiedlających łubiny

Badania wykazały, że wzrost kolonii *C. lupini* był hamowany przez większość testowanych gatunków (tab. 13). Najsilniejszy inhibicyjny wpływ wywierały: *T. harzianum*, *B. cienerea* i *F. culmorum* (+3). Odpowiednio słabiej oddziaływały: *F. oxysporum* (+2) i *F. poae* (+1). Nie wystąpiło oddziaływanie między koloniami *C. lupini* a *A. alternata.*

b/ w stosunku do wybranych mikroorganizmów o uzdolnieniach fungistatycznych

Rozwój grzybni *C. lupini* w piątym dniu trwania doświadczenia (tab. 14) był najsilniej hamowany przez izolaty PSDM 19, 20, 21, 22, PS 15, endofit EN40. W dziesiątym dniu trwania doświadczenia znaczące oddziaływanie hamujące bakterii na *C. lupini* odnotowano dla izolatów PSDM 19, 20, 22, PS 3, 13, 15, endofitu MP2 oraz *Lactobacillus brevis* (LAC1 i LAC3). Pozostałe izolaty bakterii nie wpływały hamująco lub w niewielkim stopniu ograniczały rozwój *C. lupini*.

6.3.1.4. Patogeniczność *C. lupini* wobec siewek łubinu

Analiza testu patogeniczności *C. lupini* wykazała (tab. 15), że największe porażenie wystąpiło na siewkach łubinu żółtego oraz łubinu wąskolistnego odpowiednio: 1,18 i 1,08 - różnice nieistotne. Najsłabsze objawy infekcji zaobserwowano na siewkach łubinu wieloletniego (stopień porażenia - 0,22), a istotnie większe na siewkach łubinu białego (0,58).

Z wykorzystanych w badaniu izolatów, największą zjadliwością odznaczały się te pozyskane z łubinu wieloletniego, szczególnie 494 i 392, których średni stopień porażania siewek łubinów wynosił odpowiednio 1,17 i 1,00. Izolaty te bardzo patogeniczne okazały się w stosunku do siewek łubinu żółtego i wąskolistnego, a słabo w odniesieniu do siewek łubinu białego i wieloletniego.

Średnio, patogeniczność *C. lupini* uzyskanego z łubinu wąskolistnego i żółtego była zbliżona. Większość izolatów najsilniej infekowała siewki łubinu żółtego. Izolaty pozyskane z łubinu białego odznaczały się niską patogenicznością wobec siewek łubinów, szczególnie 230 (0,25) i 71 (0,59). Niską patogenicznością charakteryzował się również pochodzący z łubinu wąskolistnego izolat 273 (0,42).

6.3.1.5. Wpływ wybranych czynników ochrony roślin na rozwój *C. lupini*

Długotrwały hamujący wpływ czynników ochrony roślin na rozwój *C. lupini* obserwowano jedynie na obiektach, na których zastosowano fungicydy: Gwarant 500 SC, Inter Optimum 72,5 WP, Valbon 72 WG, Vondozeb 75 WG (tab. 16).

Po zastosowaniu nawozu Rosahumus i biostymulatora Asahi SL odnotowano zahamowanie wzrostu *C. lupini* do 5 dnia trwania doświadczenia. W późniejszym terminie strefy inhibicji już nie obserwowano. Najszersza strefa inhibicji wystąpiła w kombinacjach, w których stosowano Gwarant 500 SC i Inter Optimum 72,5 WP.

6.3.2. Identyfikacja wybranych izolatów *C. lupini* metodą molekularną

Uzyskane wyniki potwierdzają, że wszystkie analizowane kultury (n=31) pozyskane z łubinu z objawami antraknozy należały do kompleksu gatunków *C. lupini*. Produkty PCR w próbach ze starterami CaInt2 i ITS4 *C. lupini* miały około 500 pz. Otrzymany rezultat jest zgodny z tym, co przedstawił Kulik i wsp. (2005). Z prób, w których użyto startery (CaInt i ITS4) specyficzne dla *C. gloeosporioides* nie otrzymano żadnego produktu PCR, co potwierdza przynależność gatunkową uzyskanych izolatów jako *C. lupini*. W pracy umieszczono dokumentację w postaci fotografii z reprezentacyjnych izolatów (fot. 4).

6.3.3. Próg infekcyjności zarodników *C. lupini*

Analiza progu infekcji przez *C. lupini* siewek wybranych gatunków i odmian łubinu metodą qPCR wykazała, że stężenie, które odznaczało się zdolnością infekcji wszystkich badanych gatunków i odmian łubinu trzeciej doby, wynosiło $16x10^3$ zarodników *C. lupini* na 1 ml wody (tab. 17). Przy stężeniu $10x10^2$ zarodników/ml nie były infekowane odmiany

Boros łubinu białego i Mister łubinu żółtego. W dziewiątej dobie stężenie $16x10^3$ zarodników na 1 ml wody również stanowiło próg infekcyjności, który powodował infekcję wszystkich badanych gatunków i odmian łubinu. W ponad dziesięciokrotnie niższym stężeniu ($10x10^2$ zarodników/ml) jedynie w tkance roślinnej odmiany Boros łubinu białego nie odnotowano DNA *C. lupini*. Największą odporność na infekcję *C. lupini* wykazywały odmiany łubinu białego Boros i Butan. W tych odmianach zarówno w trzeciej, jak i w dziewiątej dobie stwierdzono najmniejsze ilości DNA patogena. Najbardziej podatną na infekcję przez patogena okazała się odmiana Markiz, w przypadku której już w trzeciej dobie od zakażenia, przy najniższym badanym stężeniu (10x10 zarodników/ml), uzyskano 0,01ng DNA *C. lupini*. W przypadku odmiany Sonet (łubin wąskolistny) infekcję siewek stwierdzono również w dziewiątej dobie już przy najniższym zastosowanym stężeniu ($10x10^2$ zarodników/ml), kiedy stwierdzono obecność 0,02 ng DNA *C. lupini*. W przypadku odmiany Markiz i Sonet w dziewiątej dobie, przy najwyższym badanym stężeniu ($2x10^7$ zarodników/ml), stwierdzono ilość DNA patogena znacznie wyższą od pozostałych badanych odmian łubinów i wynosiła ona odpowiednio 150,38 i 139,02 ng DNA.

6.3.4. Grzyby wyizolowane z porażonych części podliścieniowych i korzeni łubinu

a/ doświadczenie wazonowe z zaprawianiem nasion (dośw. I)

Z części podliścieniowej i korzeni łubinu uzyskano 53 izolaty grzybów, z tego 18 kultur stanowiło *F. oxysporum*, a 13 *C. lupini* (tab. 18). Najwięcej izolatów grzybów otrzymano z łubinu białego; w tym z odmiany Bardo - 19 kolonii, a z odm. Boros - 11.

F. oxysporum izolowano głównie z łubinu wąskolistnego - 10 kolonii (4 z odm. Boros i 6 z odm. Zeus) oraz z łubinu białego - 8 kolonii (7 z odm. Bardo). Z łubinu żółtego nie uzyskano żadnej kolonii *F. oxysporum.*

Najwięcej izolatów *C. lupini* uzyskano z łubinu żółtego - 8 kultur (3 z odm. Legat i 5 z odm. Markiz), zdecydowanie mniej z łubinu białego (3) i z łubinu wąskolistnego (2).

Najwięcej kultur grzybów otrzymano z obiektów kontrolnych (27), z czego 11 kultur stanowiło *C. lupini*, a 8 *F. oxysporum.* Stosunkowo dużo kultur grzybów uzyskano również z obiektu chronionego zaprawą Sarfun 65 DS (20), z czego 1 kulturę stanowiło *C. lupini*, a 6 *F. oxysporum.*

b/ doświadczenie wazonowe różnicujące miejsce wnikania *C lupini* do rośliny (dośw. II)

Z części podliścieniowej i korzeni uzyskano w sumie 63 izolaty (tab. 19). Najczęściej izolowano grzyby rodzaju *Fusarium* – 35 kultur; w tym *F. oxysporum* - 26 kultur i *F. avenaceum* - 9 kultur. Uzyskano 7 kolonii *C. lupini*. Prawie wszystkie kolonie patogenów

łubinu wyizolowano z obiektu kontrolnego oraz z tych kombinacji, w których przeprowadzono inokulację przez system korzeniowy oraz przez liścienie i hipokotyl.

Z łubinu białego otrzymano 25 kolonii. Grzyby rodzaju *Fusarium* (*F. avenaceum* i *F. oxysporum*) stanowiły po 7 izolatów. Z łubinu wąskolistnego otrzymano 14 izolatów grzybów. Sześć należało do *F. oxysporum*, a trzy do *C. lupini*. Z łubinu żółtego wyizolowano 24 kolonie grzybów. Najczęściej były to grzyby rodzaju *Fusarium*: *F. oxysporum* - 13 izolatów i *F. avenaceum* - 2 izolaty. Wyosobniono 4 kolonie *C. lupini* z roślin inokulowanych przez liścienie i hipokotyl.

6.3.5. Grzyby wyizolowane z nasion łubinu

a/ w zależności od ochrony chemicznej roślin w okresie wegetacji

W czasie prowadzonego w latach 2004-2006 doświadczenia uzyskano 6448 izolatów należących do ok. 50 gatunków pozyskanych z czterech gatunków łubinu - białego (*L. albus*), wąskolistnego (*L. augustifolius*), żółtego (*L. luteus*) i wieloletniego (*L. polyphyllus*). Wyizolowane grzyby należały do mikroorganizmów saprotroficznych oraz gatunków potencjalnie patogenicznych. Wyniki czteroletnich badań przedstawiono w tabelach 20-26.

Z nasion **łubinu białego odmiany Bardo** otrzymano 981 izolatów grzybów (tab. 20). Około 50% wszystkich kolonii stanowiły gatunki patogeniczne, w tym *C. lupini* 38,5% (378 izolatów), *B. cinerea* 9,4% (92 izolaty), a 2,1% (21 kolonii) stanowiły grzyby rodzaju *Fusarium* należące do 9 gatunków. Pozostałe uzyskane gatunki to *A. alternata* (6,8%), *T. roseum* (11,1%) i grzyby rodzaju *Penicillium* (18,8%). Najwięcej izolatów otrzymano z kombinacji, gdzie przeprowadzono inokulację *C. lupini* oraz pełną ochronę chemiczną - 357 kolonii. Najmniej, bo 290 izolatów uzyskano z obiektu kontrolnego. Dobra kondycja wyłożonych badanych nasion i ich odkażanie chemiczne miały wpływ na spadek liczebności uzyskanych izolatów. Ze wszystkich uzyskanych gatunków najczęściej izolowane było *C. lupini*. Najwięcej wyosobnień uzyskano z prób inokulowanych bez ochrony chemicznej oraz z ochroną chemiczną, gdzie liczba otrzymanych izolatów wynosiła odpowiednio 134 i 121. Najrzadziej gatunek ten odnotowano w obiektach kontrolnych, jedynie 23 izolaty w ciągu czterech lat. Częściej uzyskiwano *C. lupini* z nasion w dobrej kondycji oraz nie odkażanych powierzchniowo.

B. cinerea był najczęściej izolowany z obiektów, gdzie przeprowadzono inokulację *C. lupini*, zwłaszcza z kombinacji bez ochrony chemicznej. Gatunek ten izolowano głównie z nasion słabo wykształconych (odbiegających od nasion wzorca odmiany). Odkażanie powierzchniowe nie miało dużego wpływu na częstotliwość pozyskiwania patogena.

Wyizolowano jedynie 21 kultur grzybów należących do rodzaju *Fusarium*: *F. avenaceum, F. culmorum, F. equiseti, F. fujikuroi* (d. *F. verticillioides*), *F. oxysporum, F. poae, F. sacchari, F. sporotrichoides, F. tricinctum*. Najczęściej pozyskiwane były z prób, gdzie przeprowadzono inokulację *C. lupini* (15 kolonii). Prawie wolne od grzybów rodzaju *Fusarium* okazały się nasiona pozyskane z obiektów kontrolnych, z których w ciągu czterech lat otrzymano jeden izolat. Gatunki te porażały głównie nasiona w złej kondycji.

Spośród gatunków saprotroficznych najczęściej izolowano grzyby rodzaju *Penicillium*. Zasiedlały one głównie nasiona z próby kontrolnej, rzadziej z kombinacji, gdzie przeprowadzono inokulację. Większa częstotliwość pozyskiwania izolatów była również związana z dobrą kondycją nasion i odkażaniem ich powierzchni.

Wyizolowano 109 kultur *T. roseum*. Częstotliwość występowania rozkładała się równomiernie w poszczególnych obiektach doświadczenia. Jedyne większe zróżnicowanie liczebności izolatów odnotowano na nasionach niedostatecznie rozwiniętych oraz nie odkażanych chemicznie. Prawie 63% wszystkich kolonii *A. alternata* otrzymano z obiektu inokulowanego *C. lupini*, bez zabiegów ochronnych. Wpływ kondycji i stanu nasion na występowanie *A. alternata* był podobny jak w przypadku *T. roseum*.

Z nasion **łubinu białego odmiany Boros** (tab. 21) uzyskano 1338 izolatów, w tym 31,2% to kolonie grzybów będących patogenami łubinu, pozostałe 68,8% to gatunki saprotroficzne. Grzyby izolowane z nasion nieodkażanych stanowiły 53,6%, z kolei z nasion odkażanych 46,4% ogółu izolatów. Najliczniej izolowano *Alternaria alternata* i *Trichothecium roseum* - odpowiednio 385 kultur (28,8%) i 291 kultur (21,8%). Spośród gatunków patogenicznych najczęściej występował *C. lupini*, którego otrzymano 269 izolatów, co stanowiło 20,1% wszystkich otrzymanych kolonii. Grzyby rodzaju *Fusarium* stanowiły 6,5% wyosobnień (87 izolatów) i należały do następujących gatunków: *F. avenaceum, F. chlamydosporum, F. culmorum, F. equiseti, F. oxysporum, F. poae, Neocosmospora solani* (dawniej *F. solani*), *F. sporotrichoides, F.fujikuroi* (dawniej *F. verticillioides*). Najliczniej występowało *N. solani* (1,2%) i *F. equiseti* (1,1%). Uzyskano również 61 izolatów *B. cinerea*, co stanowiło 4,6%.

Sposób infekcji roślin (naturalna i inokulacja) i stosowanie ochrony roślin w niewielkim stopniu wpłynęły na zróżnicowanie gatunkowe otrzymanych kolonii. Z nasion pozyskanych z kombinacji z naturalną infekcją i nie chronionych chemicznie wyizolowano 432 kolonie grzybów. Niewiele więcej, bo 438 otrzymano z obiektu, gdzie przeprowadzono inokulację, jednak nie zastosowano ochrony chemicznej. Najliczniej (468 izolatów)

występowały grzyby na nasionach pozyskanych z roślin inokulowanych i chronionych chemicznie.

Z nie inokulowanej kontroli najczęściej izolowano *C. lupini*. Gatunek ten stanowił ok. 30% wszystkich uzyskanych kolonii. Najmniej wyosobnień tego gatunku - 42 izolaty (9,6%) otrzymano z nasion pozyskanych z roślin inokulowanych i nie objętych ochroną chemiczną. Nasiona tej odmiany dobrze wykształcone, bez objawów chorobowych, wykazywały o wiele większe porażenie *C. lupini*, niż nasiona niewykształcone, mające charakter nasion poślednich. Porażenie stanowiło odpowiednio 14,2% i 5,9% uzyskanych izolatów. Zróżnicowanie liczebności uzyskanych kolonii *C. lupini* można również zaobserwować w zależności od odkażania powierzchniowego. Z nasion odkażanych wyizolowano 152 izolaty patogena (11,4% wszystkich wyosobnień), podczas gdy z nasion nie odkażanych uzyskano 117 kolonii (8,7%). Sprawca antraknozy łubinu najliczniej był izolowany we wszystkich obiektach z nasion dobrze rozwiniętych i odkażonych.

Grzyby rodzaju *Fusarium* najczęściej uzyskiwano z obiektów inokulowanych *C. lupini* bez ochrony chemicznej. W próbach, gdzie dodatkowo zastosowano zabiegi ochronne, grzyby te występowały najrzadziej. Porażenie nasion wynosiło odpowiednio 11,0% i 3,6%. Z nasion słabo wykształconych otrzymano ponad osiem razy więcej kolonii grzybów rodzaju *Fusarium* niż z nasion pełnowartościowych, natomiast odkażanie powierzchniowe ograniczyło liczbę izolatów prawie o połowę w stosunku do nieodkażanych. Rodzaj *Fusarium* najliczniej występował na nasionach poślednich nie odkażanych.

B. cinerea najliczniej otrzymano z nasion roślin inokulowanych *C. lupini* (45 kolonii) i chemicznie chronionych, natomiast najmniej izolatów uzyskano z kombinacji kontrolnej - jedynie 4 kolonie. Liczebność występowania tego gatunku nie wykazywała zależności od jakości i odkażania nasion.

A. alternata najczęściej izolowano z nasion poddanych inokulacji *C. lupini* - 144 kolonie (32,9% izolatów). Najmniej wyosobnień - 108 izolatów uzyskano najwięcej z nasion pochodzących z kombinacji kontrolnej. Zróżnicowanie występowania *A. alternata* w zależności od kondycji nasion czy odkażania było niewielkie.

T. roseum jest gatunkiem zaliczanym do saprotrofów lub grzybów o słabych uzdolnieniach pasożytniczych. Uzyskano 291 kultur tego gatunku - z nasion inokulowanych *C. lupini* i chronionych chemicznie - 137 kolonii, natomiast najmniej, bo 71 kolonii otrzymano z nasion pochodzących z próby kontrolnej. Gatunek ten izolowano głównie z nasion źle wykształconych i nie odkażanych powierzchniowo.

Z nasion **łubinu wąskolistnego odmiany Baron** otrzymano 958 kolonii grzybów (tab. 22), w tym ponad połowę stanowiły grzyby rodzaju *Penicillium* 56,4%. Licznie występowały również *A. alternata* (18,1%) i *T. roseum* (8,5%). Grzyby patogeniczne stanowiły 3,3% izolatów. Wśród nich najliczniej (25 izolatów- 2,6%) występowały grzyby rodzaju *Fusarium* należące do 5 gatunków. *C. lupini* i *B. cinerea* stanowiły ułamek procenta wszystkich pozyskanych kolonii - odpowiednio 0,2 i 0,5%. Najwięcej izolatów, bo 409 otrzymano z obiektu kontrolnego, a 292 i 257 izolatów odpowiednio z obiektu inokulowanego *C. lupini* oraz z obiektu inokulowanego i chronionego chemicznie. Brak odkażania nasion i ich zła jakość wpłynęły na wzrost liczby uzyskanych kultur grzybów.

Uzyskano 540 kolonii grzybów rodzaju *Penicillium*. Najsłabiej zasiedlały one nasiona pozyskane z obiektów inokulowanych *C. lupini* bez ochrony chemicznej. Z pozostałych prób otrzymano zbliżoną liczbę (214 i 213) izolatów. *Penicillium* sp. pozyskiwano najczęściej z nasion nie odkażanych powierzchniowo oraz zdrowych.

A. alternata najliczniej izolowany był z obiektu kontrolnego (97 kultur), natomiast najrzadziej z obiektu chronionego chemicznie - zaledwie 16 kolonii. Również *T. roseum* najczęściej izolowany był z obiektu kontrolnego, a najrzadziej z kombinacji chronionej chemicznie. Obecność tego gatunku była zdecydowanie powiązana ze złym stanem nasion.

Najliczniej występującymi patogenami były grzyby rodzaju *Fusarium* należące do pięciu gatunków; *F. avenaceum, F.culmorum, F. equiseti, F. poae, N. solani*. Izolaty najczęściej pochodziły z kombinacji kontrolnej. Dobra kondycja nasion sprzyjała pozyskiwaniu grzybów rodzaju *Fusarium*. Odwrotną zależność zaobserwowano przy *B. cinerea*. Gatunek ten występował tylko na źle wykształconych nasionach. Uzyskano zaledwie 5 kultur w ciągu czterech lat badań i to z kombinacji z inokulacją *C. lupini* i ochroną chemiczną. Z gatunków patogenicznych najrzadziej otrzymywano *C. lupini*. W ciągu trzech lat badań uzyskano zaledwie 2 izolaty, z nasion źle wykształconych i odkażanych powierzchniowo. Nasiona te pochodziły z kombinacji z inokulacją *C. lupini* i ochroną chemiczną.

Z nasion **łubinu wąskolistnego odmiany Sonet** uzyskano 941 izolatów (tab. 23). Gatunki patogeniczne stanowiły 11,6% otrzymanych izolatów. Wyizolowano 38 kolonii *C. lupini* (4,0%), 31 kultur grzybów rodzaju *Fusarium* (3,3%), 25 kolonii *B. cinerea* (2,7%) oraz 15 kolonii *Rhizoctonia* spp. (1,6%). Ponad połowa, bo 52,5% wszystkich otrzymanych grzybów stanowiły izolaty należące do rodzaju *Penicillium*. Kolejne pod względem liczebności to *A. alternata* i *R. stolonifer* występujące odpowiednio w 25,6% i 5,2% ogółu wyizolowanych grzybów. Otrzymane izolaty w większości pochodziły z obiektu z roślinami

inokulowanymi *C. lupini*. Pozostałe obiekty były zasiedlone grzybami na zbliżonym poziomie.

Z nasion nie odkażanych powierzchniowo uzyskano 568 izolatów grzybów (z odkażanych 373), natomiast z nasion słabo wykształconych 502 izolaty (z nasion celnych 439).

Najczęściej izolowanym patogenem było *C. lupini*. Najliczniej występował na nasionach w obiektach, gdzie inokulowano rośliny. Przeprowadzenie zabiegu ochronnego spowodowało znaczący spadek liczby wyizolowanych kolonii patogena (do jednej). Odkażanie nasion nie wpłynęło na zróżnicowanie liczby uzyskanych izolatów. Grzyby rodzaju *Fusarium* należały do 6 gatunków: *F. avenaceum, F. equiseti, F. nivale, F. oxysporum, F. poae, F. sporotrichioides.* W większości zasiedlały one nasiona obiektu kontrolnego, natomiast najsłabiej próby pochodzące z roślin inokulowanych. Brak odkażania powierzchniowego wpłynął na większą liczbę wyosobnień. *B. cinerea* w ciagu badań był izolowany 25-krotnie; najwięcej izolatów (11) otrzymano z obiektu kontrolnego, jednak różnica pomiędzy poszczególnymi obiektami była niewielka. Równie niewielkie różnice zaistniały pomiędzy liczebnością gatunku na nasionach odkażanych i nie odkażanych. Niewielki procent wszystkich otrzymanych izolatów stanowiła *Rhizoctonia* sp. - w większości izolowana z prób pochodzących z roślin inokulowanych zarodnikami *C. lupini*. Odkażanie nasion wpłynęło na zmniejszenie liczebności uzyskanych kolonii o 1/3. Wszystkie opisane gatunki patogeniczne najczęściej izolowano z nasion nieodpowiednio wykształconych.

W badaniach najliczniej izolowanym rodzajem było *Penicillium* sp. Z 494 uzyskanych kolonii 192 uzyskano z prób pochodzących z roślin inokulowanych *C. lupini* i chronionych chemicznie. Odkażanie spowodowało spadek liczby uzyskanych kolonii o 34,2%, natomiast zła kondycja nasion wpłynęła na wzrost liczby wyizolowanych kolonii *Penicillium* sp. o 10%. *A. alternata* najczęściej izolowana była z obiektu kontrolnego - 93 kultury. 79 kolonii tego gatunku uzyskano z roślin inokulowanych *C. lupini* i 69 kolonii z roślin inokulowanych i chronionych chemicznie. Zły stan nasion oraz brak ich odkażania wpływały na wzrost liczby uzyskanych izolatów.

Z nasion **łubinu żółtego odmiany Mister** wyizolowano 937 kolonii (tab. 24), z czego 79,6% stanowiły gatunki saprotroficzne, takie jak: *Penicillium* sp. (42,8%) i *A. alternata* (36,8%). Znacznie mniejszy udział procentowy miały grzyby patogeniczne. Najliczniej wyizolowano *C. lupini* (134 kultury), co stanowiło 14,3% wszystkich uzyskanych izolatów. *B. cinerea* oraz grzyby rodzaju *Fusarium* stanowiły niewielki procent wyosobnień, odpowiednio 0,21% i 0,96%. Różnica pomiędzy obiektem kontrolnym, a poszczególnymi kombinacjami była niewielka. Większy wpływ na zróżnicowanie ilościowe

mikroorganizmów miało odkażanie powierzchni nasion oraz ich kondycja. Grzyby wyizolowane z nasion nieprawidłowo wykształconych stanowiły 51,1% ogółu, a z nie odkażanych 58,6%.

Spośród grzybów patogenicznych najliczniej izolowane było *C. lupini*. W próbie, gdzie przeprowadzono inokulację roślin oraz poddano je ochronie chemicznej, stanowił on aż 21,5% otrzymanych izolatów. W pozostałych kombinacjach patogen ten izolowany był znacznie rzadziej. Uzyskano 28 izolatów z kombinacji kontrolnej oraz 40 z obiektu inokulowanego
C. lupini. Nie odnotowano zależnosci pomiędzy, wykształceniem czy odkażaniem chemicznym wykładanych nasion a częstotliwością izolacji patogena.

Grzybów rodzaju *Fusarium* wyizolowano zaledwie 9 kolonii, głównie z nasion zdrowych oraz odkażanych powierzchniowo. Uzyskano 2 kolonie *B. cinerea*. Oba izolaty pochodziły z obiektu kontrolnego i nasion nie odkażanych chemicznie.

Najliczniej izolowane były grzyby rodzaju *Penicillium*. Otrzymano ich 401 kolonii, z czego 165 z obiektu kontrolnego, a 138 z obiektu, gdzie przeprowadzono inokulację *C. lupini*. Najmniej pochodziło z obiektu inokulowanego *C. lupini*, a następnie chronionego chemicznie. Niewiele mniej otrzymano *A. alternata* - 345 izolatów, której występowanie w poszczególnych obiektach było równomierne. Jednym z częściej izolowanych gatunków (5,0%) było *T. roseum*. Otrzymywano je głównie z nasion nie odkażanych powierzchniowo, niezależnie od stanu ich fizjologicznego.

Z nasion **łubinu żółtego odmiany Taper** (tab. 25) uzyskano 1243 izolaty należące do 25 gatunków grzybów. Najliczniej otrzymywano *C. lupini*, bo aż 401 izolatów, co stanowi 32,3% wszystkich kolonii. *B. cinerea* i grzyby rodzaju *Fusarium* należące do 3 gatunków stanowiły niewielki procent. W sumie grzyby patogeniczne stanowiły 32,9%. *A alternata* stanowiła 25,0%, a grzyby rodzaju *Penicillium* 27,0% wszystkich wyosobnień.

Nasiona pochodzące z kombinacji z inokulacją *C. lupini* i ochroną chemiczną były zasiedlone przez największą liczbę grzybów (481). Najmniej kolonii wyizolowano z obiektu kontrolnego. Więcej kultur grzybów uzyskano również z nasion nie odkażanych i celnych w stosunku odpowiednio do odkażanych i poślednich.

Najczęściej izolowanym gatunkiem był *C. lupini*, zwłaszcza z obiektu kontrolnego, a najbardziej ograniczone występowanie patogena odnotowano w kombinacji z inokulacją *C. lupini* i ochroną chemiczną. Dobre wykształcenie nasion przekładało się na zwiększoną liczbę otrzymanych izolatów. Grzyby rodzaju *Fusarium* należały do trzech gatunków: *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. poae*. Wyizolowane kolonie w większości występowały

w obiektach z inokulacją *C. lupini* i zabiegiem ochronnym, przy czym głównie z nasion zmienionych morfologicznie.

Grzyby rodzaju *Penicillium* stanowiły 27,0% wszystkich izolatów. Aż 196 kolonii uzyskano z kombinacji z inokulacją *C. lupini*, pozostałe 59 z kombinacji kontrolnej i 81 z objętej inokulacją *C. lupini* i zabiegami ochronnymi. Większość izolatów otrzymano z nasion dobrze wykształconych i odkażonych. 25% wszystkich kolonii stanowiła *A. alternata* pozyskiwana głównie z nasion o złej kondycji. Gatunek ten najczęściej odnotowywano w próbach pochodzących z poletek, gdzie przeprowadzono inokulację *C. lupini* i zabiegi ochronne, natomiast najrzadziej z obiektu kontrolnego.

Z nasion **łubinu wieloletniego** otrzymano 408 izolatów (tab.26). Ponad połowa wyosobnień (58,3%) pochodziła z nasion słabo wykształconych. Odkażanie powierzchniowe ograniczyło liczbę uzyskanych izolatów. Stanowiły one około 39% wszystkich otrzymanych kolonii. Najwięcej izolatów otrzymano z próby kontrolnej (196 kultur), a najmniej z obiektu inokulowanego i ochronionego chemicznie (54 kultury). Najliczniej izolowane gatunki to: *A. alternata* i grzyby rodzaju *Penicillium* - odpowiednio 33,3% i 29,4% wszystkich uzyskanych izolatów.

Spośród grzybów patogenicznych najczęściej izolowany był *B. cinerea* – 52 kultury. Gatunek ten otrzymano jedynie z nasion pochodzących z próby kontrolnej, głównie z nasion nierozwiniętych poprawnie (42 izolaty). Uzyskano 35 kolonii *C. lupini*, głównie z obiektów inokulowanych i nie objętych ochroną chemiczną. Gatunek ten częściej był otrzymywany z nasion zdrowych oraz nie odkażanych. Z obiektów inokulowanych i objętych ochroną nie pozyskano tego patogena. Otrzymano 18 kolonii grzybów rodzaju *Fusarium*, głównie z kombinacji kontrolnej. Należały one w większości do 3 gatunków (*F. avenaceum, F. equiseti, F. oxysporum*). Powierzchniowe odkażanie podchlorynem sodu nieznacznie ograniczyło występowanie tych patogenów. Ich występowanie było dodatnio skorelowane ze złym stanem morfologicznym wykładanych nasion.

6.3.6. Wpływ okresu przechowywania nasion na występowanie *C. lupini*

a/ analiza zbiorowiska grzybów bezpośrednio po zbiorze nasion

W latach 2016-2018 z nasion wykładanych bezpośrednio po zbiorze uzyskano 2890 izolatów grzybów należących do 42 taksonów (tab. 27). Najczęściej izolowanym gatunkiem była *Alternaria alternata* - 1173 kultury, co stanowiło 40,4% wszystkich uzyskanych kultur. Częściej otrzymywano ja z nasion powierzchniowo odkażanych – 615 kolonii, niż z nasion płukanych jedynie sterylna wodą - 547 kolonii.

Gatunki o zdolnościach patogenicznych w stosunku do łubinu stanowiły ok. 28,0%

wszystkich wyosobnień. Najczęściej uzyskiwano *C. lupini* – 789 izolatów, więcej kolonii pochodziło z nasion odkażanych powierzchniowo (425) niż z nasion nieodkażanych (367). Stosunkowo dużo izolatów należało do rodzaju *Fusarium* - (259). Z nasion odkażanych powierzchniowo otrzymano 138 izolaty, a z nasion nie odkażanych 121 izolatów. Najczęściej izolowane gatunki rodzaju *Fusarium* to: *F. oxysporum* - 104 kolonie, *Neocosmospora solani* - 43, *F sporotrichioides* - 28, *F. equiseti* - 25 wyosobnienia.

W ciągu trzech lat prowadzenia badań z nasion wykładanych na PDA zaraz po zbiorze najwięcej kultur grzybów, bo 235, uzyskano z obiektu, gdzie stosowano azotan srebra ($AgNO_3$). Niewiele mniej było wyosobnień z prób, gdzie zastosowano biostymulatory Bio-algeen S90 i Asahi SL, odpowiednio 229 i 225. Najmniej izolatów pozyskano z obiektu kontrolnego inokulowanego zawiesiną zarodników *C. lupini* - 120, a także z prób, gdzie zastosowano tytan nanocząstkowy (147) i TiO_2 – tlenek tytanu (135).

C. lupini najczęściej było izolowane z próby kontrolnej oraz z obiektu inokulowanego zawiesiną zarodników *C. lupini* - odpowiednio 65 i 55 izolatów. Porównywalnie często tego patogena otrzymywano z prób, gdzie stosowano zawiesinę kultur bakterii LAC MIX - 66, a także po zastosowaniu $AgNO_3$ - 63 wyosobnienia. Najrzadziej uzyskiwano kultury *C. lupini* po zastosowaniu tytanu nanocząstkowego - 34, oraz tlenku tytanu - 14 kultur.

Grzyby rodzaju *Fusarium* najczęściej izolowano z nasion po zastosowaniu biostymulatora Asahi SL (29), z czego ponad 58% stanowił gatunek *F. oxysporum*. Żadnej kultury grzybów rodzaju *Fusarium* nie uzyskano z nasion obiektu kontrolnego inokulowanego zawiesiną zarodników *C.lupini*, a z próby opryskanej zawiesiną kultur bakterii 19 PSDM otrzymano zaledwie 8 izolatów, z czego ponad połowę również stanowiło *F. oxysporum*.

b/ analiza zbiorowiska grzybów po 6-miesięcznym okresie przechowywania nasion

Z nasion wykładanych po przechowywaniu otrzymano 2009 izolatów należących do 32 taksonów (tab. 28). Najczęściej otrzymywano kolonie *C. lupini* - 717 i *A. alternata* - 712 oraz grzybów rodzaju *Fusarium* - 108 kultur (najczęściej izolowane gatunki to *F poae*, *F. sporotrichioides* i *F.oxysporum*). Więcej wyosobnień *A. alternata* i *C. lupini* pochodziło z nasion odkażanych powierzchniowo. Grzyby potencjalnie patogeniczne rodzaju *Fusarium* głównie otrzymano z nasion nie odkażanych powierzchniowo.

Najwięcej izolatów grzybów otrzymano z nasion pochodzących z prób kontrolnych (nie inokulowanej oraz inokulowanej zarodnikami *C.lupini*) - odpowiednio 140 i 139 kolonii. Najmniej kultur uzyskano z prób opryskiwanych tytanem nanocząstkowym - 97 oraz tlenkiem tytanu - 99.

A. alternata najczęściej uzyskiwano z obiektów kontrolnych - nie inokulowanego oraz z inokulowanego zarodnikami *C. lupini* – odpowiednio 49 i 52 izolaty. Gatunek ten najrzadziej był pozyskiwany z próby, gdzie zastosowano tlenek tytanu - 34 izolaty.

Kolonie *C. lupini* najczęściej uzyskiwano z próby, gdzie zastosowano Bio-algeen S90 - 53 kolonie, a najrzadziej z obiektów, na których stosowano tytan nanocząstkowy - 37 kolonii oraz tlenek tytanu - 39 i fungicyd Gwarant 500SC - 40 kolonii.

Najwięcej grzybów rodzaju *Fusarium* uzyskano z obydwu obiektów kontrolnych. Z kontroli inokulowanej *C. lupini* pochodziło 10, a z kontroli nie inokuloanej 12 wyosobnień, z czego więcej niż połowę stanowiło *F. poae*. Najmniej grzybów rodzaju *Fusarium* izolowano z obiektów, na których stosowano tytan nanocząstkowy - 2 kolonie i Asahi SL - 3 kolonie.

7. DYSKUSJA WYNIKÓW

Pojawienie się oraz epidemiczne występowanie antraknozy łubinu na przełomie lat 90-tych ubiegłego wieku w różnych regionach świata spowodowało potrzebę dokładnego poznania biologii patogena wywołującego tę chorobę oraz możliwości ograniczenia jego występowania. Głównym motywem podjętych działań, oprócz tych, wypływających z natury badawczej, było ograniczenie strat gospodarczych oraz środowiskowych, jakie spowodowało masowe wystąpienie antraknozy.

W związku ze sprzecznymi informacjami odnośnie czynnika powodującego antraknozę łubinu oraz jego preferencji dotyczących żywicieli, podjęto badania wstępne. Miały one pomóc w określeniu zdolności porażania przez patogena wyizolowanego z roślin łubinu żółtego, wykazującego objawy antraknozy łubinu, innych gatunków, które były wskazywane przez wielu autorów jako rośliny żywicielskie tego patogena (Frencel 1993, Schwarczinger, Vajna 1998a, Jańczak i wsp. 1999, Reed i wsp. 1996, Remlein-Starosta, Nijak 2007, Baroncelli i wsp. 2015). W doświadczeniu wykonanym w hali wegetacyjnej następujące rośliny: koniczynę polną (*Trifolium arvense*), koniczynę perską (*T. resupinatum*), koniczynę czerwoną (*T. pratense*), dziurawca zwyczajnego (*Hypericum perforatum*), truskawkę (*Fragaria grandiflora*) odm. Senga-Sengana i łubin żółty (*Lupinus luteus*) odm. Mister opryskiwano zarodnikami patogena. Po upływie 3 tygodni objawy chorobowe odnotowano jedynie na łubinie żółtym. Zarówno koniczyna polna, koniczyna perska, koniczyna czerwona, i dziurawiec zwyczajny, na których występuje *C. gloeosporioides* [(Penz.) Penz. & Sacc.], jak i truskawka, która jest porażania przez *C. acutatum* (Simmonds), inokulowane zawiesiną zarodników *Colletotrichum* uzyskanych z łubinu, nie wykazywały objawów antraknozy (dane nie publikowane). Pozwoliło to na stwierdzenie, że patogen powodujący objawy antraknozy na łubinie nie poraża wskazywanych przez badaczy (Talhinhas i wsp. 2002, Than i wsp. 2008, Hyde i wsp. 2009) gatunków roślin, a więc rośliny te nie mogą być potencjalnym ogniwem w rozprzestrzenianiu się sprawcy choroby.

Przeprowadzona w latach 2004-2006 analiza podatności na antraknozę łubinu wybranych gatunków i odmian łubinów pozwoliła stwierdzić, że spośród gatunków uprawianych w Polsce najsilniej porażane przez *Colletotrichum* sp. były odmiany łubinu białego i łubinu żółtego. Zdecydowanie słabiej atakowane były odmiany łubinu wąskolistnego. Potwierdzają to doniesienia wielu autorów (Horoszkiewicz-Janka i wsp. 2020, Lichtin i wsp. 2020) wskazujące, że łubin wąskolistny jest najsłabiej atakowany, a łubin żółty

i łubin biały w wielu publikacjach przedstawiane są jako gatunki najbardziej podatne na infekcję przez patogena. Z kolei zdeterminowany wzrost roślin, czy równomierne dojrzewanie strąków wydaje się nie wpływać na nasilenie objawów antraknozy łubinu. W dostępnej literaturze można spotkać się z podobnymi stwierdzeniami (Bieniaszewski i wsp. 2007).

Pospolicie występujący w krajobrazie leśnym, na poboczach dróg i torowisk kolejowych łubin wieloletni (*L. polyphyllus*), ale także obecny w przestrzeni miejskiej oraz wiejskiej, ozdobny *L. nanus* okazały się średnio podatne na patogena. W kolejnych latach trwania epidemii powierzchnia ich występowania zaczęła się jednak zmniejszać, co doprowadziło do wypadnięcia tych roślin z wielu zbiorowisk, a tym samym zmniejszenia się różnorodności gatunkowej, tak istotnej i aktualnie promowanej stabilności ekosystemów. Epidemiczne występowanie choroby wpłynęło również na spadek możliwości wykorzystania łubinu w rekultywacji terenów zniszczonych (Howieson i wsp.2000). Podobną podatnością na antraknozę charakteryzował się uprawiany w celu introdukcji na teren Polski łubin andyjski (*L. mutabilis*), jednak ze względu na dłuższy okres wegetacji, porażenie strąków tego gatunku było wyższe niż w opisywanych wcześniej doniesieniach. W literaturze fachowej spotykano się z podobnymi wynikami (Falconi i wsp. 2013, Galek i wsp. 2017, Pszczółkowska i wsp. 2016). Obecnie trwają prace nad wyhodowaniem nowych odmian łubinu andyjskiego, białego i żółtego o mniejszej podatności na infekcję przez *C. lupini*, głównie porzez zwiększenie odporności odmian oraz przez ich wcześniejsze kwitnienie (Talhinhas i wsp. 2016, Iqbal i wsp. 2020, Rychle-Bielska i wsp. 2020, Alkamade i wsp. 2022a).

Ostatnie dwa gatunki łubinów testowane w pierwszym doświadczeniu (*L. albus* var. *graecus, L. hispanicus*), które pochodzą z regionów o średniej temperaturze wyższej niż w Polsce, wykazywały opóźniony rozwój szczególnie w początkowej fazie w stosunku do gatunków przystosowanych do klimatu umiarkowanego. Przesunięcie stadiów rozwojowych żywiciela patogena mogło wpłynąć na znacznie niższe porażenie pędów. W dostępnej literaturze nie odnotowano artykułów dotyczących zdrowotności tych dwóch gatunków.

Epidemiczne wystąpienie antraknozy łubinu spowodowało pilną potrzebę poszukiwania dróg ograniczenia jej znaczenia. W czasie prowadzenia doświadczenia w Polsce do zwalczania antraknozy łubinu w okresie wegetacji zarejestrowane były dwie substancje aktywne: chlorotalonil i karbendazym (Zalecenia Ochrony Roślin 2004). Przeprowadzone w latach 2004-2006 doświadczenie polowe wykazało ok. 50% skuteczność tych substancji aktywnych aplikowanych w formie opryskiwania roślin w okresie wegetacji. Również w doświadczeniu wazonowym, po zastosowaniu zaprawy nasiennej zawierającej

karbendazym lub tiuram, nasilenie występowania objawów antraknozy łubinu oraz zgorzeli siewek było zdecydowanie niższe. Z tkanek roślin z objawami zgorzeli siewek (części podliścieniowej i korzeni łubinu żółtego i wąskolistnego) uzyskano nieliczne izolaty *C. lupini*. Pochodziły one z obiektów kontrolnych i inokulowanych przez hipokotyl. Wśród izolatów dominowały grzyby rodzaju *Fusarium*, szczególnie *F. oxysporum*. Antraknoza łubinu i zgorzel siewek są chorobami najczęściej obserwowanymi na łubinie. Wpływają one na spadek plonu tej rośliny (Bieniaszewski i wsp. 2007, Horoszkiewicz-Janka i wsp. 2011). Wydaje się, że stosowanie zapraw nasiennych, oprócz korzystnego oddziaływania na zdrowotność roślin, wpływało również na ich ogólną kondycję, a tym samym na wzrost masy tysiąca nasion (MTN). Na obiektach, na których nasiona odkażano laboratoryjnie nasilenie chorób było na podobnym, a nawet niższym poziomie, ale wzrost MTN w stosunku do kontroli był również niższy. Części podliścieniowe i korzenie uzyskane z roślin uprawianych w warunkach kontrolnych, z ograniczoną infekcją wtórną, chronionych tylko przez zaprawianie nasion, były praktycznie wolne od *C. lupini*. Skład gatunkowy grzybów izolowanych z porażonych części podliścieniowych i korzeni wskazuje na możliwość hamowania rozwoju patogena; szczególnie, gdy są to grzyby rodzaju *Trichoderma* czy *Fusarium*. Eliminacja *C. lupini* poprzez sukcesywne stosowanie zapraw powinna stanowić rozwiązanie problemu rozprzestrzeniania się antraknozy łubinu, zwłaszcza że wg Kamber i wsp. (2021) patogen nie rozprzestrzenia się w roślinie systemicznie. Natomiast badania Falconi i wsp. (2016) nie potwierdzają pełnej skuteczności zapraw w eliminacji sprawcy choroby.

W latach 2011-2015 i 2016-2018 kontynuowano polowe badania dotyczące skuteczności chemicznych i nie chemicznych środków ochrony roślin w ograniczaniu występowania objawów antraknozy. Zgodnie z uchwałami Parlamentu Europejskiego ze stosowania w ochronie roślin wycofano wiele substancji aktywnych (Rozporządzenia Wykonawcze Komisji (UE) - 2018/1500 z dnia 9 października 2018 r., - 2020/1511 z dnia 16 października 2020 r.). Sytuacja ta dotyczyła również substancji aktywnych stosowanych w ochronie łubinu. W latach 2011-2015 przeprowadzono doświadczenie, w którym testowano preparaty biotechniczne i biologiczne, na tle fungicydów i obiektu kontrolnego nie chronionego. Rośliny, na które zastosowano preparaty biotechniczne (Asahi SL, Grevit 200 SL i Bio-algeen S 90) były słabiej chronione przed patogenem, niż po zastosowaniu fungicydów, chociaż skuteczność tych preparatów była wysoka. Na łubinie żółtym, stosunkowo skutecznie działał preparat Asahi SL. Preparaty biologiczne (Biochicol 020 PC, EM-1) działały bardzo słabo. Brakiem skuteczności w ochronie obydwu gatunków łubinu

charakteryzował się EM-1. Spośród preparatów nie chemicznych do stosowania w ochronie łubinu przed antraknozą można rekomendować stymulator wzrostu Asahi SL, który oprócz korzystnego wpływu na wzrost i jakość plonowania w warunkach stresogennych (www.gov.pl/web/rolnictwo/etykiety-srodkow-ochrony-roslin), wyraźnie poprawia zdrowotność. Jak podają Głosek-Sobieraj i wsp. (2019) stymulator Asahi SL nie ogranicza wszystkich jednostek chorobowych.

Wobec dalszych ograniczeń w stosowaniu środków ochrony roślin w Unii Europejskiej oraz niemożności stosowania chemicznych środków ochrony roślin w uprawach ekologicznych, w latach 2016-2018 na poletkach doświadczalnych przeanalizowano alternatywne sposoby zapewnienia ochrony łubinu przed antraknozą. W związku ze stosunkowo niską skutecznością komercyjnych biologicznych środków w ochronie łubinu przed patogenami, skupiono się na zbadaniu wpływu na zdrowotność roślin wybranych izolatów grzybów i kolonii bakterii, a także zyskujących na znaczeniu nanocząstek. Dane przedstawione przez Gorczycę i wsp. (2018) wskazują, że związki tytanu i srebra istotnie wpływały na liczebność mikrobionu i nie zawsze był to wpływ hamujący. Nasilenie objawów antraknozy na roślinach chronionych związkami srebra i tytanu ($AgNO_3$, SBTC, tytan nanocząstkowy, TiO_2) było nieznacznie wyższe niż na roślinach chronionych fungicydami Gwarant 500 SC i Ridomil Gold MZ Pepite 67,8 WG. Pomimo korzystnych wyników w ograniczaniu rozwoju patogena, związki srebra wykazują się dużą fitotoksycznością, co powoduje ograniczenie ich stosowania w ochronie roślin (Gorczyca i wsp. 2018). Najniższą efektywnością w hamowaniu infekcji przez sprawcę antraknozy łubinu lub brakiem efektywności, cechowały się testowane izolaty grzybów i bakterii. Analizując procentowe nasilenie objawów chorobowych można wysnuć wniosek, że niektóre izolaty mogły wpływać stymulująco na infekcyjność patogena na roślinach w uprawie polowej. Takiej zależności nie odnotowano w czasie badań laboratoryjnych, gdzie obserwowano wzajemne hamowanie rozwoju przez wybrane izolaty i patogena. O skuteczności zastosowanych w doświadczeniu mikroorganizmów świadczą liczne publikacje pochodzące z Katedry Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej (Przemieniecki i wsp. 2014, 2015, 2018). Podobne wyniki uzyskali także Alkemade i wsp. (2022b), u których wyniki badań polowych nie potwierdzają rezultatu badań laboratoryjnych odnośnie skutecznego wpływu izolatów mikroorganizmów na ochronę łubinu. Z kolei Yanez-Mendizabal, Falconi (2018) donoszą o skuteczności izolatów *Bacillus* sp w ochronie łubinu.

Bardzo ważne z punktu widzenia ochrony łubinu przed antraknozą jest zastosowanie opryskiwania ochronnego przed infekcją, ponieważ zastosowanie go po infekcji jest mało

skuteczne (Thomas i wsp 2008a). Dlatego wg Thomasa i wsp. (2008a) zalecane jest powtarzanie zabiegów w celu ochrony nowych organów. W związku z tym odmiany o zdeterminowanym wzroście powinny wykazywać słabsze porażenie, ale jeśli nie trafi się z zabiegiem ochronnym w odpowiednim momencie straty w plonie mogą być większe niż przy odmianach o niezdeterminowanym typie wzrostu.

Izolaty pozyskane z doświadczenia wstępnego pozwoliły w 2006 roku na określenie testem PCR przynależności gatunkowej patogena. Test przeprowadzono w ówczesnej Katedrze Diagnostyki i Patofizjologii Roślin z wykorzystaniem PCR-ITS. Pozwoliło to zaklasyfikować patogena do gatunku *Colletotrichum lupini*. Tę nazwę gatunku zaproponowała w 2002 roku Nirenberg i wsp., wyodrębniając sprawcę antraknozy łubinu jako osobny gatunek. Od tego momentu *C. lupini* traktowano jako gatunek monofagiczny, ściśle powiązany z *Lupinus* spp. Obecnie *C. lupini* jest zaliczany do jednej z ośmiu grup wewnątrzgatunkowych kompleksu gatunków *C. acutatum*. Kompleks ten traktowany jest jako polifagiczny i określany jako grupa jednorodna genetycznie i morfologicznie (Shivas i wsp. 1998, Baroncelli i wsp. 2017, Alkemade i wsp. 2022a). Na chwilę obecną opracowanych jest co najmniej osiem metod molekularnych, które mają umożliwić trafną identyfikację *C. lupini* (Dubrulle i wsp. 2020a).

Przeprowadzone w latach 2004-2006 trzy doświadczenia wazonowe pozwoliły na sformułowanie kilku stwierdzeń. Z pierwszego jednoznacznie wynika, że pierwotnej infekcji dokonują zarodniki *C. lupini* zasiedlające nasiona. Potwierdzają to m.in. Alkemade i wsp. (2022b), a materiał wykorzystywany do siewu musi być certyfikowany z potwierdzeniem czystości nasion (Kamber i wsp. 2021). Drugie doświadczenie pozwoliło znaleźć drogi wnikania patogena do żywiciela. Nasilenie choroby wywołanej pierwotną infekcją z nasion (przez korzenie oraz przez liścienie i hipokotyl) nie jest duże, ale zapewnia patogenowi pojawienie się na danym obszarze. Dopiero zarodniki konidialne, wytwarzane w acerwulusach, pojawiające się w dużej liczbie po opanowaniu pędów i strąków, a przenoszone poprzez rozpryskiwanie się kropel deszczu oraz wiatr, pozwalają patogenowi rozprzestrzeniać się na dużą skalę, powodując gwałtowny wzrost nasilenia objawów chorobowych. Taka strategia rozprzestrzeniania zarodników w połączeniu z dużą zjadliwością patogena mogła przyczynić się do gwałtownego rozprzestrzeniania się choroby na terenie wielu krajów na świecie (Talhinhas i wsp. 2016, Alkemade i wsp. 2021). Pierwotna infekcja nasion w mniejszym stopniu wpływała na spadek masy tysiąca nasion niż infekcja wtórna. Otrzymane wyniki pokrywają się z obserwacjami innych badaczy (Thomas, Sweetingham 2004, Shea i wsp. 2008). W trzecim doświadczaniu potwierdzono rolę, jaką odgrywa

porażenie liści łubinu we wczesnych fazach rozwojowych dla dalszego nasilenia objawów antraknozy łubinu i jej wpływu na masę tysiąca nasion. Występowanie znikomego porażenia na pędach, a w związku z tym ograniczonej liczby zarodników konidialnych, we wczesnej fazie rozwojowej może wpływać na niski poziom infekcji w dalszych etapach rozwoju, czyli na porażenie strąków i nasion. Znaczącym elementem wpływającym na nasilenie objawów antraknozy łubinu, na który zwraca się dużą uwagę, jest przebieg warunków pogodowych w okresie wegetacji. Deszczowa i wietrzna pogoda zapewnia optymalne warunki do rozprzestrzeniania się patogena na duże odległości. Sprzyjające warunki atmosferyczne pozwalają na pojawienie się coraz nowych ognisk infekcji zarówno na pędach jak i na strąkach. Warunki atmosferyczne miały duży wpływ na nasilenie objawów chorobowych w trakcie trwających 11 lat badań polowych. Podobnie opisują wpływ warunków atmosferycznych na nasilenie antraknozy łubinu Thomas i wsp. (2008a) oraz Horoszkiewicz–Janka i wsp. (2011).

Z nasion łubinu najczęściej izolowanymi gatunkami patogenicznymi były: *B. cinerea*, *C. lupini* i *Fusarium* spp. Inne gatunki bardzo często wyosobniane to: *Alternaria alternata*, *Penicillium* spp. i *Trichoderma* sp. Podobny skład gatunkowy uzyskali Pszczółkowska i wsp. (2016) z nasion łubinu andyjskiego. Gatunki patogeniczne najczęściej izolowano z nasion nieodpowiednio wykształconych, natomiast najliczniej otrzymywane *Penicillium* sp. pochodziło najczęściej z nasion nie odkażanych powierzchniowo oraz zdrowych. Zauważono, że największy wpływ na zróżnicowanie ilościowe mikroorganizmów miało odkażanie powierzchniowe oraz kondycja nasion. Podobne wyniki uzyskali Cwalina-Ambroziak i Kurowski (2005).

C. lupini występujące na nasionach umożliwia pierwotną infekcje podczas kolejnego okresu wegetacyjnego. Patogen najczęściej pozyskiwany był z prób, gdzie przeprowadzono inokulację. Brak odkażania nasion i ich zła jakość wpłynęły na wzrost liczby uzyskanych kultur grzybów, chociaż z nasion łubinu żółtego odmiany Taper większość izolatów *C. lupini* uzyskano z nasion dobrze wykształconych i odkażonych. Jak podają Kamber i wsp. (2021) problem może stanowić bezobjawowa infekcja nasion, która jest jednym z elementów sprzyjających rozprzestrzenianiu się patogena. Nasiona uznane za pełnowartościowe mogą stać się źródłem infekcji pierwotnej.

W wielu artykułach, w celu zmniejszenia potencjału transmisji patogena, rekomendowane jest przechowywanie nasion łubinu w celu ograniczenia infekcji. Według Alkemade i wsp. (2022b) najlepsze efekty w ograniczeniu infekcji *C. lupini* bez wpływu na kiełkowanie przynosi przechowywanie nasion przez 4 lata. Talhiuhas i wsp. (2016)

rekomendują 2 lata, Cwalina-Ambroziak i Kurowski (2005) wskazują na okres przechowywania 1,5 roku. Taka strategia przeciwdziałania rozprzestrzenianiu się choroby jest skuteczna, ale wymaga nakładu czasu oraz możliwości składowania materiału siewnego przez kilka lat. Wiąże się to z ponoszeniem dodatkowych kosztów. Analiza nasion po półrocznym przechowywaniu wskazuje na nieznaczny spadek w liczebności *C. lupini*. Alkemade i wsp. (2022b) potwierdzają, że już po 6 miesiącach przechowywania materiału siewnego widać zmiany w strukturze grzybni, co może zapowiadać spadek możliwości przetrwania przez dłuższy okresu czasu.

W warunkach laboratoryjnych określono czynniki środowiskowe sprzyjające rozwojowi grzyba. Określenie optymalnego zakresu temperatury, w której *C. lupini* najlepiej się rozwija pozwala monitorować stan zdrowotności upraw oraz z wyprzedzeniem reagować na pojawienie się patogena. Z przeprowadzonych badań wynika, że optymalna temperatura rozwoju grzybni wynosi między 15 a 25ºC. Większość doniesień naukowych wskazuje, że patogen preferuje temperaturę powyżej 20ºC. Według Nirenberg i wsp. (2002) oraz Thomas i wsp. (2008b) optimum tempa wzrostu grzybni w 25ºC wynosi 3,0-3,6 mm na dobę. Z kolei Falconi i współpracownicy (2013) potwierdzają szybszy wzrost *C. acutatum* uzyskanego z łubinu w temperaturze 15ºC, co może wskazywać na zdolność adaptacji patogena do niższej temperatury. Thomas i wsp. (2008b) wykazali brak wzrostu patogena w temperaturze 5ºC. Podobne wyniki uzyskano w przeprowadzonym doświadczeniu. Grzybnia *C. lupini* hodowana na podłożu z mączką łubinową rosła nieco szybciej niż na podłożu PDA. Zdecydowanie najwolniej patogen rósł na pożywce mineralnej. W literaturze fachowej można spotkać się ze stwierdzeniem, że grzybnia do szybkiego wzrostu potrzebuje podłoża zasobnego w łatwo dostępne składniki odżywcze, natomiast do obfitego zarodnikowania podłoża ubogiego (Kiraly i wsp. 1977). W kolejnych badaniach ustalono, że optimum pH dla hodowli *C. lupini* wynosi ok. 4,5. Wzrost pH do lekko kwaśnego (6,2) bardziej ograniczał wzrost patogena niż obniżenie do bardzo kwaśnego (3,5). Środowisko kwaśne sprzyja rozwojowi grzybni *C. lupini,* jednak spostrzeżenie to nie znajduje potwierdzenia w dostępnej literaturze.

Jednym z ważnych elementów wpływających na rozwój patogena, takiego jak *C. lupini*, są inne mikroorganizmy występujące w danym środowisku, wzajemnie na siebie oddziałujące. Z powszechnie izolowanych ze środowiska gatunków grzybów, wzrost *C. lupini* najskuteczniej ograniczał gatunek *Trichoderma harzianum*. Grzyby rodzaju *Trichoderma* znane są z właściwości hamujących wzrost grzybów występujących w ich sąsiedztwie, co jest związane z uwalnianiem do środowiska związków fungistatycznych, enzymów degradujących ścianę komórkową, bardzo szybkim wzrostem *T. harzianum* i zajmowaniem siedliska (El-

Komy i wsp. 2015, Zin, Badaluddin 2020, Alfiky, Weisskopf 2021, Ruangwong i wsp. 2021). Ten ostatni w swoich badaniach potwierdza skuteczność zastosowania *T. koningiopsis* w biokontroli *C. gloeosporioides*. Grzyby rodzaju *Fusarium* wytwarzają metabolity wtórne działające hamująco na mikroorganizmy (Ibrahim i wsp. 2018). Spośród grzybów rodzaju *Fusarium* jedynie *F. culmorum* hamowało wzrost *C. lupini*, natomiast *C. lupini* hamowało wzrost *F. poae*. Może to mieć odzwierciedlenie w przeprowadzonej ocenie zdrowotności łubinu, gdzie występowanie antraknozy łubinu nie wykluczało pojawienia się zgorzeli siewek powodowanej przez grzyby rodzaju *Fusarium*. Również *B. cinerea* hamował wzrost *C. lupini*. Indywidualny efekt biotyczny *C. lupini* wobec wymienionych gatunków grzybów potwierdza przedstawione powyżej wyniki.

Bardzo ciekawe wyniki uzyskano oddziałując na wzrost grzybni *C. lupini* izolatami bakterii. Spośród nich izolaty: PSDM 19, 20, 21, 22, PS 3, 13, 15, oraz *Lactobacillus brevis* (LAC1 i LAC3) wykazywały znaczące oddziaływanie hamujące na badanego patogena. W dostępnej literaturze są jedynie nieliczne dane na ten temat. Alkemade i wsp. (2022a) uzyskali pozytywne efekty w ograniczeniu infekcji przez patogena stosując kilka gatunków bakterii (*Pseudomonas fluorescens, Bacillus subtilis, Paraburkholderia phytofirmans* i *Streptomyces griseoviridis*) oraz dwa gatunki grzybów (*Clonostachys rosea*, *Trichoderma asperellum*) jako czynniki ochrony biologicznej w ściśle kontrolowanych warunkach.

Zaobserwowano, że patogeniczność izolatów *C. lupini* była najwyższa w stosunku do siewek gatunku łubinu, z którego zostały pozyskane. Wyjątek stanowiły izolaty pochodzące z łubinu wieloletniego. Może być to związane z porażaniem łubinu wieloletniego i rozwojem patogena przez kilka lat na tej samej roślinie. Patogeniczność *C. lupini* może mieć duże znaczenie przy wysiewie z własnych nasion jednej odmiany łubinu w zasiewach polowych. Wykluczenie zmienności (różnorodności w zakresie łubinu) podyktowane oszczędnością może negatywnie wpłynąć na zdrowotność łubinu, a tym samym na dochodowość jego uprawy. Liczne doniesienia o wyższej podatności na *C. lupini* łubinu żółtego oraz łubinu białego niż łubinu wąskolistnego mogą wiązać się ze zdecydowanie większą patogenicznością pochodzących z tych dwóch gatunków izolatów. Potwierdzają to również inni autorzy (Horoszkiewicz–Janka i wsp. 2011, 2020). Jednym z czynników odporności łubinu wąskolistnego na *C. lupini* jest jego budowa, a mianowicie obecność dużej ilości włosków (kutner) na powierzchni liścia, co stanowi barierę, która uniemożliwia przyleganie kropli wody wraz zarodnikami. Uniemożliwia to infekcję, co stanowi mechanizm odporności biernej. Książkiewicz ze współpracownikami (2022) wskazują, że kluczowym elementem

dużej odporności łubinu wąskolistnego na antraknozę jest zdolność wczesnej reakcji obronnej na infekcję - najpóźniej po 12 godzinach.

Na agresywność patogena wpływa wiele czynników. Jednym z nich jest próg infekcyjności, czyli najniższa liczba zarodników wymagana do zakażenia rośliny oraz czas trwania infekcji. Według Dubrulle i współpracowników (2020b) *C. lupini* przechodzi do fazy nekrotroficznej w 72-84 godzinie po infekcji (3-4 doby). Riegel i wsp. (2008) wskazuje, że występowanie objawów infekcji zależy od wirulencji szczepów. Podczas trwania analizy progu infekcyjności, na siewkach nie obserwowano zmian nekrotycznych trzeciej ani dziewiątej doby. Progiem infekcyjności w doświadczeniu, który powodował infekcję badanych gatunków i odmian łubinu, stanowiło stężenie $16x10^3$ zarodników *C. lupini* na 1ml wody. Muth i wsp. (2009) w swoich doświadczeniach stosowała stężenie 2×10^6 zarodnika/ml, zaś Alkamade i wsp. (2022a) 10^5 zarodników/ml. W celu ustalenia ilości DNA w siewkach wykorzystano metodę qPCR zakładając, że występowanie DNA patogena w tkankach roślinnych oznacza udaną infekcję. Uzyskane wyniki potwierdzają, że łubin żółty ze wszystkich badanych gatunków jest najbardziej podatny na infekcję przez *C. lupini*, zwłaszcza odmiana Markiz, która była infekowana przy najmniejszym zastosowanym stężeniu zarodników. Zastanawiającą zależnością, zaobserwowaną w niniejszym doświadczeniu, jest większa podatność odmian o zdeterminowanym wzroście (samokończących) na infekcję. Trudnym do zinterpretowania faktem, nie korespondującym z wynikami badań polowych jest fakt, że łubin biały, szczególnie odm. Boros potrzebował do skutecznej infekcji najwyższego stężenia zarodników *C. lupini*. Odmiany łubinu białego wydają się najmniej podatne na infekcję. Nawet w czasie 9-tej doby w tych roślinach oznaczono najniższe miano ilości DNA patogena. Może wiązać się to z wyhodowaniem nowych odmian rejestrowanych po epidemii antraknozy łubinu w latach 90-tych XX w., które są bardziej odporne na *C. lupini,* ale przypuszczenia te nie potwierdzają doniesienia literatury (Rychel-Bielska i wsp 2020). Zakłada się, że mechanizmy odporności notowane w łubinie białym różnią się od występujących w pozostałych gatunkach łubinów uprawnych (Talhinhas i wsp. 2016, Alkemade i wsp. 2022b), lecz dokładne wyjaśnienie tego zjawiska wymaga przeprowadzenia kolejnych badań.

Uzyskane wyniki pozwalają na zrozumienie niektórych zagadnień związanych z biologią, występowaniem i zwalczaniem *C. lupini*, a jednocześnie pojawiające się nowe doniesienia dotyczące patogena wymagają dalszych szczegółowych badań.

8. WNIOSKI

1. Antraknoza jest chorobą zagrażającą uprawom łubinu, a patogenem który ją powoduje jest *Colletotrichum lupini*.
2. Spośród gatunków łubinów uprawianych w Polsce: łubin biały (*Lupinus albus*) i łubin żółty (*L. luteus*) są silniej porażane przez *C. lupini* niż łubin wąskolistny (*L. angustifolius*).
3. Typ wzrostu odmian łubinu (łubin samokończący bądź o niezdeterminowanym wzroście) nie wpływa na nasilenie występowania objawów antraknozy łubinu.
4. Przedsiewne zaprawianie nasion skutecznie ogranicza nasilenie antraknozy w początkowym okresie rozwoju łubinu.
5. Opryskiwanie łubinu fungicydami w okresie wegetacji zapewnia ochronę roślin przed antraknozą łubinu w późniejszych fazach rozwojowych.
6. Stymulatory wzrostu (Asahi SL, Bio-algeen), związki srebra ($AgNO_3$, nanocząstkowy SBTC) lub tytanu (TiO_2, tytan nanocząstkowy) w zadowalającym stopniu chronią łubiny przed porażeniem przez *C. lupini*.
7. Czynniki biologiczne najmniej efektywnie chronią rośliny łubinu przed infekcją przez *C. lupini.*
8. Deszczowa pogoda, przy umiarkowanej temperaturze w fazie pąkowania łubinu sprzyja wzrostowi nasilenia choroby na pędach i strąkach łubinu.
9. Niższe nasilenie objawów infekcji *C. lupini* na pędach jest skorelowane z niższym nasileniem objawów chorobowych na strąkach.
10. Optymalna temperatura rozwoju *C. lupini* w warunkach laboratoryjnych wynosi od 15 do 25 °C.
11. Rosnące w warunkach laboratoryjnych kolonie *C. lupini* preferują pożywki o niskim pH 4,7.
12. Niektóre grzyby powszechnie izolowane ze środowiska uprawnego łubinu oraz z jego nasion (*Trichoderma harzianum*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*) mogą hamować rozwój *C. lupini.*
13. Największą patogeniczność wobec siewek łubinu wykazały izolaty pochodzące z łubinu trwałego, a najbardziej podatne były siewki łubinu żółtego i łubinu wąskolistnego.
14. Stężenie $16x10^3$zarodników w ml wody stanowiło próg infekcyjności dla badanych odmian łubinu.

15. W badaniach molekularnych najbardziej odporny na infekcję przez *C. lupini* okazał się łubin biały odm. Boros i Butan, a najbardziej podatny był łubin żółty odm. Markiz oraz łubin wąskolistny odm. Sonet.
16. Z nasion różnych gatunków i odmian łubinu najczęściej izolowano *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea, Colletotrichum lupini*, *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. i *Trichoderma* sp.
17. Gatunki patogeniczne, m.in. *C. lupini*, najczęściej izolowano z nasion poślednich.
18. Po półrocznym przechowywaniu nastąpił nieznaczny spadek liczebności *C. lupini*.

9. PIŚMIENNICTWO

1. Abraham E.M., Ganopoulos I., Madesis P., Mavromatis A., Mylona P., Nianiou-Obeidat I., Parissi Z., Polidoros A. , Tani E., Vlachostergios D. 2019. The use of lupin as a source of protein in animal feeding: genomic tools and breeding approaches. Int. J. Mol. Sci. 2019, 20, 851.
2. Adhikari K. N., Buirchell B. J., Thomas G. J., Sweetingham M. W., Yang H. 2009. Identification of anthracnose resistance in *Lupinus albus* L. and its transfer from landraces to modern cultivars. Crop and Pasture Science 60(5) 472–479.
3. Adomas B., Piotrowicz–Cieślak A.I., Kowalik K. 2005. Wartość biologiczna białka nasion łubinu. Postępy Nauk Rolniczych 5: 55-63.
4. Alfiky A., Weisskopf L. 2021. Deciphering *Trichoderma*–plant–pathogen interactions for better development of biocontrol applications. J. Fungi 7 (1): 61. https://doi.org/10.3390/jof70100 61
5. Alkemade J.A, Arncken C., Hirschvogel C., Messmer M.M., Leska A., Voegele R.T., Finckh M.R., Kölliker R., Groot S.P.C., Hohmann P. 2022a. The potential of alternative seed treatments to control anthracnose disease in white lupin. Crop Protection 158. 106009 https://doi.org/10.1016/j.cropro.2022.106009
6. Alkemade J.A, Nazzicari N., Messmer M.M., Annicchiarico P., Ferrari B., Voegele R.T., Finckh M. R., Arncken C., Hohmann P. 2022b Genome-wide association study reveals white lupin candidate gene involved in anthracnose resistance. Theoretical and Applied Genetics 135: 1011–1024. https://doi.org/10.1007/s00122-021-04014-7
7. Alkemade J.A., Messmer M.M., Voegele R.T., Finckh M.R., Hohmanna P. 2021. Genetic diversity of *Colletotrichum lupini* and its virulence on white and Andean lupin. Sci Rep 11: 13547.
8. Andrzejewska J., Ignaczak S., Barzyk P. 2016. Oil content and fatty acid profile in seeds of Polish breeding lines and cultivars of legumes. Acta Sci. Pol. Agricultura, 15(2) 2016: 3-13.
9. Arnoldi A. 2008. Nutraceutical properties of white and nrrow- leaved lupin. "Lupins for health and Wealth" Proceedings of the 12th International Lupin Conference, Fremantle, West Australia, 14-18 September 2008: 452-454.
10. Arroyo F.J., Daza P., Torreblanca J., Garcia- Herdugo G., De los Santos B., Barrau C., Blanco C., Porras M., Romero F. 2002. Development of *Colletotrichum acutatum* in the foliar tissue of strawberry plants. Plant Protection Science 38 (2): 429–431.
11. Arx J.A. 1970. The genera of fungi sporulating in pure culture. Lehre.
12. Barnett H. L. 1965. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company. Minneapolis, pp: 225.
13. Baroncelli R., Talhinhas P., Pensec F., Sukno S.A., Le Floch G., Thon M.R. 2017. The *Colletotrichum acutatum* species complex as a model system to study evolution and host specialization in plant pathogens. Frontiers in Mycrobiology 8:2001. doi: 10.3389/fmicb.2017.02001
14. Baroncelli R, Zapparata A, Sarrocco S, Sukno SA, Lane CR, Thon MR, Vannacci G, Holub E, Sreenivasaprasad S. 2015. Molecular diversity of anthracnose pathogen populations associated with UK strawberry production suggests multiple introductions of three different Colletotrichum species. PLoS One.;10:e0129140.

15. Bebeli P.J., Lazaridi E., Chatzigeorgiou T., Suso M.J., Hein W., Alexopoulos A.A., Canha G., van Haren R. J.F., Jóhannsson M. H., Mateos C., Neves-Martins J., Prins U., Setas F., Simioniuc D. P., Talhinhas P., van den Berg M. 2020. State and Progress of Andean Lupin Cultivation in Europe: A Review. Agronomy 10 (7), 1038.

16. Belėn Monteagudo A., Lindner R., Fortes R. 2005. Karyotype of Lupinus hispanicus subsp. bicolor from Galicia (Northwest of the Iberian Peninsula) Caryologia 58 (3): 238-240.

17. Berner D. K., Cavin C. A., McMahon M. B. 2006. First Report of Anthracnose of *Salsola tragus* Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in Greece. 90 (7): 971.

18. Bhardwaj H.L. 2002. Evaluation of Lupin as a New Food/Feed Crop in the US Mid-Atlantic Region. Trends in new crops and new uses: 115-119.

19. Bhardwaj H.L., Hamama A.A., van Santen E. 2004. Fatty Acids and Oil Content in White Lupin Seed as Affected by Production Practices. JAOCS 81(11): 1035-1038.

20. Bieniaszewski T., Kurowski T.P., Szwejkowski Z., Szukała J., Horoszkiewicz M., Kaszuba M. 2007. Mieszanki samokończących odmian łubinu żółtego i ich wpływ na plonowanie i jakość nasion. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 522: 127-136.

21. Bieniaszewski T., Szwejkowski Z., Horoszkiewicz M. 2006a. Mieszanki odmianowe łubinu żółtego o niezdeterminowanym wzroście i ich wpływ na plonowanie oraz wartość pastewną nasion. Materiały Konferencyjne. Strategie Wykorzystania Roślin strączkowych. Zakopane, 25-27 września 2006: 61.

22. Bieniaszewski T., Szwejkowski Z., Horoszkiewicz M. 2006b. Mieszanki samokończących odmian łubinu żółtego i ich wpływ na plonowanie oraz wartość pastewną nasion. Materiały Konferencyjne. Strategie Wykorzystania Roślin strączkowych. Zakopane, 25-27 września 2006: 62.

23. Bojarszczuk J. Księżak J. 2018. Stan obecny i perspektywy uprawy roślin strączkowych w Polsce. Roczniki Naukowe Seria 20 (5): 15-20.

24. Booth C. 1971. The genus Fusarium. Comm. Mycol. Inst. Kew, Surrey.

25. Buirchell B.J. 2008. Narrow-leafed lupin breeding in Australia -where to from here? 'Lupins for Health and Wealth' Proceedings of the 12th International Lupin Conference, Fremantle, Western Australia, 14-18 Sept. 2008: 226-230.

26. Burgieł Z., 1984. Wpływ niektórych herbicydów na występowanie i rozwój patogenów powodujących choroby podsuszkowe pszenicy ozimej. Cz. II. Rozwój patogenów. Acta Agr. Silv., Agraria XXIII: 187-196.

27. Cano J., Guarro J., Gene J. 2004. Molecular and morphological identification of *Colletotrichum* species of clinical interest. Journal of Clinical Microbiology 42(6): 2450–2454.

28. Cannon P.F., Damm U.,Weir B.S. 2012. *Colletotrichum* – current status and future directions. Studies in Mycology 73: 181-213.

29. Cai, L., Hyde, K.D., Taylor, P.W.J., Weir, B.S., Waller, J.M. , Abang, M.M., Zhang, J.Z., Yang, Y.L., Phoulivong, S., Liu, Z.Y., Prihastuti, H., Shivas, R.G., McKenzie, E.H.C., Johnston, P.R. 2009. A polyphasic approach for studying Colletotrichum. Fungal Diversity 39: 183-204.

30. Chudy M., Święcicki W.K. 2006. Grain Legumes- projekt badawczy w VI programie ramowym UE. Materiały Konferencyjne. Strategie Wykorzystania Roślin strączkowych. Zakopane, 25-27 września 2006: 14.

31. Ciesiołka D., Gulewicz P., Martinez-Villaluenga C., Pilarski R., Bednarczyk M., Gulewicz K. 2005. Products and biopreparations from alkaloid-rich lupin in animal nutrition and ecological agriculture. Folia biologica 53: 59-66.

32. Cocking E.C. 2003. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. Plant and Soil 252: 169–175.

33. Cowling W. A., Hamblin J., McR Wood P., Gladstones J. S. 1987. Resistance to Phomopsis Stem Blight in *Lupinus Angustifolius* L. Crop Sci 27: 648-652.

34. Cwalina-Ambroziak B., Kurowski T.P. 2005**.** Ksztaltowanie sie zbiorowiska grzybow izolowanych z nasion łubinu żółtego [*Lupinus luteus* L.] pod wplywem okresu przechowywania**.** Acta Agrobotanica 58 (2): 407–416.

35. Damm, U., Cannon, P. F., Woudenberg, J. H. C., Crous, P. W. 2012. The *Colletotrichum acutatum* species complex. Studies in Mycology 73, 37-113.

36. Damm U., Cannon P.F., Woudenberg J.H.C., Johnston P.R., Weir B.S, Tan Y.P., Shivas R.G., Crous P.W. 2021. The *Colletotrichum boninense* species complex. Stud. Mycol. 73:1-36.

37. Dean R.,Van Kan J.A.L., Pretorius Z.A., Hammond-Kosack K.E., Di Pietro A., Spanu P.D., Rudd J.J., Dickman M., Kahmann R., Ellis J., Foster G.D. 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology 13(4), 414–430.

38. Debode J.,Van Hemelrijck W.,Baeyen S.,Creemers P.,Heungens K.,Maes M. 2009. Quantitative detection and monitoring of *Colletotrichum acutatum* in strawberry leaves using real-time PCR. Plant Pathology (2009) 58: 504–514.

39. Debrunner N., Rauber A.-L. 2000. First Report of St. John's-Wort Anthracnose Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in Switzerland. Plant Disease 84 (2):203.

40. Dick M.A. 1994. Blight of Lupinus arboreus in New Zealand. New Zealand Journal of Forestry Science 24(1): 51-68.

41. Dijkink B., Miedendrop de Bie V., Blom W. 2008. Altering lupine flour for the food industry. "Lupins for Health and Wealth" Proceedings of the 12th International Lupin Conference, Fremantle, West Australia, 14-18 September 2008: 455-458.

42. Domsch K.H., Gams W. 1972. Fungi in agricultural soil. Longman Group Limited, London, pp: 290.

43. Dubrulle G., Pensec F., Picot A., Rigalma K., Pawtowski A., Nicolleau S., Harzic N., Nodet P., Baroncelli R.,Le Floch G. 2020a. Phylogenetic diversity and effect of temperature on pathogenicity of *Colletotrichum lupini*. Plant Dis. 104: 938–950.

44. Dubrulle G, Picot A., Madec S., Corre E., Pawtowski A., Baroncelli R., Zivy M., Balliau T., Le Floch G., Pensec F. 2020b Deciphering the infectious process of *Colletotrichum lupine* in lupin through transcriptomic and proteomic analysis. *Microorganisms*, 8(10),1621; https://doi.org/10.3390/microorganisms8101621.

45. Eastwood R.J., Hughes C.E. 2008. Origins of Domestication of Lupins mutabilis in the Andes. "Lupins for Health and Wealth" Proceedings of the 12th International Lupin Conference, Fremantle, West Australia, 14-18 September 2008: 373-379.

46. El-Komy M.H., Saleh A.A., Eranthodi A., Molan Y.Y. 2015. Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato *Fusarium* Wilt. Plant Pathol J. 31(1): 50–60.

47. Ellis M. B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Comm. Mycol. Inst. Kew, Surrey.

48. Elmer W.H. 2001. Seeds as vehicle for pathogen importation. Biological Invasions 3: 263-271.

49. Erbas M., Certel M., Uslu M. K. 2005. Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus* L.) Food Chemistry 89(3): 341-345.

50. Falconi C.E., Visser G.F., van Heuden A.W. 2013. Phenotypic, molecular and pathological characterization of *Colletotrichum acutatum* associated with Andean lupine and tamarillo in Ecuadorian Andes. Plant Dis, 97(6): 819-827

51. Falconi C.E., Yanez-Mendizabal V. 2016. Dry heat treatment of Andean lupin seed to reduce anthracnose infection. Crop. Prot. 89: 178–183.

52. Fassatiová O. 1983. Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej. Wydawnictwo Naukowo- Techniczne, Warszawa, pp: 256.

53. Feiler U., Nirenberg H.I., Urban A. 1999. *Colletotrichum* on lupins- detection and biological investigations. "Lupin, an Ancient Crop for the New Millenium". Proceedings of the 9th International Lupin Conference, Klink/Műritz, Germany, 20-24 June 1999: 48-51.

54. Fiedorow Z., Gołębniak B., Weber Z. 2008. Choroby roślin rolniczych. Akademia Rolnicza, Poznań: 148-154.

55. Filoda G. 2004. *Colletotrichum gloeosporioides* – a new pathogen of st. John's Wort (*Hypericum perforatum*) in Poland. Phytopathol. Pol. 34: 71-79.

56. Filoda G. 2007. Antraknoza dziurawca. Ochrona roślin 6: 31-32.

57. Filoda G., Horoszkiewicz J. 2001. Wpływ zapraw fungicydowych na rozwój, zdrowotność i plon nasion łubinu żółtego. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu, Rolnictwo LXXXII 427: 165-173.

58. Filoda G., Horoszkiewicz-Janka J. 2003a. Wpływ infekcji pierwotnej na rozwój i szkodliwość antraknozy łubinu żółtego. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 495: 237-242.

59. Filoda G., Horoszkiewicz-Janka J. 2003b. Wpływ fungicydów stosowanych do ochrony łubinu przed antraknozą na plon i jakość nasion. Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin 43(2): 613-615.

60. Fisher K., Dieterich R., Nelson M.N., Kamphuis L.G., Singh K.B., Rotter B., Krezdorn N, Winter P., Wehling P., Ruhe Wehling B., 2015. Characterization and mapping of LanrBo: a locus conferring anthracnose resistance in narrow-leafed lupin (Lupinus angustifolius L.). Theoretical and Applied Genetics 128:2121-2130.

61. Frencel I. 1993. Zagadnienia hodowli odpornościowej łubinu w badaniach podstawowych. Mat. Sem. PTŁ Poznań, Łubin w gospodarce i życiu człowieka: 41-51.

62. Frencel I. 1998. Report on first detection of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on lupins in Poland. Plant Disease 82(3): 350.

63. Frencel I. 1999. Postępy badań nad antraknozą łubinów (*Gromerella cingulata / Colletotrichum gloeosporioides*) w Polsce i Europie. Materiały Konferencyjne.

International Conference „Lupin in Polish and European Agriculture”. Przysiek, 2-3 wrzesień: 199-207.

64. Frencel I., Lewartowska E., Czerwińska A. 1997. Występowanie antraknozy (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) na łubinach w Polsce. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 446: 467-470.

65. Fryirs C., Eisenhaur B., Duckworth S. 2008. Luteins in lupin- an eye for health. “Lupins for Health and Wealth” Proceedings of the 12th International Lupin Conference, Fremantle, West Australia, 14-18 September 2008: 488-495.

66. Fychan R., Marley C., Lewis G., Davies R., Theobald V., Jones R., Abberton M. 2008. Effect of feeding concentrate diets containing narrow-leafed lupin, yellow lupin or soya when compared with a control diet on the productivity of finishing lambs. “Lupins for Health and Wealth” Proceedings of the 12th International Lupin Conference, Fremantle, West Australia, 14-18 September 2008: 127-130.

67. Galek R., Rawicka Sienkiewicz E., Zalewski D., Skawiński S., Spychała K. 2017. Searching for low alkaloid forms in the Andean lupin (*Lupinus mutabilis*) collection. Czech J. Genet. Plant Breed., 53: 55-62.

68. Gams W. 1971. Cephalosporium-artige schimmelpilze (Hyphomycetes). VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.

69. Gdala J., Buraczewska L., Wasilewko J. 1995. Strawność aminokwasów i wartość pokarmowa białka nasion łubinu żółtego (*Lupinus luteus*) dla rosnących świń. Postępy w badaniach łubinu. Poznań 1995: 83-85.

70. Gilman J.C. 1957. A manual of soil fungi. ISCP Ames, Iowa.

71. Głosek-Sobieraj, M., Cwalina-Ambroziak, B., Waśkiewicz, A., Hamouz K., Perczak A. 2019. The effect of biostimulants on the health status and content of chlorogenic acids in potato tubers (*Solanum Tuberosum* L.) with colored flesh. Gesunde Pflanzen 71: 45–60. https://doi.org/10.1007/s10343-018-00441-7

72. Główny Urząd Statystyczny Rocznik Statystyczny Rolnictwa. Warszawa 2017.

73. Gorczyca A., Przemieniecki S.W., Kurowski T., Oćwieja M. 2018. Early plant growth and bacterial community in rhizoplane of wheat and flax exposed to silver and titanium dioxide nanoparticles. Environmental Science and Pollution Research 25: 33820–33826.

74. Gross R., von Bear E., Koch F., Morquard R. 1988. Chemical composition of a new variety of the Andean lupin (*Lupinus mutabilis* cv. Inti with low-alcaloid content. Journal of food composition and analysis 1: 353-361.

75. Guilengue N., Alves S., Talhinhas P., Neves-Martins J. 2020. Genetic and Genomic Diversity in a Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) Germplasm Collection and Adaptability to Mediterranean Climate Conditions. Agronomy 2020, 10(1), 21;

76. Haesen E.S. 2018. Efficacy of non-synthetic seed treatments against anthracnose (*Colletotrichum lupini*) in white lupin. ETH Zurich Department of Environmental Systems Science Institute of Agricultural Sciences. Master’s Thesis.. ss: 78.

77. Hall R.S., Thomas S. J., Johnson S. K. 2005. Australian sweet lupin flour addition reduces the glycaemic index of a white bread breakfast without affecting palatability in healthy human volunteers. Asia Pac. J. Clin. Nutr. 14 (1): 91-97.

78. Hodgson J., Lee Y.P. 2008. Potential for benefit of lupin on obesity and cardiovascular disease risk in humans. "Lupins for Health and Wealth" Proceedings of the 12th International Lupin Conference, Fremantle, West Australia, 14-18 September 2008: 466-468.

79. Horoszkiewicz-Janka J., Jajor E., Korbas M. 2012. Usage of biopreparations as seed dressings in legume cultivation./ Wykorzystanie biopreparatów do zaprawiania nasion roślin strączkowych (bobowe). Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering 57(3): 162-166

80. Horoszkiewicz-Janka J., Korbas M., Jajor E., Danielewicz J. 2020. Możliwości ograniczania antraknozy (*Colletotrichum* spp.) w uprawie łubinu przy użyciu fungicydów. Progress in Plant Protection 60 (2): 75-80.

81. Horoszkiewicz-Janka J., Korbas M., Jajor E., Krawczyń R. 2011. Zdrowotność łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.) uprawianego w systemie konwencjonalnym i w okresie przestawiania na system ekologiczny. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering 55(3): 143-146.

82. Howieson J.G., O'Hara G.W., Carr S.J. 2000. Changing roles for legumes in Mediterranean agriculture: developments from an Australian perspective. Field Crops Research 65: 107-122.

83. Huyghe C. 1997. White lupin (*Lupinus albus* L.). Field Crops Research 53:147-160 .

84. Hyde K.D., Cai L., Cannon P.F., Crouch J.A., Crous P.W., Damm U., Goodwin P.H., Chen H., Johnston P.R., Jones E.B.G., Liu Z.Y., McKenzie E.H.C., Moriwaki J., Noireung P., Pennycook S.R., Pfenning L.H., Prihastuti H., Sato T., Shivas R.G., Tan Y.P., Taylor P.W.J., Weir B.S., Yang Y.L., Zhang J.Z. 2009. *Colletotrichum* – names in current use. Fungal Diversity 39: 147-182.

85. Ibrahim S.R.M., Mohamed G.A., Al Haidari R.A., Zayed M. F., El-Kholy A. A., Elkhayat E.S., Ross S. A. 2018. Fusarithioamide B, a new benzamide derivative from the endophytic fungus *Fusarium chlamydosporium* with potent cytotoxic andantimicrobial activities. Bioorganic & Medicinal Chemistry 26: 786-790.

86. Iqbal, M.M., Erskine, W., Berger, J.D., Udall, J.A., Nelson, M.N. 2020. Genomics of yellow lupin (*Lupinus luteus* L.). in: Singh, K., Kamphuis, L., Nelson, M. (eds) The Lupin Genome. Compendium of Plant Genomes. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-21270-4_11

87. Jackson M.A. Bothast R.J. 1990. Carbon Concentration and Carbon-to-Nitrogen Ratio Influence Submerged-Culture Conidiation by the Potential Bioherbicide *Colletotrichum truncatum* NRRL 13737. Appl Environ. Microbiol. 56(11): 3435-3438.

88. Jackson M.A., Schiller D.A. 1995. Liquid culture production of microsclerotia of *Colletotrichum truncatum* for use as bioherbicidal propagules. Mycol. Res. 99(7): 879-884.

89. Januszewicz E.K., Suchowilska E. 2003. Reakcja na suszę nowych odmian łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.), część I- Reakcja na susze posiewną. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 495: 27-37.

90. Jańczak C. 2000. Antraknoza – choroba dominująca w latach1998-1999, jej szkodliwość i próby zwalczania. Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin 40: 195-200.

91. Jańczak C., Filoda G., Horoszkiewicz-Janka J. 2003. Antraknoza łubinu w Polsce w latach 1999-2002, zwalczanie i skuteczność działania środków grzybobójczych. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 495: 251-260.

92. Jańczak C., Horoszkiewicz J. Filoda G. 2002. Choroby grzybowe łubinu – skład gatunkowy patogenów, występowanie, zalecenia zwalczania. Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin 42(1): 39-45.

93. Jańczak C., Horoszkiewicz J. Filoda G.1999. Choroby grzybowe łubinu i próby ich zwalczania. Ochrona Roślin 10: 7-10.

94. Jasińska Z., Kotecki A. 1993. Rośliny strączkowe. Wydawnictwo naukowe PWN Warszawa: 1-206.

95. Jayawardena R.S., Hyde K.D., Chen Y.J., Papp V., Palla B., Papp D., Bhunjun C.S., Hurdeal V.G., Senwanna C., Manawasinghe I.S., Harischandra D.L., Gautam A.K., Avasthi S., Chuankid B., Goonasekara I.D., Hongsanan S., Zeng X.Y., Liyanage K.K., Liu N.G., Karunarathna A., Hapuararchchi K.K., Luangharn T., Raspé O., Brahamage R., Doilom M., Lee H.B., Mei L., Jeewon R., Huanraluek N., Chaiwan N., Stadler M., Wang Y. 2020. One stop shop IV: taxonomic update with molecular phylogeny for important phytopathogenic genera: 76–100 2020. Fungal Divers 103:87–218.

96. Jerzak M.A. 2016. Możliwości restytucji rynku rodzimych roślin strączkowych na cele paszowe w Polsce. Stowarzyszenie Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu- Roczniki Naukowe XVI, 3: 104-109.

97. Johnso S.K., Chua V., Hall R. S., Baxter A. L. 2006. Lupin kernel fibre foods improve bowel function and beneficially modify some putative faecal risk factors for colon cancer in men. British Journal of Nutrition 95: 372–378.

98. Kamber T., Malpica-López N., Messmer M.M., Oberhänsli T., Arncken C., Alkemade J.A., Hohmann P. 2021. A qPCR assay for the fast detection and quantification of *Colletotrichum lupini*. Plants 10(8), 1548. https://doi.org/10.3390/plants10081548

99. Katańska-Kaczmarek A., Majchrzycki D., Mikulski W. 2006. Ekonomiczne aspekty wykorzystania roślin strączkowych w uprawie polowej i żywieniu zwierząt gospodarczych w dobie biopaliw. Materiały Konferencyjne. Strategie Wykorzystania Roślin Strączkowych. Zakopane, 25-27 września 2006: 17.

100. Kennedy, I.R., Cocking, E.C., 1997. Biological nitrogen fixation: the global challenge and future needs. A position paper. The Rockefeller Foundation Bellagio Conference Centre, Lake Como, Italy, 8-12 April 1997: 7.

101. Kiraly Z., Klement Z., Solymosy F., Vörös J. 1977. Fitopatologia wybór metod badawczych. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne. Warszawa 460 ss.

102. Kłos P., Lampart-Szczapa E. 2006. Analiza potencjału alergennego białek łubinu wąskolistnego (*Lupins angustifolius*, odmiana Baron). Optymalizacja warunków metody immunoblotingu. Materiały Konferencyjne. Strategie Wykorzystania Roślin Strączkowych. Zakopane, 25-27 września 2006: 96.

103. Knops J.M.H., Barthell J.F. 1996. Flower abundance in a population of Sky lupine (*Lupinus nanus*) over three years in central coastal California. Matrono 43, 1: 85-92.

104. Kotecki A., Kozak M., Wincewicz E., Zawadzki W. 2001. Uprawa łubinu żółtego na nasiona w siewie czystym i współrzędnym z pszenżytem jarym. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu, Rolnictwo LXXXI, 426: 73-91.

105. Kotwica K., Rudnicki F. 2004. Efekty uprawy jarych mieszanek zbożowych i zbożowo-strączkowych na glebie kompleksu żytniego dobrego. Acta Sci. Pol., Agricultura 3(1):149-156.

106. Książkiewicz M., Rychel-Bielska S., Plewiński P., Bielski W., Nuc M., Kozak B., Krajewski P., Jędryczka M. 2022. A successful defense of the narrow-leafed lupin against anthracnose involves quick and orchestrated reprogramming of oxidation–reduction, photosynthesis and pathogenesis-related genes. Scientifc Reports 12: 8164. https://doi.org/10.1038/s41598-022-12257-7

107. Księżak J. 2006. Rozwój mieszanek łubinu wąskolistnego ze zbożami jarymi na różnych typach gleb. Materiały Konferencyjne. Strategie Wykorzystania Roślin strączkowych. Zakopane, 25-27 września 2006: 64.

108. Księżak J., Borowiecki J. 2001. Rośliny strączkowe w rolnictwie ekologicznym. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 426: 93-99.

109. Kulik T. 2008. Development of a duplex PCR assay for the simultaneous detection of *Fusarium poae* and *Fusarium sporotrichioides* from wheat. Journal of Plant Pathology 90 (3): 441-447.

110. Kulik T., Pszczółkowska A., Olszewski J., Fordoński G., Płodzień K., Sawicka-Sienkiewicz E. 2005. Identification of C*olletotrichum acutatum* from yellow and andean lupin seeds using pcr assay. Electron. J. Pol. Agron. U. 8:2

111. Kuptsov N., Kuptsov V. 1999. Breeding narrow-leafed lupin for complex resistance to fungal diseases. Materiały Konferencyjne. „Łubin we współczesnym rolnictwie". Olsztyn, 26-27 czerwiec: 215-218.

112. Kurlovich B.S. 2002. Lupins – Geography, Classiphication, Genetic Resources and Breeding. Publishing house "Intant". St. Petersburg: p.480.

113. Kurowski T.P., Bieniaszewski T., Jaźwińska E. 2005. Stan sanitarny łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) w zróżnicowanych warunkach agrotechnicznych. Acta Agrobot. 59(2): 395-406.

114. Kurowski T.P., Bieniaszewski T., Szukała J., Jaźwińska E. 2006. Zdrowotność łubinu żółtego uprawianego w mieszaninach odmian. Materiały Konferencyjne. Strategie Wykorzystania Roślin strączkowych. Zakopane, 25-27 września 2006: 65.

115. Kwaśna M., Chełkowski J., Zajkowski P. 1991. Sierpik (*Fusarium*). W: Grzyby (*Mycota*). Tom XXII. PAN, Warszawa-Kraków.

116. Lichtin N., Salvo-Garrido H., Till B., Caligari P.D.S., Rupayan A., Westermeyer F., Olivos M. 2020 Genetic and comparative mapping of *Lupinus luteus* L. highlight syntenic regions with major orthologous genes controlling anthracnose resistance and flowering time. Scientifc Reports 10:19174 https://doi.org/10.1038/s41598-020-76197-w

117. Lindbeck, K. D., Murray, G. M., Nikandrow, A., and Dominiak, B. C. 1998. Survey of anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in crop lupins (*Lupinus angustifolius, L. albus*) and ornamental lupins (*L. polyphyllus*) in New South Wales. Aust. Plant Pathol. 27:259-262.

118. Lisova R., Nedzinskienė T.L. 2006. Grybinių ligų išplitimas ir fungicidų efektyvumas geltonųjų lubinų pasėliuse. Žemdirbystė. Mokslo darbai 1(93): 63-79.

119. Litwinow M.A. 1967. Opredelitel mikroskopiczeskich poczwiennych gribow. Izdatelstwo „Nauka" Leningrad.

120. Livak K.J., Schmittgen T.D. 2001. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C}$T Method. Methods 25: 402–408 doi:10.1006/meth.2001.1262.

121. Lusje N.C. 2009. Nutritional evaluation of grain legumes for poultry : a thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Poultry

Nutrition at Massey University, Palmerston North, New Zealand. Massey University-doctoral: 1-150.

122. Łacicowa B. 1970. Badania szczepów *Helminthosporium sorokinianum* (*H. satinum*) oraz odporności odmian jęczmienia jarego na ten czynnik chorobotwórczy. Acta Mycol. 6,2: 187-248.

123. Malicki P. 2001. Odmiany roślin rolniczych wyhodowane w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w 2001 roku. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin 220: 283-287.

124. Malicki P. 2002. Nowe odmiany roślin rolniczych wyhodowane w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin 223/224: 427-432.

125. Mańka K.1974. Zbiorowiska grzybów jako kryterium oceny wpływu środowiska na choroby roślin. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 160: 9-21.

126. Marcinkowska J. 2003. Oznaczanie rodzajów grzybów ważnych w patologii roślin. Fundacja- Rozwój SGGW: 241 (1-328).

127. Marcinkowska J. 2007. Reappearance of *Phomopsis leptostromiformis* on yellow lupine in Poland. Phytopathol. Pol. 45: 67–69.

128. Maxted N., Bennett S. J. 2001. Plant genetic resources of legumes in the Mediterranean. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht: 378.

129. Mayer J., Scheid S., Widmer F., Fließbach A., Oberholzer H.R. 2010. How effective are 'Effective microorganisms (EM)? Results from a field study in temperate climate. Applied Soil Ecology 46(2): 230-239.

130. Mazurkiewicz J., Przybył A., Wudarczyk B., Rożek W. 2006. Przydatność odmian Sur i Mirella w ekstrudowanych mieszankach paszowych dla karpi. Materiały Konferencyjne. Strategie Wykorzystania Roślin Strączkowych. Zakopane, 25-27 września 2006: 89.

131. Muth D., Kachlicki P., Krajewski P., Przystalski M., Stobiecki M. 2009. Differential metabolic response of narrow leafed lupine (*Lupinus angustifolius*) leaves to infection with *Colletotrichum lupini.* Metabolomics 5: 354–362.

132. Msairi S., Chliyeh M., Ouazzani Touhami A., El Alaoui A., Selmaoui K., Benkirane R., Filali-Maltouf A., El Modafar C., Douira A. *2020. First report of *Colletotrichum lupini* causing anthracnose disease on the olive fruits in Morocco. Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology 21(5&6):1–11.

133. Narkiewicz-Jodko M., 1986. Wartość siewna przechowywanego ziarna trzech zbóż w aspekcie fitopatologicznym. Zesz. Nauk., AR Wrocław, Rozprawy 55, 1-56.

134. Naruszewicz M. 2006. Ocena klinicznych efektów działania białka łubinu (*Lupinus albus*). Materiały Konferencyjne. Strategie Wykorzystania Roślin Strączkowych. Zakopane, 25-27 września 2006: 13.

135. Natarajan S.V., Rekha N.S., Sharda R.D., Mahalingam N. 2013. *Colletotrichum keratitis*: a rare but definite clinical entity. J. Clin Diagn Res. 7(7): 1430–1433.

136. Neoh S-B. 2008. Opportunities for the use of lupines in Asia foods and animal feeds. "Lupins for Health and Wealth" Proceedings of the 12th International Lupin Conference, Fremantle, West Australia, 14-18 September 2008: 478-483.

137. Nirenberg H.I., Feiler U., Hagedorn G. 2002. Description of *Colletotrichum lupini* comb. Nov. in modern terms. Mycologia 92(2): 307- 320.

138. Nowicki B. 1995. Patogeniczne grzyby zasiedlające nasiona łubinu wąskolistnego. Acta Agrobot. 48 (2): 59–64.

139. Paulitz T.C., 1995. First report of *Colletotrichum gloeosporioides* on lupine in Canada. Plant Disease 79: 319.

140. Pastuszewska B. 2008. Pasza dla świń. Farmer 1: 14-15.

141. Pfaffl M.W. 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR. Nucleic Acids Research, 29, (9): 2002-2007.

142. Phan H.T.T., Ellwood S.R., Adhikari K., Nelson M.N., Oliver R.P. 2007. The First Genetic and Comparative Map of White Lupin (*Lupinus albus* L.): Identification of QTLs for Anthracnose Resistance and Flowering Time, and a Locus for Alkaloid Content. DNA RESEARCH: 1–12.

143. Pieczul K., Rataj-Guranowska M. 2004. *Colletotrichum* species causing lupins anthracnose in Poland. Phytopathol. Pol. 34:59-70.

144. Pieper R. Taciak M., Pieper L., Święch E.,Tuśnio A., Barszcz M., Vahjen W., Skomlał J., Zentek J. 2016. Comparison of the nutritional value of diets containing differentially processed blue sweet lupin seeds or soybean meal for growing pigs. Anim. Feed Sci. Technol., 221: 79–86.

145. Podleśny J. 2005. Rośliny strączkowe w Polsce- perspektywy uprawy i wykorzystanie nasion. Acta Agrophysica 6(1): 213-224.

146. Podleśny J. 2006. Przydatność siewu punktowego w uprawie wybranych gatunków roślin strączkowych. Inżynieria Rolnicza 13: 385-392.

147. Podleśny J. 2008. Przydatność nowych odmian łubinu żółtego do uprawy na zieloną masę. Pamiętnik Puławski 147: 189-201.

148. Pollard N.J., Stoddard F.L., Popineau Y., Wrigley C.W., MacRitchie F. 2002. Lupin Flours as Additives: Dough Mixing, Breadmaking, Emulsifying, and Foaming. Cereal Chemistry 79(5): 662-669.

149. Prusiński J. 2005. Dynamika gromadzenia świeżej i suchej masy oraz azotu przez rośliny tradycyjnej i samokończącej odmiany łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.). Acta Sci. Pol., Agricultura 4(2): 57-72.

150. Prusiński J. 2007. Postęp biologiczny w łubinie (*Lupinus* spp.) rys historyczny i stan aktualny. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 522: 23-37.

151. Prusiński J. 2017. White Lupin (Lupinus albus L.) – Nutritional and Health Values in Human Nutrition – a Review. Czech J. Food Sci., 35, 2017 (2): 95–105

152. Przemieniecki, S. W., Kurowski, T. P., Korzekwa, K. Karwowska, A. 2014. The effect of psychrotrophic bacteria isolated from the root zone of winter wheat on selected biotic and abiotic factors. J. Plant Prot. Res., 54(4): 407–413. 23.

153. Przemieniecki, S. W., Kurowski, T. P. Karwowska, A. 2015. Plant growth promoting potentials of *Pseudomonas* sp. SP0113 isolated from potable water from a closed water well. Arch. Bio. Sci., 67(2): 663–673.

154. Przemieniecki S. W., Kurowski T. P., Damszel M., Krawczyk K., Karwowska A. 2018. Effectiveness of the *Bacillus* sp. SP-A9 strain as a biological control agent for spring wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Agr. Sci. Tech. 20: 609-619.

155. Pszczółkowska A., Androsiuk P., Jastrzębski J.P., Paukszto Ł., Okorski. A. 2020. rps3 as a candidate mitochondrial gene for the molecular identification of species from the *Colletotrichum acutatum* species complex. genes 2020, 11, 552; doi:10.3390/genes11050552

156. Pszczółkowska A., Okorski A., Kotecki A., Gas M., Kulik T., Reczek A. 2016. Incidence of seed-borne fungi on *Lupinus mutabilis* depending on a plant morphotype, sowing date and plant density. J. Elem., 21(2): 501-512. DOI: 10.5601/ jelem.2015.20.3.888

157. Reed P.J., Dickens J.S.W., O'Neil T.M. 1996. Occurrence of anthracnose (*Colletotrichum acutaum*) on ornamental lupin in the United Kingdom. Plant Pathology 45: 245-248.

158. Remlein-Starosta D., Nijak K. 2007. Ślazowiec pensylwański – wstępne wyniki badań nad możliwościami ochrony przed agrofagami. Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin 47(4): 358-362.

159. Riegel R., Almarza M., Von Baer E., Muñoz M. 2008. Virulence analysis of different haplotypes of *Colletotrichum lupine* isolates from Soulthern Chile. "Lupins for Health and Wealth" Proceedings of the 12th International Lupin Conference, Fremantle, West Australia, 14-18 September 2008: 432- 433.

160. Römer P. 1999. Present state and prospects of lupins in the European Union. Mat. Konf. Nauk. "Lupin in Polish and European Agriculture". Polish Lupin Association. Przysiek, 2-3.09.1999, 6-7.

161. Ruangwong O.U., Pornsuriya C., Pitija K., Sunpapao A. 2021. Mechanisms of *Trichoderma koningiopsis* PSU3-2 against postharvest anthracnose of chili pepper. J. Fungi 7, 276. https://doi.org/10.3390/jof7040276

162. Rychel-Bielska, S., Nazzicari, N., Plewiński, P., Bielski W., Annicchiario P., Książkiewicz M. 2020. Development of PCR-based markers and whole-genome selection model for anthracnose resistance in white lupin (*Lupinus albus* L.). J Appl Genetics 61: 531–545. https://doi.org/10.1007/s13353-020-00585-1

163. Sałata B., Rudnicka-Jezierska W. 1979. Workowce (*Ascomycetes*), Pierwogrzybowe (*Protomycetales*), Czuprynkowe (*Chaetomiales*). W: Grzyby (*Mycota*). Tom XII. PAN, Warszawa-Kraków.

164. Schiller D.A., Jackson M.A., Bothast R.J. 1991. Influence of nutrition during conidiation of *Colletotrichum truncatum* on conidial germination and efficacy in inciting disease in *Sesbania exaltata*. Phytopatholoy 81.4: 458- 461.

165. Schwarczinger I. Vajna L. 1998a. First report of ST. John's Worth anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in Hungary. Plant Dis., 82 (6): 711.

166. Schwarczinger I., Vajna L. 1998b. First Report of *Colletotrichum gloeosporioides* on Russian-thistle. Plant Dis., 82 (12): 1405.

167. Semaskienė R., Brazauskien I., Lisova R., Liepien N., Maknickien Z., 2008. The incidence of anthracnose (*Colletotrichum* spp.) on lupine seed. Zemdirhyste-Agriculture 95: 144-150.

168. Shea G., Thomas G., Buirchell B., Salam M., McKirdy S., Sweetingham M. 2008. Case study: Industry response to the lupin anthracnose incursion in western Australia. "Lupins for Health and Wealth" Proceedings of the 12th International Lupin Conference, Fremantle, West Australia, 14-18 September 2008: 425-431.

169. Shivas R., McClements J., Sweetingham M. 1998. Vegetative compatibility amongst isolates of *Colletotrichum* causing lupin anthracnose. Australas. Plant Pathol. 27: 269–273.

170. Singh R.J., Jauhar P.P. 2005. Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement. Taylor& Francis Group LLC: 381 ss.

171. Sirtori C.R., Lovati M.R., Manzoni C., Castiglioni S., Duranti M., Magni C., Morandi S., D'Agostina A., Arnoldi A. 2004. Proteins of White Lupin Seed, a Naturally Isoflavone-Poor Legume, Reduce Cholesterolemia in Rats and Increase LDL Receptor Activity in HepG2 Cells. The Journal of Nutrition 134:18-23.

172. Skirgiełło A., Zadara M., Ławrynowicz M. 1979. Glonowce (Phycomycetes), Pleśniakowce (Mucorales), Kłębiankowe (Endogonales), w: Grzyby (Mycota). Tom X. PAN, Warszawa-Kraków: 321 ss.

173. Sobisz Z., Truchan M., Osadowski Z. 2020. Inwazyjne gatunki roślin w parkach dworskich Pomorza według kodeksu dobrych praktyk ogrodniczych. Trzecia Międzynarodowa Konferencja Młodych Naukowców, Kharkiv Naturalne Forum. 2020: 35-44.

174. Stachowiak B., Czarnecki Z. Trojanowska K., Gulewicz K. 2006. Possibilities of composts using in biological plant protection. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering 51(2): 171-177.

175. Suliburska J., Krejpcio Z., Lampart-Szczapa E., Wójciak R.W. 2009. Effect of fermentation and extrusion on the release of selected minerals from lupine grain preparations. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 8(3): 87-96.

176. Sutton B. C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*, p. 1-26. *In* J. A. Bailey and M. J. Jeger (ed.), *Colletotrichum* biology, pathology and control. CAB International, Wallingford, United Kingdom.

177. Sweetingham M.W. 1999. Anthracnose workshop report. "Lupin, an Ancient Crop for the New Millenium" . Proceedings of the 9th International Lupin Conference, Klink/Műritz, Germany, 20-24 June 1999: 63-68.

178. Sweetingham M.W., Cowling W.A., Buirchell B.J., Brown A.G.P., Shivas RG. 1995. Anthracnose of lupins in Western Australia. Australasian Plant Pathology 24: 271.

179. Szejniuk B., Wasilewski P., Kubisz Ł., Szrajda P., Wroński G. 2007. Eliminacja bakterii *Salmonella* Senftenberg W_{775} w uprawie wybranych roślin rolniczych. Acta Sci. Pol., Agricultura 6(4): 73-81.

180. Szmagara M. Pudelska K., Durlak W., Marcinek B., Rojek K. 2019. The influence of Bio-Algeen S90 on the growth of multiflora rose seedlings (*Rosa multiflora* Thunb.). Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus, 18(3), 35-43.

181. Szweykowska A, Szweykowski J. 2003. Słownik botaniczny. Państwowe Wydawnictwo Wiedza Powszechna: 1136.

182. Szymański M., Polcyn B., Pilc L., Konieczny P. 2006. Nasiona łubinu jako biotest fitotoksyczności ścieków przemysłu mięsnego. Materiały Konferencyjne. Strategie Wykorzystania Roślin Strączkowych. Zakopane, 25-27 września 2006: 88.

183. Świejkowski L. 1990. Rośliny lecznicze i przemysłowe. Wyd. Rynku Wewnętrznego Libra, Warszawa, 380 ss.

184. Talhinhas P., Baroncelli R. 2021. *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, host range and conservation status. Fungal Diversity 110: 109–198.

185. Talhinhas P., Baroncelli R., Le Floch G. 2016. Anthracnose of lupins caused by *Colletotrichum lupini*: A recent disease and a successful worldwide pathogen. J. Plant Pathol. 98, 5–14.

186. Talhinhas P., Sreenivasaprasad S., Neves-Martins J., Oliveira H. 2002. Genetic and morphological characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of lupins. Phytopathology 92(9): 986-996.

187. Than P.P. , Shivas R.G., Jeewon R., Pongsupasamit S., Marney T.S., Taylor P.W.J., Hyde K.D. 2008. Epitypification and phylogeny of *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds. Fungal Diversity 28: 97-108.

188. Thomas, G.J., Sweetingham, M.W., 2004. Cultivar and environment influence the development of lupin anthracnose caused by *Colletotrichum lupini*. Australas. Plant Pathol. 33: 571–577.

189. Thomas G.J., Sweetingham M.W, Adcock K.G. 2008a. Application of fungicides to reduce yield loss in anthracnose- infected lupins. Crop Protection 27: 1071-1077.

190. Thomas G.J., Sweetingham M.W., Yang H.A., Speijers J. 2008b. Effect of temperature on growth of *Colletotrichum lupini* and on anthracnose infection and resistance in lupins. Australasian Plant Pathology 37(1): 35–39.

191. Tivoli B., Baranger A., Avila C.M., Banniza S., Barbetti M., Chen W., Davidson J., Lindeck K., Kharrat M., Rubiales D., Sadiki M., Sillero C., Sweetingham M., Muehlbauer F.J. 2006. Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes. Euphytica 147: 223-253.

192. Trojanowska K., Gulewicz K., Stachowiak B. 1997. Identyfikacja szczepów bakteryjnych wyizolowanych z kompostów słomy łubinowej i ich aktywność fungistatyczna. Materiały konferencyjne: Łubin we współczesnym rolnictwie" Olsztyn Kortowo, 1997: 257-263.

193. Urbisz A, Urbisz A., 2004. Rośliny zielne i krzewinki Polski: rośliny pospolite, częste. Wydawnictwo Kubajak, Kraków: 264 ss.

194. Valente A., Talhinhas P., Römer P., Oliveira H., Neves-Martins J. 2002. Evaluation of resistance to anthracnose in lupin germplasm. "Wild and Cultivated Lupins from the tropics to the Poles" Proceedings of the 10th International Lupin Conference, Laugarvatn, Iceland, 19-24 June 2002: 239-241.

195. Weber Z., Amein T.A.M. 1990. Patogeniczne grzyby wyosobniane z porażonych korzeni i podstaw źdźbła pszenicy. Acta Mycol. 26 (1): 109-117.

196. Wolko B., Clements J.C., Naganowska B., Nelson M.N., Yang H. 2011. Wild crop relatives: genomic and breeding resources. Legumine Crops and Forages: 153-206. ISBN: 978-3-642-43514-0

197. Yanez-Mendizabal V., Falconi C.E. 2018. Efficacy of *Bacillus* spp. to biocontrol of anthracnose and enhance plant growth on Andean lupin seeds by lipopeptide production. Biol. Control, 122: 67-75. 10.1016/j.biocontrol.2018.04.004

198. Yang H., Renshaw D., Thomas G., Buirchell B., Sweetingham M. 2008. A strategy to develop molecular markers applicable to a wide range of crosses for marker assisted selection in plant breeding: a case study on anthracnose disease resistance in lupin (*Lupinus angustifolius* L.). Mol Breeding 21: 473–483.

199. Yorgancilar M., Babaoglu M., Hakki E. E., Atalay E. 2009. Determination of the relationship among Old World Lupin (*Lupinus* sp.) species using RAPD and ISSR markers. African Journal of Biotechnology 8 (15): 3524-3530.

200. You M., Boersma J., Buirchell B., Sweetingham M., Yang H. 2004. Marker development and implementation for anthracnose resistance in Australia lupin breeding program. Proceedings for the 4th International Crop Science Congress, New directions for a diverse planet Brisbane, Australia, 26 September – 1 October 2004.

201. Zalecenia Ochrony Roślin 2003-2022- Instytut Ochrony Roślin w Poznaniu.

202. Zin N.A., Badaluddin N. A. 2020. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. Annals of Agricultural Sciences 65(2):168-178.

a. ://www.catalogueoflife.org/annualchecklist/2009/browse_taxa.php?selected_taxon=19967
b. http://www.uniprot.org/taxonomy
c. https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=7917
d. https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=3625
e. https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=6910
f. https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=6912
g. https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=2938
h. https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=5825
i. https://coboru.gov.pl/Polska/odm_szczegoly.aspx?nrodm=6902

Załączniki

Tabela 1

Warunki meteorologiczne w okresie wegetacyjnym łubinów w czasie trwania badań polowych (Stacja Meteorologiczna Tomaszkowo, 2004-2018)

		Temperatura [ºC]							**Opady [mm]**						suma
	dekada	marzec	kwiecień	maj	czerwiec	lipiec	sierpień	dekada	marzec	kwiecień	maj	czerwiec	lipiec	sierpień	opadów
2004	I	-3,1	4,9	13,6	14,5	15,8	20,2	I	4,7	19,9	60,2	3,0	52,4	17,3	
	II	4,6	8,0	9,9	13,9	16,1	19,2	II	16,8	16,2	10,5	96,0	13,8	47,9	
	III	4,3	9,0	9,8	15,5	18,1	15,5	III	12,2	10,4	8,6	12,6	9,9	33,8	
średnia temperatura		**2,0**	**7,3**	**11,1**	**14,6**	**16,7**	**18,3**	**suma opadów**	**33,7**	**46,5**	**79,3**	**111,6**	**76,1**	**99,0**	**446,2**
2005	I	-6,6	6,2	10,0	12,3	18,6	15,9	I	11,1	9,5	15,0	12,9	23,5	25,0	
	II	-0,3	9,7	9,3	15,7	19,7	15,7	II	27,5	1,4	16,6	33,9	6,3	5,2	
	III	1,3	5,4	17,8	16,6	17,9	17,0	III	0,0	0,0	2,1	0,8	63,8	2,9	
średnia temperatura		**-1,9**	**7,1**	**12,4**	**14,9**	**18,7**	**16,2**	**suma opadów**	**38,6**	**10,9**	**33,7**	**47,6**	**93,6**	**33,1**	**257,5**
2006	I	-6,4	5,9	13,4	11,3	21,4	18,2	I	1,6	10,4	2,2	17,2	1,4	54,8	
	II	-3,1	6,4	12,9	17,8	20,3	17,6	II	0,0	4,5	23,6	23,5	7,4	65,5	
	III	1,6	9,6	11,2	19,0	21,0	15,8	III	4,4	10,7	63,4	38,5	20,5	44,7	
średnia temperatura		**-2,6**	**7,3**	**12,5**	**16,0**	**20,9**	**17,2**		**6,0**	**25,6**	**89,2**	**79,2**	**29,3**	**165**	**394,3**
2011	I	-2,5	8,1	8,7	18,8	17,1	18,2	I	1,4	9,1	10,8	39,9	124,8	20,4	
	II	2,9	6,3	14,2	15,4	19,2	16,9	II	4,9	12,2	32,5	30,7	36,4	44,9	
	III	4,1	12,9	16,2	16,9	17,6	17,7	III	10,0	1,2	7,8	11,1	41,6	16,8	
średnia temperatura		**1,5**	**9,1**	**13,0**	**17,1**	**18,0**	**17,6**	**suma opadów**	**16,3**	**22,5**	**51,1**	**81,7**	**202,8**	**82,1**	**456,5**
2012	I	-0,4	2,2	13,1	12,2	21,6	18,6	I	4,6	20,5	0,8	33,8	76,7	29,2	
	II	4,0	7,2	12,0	16,5	15,5	17,0	II	5,9	32,2	48,6	18,5	32,1	9,5	
	III	5,3	14,1	14,8	16,4	19,9	17,4	III	14,2	20,4	2,3	50,9	12,2	6,4	
średnia temperatura		**2,9**	**7,8**	**13,3**	**15,0**	**19,0**	**17,7**	**suma opadów**	**24,7**	**73,1**	**51,7**	**103,2**	**121,0**	**45,1**	**418,8**

Tabela 1 c.d.

2013	I	0,2	-0,4	14,7	16,3	18,2	20,3	I	1,9	14,1	6,5	26,4	16,9	23,1	
	II	-6,7	8,7	15,8	18,2	16,6	17,0	II	7,4	9,6	20,5	0,0	100,9	12,6	
	III	-4,0	9,6	13,8	18,1	19,1	15,0	III	8,8	4,8	27,5	34,8	4,1	1,9	
średnia temperatura		**-3,5**	**5,9**	**14,8**	**17,5**	**18,0**	**17,4**	**suma opadów**	**18,1**	**28,5**	**54,5**	**61,2**	**121,9**	**37,6**	**321,8**
2014	I	3,6	5,9	8,6	15,6	19,4	21,3	I	0,8	11,0	5,4	20,7	8,1	65,4	
	II	5,0	8,3	13,0	14,1	19,2	16,7	II	22,2	11,3	17,9	10,6	16,8	10,8	
	III	6,6	12,3	17,0	13,5	22,5	13,7	III	34,7	3,7	9,4	19,5	12,4	9,9	
średnia temperatura		**5,1**	**8,8**	**12,9**	**14,4**	**20,4**	**17,3**	**suma opadów**	**57,7**	**26,0**	**32,7**	**50,8**	**37,3**	**86,1**	**290,6**
2015	I	3,8	3,5	10,8	15,9	19,5	21,5	I	23,5	19,5	7,0	0,2	8,3	3,2	
	II	4,0	6,4	12,6	15,5	16,6	20,1	II	0,0	9,1	16,7	8,8	19,0	0,0	
	III	4,7	10,1	12,0	15,0	16,6	18,0	III	21,6	9,6	6,0	20,5	54,6	11,1	
średnia temperatura		**4,2**	**6,7**	**11,8**	**15,5**	**17,5**	**19,8**	**suma opadów**	**45,1**	**38,2**	**29,7**	**29,5**	**81,9**	**14,3**	**238,7**
2016	I	2,6	8,1	12,6	15,6	17,6	17,7	I	1,2	3,8	1,3	22,9	40,2	43,3	
	II	1,8	8,6	10,7	15,5	17,5	15,2	II	3,8	16,4	32,1	15,1	45,8	18,9	
	III	4,4	5,5	17,4	20,3	19,1	18,1	III	16,6	8,6	23,5	31,3	44,4	8,2	
średnia temperatura		**3,0**	**7,4**	**13,7**	**17,1**	**18,1**	**17,1**	**suma opadów**	**21,6**	**28,8**	**56,9**	**69,3**	**130,4**	**70,4**	**377,4**
2017	I	2,6	8,7	8,2	14,4	15,3	19,5	I	25,4	10,4	18,5	14,1	23,9	22,8	
	II	3,1	3,6	13,1	16,3	16,8	18,1	II	15,3	32,5	0,0	17,9	23,1	18,2	
	III	6,0	4,9	14,8	16,3	18,1	15,0	III	4,6	16,2	6,6	42,5	60,6	22,1	
średnia temperatura		**4,0**	**5,7**	**12,1**	**15,7**	**16,8**	**17,4**	**suma opadów**	**45,3**	**59,1**	**25,1**	**74,5**	**107,6**	**63,1**	**374,7**
2018	I	-4,6	8,7	14,1	18,4	17,1	22,5	I	8,8	0,0	2,9	12,8	2,5	6,2	
	II	-0,1	12,5	15,6	18,1	20,0	18,9	II	0,7	8,6	5,0	13,6	117,0	30,7	
	III	0,7	11,2	17,3	15,1	21,9	16,5	III	0,9	24,9	17,1	27,3	21,5	7,7	
średnia temperatura		**-1,3**	**10,8**	**15,7**	**17,2**	**19,7**	**19,2**	**suma opadów**	**10,4**	**33,5**	**25,0**	**53,7**	**141,0**	**44,6**	**308,2**
średnia temperatura (2004-2018)		**1,7**	**7,7**	**12,8**	**16,0**	**18,5**	**17,9**	**średnia suma opadów (2004-2018)**	**32,9**	**32,4**	**57,1**	**76,0**	**98,7**	**91,8**	**381,7**

Tabela 2

Nasilenie antraknozy na pędach i strąkach łubinów (w %) w zależności od inokulacji *C. lupini* i ochrony fungicydami (Tomaszkowo, 2004-2006)

Gatunek / odmiana	Pędy (BBCH 69)										Strąki (BBCH 75-77)									
	Kontrola			Inokulacja *C. lupini*			Inokulacja+ ochrona fungicydami			Średnia dla gatunku łubinu	Kontrola			Inokulacja *C. lupini*			Inokulacja+ ochrona fungicydami			Średnia dla gatunku łubinu
	2004	2005	2006	2004	2005	2006	2004	2005	2006		2004	2005	2006	2004	2005	2006	2004	2005	2006	
Lupinus albus var. *graecus*	0	2	1,5	2	2	4	0	1	0	1,4	2	4	4	5	3,5	4	1,5	3	2	3,2
Lupinus hispanicus	0	0	0	2	0	1	1	0	0	0,4	1	0	1,5	2	2	2,5	2	0	1	1,3
Lupinus nanus	4	6	5	4	8	6	2	0	2	4,1	4	3	2	5,5	5	5	2	2	1	3,3
Lupinus mutabilis	6	7	6	6	7	7	0	1	0	4,4	5	6	6	8,5	7	7	5	5,5	4,5	6,1
Lupinus polyphyllus	5	5	5	5	7	7	3	2	1	4,4	5,5	5	4	8	8	6	3	4	4	4,4
Lupinus albus /Bardo	10	8	7	12	11	10	8	8	6	8,9	11	10	8	15	12	10	9	7	6	9,8
/Boros	8	7	6	10	9	8	7	8	7	7,8	12	10	8	15	9,5	8,5	7	8	5	9,2
/Butan	9	7	7	13	9	10	9	9	6	8,8	12	9	7	15	10	8,5	7	6	5	8,8
L. angustifolius /Baron	2	1	0	2	3	3	2	2	2	1,9	3,5	2	2	3	3	4	1	2	2	2,5
/Sonet	4	4	2	3	2	4	3	0	1	2,6	2	1	1	2	2	2,5	1	0	0	1,3
Lupinus luteus /Mister	8	7	6	10	8	8	5	4	4	6,7	7	4,5	5	10	7,5	7	4	4	2,5	5,7
/Taper	10	8	8	13	10	8	7	4	3	7,9	7	5	4,5	9,5	7	6,5	3,5	2	3	5,3
Średnia dla lat	5,5	5,2	4,5	6,8	6,3	6,3	3,9	3,3	2,7	-	6,0	5,0	4,4	8,2	6,4	6,0	3,8	3,6	3,0	-
Średnia dla inokulacji i ochrony	5,1			6,5			3,3				5,1			6,9			3,5			

NIR (0,05) - liście - I - gatunek i odmiana łubinu - 1,86
II - inokulacja i ochrona fungicydami – 1,29
IxII – 3,22

strąki - I - gatunek i odmiana łubinu – 2,18
II - inokulacja i ochrona fungicydami – 1,55
IxII – n.i.

Tabela 3

Nasilenie antraknozy na pędach i strąkach łubinu żółtego (w %) w zależności od zastosowanych preparatów (Tomaszkowo, 2011-2015)

Obiekty doświadczenia	Pędy (BBCH 69)					Średnia 2011-2015	Strąki (BBCH75-77)					Średnia 2011-2015
	2011	2012	2013	2014	2015		2011	2012	2013	2014	2015	
Kontrola	30,7	12,3	15,8	12,5	5,7	15,4 a	36,3	26,5	32,3	14,8	2,3	22,4 a*
Biochicol 020 PC	21,6	8,9	13,8	11,9	5,4	12,3 abc	25,0	19,9	26,7	11,7	2,0	17,1 abc
EM-1	28,0	11,3	14,6	12,2	5,9	14,4 ab	31,7	24,0	30,1	13,5	2,4	20,3 ab
Grevit 200 SL	10,2	4,8	7,1	6,3	5,4	6,8 bcd	11,7	11,3	15,2	6,1	1,9	9,2 bc
Asahi SL	5,4	4,5	7,3	5,9	0,5	4,7 cd	4,7	10,5	15,8	6,0	0,5	7,5 c
Gwarant 500 SC	6,3	2,4	3,5	0,3	0	2,5 d	12,5	7,1	8,2	0,7	0	5,7 c
Sarfun 500 SC	12,2	2,7	3,6	1,8	0	4,1 c	14,9	8,0	6,7	2,1	0	6,3 c

a,b,c*- średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie p=0,01

-

Tabela 4

Nasilenie antraknozy na strąkach łubinu wąskolistnego (w %) w zależności od zastosowanych preparatów (Tomaszkowo, 2011-2015)

Obiekty doświadczenia	2011	2012	2013	2014	2015	Średnia
Kontrola	5,7	0,4	2,1	0,3	0	1,7 a*
Biochicol 020 PC	3,8	0	1,9	0	0	1,1 b
EM-1	5,4	0	2,1	0	0	1,5 a
Grevit 200 SL	3,2	0	1,8	0	0	1,0 b
Asahi SL	3,6	0	1,8	0	0	1,1 b
Gwarant 500 SC	0,2	0	0	0	0	0,05 d
Sarfun 500 SC	0,9	0	0	0	0	0,2 c

a,b,c*- średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie p=0,01

Tabela 5

Nasilenie antraknozy na pędach i strąkach łubinu żółtego (w %) w zależności od zastosowanych preparatów (Tomaszkowo, 2016-2018)

Obiekty doświadczenia	II termin (BBCH 65)			III termin (BBCH 75-77)		
	2016	2017	2018	2016	2017	2018
Kontrola (bez inokulacji)	4,5	0	0	10,0	0	0,3
Kontrola - inokulowana *C. lupini*	8,3	0	0	15,2	3,3	5,0
Gwarant 500 SC	2,7	0	0	8,7	1,8	0,0
Ridomil Gold MZ Pepite 67,8 WG	3,0	0	0	10,3	2,4	0,8
Asahi SL	5,0	0	0	16,0	2,8	1,0
Bio-algeen S 90	5,3	0	0	14,0	4,3	0,7
$AgNO_3$	4,0	0	0	7,0	3,0	0,0
SBTC	-	0	0	-	1,8	1,3
Tytan nanocząstkowy	-	0	0	-	1,3	0,5
TiO_2	-	0	0	-	0,8	0,5
LAC MIX	3,3	0	0	11,3	3,8	0,8
PS1	13,7	0	0	17,7	5,0	0,0
PS 15	16,7	-	-	18,3	-	-
19 PSDM	0,3	0	0	11,0	4,0	0,8
20 PSDM	8,0	-	-	12,3	-	-
MP 2 (Ant9)	6,0	0	0	13,0	0,3	0,5
EN 40	9,7	-	-	13,0	-	-
NIR (0,05)	1,73	n.i.	n.i.	2,32	1,52	0,99

n.i. – różnice nieistotne

II termin- tydzień po 1 zabiegu - pełnia kwitnienia BBCH 65

III termin - tydzień po 2 zabiegu - zawiązywanie strąków BBCH 75-77

Tabela 6

Nasilenie zgorzeli siewek i antraknozy łubinu (w %) oraz wpływ ochrony nasion łubinu przed siewem na MTN - (I doświadczenie wazonowe, 2004-2006)

Kombinacja	Łubin biały		Łubin wąskolistny		Łubin żółty		Średnia dla ochrony
	Bardo	**Boros**	**Boruta**	**Zeus**	**Legat**	**Markiz**	
Zgorzel siewek (BBCH 25-29)							
K	5	4	2,5	2	5	4	**3,8**
OL	0	2,5	0	0,5	0	0	**0,5**
Funaben T 480 FS	1	0	1	0,5	0	1,5	**0,7**
Sarfun 65 DS	3	3	1	1	1,5	0	**1,6**
Średnia dla odmiany	**2,3**	**2,4**	**1,1**	**1,0**	**1,6**	**1,4**	-
NIR (0,05)	I - 0,61; II - 0,45; I x II - 1,23						
Antraknoza łubinu (BBCH 63-65) - pędy							
K	2	2	0	0	4	6	**2,3**
OL	0	2	0	0	0	4	**1,0**
Funaben T 480 FS	0	0	0	0	0,2	0,8	**0,2**
Sarfun 65 DS	0	0	0	0	0	4	**0,7**
Średnia dla odmiany	**0,5**	**1,0**	**0,0**	**0,0**	**1,1**	**3,7**	-
NIR (0,05)	I - 0,33; II - 0,24; I x II - 0,65						
Antraknoza łubinu (BBCH 75-77) - strąki							
K	8	8	2	0	6	8	**5,3**
OL	2	0	0	0	0	3,2	**0,9**
Funaben T 480 FS	0	0	2	0	0	5,4	**1,2**
Sarfun 65 DS	0	0	1	0	2,4	4	**1,2**
Średnia dla odmiany	**2,5**	**2,0**	**1,3**	**0,0**	**2,1**	**5,2**	-
NIR (0,05)	I - 0,85; II - 0,62; I x II - 1,70						
Masa tysiąca nasion (MTN) [g]							
K	160,8	119,1	133,6	153,7	138,7	126,8	**138,8**
OL	183,9	123,4	141,6	149,4	142,6	116,9	**143,0**
Funaben T 480 FS	173,2	133,7	136,0	159,7	135,3	147,3	**147,5**
Sarfun 65 DS	157,1	140,6	137,3	155,4	139,4	142,7	**145,4**
Średnia dla odmiany	**168,8**	**129,2**	**137,1**	**154,6**	**139,0**	**133,4**	-
NIR (0,05)	I - 8,8; II - 6,45; I x II - 17,61						

K - kontrola nie odkażana;
OL - odkażanie laboratoryjne;
cz. I - odmiana łubinu;
cz. II - odkażanie i zaprawianie nasion

Tabela 7

Nasilenie zgorzeli siewek i antraknozy łubinu (w %) oraz wpływ sposobu inokulacji *C. lupini* na MTN - (II doświadczenie wazonowe, 2004-2006)

Kombinacja	Łubin biały		Łubin wąskolistny		Łubin żółty		Średnia dla ochrony
	Bardo	**Boros**	**Boruta**	**Zeus**	**Legat**	**Markiz**	
Zgorzel siewek (BBCH 25-29)							
K	6,5	6	0	0	5	4,5	**3,7**
OL	0	4	0	2	0	0	**1,0**
IK	3	2	4	0	9	8	**4,3**
IL	4	5	2	2,5	7	7,5	**4,7**
IO	12	9	6,5	8	20	21	**12,8**
Średnia dla odmiany	**5,1**	**5,2**	**2,5**	**2,5**	**8,2**	**8,2**	-
NIR (0,05)	I - 0,87; II - 0,76; I x II - 1,95						
Antraknoza łubinu (BBCH 63-65) - pędy							
K	0	2	2	2	4	4	**2,3**
OL	0	0	0	0	0	4	**0,7**
IK	0	0	0	0	14,2	6,8	**3,5**
IL	0	0	0	2	11,4	18,2	**5,3**
IO	2	2	1	1	40,2	50	**16,0**
Średnia dla odmiany	**0,4**	**0,8**	**0,6**	**1,0**	**14,0**	**16,6**	-
NIR (0,05)	I - 1,70; II - 1,48; I x II - 3,79						
Antraknoza łubinu (BBCH 75-77) - strąki							
K	8	8	0	0	2	8	**4,3**
OL	1	2	0	0	0	34	**6,2**
IK	0	1	0	0	46	16	**10,5**
IL	0	0	0	0	38	22	**10,0**
IO	12	10	2	0	46	26	**16,0**
Średnia dla odmiany	**4,2**	**4,2**	**0,4**	**0,0**	**26,4**	**21,2**	-
NIR (0,05)	I - 0,38; II - 0,33; I x II - 0,85						
Masa tysiąca nasion (MTN) [g]							
K	170,8	109,1	133,6	153,7	138,7	126,8	**138,8**
OL	173,9	133,4	141,6	159,4	142,6	136,9	**148,0**
IK	154,0	135,6	134,1	154,5	146,2	125,1	**141,6**
IL	162,6	145,2	131,4	158,5	124,3	122,0	**140,7**
IO	167,8	125,1	140,1	152,3	115,8	127,3	**138,1**
Średnia dla odmiany	**165,8**	**129,7**	**136,2**	**155,7**	**133,5**	**127,6**	-
NIR (0,05)	I - 9,6; II - 8,39; I x II - 21,51						

K - kontrola nie odkażana;
OL - odkażanie laboratoryjne;

cz. I - odmiana łubinu;
cz. II - sposób inokulacji;

IK - inokulacja przez system korzeniowy;
IL - inokulacja przez liścienie i hipokotyl;
IO - inokulacja przez opryskiwanie;

Tabela 8

Nasilenie antraknozy łubinu oraz masa tysiąca nasion w zależności od przeprowadzenia inokulacji (III doświadczenie wazonowe, 2004-2006)

Kombinacja	Łubin biały			Łubin wąskolistny		Łubin żółty		Średnia dla infekcji
	Bardo	**Boros**	**Butan**	**Baron**	**Sonet**	**Mister**	**Taper**	
Antraknoza łubinu (BBCH 61-63) - pędy								
-	0	1	1	1	2	0	1	**0,9**
+	1	1	2	1	1	1	2	**1,3**
Średnia dla odmiany	**0,5**	**1,0**	**1,5**	**1,0**	**1,5**	**0,5**	**1,5**	-
NIR (0,05)	I – 0,51 II - 0,18; I x II - 0,71							
Antraknoza łubinu (BBCH 69-71) - pędy								
-	4	4	4	3	3	4	7	**4,1**
+	6	5	10	3	5	10	7	**6,6**
Średnia dla odmiany	**5,5**	**4,5**	**7,0**	**3,0**	**4,0**	**7,0**	**7,0**	-
NIR (0,05)	I – 2,57; II - 0,89; I x II - 3,64							
Antraknoza łubinu (BBCH 77-79) - strąki								
-	23,5	21,5	20,0	14,0	10,0	23,0	22,5	**19,2**
+	28,5	29,5	22,0	17,5	18,0	33,5	28,5	**25,4**
Średnia dla odmiany	**26,0**	**25,5**	**21,0**	**15,8**	**14,0**	**28,3**	**25,5**	-
NIR (0,05)	I – 6,35; II - 2,19; I x II - n.i.							
Masa tysiąca nasion (MTN) [g]								
-	188,7	144,2	185,4	140,6	136,4	137,9	128,1	**151,6**
+	179,0	107,8	109,0	123,3	124,6	136,8	128,5	**129,9**
Średnia dla odmiany	**183,9**	**126,0**	**147,2**	**132,0**	**130,5**	**137,4**	**128,3**	-
NIR (0,05)	I – 19,69; II – 6,98; I x II - 27,85							

- – infekcja naturalna
+ – inokulacja zawiesiną zarodników *C. lupini*

cz. I - odmiana łubinu;
cz. II - sposób infekcji;

Tabela 9

Indeks tempa wzrostu *C.lupini* w zależności od temperatury inkubacji

Pochodzenie izolatu *C. lupini*	Nr izolatu	Temperatura inkubacji [°C]				
		5	15	25	Średnia dla izolatu	Średnia dla odmiany
Ł. biały (Bardo)	10	0,00	26,90	24,86	17,25	
Ł. biały (Bardo)	64	0,00	26,86	25,90	17,59	**17,42**
Ł. biały (Bardo)	71	0,00	27,19	25,10	17,43	
Ł. biały (Boros)	158	0,00	27,29	25,48	17,59	
Ł. biały (Boros)	177	0,00	27,62	25,14	17,59	**17,25**
Ł. biały (Boros)	216	0,00	25,38	24,33	16,57	
Ł. biały (Butan)	230	0,00	29,52	26,00	18,51	
Ł. biały (Butan)	246	0,00	30,90	25,43	18,78	**18,39**
Ł. biały (Butan)	253	0,00	27,52	26,10	17,87	
Ł. wąskolistny (Baron)	269	0,00	30,33	25,38	18,57	
Ł. wąskolistny (Baron)	273	0,00	31,76	26,14	19,30	**18,57**
Ł. wąskolistny (Baron)	280	0,00	28,95	24,57	17,84	
Ł. wąskolistny (Sonet)	439	0,00	28,62	24,52	17,71	
Ł. wąskolistny (Sonet)	432	0,00	24,05	24,19	16,08	**15,81**
Ł. wąskolistny (Sonet)	365	0,00	15,62	25,33	13,65	
Ł. wieloletni	492	0,00	29,71	26,00	18,57	
Ł. wieloletni	494	0,00	26,71	24,57	17,09	**17,81**
Ł. wieloletni	500	0,00	28,62	25,24	17,95	
Ł. żółty (Mister)	341	0,00	27,14	24,76	17,30	
Ł. żółty (Mister)	362	0,00	28,24	25,67	17,97	**18,31**
Ł. żółty (Mister)	392	0,00	33,14	24,19	19,11	
Ł. żółty (Taper)	282	0,00	26,90	25,67	17,52	
Ł. żółty (Taper)	299	0,00	28,81	24,76	17,86	**17,70**
Ł. żółty (Taper)	304	0,00	26,71	26,43	17,71	
Średnia		**0,00**	**27,69**	**25,24**	**-**	**-**

Czynniki – NIR (0,01)
cz. I - temp. inkubacji – 0,11
cz. II - testowane izolaty – 0,32
cz. IxII – 0,56

Tabela 10

Indeks tempa wzrostu *C.lupini* w zależności od rodzaju podłoża

Pochodzenie izolatu *C. lupini*	Nr izolatu	Rodzaj podłoża			Średnia dla izolatu	Średnia dla odmiany
		PDA	mineralne	łubinowe		
Ł. biały (Bardo)	10	59,46	44,04	60,38	54,63	
Ł. biały (Bardo)	64	50,89	50,89	59,25	53,68	**53,56**
Ł. biały (Bardo)	71	54,32	43,18	59,63	52,38	
Ł. biały (Boros)	158	54,32	61,18	60,00	58,50	
Ł. biały (Boros)	177	60,32	61,18	59,25	60,25	**57,41**
Ł. biały (Boros)	216	55,18	44,89	60,38	53,48	
Ł. biały (Butan)	230	57,75	58,61	60,38	58,91	
Ł. biały (Butan)	246	56,89	50,89	60,00	55,93	**56,61**
Ł. biały (Butan)	253	55,18	50,89	58,87	54,98	
Ł. wąskolistny (Baron)	269	58,61	50,89	59,63	56,38	
Ł. wąskolistny (Baron)	273	54,32	45,75	58,87	52,98	**54,25**
Ł. wąskolistny (Baron)	280	57,75	43,18	59,25	53,39	
Ł. wąskolistny (Sonet)	439	56,89	47,46	60,00	54,78	
Ł. wąskolistny (Sonet)	432	56,89	41,46	60,00	52,78	**51,94**
Ł. wąskolistny (Sonet)	365	56,89	28,61	59,25	48,25	
Ł. wieloletni	492	57,75	48,32	60,38	55,48	
Ł. wieloletni	494	60,32	46,61	59,25	55,39	**55,41**
Ł. wieloletni	500	57,75	48,32	60,00	55,36	
Ł. żółty (Mister)	341	60,32	54,32	60,38	58,34	
Ł. żółty (Mister)	362	56,89	45,75	59,25	53,96	**55,50**
Ł. żółty (Mister)	392	57,75	44,04	60,75	54,18	
Ł. żółty (Taper)	282	57,75	60,32	60,38	59,48	
Ł. żółty (Taper)	299	56,04	68,89	61,12	62,02	**58,67**
Ł. żółty (Taper)	304	58,61	44,89	60,00	54,50	
Średnia		**57,04**	**49,36**	**59,86**	-	-

Czynniki – NIR (0,01)
cz. I - rodzaj podłoża – 0,17
cz. II - testowane izolaty – 0,59
cz. I x II – 0,84

Tabela 11

Indeks tempa wzrostu *C. lupini* w zależności od pH podłoża

Pochodzenie izolatu *C. lupini*	Nr izolatu	**pH podłoża** 6,2	4,7	3,5	**średnia**
L. albus	10, 64, 177, 216, 230, 253	61,88	63,75	59,25	**61,63**
L. angustifolius	269, 273, 280, 365, 432, 439	63,75	64,88	61,13	**63,25**
L. graecus	12, 30, 59, 75, 86, 92	58,50	64,88	61,13	**61,50**
L. luteus	282, 299, 304, 342, 362, 392	63,00	62,25	60,00	**61,75**
L. mutabilis	25, 26, 94, 115, 122, 205	40,50	62,25	60,00	**54,25**
L. polyphyllus	109, 232, 389, 492, 494, 500	55,88	62,25	60,00	**59,38**
Średnia		**57,25**	**63,38**	**60,25**	**-**

Czynniki – NIR (0,01)
cz. I - pH podłoża – 1,85
cz. II - gatunek łubinu – 3,22
cz. I x II – 4,53

Tabela 12

Średni dobowy przyrost *C.lupini* pod wpływem:

a/ *Alternaria alternata*

		0	1	2	3	4	5	Średnica
C. lupini x *C. lupini*	*C. lupini*	5,00	4,08	7,19	7,78	6,25	4,33	34,64
C. lupini x *A. alternata*	*C. lupini*	5,00	3,85	6,89	7,48	6,57	5,91	35,70
	A. alternata	5,00	4,74	6,91	7,02	5,61	5,30	34,57
A. alternata x *A. alternata*	*A. alternata*	5,00	4,33	7,58	7,61	6,08	4,61	35,22

b/ *Botrytis cinerea*

		0	1	2	3	4	5	Średnica
C. lupini x *C. lupini*	*C. lupini*	5,00	4,08	7,19	7,78	6,25	4,33	34,64
C. lupini x *B. cinerea*	*C. lupini*	5,00	3,74	6,98	5,30	2,76	1,96	25,74
	B. cinerea	5,00	10,43	18,96	17,13	10,17	18,31	80,00
B. cinerea x *B. cinerea*	*B. cinerea*	5,00	10,83	18,36	17,47	31,33	0,00	83,00

c/ *Fusarium culmorum*

		0	1	2	3	4	5	Średnica
C. lupini x *C. lupini*	*C. lupini*	5,00	4,08	7,19	7,78	6,25	4,33	34,64
C. lupini x *F. culmorum*	*C. lupini*	5,00	3,56	4,65	4,69	3,46	2,52	23,87
	F. culmorum	5,00	5,65	10,72	13,63	11,70	8,20	54,91
F. culmorum x *F. culmorum*	*F. culmorum*	5,00	2,58	12,92	15,22	14,75	10,89	61,36

d/ *Fusarium oxysporum*

		0	1	2	3	4	5	Średnica
C. lupini x *C. lupini*	*C. lupini*	5,00	4,08	7,19	7,78	6,25	4,33	34,64
C. lupini x *F. oxysporum*	*C. lupini*	5,00	3,60	6,88	7,85	8,00	5,23	36,56
	F. oxysporum	5,00	4,96	9,38	10,56	10,65	7,58	48,13
F. oxysporum x *F. oxysporum*	*F. oxysporum*	5,00	8,08	12,44	9,61	10,92	7,50	53,56

e/ *Fusarium poae*

		0	1	2	3	4	5	Średnica
C. lupini x *C. lupini*	*C. lupini*	5,00	4,08	7,19	7,78	6,25	4,33	34,64
C. lupini x *F. poae*	*C. lupini*	5,00	4,24	6,93	7,37	6,41	5,69	35,63
	F. poae	5,00	5,48	4,78	5,30	4,65	4,22	29,43
F. poae x *F. poae*	*F. poae*	5,00	6,36	12,97	12,22	11,31	10,31	58,17

f/ *Trichoderma harzianum*

		0	1	2	3	4	5	Średnica
C. lupini x *C. lupini*	*C. lupini*	5,00	4,08	7,19	7,78	6,25	4,33	34,64
C. lupini x *T. harzianum*	*C. lupini*	5,00	3,74	4,89	1,98	0,80	0,19	16,59
	T. harzianum	5,00	15,48	23,63	18,39	0,52	16,98	80,00
T. harzianum x *T. harzianum*	*T. harzianum*	5,00	14,00	26,42	16,36	21,22	0,00	83,00

Tabela 13

Indywidualny efekt biotyczny między *C.lupini* a wybranymi gatunkami grzybów izolowanymi z łubinów

	Alternaria alternata	*Botrytis cinerea*	*Fusarium culmorum*	*Fusarium poae*	*Fusarium oxysporum*	*Trichoderma harzianum*
C.lupini	0	+3	+3	+1	+2	+3

Tabela 14

Indywidualny efekt biotyczny pomiędzy *C.lupini* a wybranymi mikroorganizmami o potencjalnych uzdolnieniach fungistatycznych

Izolaty bakterii	*Colletotrichum lupini*	
	5 dzień	10 dzień
PSDM –1	-4	-4
PSDM –2	-2	-4
PSDM –3 *Pseudomonas putida*	-1	-4
PSDM –4	-4	-4
PSDM –5	-1	-4
PSDM –6 *Proteus penneri*	-4	-4
PSDM –7 *Proteus* sp.	-4	-4
PSDM –8	-4	1
PSDM –9	-4	-4
PSDM –10	3	0
PSDM –12	-2	-4
PSDM –14	-4	-4
PSDM –15 *Staphylococcus* sp.	0	-4
PSDM –16 *Enterobacter* sp.	-6	-4
PSDM –17 *Advenella* sp.	4	-4
PSDM –18	-4	-4
PSDM –19	13	22
PSDM –20 *Staphylococcus* sp.	9	6
PSDM –21 *Proteus* sp.	8	0
PSDM –22	12	11
PSDM –23	1	-4
PSDM –25	-2	-4
PSDM –27	-4	-4
A9 - *Bacillus subtilis*	-4	-4
PS1 *Serratia liquefaciens*	-1	-4
PS3 *Pseudomonas* sp.	1	5
PS9 *Pseudomonas helleri*	0	-4
PS13 *Pseudomonas* sp.	3	5
PS15 *Serratia* sp.	12	4
MP2 – endofity korzeni	13	7
EN40 – endofity korzeni	7	1
ART4 - *Artrobacter* sp.	2	-3
RANT2 drożdże z korzeni	0	10
LAC1 *Lactobacillus brevis*	-2	6
LAC3 *Lactobacillus brevis*	0	-4
LAC6 *Lactobacillus brevis*	-3	-4
Kontrola	0	0

Tabela 15

Patogeniczność izolatów *C. lupini* wobec siewek łubinów

Pochodzenie izolatu	Nr izolatu	Łubin				
		biały	wąskolistny	wieloletni	żółty	**Średnia**
Ł. biały (Butan)	230	0,33	0,33	0,00	0,33	**0,25**
Ł. biały (Boros)	158	1,00	1,33	0,33	0,67	**0,83**
Ł. biały (Bardo)	71	0,00	1,00	0,00	1,33	**0,59**
Ł. wąskolistny (Baron)	269	1,00	1,00	0,00	1,67	**0,92**
Ł. wąskolistny (Baron)	273	0,33	0,33	0,00	1,00	**0,42**
Ł. wąskolistny (Sonet)	439	0,67	1,00	0,67	1,33	**0,91**
Ł. wieloletni	392	0,33	1,33	0,67	1,67	**1,00**
Ł. wieloletni	494	0,33	1,67	0,33	2,33	**1,17**
Ł. wieloletni	500	1,00	1,33	0,00	0,67	**0,75**
Ł. żółty (Mister)	341	0,67	1,33	0,33	0,67	**0,75**
Ł. żółty (Taper)	282	0,67	1,33	0,00	1,00	**0,75**
Ł. żółty (Taper)	299	0,67	1,00	0,33	1,33	**0,83**
Średnia		**0,58**	**1,08**	**0,22**	**1,18**	

NIR (p = 0,01) cz. I – patogeniczność wobec gatunku łubinu - 0,24;
cz. II – patogeniczność izolatów - 0,41;
cz. I x II – 0,83

Tabela 16

Oddziaływanie wybranych środków ochrony roślin na rozwój *C. lupini*

Preparat	Średnica strefy inhibicji [mm]	
	5 dzień	14 dzień
Asahi SL	13	0
BioAlgeen S90	0	0
Biochikol 020PC	0	0
Curzate Cu 49,5 WP	0	0
EM	0	0
Gwarant 500SC	31,2	18,8
Hurricane PRO+ 0,05%	0	0
Hurricane PRO+ 0,2%	0	0
Huwa San TR5	0	0
Infinito 687,5 SC	0	0
Inter Optimum 72,5WP	26,7	20,3
IsotakPRO+ 0,15%	0	0
IsotakPRO+ 0,35%	0	0
Kelpak SL	0	0
Rosahumus	4,3	0
Terra Sorb foliar	0	0
Toil	0	0
TotalHumus	0	0
Valbon 72WG	14,5	12,7
Vondozeb 75WG	14,2	13,3
Kontrola	0	0

Tabela17

Próg infekcyjności siewek różnych gatunków i odmian łubinu w zależności od koncentracji zarodników

Doba od infekcji	Stężenie komórek zarodników/ml	Odmiana					
		Boros	**Butan**	**Sonet**	**Zeus**	**Markiz**	**Mister**
3 doba	Kontrola (sterylna woda)	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	$2x10^7$	0,01 C*	0,02 C	0,41 C	0,26 C	0,06 C	0,02 C
	$16x10^3$	0,01 C	0,01 C	0,01 C	0,22 C	0,02 C	0,02 C
	$10x10^2$	nd	0,01 C	0,01 C	0,01 C	0,01 C	nd
	10x10	nd	nd	nd	nd	0,01 C	nd
9 doba	Kontrola (sterylna woda)	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	$2x10^7$	0,05 C	0,09 C	139,02 A	0,54 C	150,38 A	0,89 C
	$16x10^3$	0,01 C	0,01 C	0,51 C	0,30 C	85,25 B	0,35 C
	$10x10^2$	nd	0,01 C	0,06 C	0,01 C	0,06 C	0,01 C
	10x10	nd	nd	0,02 C	nd	0,014C	nd

A,B,C*- średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie p=0,01

Tabela 18

Grzyby wyizolowane z wykazujących objawy chorobowe części podliścieniowej i korzeni łubinu w zależności od ochrony nasion przed siewem (I dośw. wazonowe, 2004-2006)

Gatunek grzyba	Łubin biały								Łubin wąskolistny								Łubin żółty							
	Bardo				Boros				Boruta				Zeus				Legat				Markiz			
	K	OL	Funaben T 480 FS	Sarfun 65 DS	K	OL	Funaben T 480 FS	Sarfun 65 DS	K	OL	Funaben T 480 FS	Sarfun 65 DS	K	OL	Funaben T 480 FS	Sarfun 65 DS	K	OL	Funaben T 480 FS	Sarfun 65 DS	K	OL	Funaben T 480 FS	Sarfun 65 DS
Botrytis cinerea Pers.								1					1											
Colletotrichum lupini (Bondar) Nirenberg, Feiler & Hagedorn	2				1				1				1				3				3	1		1
Epicoccum nigrum Link								1																
Fusarium avenaceum (Corda ex Fr.) Sacc.	1					1																		
Fusarium oxysporum Schltdl.	4			3				1	2		1	1	2	2	1	1								
Mortierella alpina Peyronel	3							3																
Mucor heterogamus Vuill.				1																1				
Penicillium spp.								1																1
Rhizopus sp	1			1																				
Trichoderma harzianum Rifai	2							2																
Trichoderma polysporum (Link) Rifai				1																				
Razem	13			6	1	1		9	3		1	1	4	2	1	1	3			1	3	1		2

K - kontrola nie odkażana;
OL - kontrola odkażane laboratoryjnie;
Funaben T 480 FS, Sarfun 65 DS - zastosowane zaprawy nasienne;

Tabela 19

Grzyby wyizolowane z wykazujących objawy chorobowe części podliścieniowej i korzeni łubinu w zależności od sposobu inokulacji *Colletotrichum lupini* (II dośw. wazonowe, 2004-2006)

Gatunek grzyba	Łubin biały										Łubin wąskolistny										Łubin żółty									
	Bardo					Boros					Boruta					Zeus					Legat					Markiz				
	K	**OL**	**IK**	**IL**	**IO**	**K**	**OL**	**IK**	**IL**	**IO**	**K**	**OL**	**IK**	**IL**	**IO**	**K**	**OL**	**IK**	**IL**	**IO**	**K**	**OL**	**IK**	**IL**	**IO**	**K**	**OL**	**IK**	**IL**	**IO**
Botrytis cinerea Pers.																1							1							
Colletotrichum lupini (Bondar) Nirenberg, Feiler & Hagedorn											1					1			1					2					2	
Epicoccum nigrum Link			2										2		1													2	1	
Fusarium avenaceum (Corda ex Fr.) Sacc.	1						1	1	4														1					1		
Fusarium oxysporum Schltdl.	4		3													2	2	1		1			4	3				3	3	
Mortierella alpina Peyronel	3																													
Penicillium sp.																							1							
Rhizopus sp	1		1																											
Trichoderma harzianum Rifai	2																													
Trichoderma polysporum (Link) Rifai									1															1						
Czarne niezarodnikujące								1																						
Razem	11		6				1	2	5		1		2		1	4	2	1	2	1			6	6				6	6	

K- nasiona nie odkażane;
OL - nasiona odkażane laboratoryjnie;
IK - inokulacja przez system korzeniowy;
IL- inokulacja przez liścienie i hipokotyl;
IO- inokulacja przez opryskiwanie;

Tabela 20

Grzyby wyizolowane z nasion łubinu białego odmiany Bardo (Tomaszkowo, 2004-2006)

Gatunki grzybów	naturalna infekcja (kontrola)				inokulacja				inokulacja i ochrona				Suma
	Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		
	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	
Acremoniella atra (Corda) Saccardo							4				29	1	34
Acrostalagmus luteoalbus (Link) Zare, Gams & Schroers			1				1				5	5	12
Alternaria alternata (Fr.) Keissler	2	1	1	7	9	2	17	14	4	2	5	3	67
Botrytis cinerea Pers.			8	3	1		26	20		3	14	17	92
Chaetomium sp.							1						1
Cladosporium cladosporioides (Fresenius) de Vries							1						1
Clonostachys rosea (Link) Schroers, Samuels, Seifert & Gams	3		1					1			4		9
Colletotrichum lupini (Bondar) Nirenberg, Feiler & Hagedorn	39	22	32	30	36	33	39	26	45	26	34	16	378
Cylindrocarpon spp.					2		1						3
Epicoccum nigrum Link	1		5						1			1	8
Fusarium avenaceum (Corda ex Fr.) Sacc.							1	1					2
Fusarium bulbicola Nirenberg & O'Donnell								1					1
Fusarium culmorum (W.G. Smith) Sacc.												1	1
Fusarium equiseti (Corda) Sacc.							1					1	2
Fusarium fujikuroi Nirenberg							1						1
Fusarium oxysporum Schltdl.				1				1				1	3

Tabela 20 c.d.

Fusarium poae (Peck) Wollenweber					1		1	2				1	5
Fusarium sporotrichioides Sherb.								2			1		3
Fusarium tricinctum (Corda) Sacc.							2						2
Fusarium sp.							1						1
Hyalocylindrophora rosea (Petch) Réblová & Gams			1						1				2
Mortierella alpina Peyronel							1						1
Mucor circinelloides van Tieghem					1								1
Mucor hiemalis Wehmer												1	1
Penicillium sp.	1	36	22	19	15	15	16	10	19	13	3	15	184
Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Vuill.	2		4		1			1		1	15	5	29
Sarocladium strictum (W. Gams) Summerb.				3									3
Scytalidium lignicola Pasante					1								1
Trichocladium asperum Harz			1	1									2
Trichocladium griseum (Traaen) Wei Wang & Houbraken												1	1
Trichothecium roseum (Pers.) Link	12	11	5	3	5	2	16	19	7	7	17	5	109
Czarne niezarodnikujące	9	1		2			4	1	1	3			21
Razam	**69**	**71**	**81**	**69**	**72**	**52**	**134**	**99**	**78**	**55**	**127**	**74**	**981**

N- nasiona nie odkażane;
O- nasiona odkażane;

Tabela 21

Grzyby wyizolowane z nasion łubinu białego odmiany Boros (Tomaszkowo, 2004-2006)

Gatunki grzybów	naturalna infekcja (kontrola)				inokulacja				inokulacja i ochrona				Suma
	Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		
	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	
Acremoniella atra (Corda) Saccardo	2	2	3	18	1		22	7			6		61
Acrostalagmus luteoalbus (Link) Zare, Gams & Schroers							3	4			1		8
Alternaria alternata (Fr.) Keissler	47	42	4	15	57	51	6	30	26	37	43	27	385
Arthrinium sphaerospermum Fuckel	1	2				1			1		1	5	11
Aspergillus brasiliensis Varga, Frisvad & Samson							1						1
Botrytis cinerea Pers.	1	2		1	1		7	4	14	11	15	5	61
Cladosporium cladosporioides (Fresenius) de Vries	12	1	11									1	25
Clonostachys rosea (Link) Schroers, Samuels, Seifert & Gams					3							2	5
Colletotrichum lupini (Bondar) Nirenberg, Feiler & Hagedorn	28	43	24	33	18	20	4		31	50	12	6	269
Epicoccum nigrum Link		1											1
Fusarium avenaceum (Corda ex Fr.) Sacc.	2							1		1			4
Fusarium chlamydosporum Wollenw. et Reinking			3		3	1	1						8
Fusarium culmorum (W.G. Smith) Sacc.			1										1
Fusarium equiseti (Corda) Sacc.			1	2			9	2			1		15
Fusarium fujikuroi Nirenberg											1		1
Fusarium oxysporum Schltdl.							2						2

Tabela 21 c.d.

Fusarium poae (Peck) Wollenweber			2				1	2	1		2	1	9
Fusarium sporotrichioides Sherb.			3	2			4		1		3		13
Fusarium sp.	1	2	1	2			4	7			1		18
Mortierella alpina Peyronel							4				2		6
Mucor hiemalis Wehmer							7	12			1		20
Neocosmospora solani (Mart.) Lombard & Crous							6	5			5		16
Penicillium sp.	9	9	9	9	18	17	4	3	1		1	4	84
Rhizoctonia solani Kűhn		1											1
Sarocladium strictum (Gams) Summerb.						1			2				3
Scytalidium lignicola Pasante	1			2									3
Trichoderma aureoviride Rifai					1								1
Trichothecium roseum (Pers.) Link	24	3	43	3	9	6	37	29	31	27	36	43	291
Białe niezarodnikujące						2							2
Czarne niezarodnikujące			4						9			1	14
Razem	**128**	**108**	**109**	**87**	**111**	**99**	**122**	**106**	**116**	**126**	**131**	**95**	**1338**

O- nasiona odkażane
N- nasiona nie odkażane

Tabela 22

Grzyby wyizolowane z nasion łubinu wąskolistnego odmiany Baron (Tomaszkowo, 2004-2006)

Gatunki grzybów	naturalna infekcja (kontrola)				inokulacja				inokulacja i ochrona				Suma
	Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		
	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	
Acremoniella atra (Corda) Saccardo	1					1							2
Acrostalagmus luteoalbus (Link) Zare, Gams & Schroers	1									1			2
Alternaria alternata (Fr.) Keissler	8	27	39	23	11	15	10	24	1		9	6	173
Arthrinium sphaerospermum Fuckel		2				7				2			11
Aspergillus brasiliensis Varga, Frisvad & Samson				1									1
Aspergillus sp.						1	1						2
Aureobasidium pullulans (De Bary) Arnaud	1							2					3
Botrytis cinerea Pers.											3	2	5
Cladosporium cladosporioides (Fresenius) de Vries			1					2					3
Clonostachys rosea (Link) Schroers, Samuels, Seifert & Gams	1					3							4
Colletotrichum lupini (Bondar) Nirenberg, Feiler & Hagedorn								2					2
Epicoccum nigrum Link				4						2		1	7
Fusarium avenaceum (Corda ex Fr.) Sacc.	1												1
Fusarium culmorum (W.G. Smith) Sacc.			1					2					3
Fusarium equiseti (Corda) Sacc.				2			1					1	4
Fusarium poae (Peck) Wollenweber		2				1			1				4

Tabela 22 c.d.

Fusarium sp.			2	2		2				1			7
Mortierella alpina Peyronel	1					1					2		4
Mucor circinelloides van Tieghem		1								1			2
Mucor hiemalis Wehmer			4	2		2							8
Neocosmospora solani (Mart.) Lombard & Crous	6												6
Penicillium sp.	76	44	52	41	50	14	39	10	48	48	68	50	540
Rhizoctonia solani Kűhn				1									1
Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Vuill.	1		6		22	6	18	12			2	1	68
Sarocladium strictum (Gams) Summerb.		1						1			1		3
Sphaerostilbella penicillioides (Corda) Rossman, Lombard & Crous						4							4
Trichocladium asperum Harz						1							1
Trichoderma viride Persoon ex Fries					2								2
Trichothecium roseum (Pers.) Link	2	16	29	6	1		19	4			4		81
Białe niezarodnikujące			1						1				2
Czarne niezarodnikujące						1					1		2
Razem	**99**	**93**	**135**	**82**	**86**	**59**	**88**	**59**	**51**	**55**	**90**	**61**	**958**

O- nasiona odkażane
N- nasiona nie odkażane

Tabela 23

Grzyby wyizolowane z nasion łubinu wąskolistnego odmiany Sonet (Tomaszkowo, 2004-2006)

Gatunki grzybów	naturalna infekcja (kontrola)				inokulacja				inokulacja i ochrona				Suma
	Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		
	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	
Acremoniella atra (Corda) Saccardo	1		1		1		1						4
Acremonium sp.						1				2			3
Acrostalagmus luteoalbus (Link) Zare, Gams, Schroers		1											1
Alternaria alternata (Fr.) Keissler	21	9	39	24	18	11	24	26	16	14	30	9	241
Arthrinium sphaerospermum Fuckel			1		1							1	3
Aspergillus brasiliensis Varga, Frisvad, Samson	1										9		10
Botrytis cinerea Pers.	1		6	4		2	3	3		3	2	1	25
Cladosporium cladosporioides (Fresenius) de Vries		1				1			1				3
Colletotrichum lupini (Bondar) Nirenberg, Feiler & Hagedorn	8		2	2	4	1	4	16			1		38
Epicoccum nigrum Link			1				2						3
Fusarium avenaceum (Corda ex Fr.) Sacc.	1				1					1			3
Fusarium equiseti (Corda) Sacc.	1	1	3	2		1	1					2	11
Fusarium oxysporum Schltdl.	1			1					1				3
Fusarium poae (Peck) Wollenweber			2	1									3
Fusarium sporotrichioides Sherb.	1												1
Fusarium sp.		1			1			2			5		9
Humicola fuscoatra Traaen			1										1

Tabela 23 c.d.

Microdochium nivale (Fr.) Samuels, Hallett			1										1
Mortierella alpina Peyronel	1												1
Mucor circinelloides van Tieghem						1							1
Mucor hiemalis Wehmer								2					2
Penicillium sp.	47	38	34	26	71	37	59	25	43	36	44	34	494
Rhizoctonia sp.				4		2	3	3	3				15
Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Vuill.	3	1	1		2		2	1	19		10	10	49
Trichothecium roseum (Pers.) Link	1			1	1	3	2	1				1	10
Czarne niezarodnikujące			2	2							1	1	6
Razem	**88**	**52**	**94**	**67**	**100**	**60**	**101**	**79**	**83**	**56**	**102**	**59**	**941**

O- nasiona odkażane
N- nasiona nie odkażane

Tabela 24

Grzyby wyizolowane z nasion łubinu żółtego odmiany Mister (Tomaszkowo, 2004-2006)

Gatunki grzybów	naturalna infekcja (kontrola)				inokulacja				inokulacja i ochrona				Suma
	Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		
	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	
Acrostalagmus luteoalbus (Link) Zare, Gams & Schroers				1									1
Alternaria alternata (Fr.) Keissler	18	27	28	30	29	23	32	32	22	31	34	39	345
Aspergillus brasiliensis Varga, Frisvad & Samson	1		1										2
Aspergillus spp.			1							1			2
Botrytis cinerea Pers.	1		1										2
Cladosporium cladosporioides (Fresenius) de Vries										1			1
Clonostachys rosea (Link) Schroers, Samuels, Seifert & Gams											1		1
Colletotrichum lupini (Bondar) Nirenberg, Feiler & Hagedorn	7	6	4	11	7	6	13	14	30	7	12	17	134
Epicoccum nigrum Link.					1							1	2
Fusarium avenaceum (Corda ex Fr.) Sacc.											1		1
Fusarium equiseti (Corda) Sacc.			1						1				2
Fusarium oxysporum Schltdl.	1						1						2
Fusarium poae (Peck) Wollenweber						1			1				2
Fusarium sporotrichioides Sherb.	1												1
Fusarium sp.										1			1
Mortierella alpina Peyronel									1				1
Mucor circinelloides van Tieghem					1								1

Tabela 24 c.d.

Penicillium sp.	71	30	40	24	48	30	43	17	31	14	40	13	401
Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Vuill.			13				1	1			2	3	20
Sarocladium strictum (Gams) Summerb.										1			1
Sphaerostilbella penicillioides (Corda) Rossman, Lombard & Crous				1									1
Trichocladium asperum Harz	1					1		1	1				4
Trichocladium griseum (Traaen) Wei Wang & Houbraken			1				1						2
Czarne niezarodnikujące	2			2	1	1					1		7
Razem	**103**	**63**	**90**	**69**	**87**	**62**	**91**	**65**	**87**	**56**	**91**	**73**	**937**

O- nasiona odkażane
N- nasiona nie odkażane

Tabela 25

Grzyby wyizolowane z nasion łubinu żółtego odmiany Taper (Tomaszkowo, 2004-2006)

Gatunki grzybów	naturalna infekcja (kontrola)				inokulacja				inokulacja i ochrona				Suma
	Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		
	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	
Acremoniella atra (Corda) Saccardo												2	2
Acrostalagmus luteoalbus (Link) Zare, Gams & Schroers							2						2
Alternaria alternata (Fr.) Keissler	16	18	36	17	27	19	24	33	7	20	45	49	311
Aspergillus sp.											1		1
Botrytis cinerea Pers.						1			1				2
Chaetomium sp.				1									1
Colletotrichum lupini (Bondar) Nirenberg, Feiler & Hagedorn	51	41	43	39	14	19	50	35	50	42	5	12	401
Dichotomopilus funicola (Cooke) Wei Wang & Samson			3										3
Epicoccum nigrum Link				1						2			3
Fusarium equiseti (Corda) Sacc.					1								1
Fusarium oxysporum Schltdl.											2	2	4
Fusarium poae (Peck) Wollenweber			2										2
Fusarium sp.											1		1
Mortierella alpina Peyronel		1								5	40	38	84
Mucor circinelloides Tiegh.						1							1
Mucor hiemalis Wehmer			1										1

Tabela 25 c.d.

Penicillium sp.	21	16	11	11	44	61	38	53	38	22	11	10	336
Rhizoctonia solani Kuhn				1									1
Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Vuill.	2	2		1		1		1	2		20	16	45
Sarocladium strictum (Gams) Summerb.		1		1									2
Sphaerostilbella penicillioides (Corda) Rossman, Lombard & Crous						1							1
Trichocladium asperum Harz									5		20	6	31
Trichoderma harzianum Rifai									1				1
Trichothecium roseum (Pers.) Link										6			6
Acremoniella atra (Corda) Saccardo												2	2
Razem	**90**	**79**	**96**	**72**	**86**	**103**	**114**	**122**	**104**	**97**	**145**	**135**	**1243**

O- nasiona odkażane
N- nasiona nie odkażane

Tabela 26

Grzyby wyizolowane z nasion łubinu wieloletniego (Tomaszkowo, 2004-2006)

Gatunki grzybów	**naturalna infekcja (kontrola)**				**inokulacja**				**inokulacja i ochrona**				**Suma**
	Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		Zdrowe		Chore		
	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	
Acrostalagmus luteoalbus (Link) Zare, Gams & Schroers					2	1							3
Alternaria alternata (Fr.) Keissler	24	11	7	21	5	9	32	23	3		1		136
Aspergillus sp.						1							1
Botrytis cinerea Pers.	5	5	29	13									52
Cladosporium cladosporioides (Fresenius) de Vries							1					1	2
Colletotrichum lupini (Bondar) Nirenberg, Feiler & Hagedorn				1	25	3		6					35
Epicoccum nigrum Link			1	1				1			1		4
Fusarium avenaceum (Corda ex Fr.) Sacc.	2								1				3
Fusarium equiseti (Corda) Sacc.		2		2			5						9
Fusarium oxysporum Schltdl.												1	1
Fusarium sp.			1	3			1						5
Mortierella alpina Peyronel			1										1
Penicilium sp.	23	1	24	17	14	6	6	3		5	6	15	120
Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Vuill.		1					1		10		1		13
Sarocladium strictum (Gams) Summerb.									1				1
Trichocladium asperum Harz					2	1							3
Trichoderma viride Persoon												1	1
Trichothecium roseum (Pers.) Link			1		2	1		1					5
Czarne niezarodnikujące					1		4	1	2	1	3	1	13
Razem	**54**	**20**	**64**	**58**	**51**	**22**	**50**	**35**	**17**	**6**	**12**	**19**	**408**

O- nasiona odkażane ; N- nasiona nie odkażane

Tabela 27

Grzyby wyizolowane z nasion łubinu żółtego odm. Markiz bezpośrednio po zbiorze (Tomaszkowo, 2016-2018)

Gatunki grzybów	Kontrola - tło		Kontrola-inokulacja *C.lupini*		Gwarant 500 SC		Asami SL		Ridomil Gold MZ Pepite 67,8WG		Bio-algeen S90		AgNO3		19 PSDM		20PSDM		LAC MIX (mieszanina izolatów *Lactobacillus brevis*)		PS1		PS15		MP2 (Ant 9) Endofity korzeni pszenicy		EN 40		SBTC		Tytan		TiO2		Suma
	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	
Absidia spinosa Lendner		3			1			1		1																									6
Acremoniella atra (Corda) Sacc.	2	1	2	3	5	2			1	2		1		1	5	4		1	3	6	1	1	3		1							1	1	5	52
Acremonium sp.																							1												1
Acrostalagmus luteoalbus (Link) Zare, Gams & Schroer.					3		2										3																		8
Alternaria alternata (Fr.) Keissl.	51	37	18	14	33	52	38	52	42	48	41	47	57	50	50	70	13	6	39	46	52	53	7	4	17	23	6	9	22	37	38	31	33	37	1173
Ascochyta medicaginicola Qian Chen & Cai										4									1									1							6
Aspergillus brasiliensis Varga, Frisv. & Samson					10		12				13						12	2		2															51
Aspergillus sp.																		1			1	1					1								4
Cladosporium cladosporioides (Fres.) de Vries	8		4		1	2	1			1			0	5		6				1	1										1	1		2	34
Cladosporium herbarum (Pers.) Link		1	1																											1					3
Colletotrichum lupini (Bond.) Niren., Feiler & Haged.	31	34	20	35	19	37	21	28	27	30	24	34	28	35	23	19		26	36	30	24	27	15	14	20	16	14	15	33	26	16	18	13	1	789

Tabela 27 c.d.

Epicoccum nigrum Link					1			1				1				2			1											1	1	3	1	12
Fusarium avenaceum (Corda ex Fr.) Sacc.					1												1																	2
Fusarium culmorum (W.G. Sm.) Sacc.										6			3	3													1				2	2	17
Fusarium equiseti (Corda) Sacc.					2		2			1	3		2	4			6			3	1										1			25
Fusarium fujikuroi Nirenberg							1				1																							2
Fusarium incarnatum (Desm.) Sacc.									1	1																								2
Fusarium oxysporum Schlechtendal		2				1	4	13	6	3	2	12	2	2	3	2		1	5	8	2	8			4		1		1	5	3	4	9	1	104
Fusarium poae (Peck) Wollenw.						1	1			1												7							1		1		4	16
Fusarium sporotrichioides Sherbakoff		3				1		2	1	1		1	1		2	0		1	2	1	1	2		1	1		2	1			2		2		28
Fusarium tricinctum (Corda) Sacc.								3	1																									4
Fusarium sp.	11						1				1																							13
Hyalocylindrophora rosea (Petch) Réblová & Gams					1		6			1	6			1		1	5			1						1								23
Mariannaea elegans (Corda) Samson		2						1	2	1			2		1			2	1	1	6	3		1		1	1							25
Microdochium nivale (Fr.) Samuels & Hallett					1		1				1																							3
Monodictys levis (Wiltshire) Hughes				2					1		2																				1			6
Mortierella alpina Peyronel					6		10				8						3		1											1					29
Mortierella sp.									1																									1

Tabela 27c.d.

Mucor hiemalis Wehmer											2	1																							3
Neocosmospora solani (Mart.) Lomb. & Crous	1							1	1	2		2	2		0	1		2	4	3	2	2	1	1	3	1	3	2	2	2		3	2		43
Penicillium sp.	3	11		3		6	2	7	9	10	6	6	9	15	8	4		2	10	6	3	6	6	4	9	9	8	3	6	1		2	1	4	179
Rhizoctonia sp											1			1																				2
Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Vuill.													1																					1
Sarocladium strictum (Gams) Summerb.	1	1							1	0			1	1	1	1			1			1	4	1	1	1	1							17
Scytalidium lignicola Pesante											1																							1
Spicaria griseola (Sacc.)	1		1		2	1	1	4	1	3																								14
Trichocladium griseum (Traaen) Wang & Houbr.		1		2	1	1		2																										7
Trichoderma aureoviride Rifai												4																						4
Trichoderma hamatum (Bonord.) Bainier		1																									1							2
Trichoderma harzianum Rifai									1		1								1						1		1							5
Trichothecium roseum (Pers.) Link		11	17		13		10		13		10		8	5	10	2			5		8	4			1				14	2	22		12		167
Białe nie zarodnikujące												1					3																	4
Czarne nie zarodnikujący							1																										1		2
Razem	**109**	**108**	**63**	**59**	**100**	**104**	**114**	**115**	**109**	**116**	**123**	**110**	**116**	**123**	**103**	**112**	**46**	**44**	**110**	**108**	**102**	**115**	**37**	**26**	**58**	**52**	**39**	**32**	**78**	**76**	**83**	**64**	**79**	**57**	**2890**

N- nasiona nieodkażane;
O- nasiona odkażane

Tabela 28

Grzyby wyizolowane z nasion łubinu żółtego odm. Markiz po 6-miesięcznym okresie przechowywania (Tomaszkowo, 2016-2018)

Gatunki grzybów	Kontrola - tło		Kontrola-inokulacja *C.lupini*		Gwarant 500 SC		Asami SL		Ridomil Gold MZ Pepite 67,8 WG		Bio-algeen S90		AgNO3		19 PSDM		20PSDM		LAC MIX (mieszanina izolatów *Lactobacillus brevis*)		PS1		PS15		MP2 (Ant 9) Endofity korzeni pszenicy		EN 40		SBTC		Tytan		TiO2		Suma
	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	N	O	
Acremoniella atra (Corda) Sacc.	3	1	1		1	1	1	0					1		1	1	1		2		3	1		1	1	1	3	1	2		1		2	1	30
Acremonium sp.									1		1																							2
Alternaria alternata (Fr.) Keissler	30	27	27	33	21	22	21	23	18	22	22	23	22	22	20	20	18	19	22	22	20	21	18	17	20	21	15	16	17	19	18	22	16	18	712
Aspergillus brasiliensis Varga, Fris. & Sams.	1		1																															2
Aspergillus sp.	1	1	1	1		1		1		1		1		1				1			1	1				1	1	1				1			16
Botrytis cinerea Persoon ex Fries	1		1			1	1	1			1			1			1		2			1	1	1			1		1			1		16
Cladosporium cladosporioides (Fresen.) de Vries	2		2	1	1		1			1		1		1	1	1	1	1	1	1		1		1		1			1	1		1	1	1	24
Cladosporium herbarum (Pers.) Link											1																						1		2
Clonostachys rosea (Link) Schr., Samu., Sejf. & Gams			1																															1
Colletotrichum lupini (Bond.) Niren., Feiler & Hag.	22	23	23	26	18	22	22	21	21	24	28	29	19	21	19	24	17	19	21	23	20	22	19	18	20	24	19	19	18	20	18	19	19	20	717
Epicoccum nigrum Link	1			1																															2

Tabela 28 c.d.

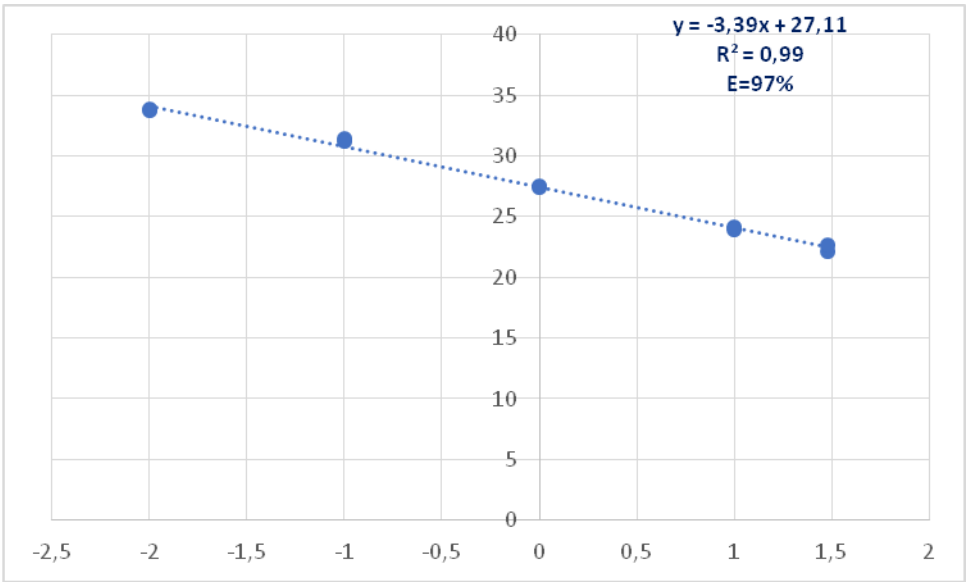
Fusarium avenaceum (Corda ex Fr.) Sacc.		1	1																																2
Fusarium equiseti (Corda) Sacc.	1		1																																2
Fusarium oxysporum Schltdl.	1							1		1		1			1		2			1	2	2		1			1								14
Fusarium poae (Peck) Wollenweber	1	5	2	5	4		1		4		1		3	2	3	1	3	2	2	1	3	1	1	2	5	1	2	3	2	1	1	1	3	2	68
Fusarium sporotrichioides Sherb.	1	1	1				1				1	1	1		1	1			1			1	1		1			1			1			1	16
Mariannaea elegans (Corda) Samson	2	1	3	1			2	1	3	1	3	1			3		5	1	3		4	1			1		2								38
Metarhizium marquandii (Mass.) Kepl., Rehn. & Humb.							1		1		1	1			1	1	1		2		2		1	1		1	1		1			1	1		18
Microascus brevicaulis Abbott	3		1	3		2	1		3			3	2	1	3		3	1	3		3			3		2	1		3			3	1	2	47
Microdochium nivale (Fr.) Samuels & Hallett	1																1						1												3
Mortierella alpina Peyronel																													1						1
Mortierella sp.	1																																		1
Mucor hiemalis Wehmer	1														1								1		1		1								5
Neocosmospora solani (Mart.) Lomb. & Crous															1					1		1													3
Penicillium sp.	8	4	7	2	6	3	4	1	8	1	7	2	5	2	7	2	3	2	8	4	6	5	2	3	9	2	2	1	4	2	5	2	3		132
Rhizopus sp.	2									1			1					1		1			1	1	1			1		1					11
Sarocladium strictum (Gams) Summerb.	2			4									2	4	2	4																			18

Tabela 28 c.d.

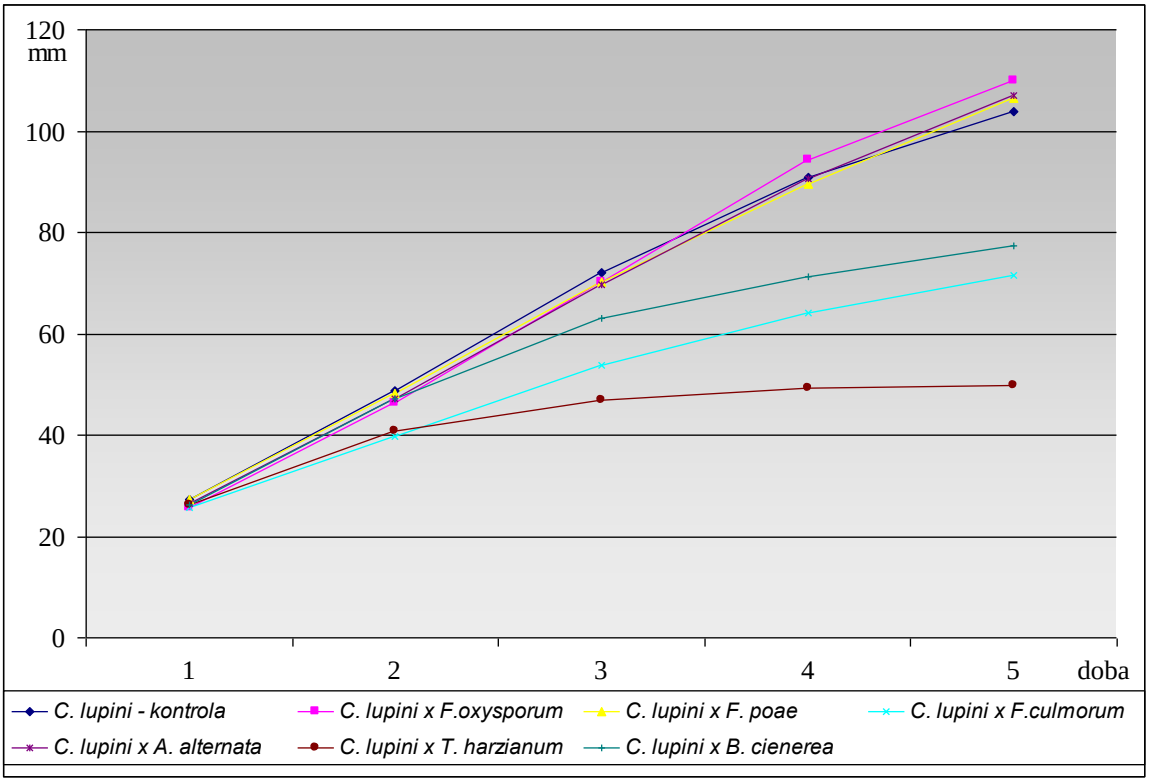
Scopulariopsis silvatica (Oudem.) Apinis					1	1	1		1		2		1						1	1			1	1	1				1				1		14
cytalidium lignicola Pesante																																	1		1
Spicaria griseola Sacc.	1		2		1		1	1	2		2	1	3	1	3	1	5	2	5	2	4	1	3		1	1	2		5	1	2		1	1	55
Trichoderma hamatum (Bonord.) Bainier	2		1	1			1			1	1		1	1		1		1			1	1			1	1		1		1	1			1	19
Trichoderma harzianum Rifai					1				1		1		1												1										5
Trichoderma polysporum (Link) Rifai		1														1		1				1				1				1					6
Trichothecium roseum (Pers.) Link															1			1							1			1				1			5
Razem	**88**	**65**	**76**	**78**	**54**	**53**	**59**	**50**	**63**	**53**	**72**	**64**	**62**	**57**	**68**	**58**	**61**	**52**	**73**	**57**	**69**	**61**	**50**	**50**	**64**	**57**	**51**	**45**	**56**	**47**	**47**	**51**	**51**	**47**	**2009**

N- nasiona nieodkażane;
O- nasiona odkażane

Ryc. 1. Krzywa standardowa uzyskana poprzez rozcieńczenie seryjne gDNA *C. lupini.*



Ryc. 2. Wzrost liniowy testowanych gatunków grzybów



Fot. 1. Objawy antraknozy łubinu na pędach łubinu żółtego (Tomaszkowo)



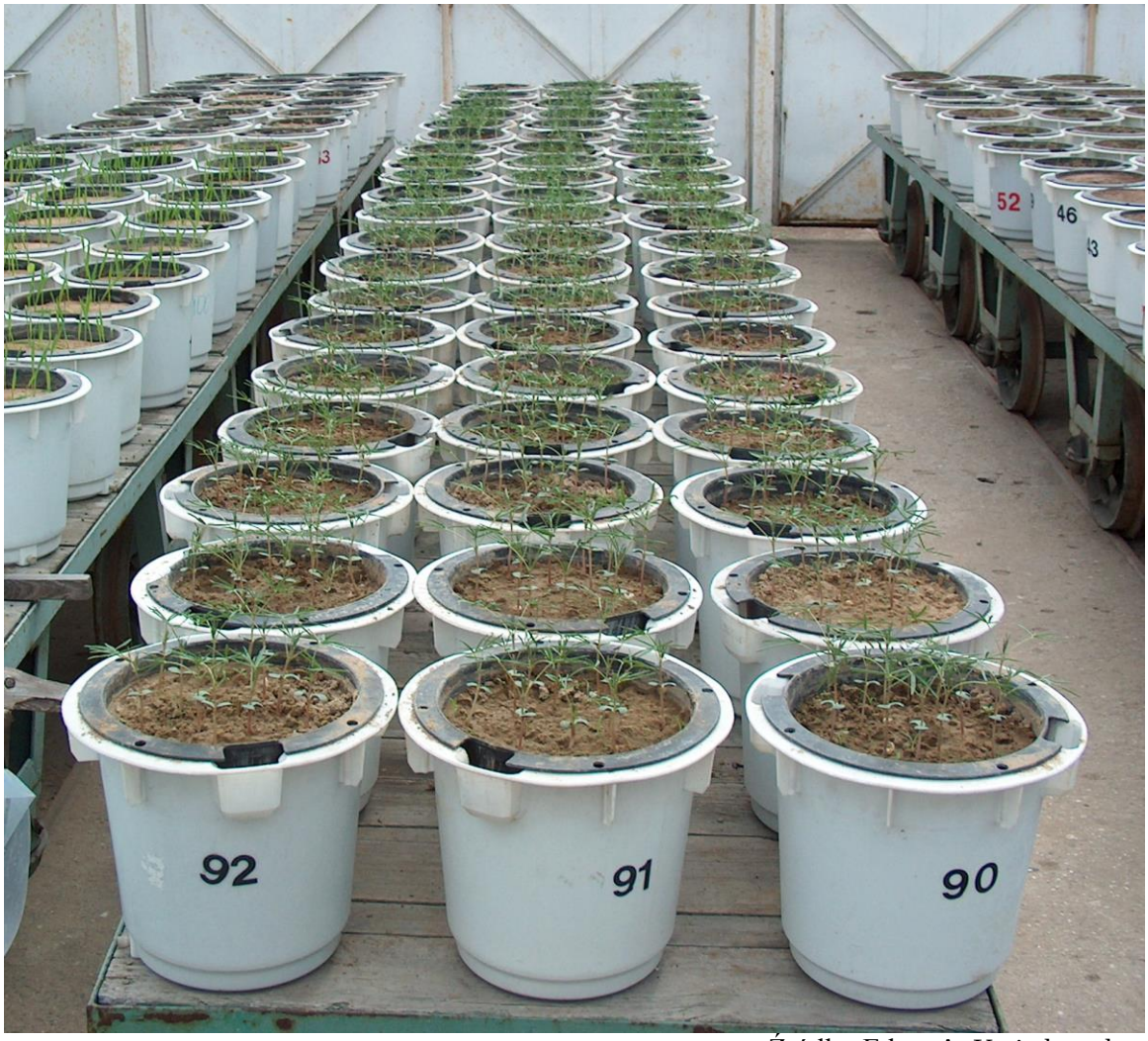
Źródło: Edyta A. Kwiatkowska

Fot. 2. Objawy antraknozy łubiny na strąkach łubinu żółtego (Tomaszkowo)



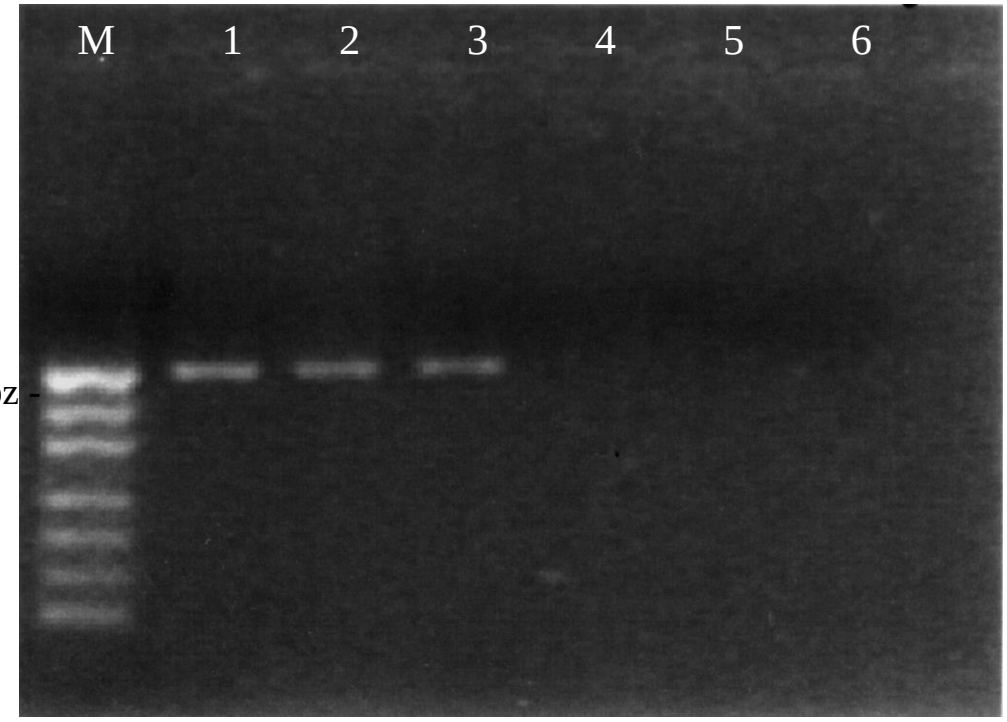
Źródło: Edyta A. Kwiatkowska

Fot. 3. Doświadczenie wazonowe (hala wegetacyjna)



Źródło: Edyta A. Kwiatkowska

Fot. 4. Identyfikacja wybranych izolatów *C. lupini* metodą molekularną



Źródło: Tomasz Kulik

1. izolat nr 304 – startery (CaInt2i ITS4) specyficzne dla kompleksu gatunku *C. acutatum;*
2. izolat nr 362 – startery (CaInt2i ITS4) specyficzne dla kompleksu gatunku *C. acutatum;*
3. izolat nr 568 – startery (CaInt2i ITS4) specyficzne dla kompleksu gatunku *C. acutatum;*
4. izolat nr 304 – startery (CaInt2i ITS4) specyficzne dla *C. gloeosporioides;*
5. izolat nr 362 – startery (CaInt2i ITS4) specyficzne dla *C. gloeosporioides;*
6. izolat nr 568 – startery (CaInt2i ITS4) specyficzne dla *C. gloeosporioides*.

Streszczenie

Biologia i zwalczanie *Colletotrichum lupini* występującego na łubinach

mgr Edyta Kwiatkowska

Słowa kluczowe: łubin biały, łubin wąskolistny, łubin żółty, łubin trwały, łubin andyjski, antraknoza łubinu, *Colletotrichum lupini*, tempo wzrostu grzybni, zwalczanie chemiczne, ochrona biologiczna, izolacja grzybów.

Epidemiczne pojawienie się na przełomie XX i XXI wieku patogena powodującego antraknozę łubinu oraz doprowadzenie przez niego do dużych strat gospodarczych i środowiskowych wpłynęło na podjęcie w Katedrze Fitpatologii i Entomologii UWM w Olsztynie szerokich badań dotyczących tego zagadnienia. Dlatego też w latach 2004-2006, 2011-2015 i 2016-2018 w Zakładzie Dydaktyczno-Doświadczalnym w Tomaszkowie koło Olsztyna przeprowadzono trzy doświadczenia polowe, a w latach 2004-2006 w hali wegetacyjnej UWM w Olsztynie również trzy badania wazonowe. Ich celem było określenie: gatunku patogena powodującego antraknozę łubinu, nasilenia występowania choroby w zależności od gatunku i odmiany łubinu, możliwości i celowości stosowania ochrony chemicznej bądź biologicznej w ochronie łubinu oraz wpływu wybranych czynników środowiska na rozwój *C. lupini*.

W ciągu całego okresu badań prowadzono również prace laboratoryjne mające na celu określenie wpływu wybranych czynników środowiska na tempo wzrostu *C. lupini*, interakcji między patogenem a mikroorganizmami powszechnie występującymi w środowisku rolniczym, wpływu analizowanych czynników na liczebność oraz skład gatunkowy grzybów zasiedlających korzenie i nasiona łubinu.

W toku prowadzonych badań stwierdzono, że antraknozę na łubinie wywołuje ściśle wyspecjalizowany gatunek, a mianowicie *C. lupini*. Najbardziej podatnymi na infekcję przez *C. lupini* były odmiany łubinu żółtego (*Lupinus luteus*), a następnie łubinu białego (*L. albus*). Badania potwierdziły mniejszą podatność na infekcję odmian łubinu wąskolistnego (*L. angustifolius*). Stosunkowo wysokie nasilenie choroby notowane na łubinie trwałym (*L. polyphyllus*) oraz łubinie ozdobnym (*L. nanus*) mogło się stać czynnikiem wpływającym na ich zanikanie w krajobrazie. Odmiany o zdeterminowanym typie wzrostu (tzw. samokończące) i odmiany o niezdeterminowanym typie wzrostu były atakowane przez *C. lupini* na zliżonym poziomie.

W trakcie trwania badań polowych i wazonowych analizowano możliwości zahamowania rozprzestrzeniania się patogena poprzez ograniczenie infekcji pierwotnej związanej z nasionami, jak i zmniejszenie infekcji wtórnej, związanej z rozprzestrzenianiem się zarodników konidialnych. Stosowanie zapraw nasiennych zdecydowanie ograniczyło infekcję pierwotną, co pośrednio wpływało hamująco na infekcję wtórną. Dlatego też wystąpiło mniejsze nasilenie wczesnych objawów na pędach. Stosowanie zapraw nie wpływało natomiast znacząco na masę tysiąca nasion. Bardzo dużą skuteczność w ograniczaniu objawów chorobowych wykazywały, stosowane w formie opryskiwania łubinu w okresie wegetacji, chemiczne środki ochrony roślin. W chwili obecnej wszystkie przetestowane w doświadczeniu substancje aktywne zostały wycofane ze stosowania w ochronie upraw. Brak fungicydów do zwalczania *C. lupini* można częściowo zrekompensować poprzez stosowanie stymulatorów wzrostu (Asahi SL, Bio-algeen) lub związków srebra ($AgNO_3$, nanocząstkowy SBTC), bądź tytanu (TiO_2, tytan nanocząsteczkowy). Badane czynniki biologiczne, zarówno dostępne na rynku, jak i opracowane w Katedrze okazały się nieskuteczne lub mało skuteczne w hamowaniu objawów choroby. Ograniczenie infekcji roślin powodowanej przez *C. lupini* wpływa na zmniejszenie nasilenia choroby na strąkach, a tym samym chroni nasiona przed porażeniem.

Korzystnie na rozwój *C. lupini* wpływa wyższa temperatura, której optimum dla wzrostu *C. lupini* wynosi 15°C, ale patogen dobrze rozwija się również w temperaturze nawet 25^{o}C. Dobre wyniki daje hodowla patogena na pożywce glukozowo-ziemniaczanej (PDA) przy niskim pH (4,7).

Z nasion łubinu izolowano wiele gatunków grzybów. Dominowały wśród nich: *Alternaria alternata*, *C. lupini*, *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. W badaniach laboratoryjnych rozwój *C. lupini* był hamowany przez niektóre grzyby (*Trichoderma harzianum*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*). *C. lupini* najrzadziej izolowano z nasion łubinu wąskolistnego odmiany Sonet i Baron oraz z nasion łubinu wieloletniego. Stosowanie ochrony chemicznej na początku kwitnienia najczęściej wpływało ograniczająco na występowanie patogena na uzyskanych nasionach.

Stężenie $16x10^3$ zarodników *C. lupini* w 1ml wody było najniższym z badanych stężeń, w którym odnotowano infekcję wszystkich testowanych odmian łubinu białego, wąskolistnego i żółtego. Odmianami najbardziej podatnymi na infekcję okazały się Markiz (łubin żółty) oraz Sonet (łubin wąskolistny).

Summary

The biology and protection against *Colletotrichum lupini* on lupines

M.Sc. Edyta Kwiatkowska

Key words: white lupin, narrow-leaf lupin, yellow lupin, big-leaved lupin, Andean lupin, anthracnose of lupin, *Colletotrichum lupini*, mycelium growth, chemical control, biological protection, isolation of fungi.

The epidemic pathogen appeared between 20th and 21st century and caused anthracnose of lupin which led to significant economic and environmental losses. It was the reason why the Department of Phytopathology and Entomology of the University of Warmia and Mazury started a wide research programme to investigate this issue. During the years 2004-2006, 2011-2015 and 2016-2018 in the Experiment and Education Station in Tomaszkowo near Olsztyn there were three field experiments carried out and during the years 2004-2006 also three pot experiments took place in the greenhouse of the University of Warmia and Mazury. Their aim was to study: the species of pathogen causing the anthracnose of lupin, the intensification of disease depending on the species and cultivar of lupin, the possibilities and purposefulness of chemical or biological protection of lupin and the influence of chosen environmental factors on the development of *C. lupini*.

During the entire research period the laboratory works was also carried out to determine the influence of selected environmental factors on the growth rate of *C. lupini*, the interaction between the pathogen and common microorganisms in the agricultural environment, the impact of the analyzed factors on the number and species composition of fungi inhabiting lupine roots and seeds.

During the research it was described that the anthracnose of lupin is caused by a strictly specialized species: *C. lupini.* The most susceptible to infection were the cultivars of yellow lupin (*Lupinus luteus*), and white lupin (*L. albus*). The research confirmed that the cultivars of narrow-leaf lupin (*L. angustifolius*) were less susceptible to infection. Comparably high intensity of infection noted on big leaved lupin (*L. polyphyllus*) and sky lupine (*L. nanus*) could have been a factor causing their disappearance from the landscape. The cultivars with determined growth type and the varieties with undetermined growth type were attacked by *C. lupini* at a similar level.

During the field and pot experiments the possibilities of disease control were analyzed. It was possible by limiting the pimary infection of seeds and the reduction of secondary infection related to the spreading of conidial spores. The application of seed dressing strongly limited the primary infection, which indirectly slowed down the secondary infection. For this reason the intensity of early symptoms on the shoots was lower. The application of seed dressing had no significant influence on the thousand seeds weight (TGW). The fungicides applied in the form of spraying during the vegetation period proved high effectiveness in limiting the disease symptoms.

At the moment all the active substances tested in the experiments have beeen withdrawn from application. The lack of fungicides to control of *C. lupini* can be partially compensated by the application of growth stimulators (Asahi SL, Bio-algeen) or compounds of silver ($AgNO_3$, nanoparticle SBTC), or titanium (TiO_2, nanoparticle titanium). The tested biological factors, both available for sale and prepared in the Department, were ineffective or only slightly effective in limiting the symptoms of the disease. Limiting the infection caused by *C. lupini* contributes to restricting the disease intensity on pods and as a result it protects agains the infection of seeds.

Higher temperature influences positively the development of *C. lupini.* The optimal temperature is 15°C, but the patogen develops well even in the temperature of up to 25°C. The pathogen can be well bred on the nutrient solution based on glucose and potatoes (PDA) with low pH (4,7).

From the lupin seeds many fungi species were isolated. The dominating ones were *Alternaria alternata, C. lupini, Fusarium* spp., *Penicillium* spp. In the laboratory tests the development of *C. lupini* was stopped by some fungi (*Trichoderma harzianum*, *Botrytis cinerea, Fusarium culmorum*). *C. lupini* was most seldom isolated from the seeds of narrow-leaf lupin from the cultivar Sonet and Baron and the seeds of big leaved lupine. The application of chemical protection at the beginning of blooming period most frequently restricted the appearance of pathogen on the obtained seeds.

The concentration of $16x10^3$ of *C. lupini* spores in 1 ml of water was the lowest of the researched concentrations in which the infection of all the cultivars of white, narrow-leaf, and yellow lupin was noticed. The most susceptible to infection were the cultivars Sonet (narrow-leaf lupin) and Markiz (yellow lupin).