

## Influence of fungicides on antagonism of fungi *Trichoderma viride* and *Fusarium* spp. under *in vitro* conditions

### Wpływ fungicydów na antagonizm grzybów *Trichoderma viride* i *Fusarium* spp. w warunkach *in vitro*

Agnieszka Perek, Ilona Świerczyńska

#### Summary

Fungi of the genus *Trichoderma* are common microorganisms occurring in nature. They have antagonistic activity towards many pathogenic fungi, such as those of the genus *Fusarium*. In the present experiment influence of fungicides on antagonism of *Trichoderma viride* and *Fusarium* spp. fungi was analysed under *in vitro* conditions. Five species of fungi of the genus *Fusarium* isolated from grains and four fungicides: Alert 375 SC, Capalo 337,5 SE, Input 460 EC and Opera Max 147,5 SE, were used. The analysed fungi were cultured in pairs (*Trichoderma* sp./*Fusarium* sp.) on the PDA (Potato Dextrose Agar) medium supplemented with fungicides at three concentrations. The observations included measurements of growth of the fungal colonies in subsequent days and their comparison with the control colonies. The results of the experiment showed a diverse influence of fungicides on antagonism of *T. viride* and *Fusarium* spp.

**Key words:** *Trichoderma viride*, *Fusarium* spp., antagonism, fungicides

#### Streszczenie

Grzyby rodzaju *Trichoderma* są mikroorganizmami występującymi powszechnie w przyrodzie. Wykazują działanie antagonistyczne wobec wielu grzybów patogenicznych, m.in. rodzaju *Fusarium*. W doświadczeniu badano wpływ fungicydów na antagonizm grzybów *Trichoderma viride* i *Fusarium* spp. w warunkach *in vitro*. Wykorzystano pięć gatunków grzybów rodzaju *Fusarium* wyizolowanych ze zbóż oraz cztery fungicydy: Alert 375 SC, Capalo 337,5 SE, Input 460 EC oraz Opera Max 147,5 SE. Testowane grzyby wyszczepiano parami (*Trichoderma* sp./*Fusarium* sp.) na pożywkę PDA (Potato Dextrose Agar) z dodatkiem fungicydów w trzech stężeniach. Obserwacje prowadzono mierząc w kolejnych dniach średnicę kolonii grzybów i porównując z koloniami kontrolnymi. Doświadczenie wykazało zróżnicowany wpływ fungicydów na antagonizm *T. viride* i *Fusarium* spp.

**Słowa kluczowe:** *Trichoderma viride*, *Fusarium* spp., antagonizm, fungicydy

Institut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy  
Zakład Mikologii  
Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań  
a.perek@iorpib.poznan.pl

## Wstęp / Introduction

Grzyby rodzaju *Trichoderma* spp. są mikroorganizmami występującymi powszechnie w przyrodzie i zasiedlającymi bardzo zróżnicowane środowiska. Dzięki swoim właściwościom są wykorzystywane w wielu gałęziach przemysłu, również w rolnictwie. Znacząco podnoszą wartość rolniczą podłoża, wspomagają wzrost roślin, jak również chronią przed czynnikami stresowymi, głównie organizmami chorobotwórczymi. *Trichoderma* spp. jako silny antagonista ogranicza występowanie wielu grzybów patogenicznych, m.in. rodzaju *Fusarium*, które stanowią duży problem w ochronie zbóż. Grzyby rodzaju *Fusarium* porażają rośliny we wszystkich stadiach rozwojowych, powodując obniżenie jakości ziarna, jak również znaczne straty plonu (Chet i Inbar 1994; Monte 2001; Wojtkowiak-Gębarowska 2006; Weber 2007).

Celem przeprowadzonego doświadczenia laboratoryjnego było określenie wpływu fungicydów na antagonizm grzybów *Trichoderma viride* i *Fusarium* spp. w warunkach *in vitro*.

## Materiały i metody / Materials and methods

W badaniach wykorzystano pięć gatunków grzybów rodzaju *Fusarium* wyizolowanych ze zbóż: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. equiseti* oraz *F. oxysporum*. Wybrano również cztery fungicydy zalecane do zwalczania fuzaryjnej zgorzeli podstawy źdźbła: Alert 375 SC (substancje aktywne (s.a.): karbendazym, flusilazol), Capalo 337,5 SE (s.a.: fenpropimorf, metrafenon, epoksykonazol), Input 460 EC (s.a.: protiokonazol, spiroksamina) oraz Opera Max 147,5 SE (s.a.: pira-

klostrobina, epoksykonazol). Badane środki dodawano do sterylnej pożywki PDA (potato dextrose agar) w trzech stężeniach: 1, 10 oraz 100 ppm, a następnie wlewano na płytki Petriego (90 mm). Testowane grzyby wyszczepiano parami (*T. viride*/*Fusarium* spp.) w postaci dwóch krążków (5 mm) w centrum płytki w odległości 3 cm od siebie. Obserwacje prowadzono mierząc średnicę kolonii antagonistycznych grzybów, porównując z koloniami kontrolnymi rosnącymi na pożywce bez fungicydu oraz z pojedynczymi koloniami każdego grzyba rosnącego na pożywce z fungicydem. Hodowlę prowadzono w temperaturze 20°C. W każdej kombinacji zastosowano trzy powtórzenia. Średnice kolonii grzybów mierzono co dwa dni od momentu inokulacji. Do analizy statystycznej wykorzystano pomiary wykonane po 4 i 14 dniach. Wyniki uzyskane w doświadczeniu opracowano statystycznie za pomocą analizy wariancji dwuczynnikowej przy użyciu testu Duncana, na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  (tab. 1, 2).

## Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Fungicydy wykazywały zróżnicowany wpływ na antagonizm grzybów *T. viride* i *Fusarium* spp. W analizie statystycznej wyników stwierdzono istotne różnice wzrostu grzybów *T. viride* i *Fusarium* spp. zarówno przy porównaniu badanych fungicydów, jak również pomiędzy poszczególnymi stężeniami.

Najsilniejszy wpływ na badane grzyby miał Alert 375 SC w każdym stężeniu. W pierwszym terminie pomiaru całkowicie zahamował wzrost wszystkich badanych grzybów, natomiast w drugim, niewielki wzrost grzybni zaobserwowano u *F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. graminearum* oraz *T. viride*. Podobne wyniki uzyskali Khan

Tabela 1. Średnica [mm] 14-dniowych kolonii grzybów z rodzaju *Fusarium*  
Table 1. The diameter [mm] of 14-days fungal colonies of *Fusarium* genus

Fungicyd Fungicide	<i>F. culmorum</i> / <i>T. viride</i>	<i>F. avenaceum</i> / <i>T. viride</i>	<i>F. equiseti</i> / <i>T. viride</i>	<i>F. oxysporum</i> / <i>T. viride</i>	<i>F. graminearum</i> / <i>T. viride</i>	Średnia dla fungicydu Mean for fungicide	
Alert 375 SC	1 ppm	5,0 a	5,0 a	5,0a	5,0 a	12,3 ae	6,5 A
	10 ppm	5,0 a	9,7 ae	6,7 ac	5,0 a	9,3 ad	7,1 A
	100 ppm	5,0 a	9,7 ae	5,0 a	5,0 a	8,0 ac	6,5 A
Capalo 337,5 SE	1 ppm	14,0 cg	32,7 nq	16,3 dh	34,0 oq	51,3 s	29,7 E
	10 ppm	10,7 ae	35,3 pq	12,3 ae	24,0 hm	34,7 oq	23,4 D
	100 ppm	7,7 ac	21,7 hl	11,3 ae	22,3 hl	25,0 in	17,6 BC
Opera Max 147,5 SE	1 ppm	28,3 jp	28,3 jp	24,7 im	22,3 hl	25,0 in	32,1 E
	10 ppm	14,0 cg	31,7 mp	10,3 ae	25,3 in	46,0 rs	25,5 D
	100 ppm	13,3 bf	26,7 jo	9,0 ad	21,3 gk	29,7 lp	20,0 C
Input 460 EC	1 ppm	68,7 t	33,7 oq	40,0 qr	26,7 jo	35,7 pq	40,9 F
	10 ppm	11,0 ae	21,3 gk	17,7 ei	5,3 ab	20,9 fj	15,1 B
	100 ppm	5,0 a	5,0 a	5,0 a	5,0 a	6,3 ac	5,3 A
Kontrola Control		64,7 t	23,3 hl	32,7 nq	52,3 s	34,3 oq	41,5 F
Średnia dla <i>Fusarium</i> spp. Mean for <i>Fusarium</i> spp.		19,4 B	21,8 C	15,1 A	20,1 BC	27,9 D	

Średnie oznaczone samymi małymi i dużymi literami w obrębie wierszy lub kolumn nie różnią się istotnie przy poziomie  $\alpha = 0,05$   
Mean values marked with the same small and capital letters within a row or column were not statistically significant  $\alpha = 0.05$

Tabela 2. Średnica [mm] 14-dniowych kolonii *T. viride*  
 Table 2. The diameter [mm] 14-days *T. viride* colonies

Fungicyd Fungicide	<i>T. viride</i> / <i>F. culmorum</i>	<i>T. viride</i> / <i>F. avenaceum</i>	<i>T. viride</i> / <i>F. equiseti</i>	<i>T. viride</i> / <i>F. oxysporum</i>	<i>T. viride</i> / <i>F. graminearum</i>	Średnia dla fungicydu Mean for fungicide	
Alert 375 SC	1 ppm	5,7 a	5,0 a	6,7 a	6,3 a	6,0 a	5,9 A
	10 ppm	9,0 a	8,7 a	5,3 a	7,3 a	6,3 a	7,3 A
	100 ppm	5,7 a	6,3 a	5,0 a	9,0 a	11,3 abc	7,5 A
Capalo 337,5 SE	1 ppm	10,0 ab	10,7 ab	9,0 a	10,3 ab	10,3 ab	10,1 B
	10 ppm	7,0 a	5,7 a	6,7 a	10,0 ab	7,0 a	7,3 A
	100 ppm	5,0 a	6,0 a	5,0 a	6,0 a	9,7 ab	6,3 A
Opera Max 147,5 SE	1 ppm	90,0 m	90,0 m	90,0 m	90,0 m	90,0 m	90,0 G
	10 ppm	56,3 i	62,3 j	39,3 fg	51,7 i	62,0 j	54,3 E
	100 ppm	34,3 ef	40,3 gh	33,0 e	29,0 e	41,3 gh	35,6 D
Input 460 EC	1 ppm	74,0 l	62,7 j	45,3 h	68,7 k	64,7 jk	60,1 F
	10 ppm	16,7 cd	15,3 bcd	17,3 d	15,3 bcd	20,7 d	17,1 C
	100 ppm	5,3 a	5,0 a	5,0 a	5,7 a	6,0 a	5,4 A
Kontrola Control	90,0 m	90,0 m	90,0 m	90,0 m	90,0 m	90,0 G	
Średnia dla <i>T. viride</i> Mean for <i>T. viride</i>	31,5 BC	31,4 BC	27,5 A	30,7 B	32,7 C		

Średnie oznaczone samymi małymi i dużymi literami w obrębie wierszy lub kolumn nie różnią się istotnie przy poziomie  $\alpha = 0,05$   
 Mean values marked with the same small and capital letters within a row or column were not statistically significant  $\alpha = 0.05$

i Shahzad (2007), którzy stwierdzili silne hamowanie wzrostu kolonii *T. viride* w obecności karbendazymu (jednej z substancji aktywnych zawartych w fungicydzie Alert 375 SC). Sikora i Banachowska (2006) badając wpływ substancji aktywnych na *F. culmorum* potwierdziły dużą wrażliwość tego grzyba na flusilazol (zawarty również w środku Alert 375 SC).

Równie silnym działaniem wykazał się Input 460 EC w dawce 100 ppm. Najwyższe stężenie tego fungicydu nie ograniczyło całkowicie wzrostu tylko jedynie *T. viride* oraz *F. graminearum*, lecz w obu przypadkach wzrost grzybnii był bardzo mały.

Doświadczenie wykazało niewielki wpływ Capalo 337,5 SE na grzyby z rodzaju *Fusarium*. Wśród nich najbardziej wrażliwe na ten środek zastosowany w najwyższych dawkach były *F. culmorum* oraz *F. equiseti*. Umiarkowaną wrażliwość *F. culmorum* na epoksykonazol i fenpropimorf (składniki Capalo 337,5 SE) potwierdzają badania przeprowadzone przez Sikorę i Banachowską (2006). Odwrotne działanie tego fungicydu zaobserwowano w przypadku *T. viride*. Capalo 337,5 SE istotnie ograniczył wzrost tego grzyba nawet na pożywce zawierającej najniższą dawkę 1 ppm.

Najsłabsze działanie na badane grzyby wykazywał fungicyd Opera Max 147,5 SE. Zwiększoną wrażliwość na ten środek zastosowany w wyższych dawkach wykazał tylko *F. equiseti*.

Wśród grzybów z rodzaju *Fusarium* spp. największą wrażliwością na zastosowane fungicydy oraz obecność *T. viride* charakteryzował się *F. equiseti*, nieco mniejszą *F. culmorum* oraz *F. oxysporum*, natomiast najmniejszą – *F. graminearum*.

Wzrost *T. viride* na pożywkach z fungicydami w obecności poszczególnych grzybów rodzaju *Fusarium* był bardzo równomierny. Niewielkie hamowanie rozwoju grzybnii *T. viride* zaobserwowano w towarzystwie *F. oxysporum* w pierwszym terminie pomiaru oraz *F. equiseti* w drugim terminie.

Badany szczep *T. viride* wykazał zróżnicowaną wrażliwość w stosunku do zastosowanych środków chemicznych, jednak nie można stwierdzić, że zaobserwowano u niego zjawisko odporności na fungicydy opisywane w pracach Wojtkowiak-Gębarowskiej i Pietra (2006) oraz Chaparro i wsp. (2011).

Mechanizm działania antagonistycznego grzybów rodzaju *Trichoderma* na fitopatogeny jest złożony, lecz opiera się na dwóch głównych procesach: mikopasożytnictwa oraz agresywnej konkurencji o przestrzeń i składniki pokarmowe (Wojtkowiak-Gębarowska 2006). Największy negatywny wpływ na antagonizm mają zatem substancje, które najsilniej hamują wzrost grzyba antagonisty. W przeprowadzonym doświadczeniu takimi fungicydami były: Alert 375 SC, Input 460 EC oraz Capalo 337,5 SE.

## Wnioski / Conclusions

1. Negatywny wpływ na antagonizm *T. viride* i grzybów rodzaju *Fusarium* miał fungicyd Capalo 337,5 SE, który hamował wzrost grzyba antagonisty, natomiast nie wpływał znacząco na rozwój grzybów patogennych.

2. Silne działanie wykazały również fungicydy: Alert 375 SC oraz Input 460 EC, jednak hamowały wzrost wszystkich badanych grzybów w takim samym stopniu.

### Literatura / References

- Chaparro A., Carvajal L., Orduz S. 2011. Fungicide tolerance of *Trichoderma asperelloides* and *T. harzianum* strains. *Agric. Sci.* 2: 301–307.
- Chet I., Inbar J. 1994. Biological control of fungal pathogens. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 48: 37–43.
- Khan M.O., Shahzad S. 2007. Screening of *Trichoderma* species for tolerance to fungicides. *Pakistan J. Botany* 39 (3): 945–951.
- Monte E. 2001. Understanding *Trichoderma*: Between biotechnology and microbial ecology. *Int. Microbiol.* 4: 1–4.
- Sikora H., Banachowska J. 2006. Wrażliwość grzyba *Fusarium culmorum* na substancje aktywne wybranych fungicydów. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 46 (2): 601–604.
- Weber R. 2007. Zagrożenie i sposoby ograniczania chorób fuzaryjnych pszenicy. *Post. Nauk Rol.* 2: 19–31.
- Wojtkowiak-Gębarowska E. 2006. Mechanizmy zwalczania fitopatogenów glebowych przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*. *Post. Mikrobiol.* 45 (4): 261–273.
- Wojtkowiak-Gębarowska E., Pietr S.J. 2006. Colonization of root and growth stimulation of cucumber by iprodione-resistant isolates of *Trichoderma* spp. applied alone and combined with fungicides. *Phytopathol. Pol.* 41: 51–64.