

## *Trichoderma* species in biological control of formae specialis of *Fusarium oxysporum*

### Grzyby rodzaju *Trichoderma* w biologicznej ochronie roślin przed formami specjalnymi *Fusarium oxysporum*

Leszek B. Orlikowski, Czesław Ślusarski

#### Summary

Effectiveness of *Trichoderma* species applied into stone-wool and peat infested with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radices-lycopersici* (*Forl*) and *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* (*Fod*) in the control of Fusarium base rot of tomato and carnation Fusarium wilt was estimated. In three cycles of tomato production in stone-wool Fusarium stem base rot of tomato was observed in all treatments including non-infested combination. Application of *Trichoderma* spp. into stone-wool resulted in double decrease of total infected plants in the first year of cultivation and 7-fold time in the second year. In the third year of tomato production the disease was not observed. Pre-planting application of *Trichoderma viride* into peat infested with *Fod* resulted in the significant decrease of Fusarium wilt of carnation. The antagonistic species cause the decrease of *Fod* population in the substratum.

**Key words:** biocontrol, *Trichoderma*, *Fusarium oxysporum*, tomato, carnation, effectiveness

#### Streszczenie

Oceniano przydatność gatunków rodzaju *Trichoderma* wprowadzonych do wełny mineralnej oraz substratu torfowego, zakażonych przez *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (*Forl*) i *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* (*Fod*) na rozwój fuzaryjnej zgorzeli pomidorów i fuzariozy naczyniowej goździków. W 3 cyklach uprawy pomidorów w samej wełnie mineralnej, objawy fuzaryjnej zgorzeli wystąpiły we wszystkich kombinacjach, w tym na roślinach kontrolnych bez zakażenia *Forl*. Dodatek *Trichoderma* spp. do wełny mineralnej zakażonej przez *Forl* spowodował około 2-krotne obniżenie liczby porażonych pomidorów w pierwszym roku uprawy i 7-krotne w drugim roku. W trzecim roku nie stwierdzono w nasadzeniu chorych roślin. Zastosowanie *T. viride* przedwegetacyjnie, do podłoża zakażonego *Fod*, spowodowało istotne ograniczenie rozwoju fuzariozy naczyniowej. Gatunek antagonistyczny, szczególnie zastosowany w wyższych dawkach, ograniczał rozwój *Fod* w podłożu.

**Słowa kluczowe:** biologiczna ochrona, *Trichoderma*, *Fusarium oxysporum*, pomidor, goździk, skuteczność

Institut Ogródnictwa  
Zakład Ochrony Roślin Ozdobnych  
Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice  
Leszek.orlikowski@inhort.pl

## Wstęp / Introduction

W uprawie warzyw i roślin ozdobnych pod osłonami bardzo duże straty powodowane są przez patogeny glebowe, w tym formy specjalne *Fusarium oxysporum*. Uważa się, że systemy hydroponiczne zapewniają uprawę roślin w warunkach sterylnych. Tymczasem patogeny mogą być wprowadzone do wełny mineralnej na rozsadzcie, przenoszone na obuwii lub ogumieniu pojazdów, a także z cząsteczkami pyłu (Jarvis 1988). Zdaniem Rowe i wsp. (1977) zarodniki form specjalnych *F. oxysporum* mogą być masowo przenoszone z prądami powietrza i dostawać się do wełny mineralnej. Ich nosicielami mogą być również ziemiórki i pleciuga brzegówka (Gillespie i Menzies 1993; Corbaz i Fischer 1994). Jarvis (1988) uważa, że *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* może być silnie redukowany przez jego naturalnych konkurentów i antagonistów. Wśród nich wymienia się *Trichoderma harzianum* (Marois i wsp. 1981). Mechanizm oddziaływania *Trichoderma* spp. na patogeny roślin omówił Pietr (1997).

W uprawie goździków szklarniowych nadal najgroźniejszym czynnikiem chorobotwórczym jest *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, a jego źródłem, obok zakażonego podłoża, mogą być sadzonki. Poza odkażaniem podłoża bardzo istotną rolę pełni ochrona roślin w trakcie ich uprawy z uwagi na niebezpieczeństwo wprowadzenia czynnika chorobotwórczego do nasadzeń z materiałem sadzeniowym. W Polsce, do biologicznej ochrony upraw pod osłonami przed *F. oxysporum* zarejestrowany jest i stosowany biopreparat Polyversum WP, oparty na *Pythium oligandrum* (Orlikowski i Jaworska-Marosz 2002). Niektórzy producenci stosują również stymulatory rozwoju roślin zawierające gatunki rodzaju *Trichoderma*. W literaturze istnieją tysiące danych dotyczących również oddziaływania gatunków tego rodzaju na patogeny roślin oraz mechanizmów ich działania. W Polsce, badania nad *Trichoderma* spp. i innymi czynnikami biologicznymi, jako potencjalnymi czynnikami ochronnymi, prowadzone były w minionym 40-leciu, w tym na goździkach i gerberze przez Orlikowskiego (1987, 1995), Orlikowskiego i Skrzypczaka (1987) oraz Webera i wsp. (1998).

Celem prowadzonych badań była ocena przydatności gatunków rodzaju *Trichoderma*, wprowadzonych do wełny mineralnej oraz substratu torfowego, zakażonych przez odpowiednie formy specjalne *F. oxysporum*, na ograniczenie rozwoju fuzariozy pomidora i goździka oraz oddziaływanie *T. viride* na zmiany w liczebności populacji *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*.

## Materiały i metody / Materials and methods

### Kultury badanych patogenów

*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) uzyskano z podstawy pędu pomidora, a *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* (Fod) wyizolowano z wiązki przewodzącej porażonego goździka. Izolaty inkubowano na pożywce ziemniaczano-glukozowej (PDA – Potato Dextrose Agar) w temperaturze 25°C, w ciemności.

### Kultury *Trichoderma* spp.

Mieszanie izolatów *T. hamatum*, *T. harzianum* i *T. koningii* w formie zarodników dodano do wełny mineralnej po ustawieniu kostek z pomidorami na macie oraz po 6 tygodniach uprawy w ilości 0,2 g na roślinę. Z kolei izolat T25 *T. viride* inkubowano na pożywce ziemniaczano-glukozowej w ciemności, w temperaturze 25°C przez 7 dni. Po tym czasie krążkami o średnicy 3 mm szczepiono szalki z pożywką z płatków owsianych i inkubowano je przez 2 tygodnie w temperaturze 25°C. Następnie inokulum rozdrabniano w homogenizatorze z dodatkiem 10 ml wody na szalkę. Przygotowaną zawiesinę dodawano do 20 l substratu torfowego i mieszano dokładnie przez 15 minut, po czym inkubowano go przez 14 dni w workach foliowych z niewielkimi otworami. W badaniach użyto 50, 100 i 150 g inokulum *T. viride* na 1 m<sup>3</sup> substratu torfowego zakażonego przez *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, które wymieszano z zakażonym podłożem 3 dni przed sadzeniem roślin.

### Inokulum *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*

Przygotowano je na pożywce z płatków owsianych podobnie, jak inokulum *T. viride*. Po wymieszaniu z substratem torfowym o pH 5,3 inkubowano go przez 14 dni w workach, w temperaturze około 22°C, po czym napełniano nim doniczki o pojemności 1 litra i sadzono goździki odmiany Master, wrażliwej na *Fod*.

### Określenie liczebności populacji *Fod*

Określano ją przed wprowadzeniem do podłoża *T. viride*, a następnie po 5, 7, 9 i 11 tygodniach uprawy goździków, stosując pożywkę selektywną Komady (1975). W dwóch doświadczeniach inicjalna liczebność populacji patogena wynosiła odpowiednio 5900 i 6500 jednostek propagacyjnych w 1 g powietrznie suchego podłoża.

### Środki standardowe

Topsin M 500 SC zastosowano doglebowo w stężeniu 0,1%; w ilości 4 l cieczy na m<sup>2</sup> bezpośrednio po sadzeniu goździków do podłoża zakażonego przez *Fod*.

### Układ doświadczeń

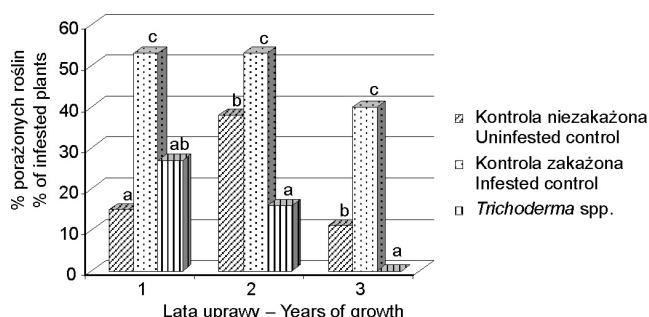
Założono je w układzie bloków kompletnie losowych w 4 powtórzeniach po 10 roślin i przeprowadzono je 2–3-krotnie.

## Wyniki i dyskusja / Results and discussion

### Wpływ *Trichoderma* spp. na zdrowotność pomidorów w 3 cyklach ich uprawy

Uprawa pomidorów w warunkach stałego zagrożenia przez *Forl* spowodowała, że w trzech latach badań fuzarioza zgorzelowa wystąpiła również na roślinach kontrolnych, niezakażonych (rys. 1). W kombinacji tej największe nasilenie choroby stwierdzono w drugim roku uprawy roślin w tej samej wełnie mineralnej. W trzecim roku uprawy liczba porażonych pomidorów obniżyła się

z około 40 do 13% (rys. 1). Uprawa pomidorów w wełnie mineralnej zakażonej przez *Forl* wiązała się z bardzo dużymi stratami z powodu dużego nasilenia występowania fuzariozy zgorzelowej. W pierwszym roku straty wynosiły około 60%, a w następnych dwóch latach stwierdzono stopniowy spadek liczby porażonych roślin odpowiednio do 53 i 40% (rys. 1). Dwukrotna aplikacja *Trichoderma* spp. spowodowała drastyczne ograniczenie rozwoju choroby do 27% w pierwszym roku i braku objawów w trzecim roku uprawy pomidorów (rys. 1).



Średnie w kolumnach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) według testu Duncana  
Means in columns, followed by the same letter do not differ (5%) according to Duncan's multiple range test

Rys. 1. Współzależność pomiędzy okresem użytkowania wełny mineralnej zakażonej *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* oraz aplikacji *Trichoderma* spp. a zdrowotnością pomidorów szklarniowych

Fig. 1. Relationship between period of using stonewool infested with *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Trichoderma* spp. application and health conditions of tomato

### Wpływ *Trichoderma* spp. na zdrowotność goździków

W pierwszym doświadczeniu (tab. 1), dodatek *T. viride* w dawce 50 g/m<sup>3</sup> podłoża, zakażonego przez *Fod*, nie spowodował istotnego obniżenia liczby goździków z objawami fuzariozy naczyniowej w badanych okresach. Dodatek 100 i 150 g *T. viride* na m<sup>3</sup> substratu spowodował istotne ograniczenie rozwoju choroby w ciągu 11-tygodniowego okresu uprawy (tab. 1). Końcowa obserwacja, przeprowadzona po 11 tygodniach wzrostu goździków, wykazała wprawdzie nieznaczny, ale istotny spadek liczby porażonych roślin, szczególnie gdy *T. viride* wymieszano z podłożem w ilości 150 g inokulum/m<sup>3</sup> (tab. 1).

W drugim doświadczeniu, założonym 3 tygodnie później, w warunkach bardziej sprzyjających rozwojowi fuzariozy naczyniowej z uwagi na wyższą temperaturę i większe nasłonecznienie, objawów chorobowych nie stwierdzono po 5 tygodniach uprawy na goździkach chronionych *T. viride*. Po następnych 6 tygodniach uprawy istotnie mniej goździków z objawami choroby naczyniowej stwierdzono w podłożu z dodatkiem *T. viride* w 3 różnych dawkach, w porównaniu z kombinacją kontrolną – zakażoną. Po 11 tygodniach istotnie najskuteczniejszą okazała się *T. viride* w dawce 100 g/m<sup>3</sup>. Środek standardowy okazał się mniej skuteczny od antagonisty zastosowanego w ilości 100 g/m<sup>3</sup> podłoża (tab. 2).

Wysoka efektywność gatunków: *Trichoderma hamatum*, *T. harzianum* i *T. koningii*, dodanych dwukrotnie do wełny mineralnej w trakcie wiosennej uprawy pomidorów, powodowała w każdym roku zmniejszenie porażenia roślin przez *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, przy czym efekt ten był istotny w drugim i trzecim roku produkcji. Jednocześnie, począwszy od drugiego roku uprawy notowano spadek liczby porażonych roślin w kombinacji kontrolnej – zakażonej. W badaniach Rattinka (1993) z 3 badanych gatunków *Trichoderma* najskuteczniejszym okazał

Tabela 1. Wpływ izolatu T25 *T. viride*, zastosowanego doglebowo 3 dni przed sadzeniem goździków odmiany Master do substratu torfowego zakażonego *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, na ograniczenie występowania fuzariozy naczyniowej

Table 1. Influence of isolate T25 of *T. viride* applied three days before planting of carnation cultivar Master into peat infested with *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, on the development of Fusarium wilt

Sadzenie – Planting: 2011.05.12

Populacja inicjalna: 5600 jednostek propagacyjnych w 1 g powietrznie suchego podłoża

Initial population: 5.600 of colony forming units/g of air dry peat

Kombinacje Treatments	Dawka lub stężenie Dose or concentration [g/m <sup>3</sup> ]	Liczba chorych roślin (n = 10) po tygodniach od sadzenia Number of diseased plants (n = 10) after weeks of planting			
		5	7	9	11
Kontrola niezakażona Control uninfested	–	0 a	0 a	0 a	0 a
Kontrola zakażona Control infested	–	0 a	2,5 c	6,3 c	8,8 c
<i>T. viride</i>	50	0,5 a	2,8 c	6,3 c	9,8 c
<i>T. viride</i>	100	0,3 a	2,0 bc	4,5 b	7,3 b
<i>T. viride</i>	150	0,3 a	2,0 bc	4,3 b	6,5 b
Topsin M 500 SC	0.1%	0 a	1,3 b	3,3 b	6,8 b

Średnie w kolumnach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) według testu Duncana  
Means in columns, followed by the same letter do not differ (5%) according to Duncan's multiple range test

Tabela 2. Wpływ izolatu T25 *T. viride*, zastosowanego doglebowo 3 dni przed sadzeniem goździków odmiany Master do podłoża zakażonego *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, na ograniczenie występowania fuzariozy naczyniowejTable 2. Influence of isolate T25 of *T. viride* applied three days before planting of carnation cultivar Master into peat infested with *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, on the development of Fusarium wilt

Sadzenie – Planting: 2011.06.03

Populacja inicjalna: 6500 jednostek propagacyjnych w 1 g powietrznie suchego podłoża

Initial population: 6.500 of colony forming units/g of air dry peat

Kombinacje Treatments	Dawka lub stężenie Dose or concentration [g/m <sup>3</sup> ]	Liczba chorych roślin (n = 10) po tygodniach od sadzenia Number of diseased plants (n = 10) after weeks of planting			
		5	7	9	11
Kontrola niezakażona Control uninfested	–	0 a	0 a	0 a	0,5 a
Kontrola zakażona Control infested	–	1,3 b	2,0 b	5,0 c	8,3 d
<i>T. viride</i>	50	0 a	0,5 a	3,0 b	5,5 c
<i>T. viride</i>	100	0 a	0,3 a	2,5 b	3,8 b
<i>T. viride</i>	150	0 a	0,8 a	2,8 b	5,0 c
Topsin M 500 SC	0.1%	0 a	0 a	2,8 b	5,5 c

Średnie w kolumnach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) według testu Duncana

Means in columns, followed by the same letter do not differ (5%) according to Duncan's multiple range test

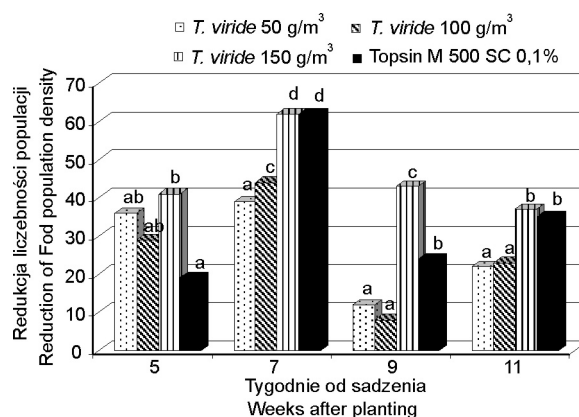
się *T. harzianum* T35, substancja czynna biopreparatu Trichodex. Bardzo istotne okazało się wprowadzenie antagonisty w trakcie produkcji rozsady, tj. przed czynnikiem chorobotwórczym. Uzyskane dane potwierdzają wyniki Marois i wsp. (1981), Sivan i wsp. (1987) oraz Ślusarskiego (1998), wskazujące na ograniczenie rozwoju fuzariozy zgorzelowej pomidora przez *T. harzianum*. Zdaniem Postmy i wsp. (2001) jest to związane ze wzrostem liczby mikroorganizmów antagonizujących dla patogena i ograniczeniem jego liczebności w środowisku uprawy roślin.

Analiza efektywności *T. viride* w ograniczaniu rozwoju fuzariozy naczyniowej goździka wskazuje, że była ona wyraźnie wyższa w doświadczeniu założonym w czerwcu, gdy warunki atmosferyczne sprzyjały rozwojowi antagonisty w podłożu. Zmniejszenie liczby porażonych goździków o połowę przy dawce *T. viride* 100 g/m<sup>3</sup> i efektywność antagonisty istotnie wyższą aniżeli tiofanatu metyloвого należy uznać za fakt zadawalający tym bardziej, że liczebność patogena w podłożu była około 2-krotnie wyższa aniżeli ma to miejsce w warunkach naturalnego wystąpienia fuzariozy naczyniowej.

### Oddziaływanie *T. viride* na *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* w podłożu

Po 5 tygodniach uprawy goździków stwierdzono zmniejszenie liczebności *Fod* w podłożu zarówno przez *T. viride*, jak i tiofanat metylovery, przy czym istotnie najskuteczniejszą (ograniczenie liczebności patogena o 41%) okazała się dawka antagonisty w ilości 150 g/m<sup>3</sup> (rys. 2). Po 7 tygodniach liczebność *Fod* została obniżona o 62% i około 40%, gdy *T. viride* wprowadzono do podłoża odpowiednio w dawkach 150 g/m<sup>3</sup> i niższych. Podobną skuteczność w ograniczeniu liczebności *Fod* stwierdzono po zastosowaniu tiofanatu metyloowego. W następnych 9 i 11 tygodniach uprawy stwierdzono spadek

aktywności *T. viride*, szczególnie w dawkach 50 i 100 g/m<sup>3</sup> oraz tiofanatu metyloowego (rys. 2).



Średnie w kolumnach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) według testu Duncana

Means in columns, followed by the same letter do not differ (5%) according to Duncan's multiple range test

Rys. 2. Współzależność pomiędzy dawkami *T. viride* i okresem uprawy goździków a zmianami w liczebności populacji *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* w substracie torfowym  
Fig. 2. Relationship between *T. viride* doses, growing period and changing in population density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* in peat

### Wnioski / Conclusions

1. Wymieszanie inokulum *T. viride* z podłożem zakażonym przez *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* przed sadzeniem goździków spowodowało istotne ograniczenie fuzyjnego wędnięcia w ciągu 11-tygodniowej uprawy.
2. Doglebowa aplikacja *T. viride* spowodowała obniżenie liczebności *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* w substracie torfowym, szczególnie w ciągu pierwszych 7 tygodni

- uprawy, a w następnych 4 tygodniach aktywność antagonisty drastycznie spadła.
3. Gatunek antagonistyczny wykazywał najwyższą aktywność, gdy wprowadzono go do podłoża w ilości 100 i 150 g/m<sup>3</sup>.
  4. Wysoka aktywność *Trichoderma* spp. w uprawie pomidorów w warstwie mineralnej, zakażonej przez *F. oxysporum* f. sp. *radices-lycopersici*, była widoczna w trzecim roku uprawy roślin w tym samym podłożu.

## Literatura / References

- Corbaz R., Fisher S. 1994. La mouche *Scatella stagnalis* Fal. (Diptera: Ephydriidae) responsable de la dispersion de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* dans les cultures de tomates hors sol. Arboric. Hortic. 26 (6): 383–385.
- Gillespie D.R., Menzies J.G. 1993. Fungus gnats vector *Fusarium oxysporum* f. sp. *radices-lycopersici*. Ann. Appl. Biol. 123: 539–544.
- Jarvis W.R. 1988. Fusarium crown and root rot of tomatoes. Phytoprotection 69: 49–64.
- Komada H. 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. Rev. Plant Prot. Res. 8: 114–125.
- Marois J.J., Mitchell D.J., Sonoda R.M. 1981. Biological control of Fusarium crown rot of tomato under field conditions. Phytopathology 71 (12): 1257–1260.
- Orlikowski L.B. 1987. Wykorzystanie naturalnej oporności podłoża w ochronie goździków przed fuzariozą naczyniową. Roczn. Nauk Rol., Seria E, 16: 149–159.
- Orlikowski L.B. 1995. Studies on biological control of *Phytophthora cryptogea* Pethybr. et Laff. II. Effectiveness of *Trichoderma* and *Gladiolium* spp. in the control of Phytophthora foot rot of gerbera. J. Phytopathol. 143: 341–343.
- Orlikowski L.B., Jaworska-Marosz A. 2002. Influence of *Pythium oligandrum* on population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* and development of Fusarium wilt of carnation. Plant Prot. Sci. 38 (1): 209–211.
- Orlikowski L.B., Skrzypczak Cz. 1987. Effectiveness of Fusacean in the control of five formae specialis of *Fusarium oxysporum* Schlecht. on some ornamental plants. Phytopathol. Pol. 13: 49–57.
- Pietr S.J. 1997. The mode of action of *Trichoderma*: short summary. *Trichoderma* spp., other microorganisms and plant extracts in plant disease control. p. 7–14. In: Proc. 8th Conference of the section for Biological Control of Plant Diseases of the Pol. Phytopath. Soc. Skierniewice, April 21–22, 1997, 165 pp.
- Postma J., Willemsen-de Klein M.J.E.I.M., Van Elsas E.A., Rattink H. 2001. Disease suppressive soilless culture systems; characterisation of its microflora. Acta Hort. 554: 323–331.
- Rattink H. 1993. Biological control of Fusarium crown and root rot in tomato on a recirculation substrate system. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 58: 1329–1336.
- Rowe R.C., Farley J.D., Coplin D.L. 1977. Air-borne spore dispersal and recolonisation of steamed soil by *Fusarium oxysporum* in tomato greenhouses. Phytopathology 67: 1513–1517.
- Sivan A., Ucko O., Chet I. 1987. Biological control of Fusarium crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions. Plant Dis. 71 (7): 587–592.
- Ślusarski Cz. 1998. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radices-lycopersici* on greenhouse tomato in soilless culture. Biological agents and their effectiveness in the control of plant pathogens. p. 78–83. In: Proc. 9th Conference of the Section for Biological Control of Plant Diseases of Pol. Phytopathol. Soc. Skierniewice, April 23–24, 1998, 202 pp.
- Weber Z., Werner M., Frużyńska-Jóźwiak D. 1998. Biological protection of carnation, asparagus and babies breath against particular formae speciales of *Fusarium oxysporum* Schlecht. Phytopathol. Pol. 16: 37–43.