PROGRESS IN PLANT PROTECTION
64 (3): 127–134, 2024
eISSN 2084-4883

DOI: 10.14199/ppp-2024-012
Published online: 19.08.2024

Received: 29.05.2024 / Accepted: 30.07.2024

ARTYKUŁ ORYGINALNY

Wpływ mikroorganizmów antagonistycznych na ograniczanie rozwoju grzybów rodzaju *Fusarium* oraz rozwój siewek pszenicy ozimej

The influence of antagonistic microorganisms on limiting the development of *Fusarium* fungi and the development of winter wheat seedlings

Katarzyna Pieczul[1]*, Ilona Świerczyńska[1], Aleksandra Sakowska[2], Andrzej Wójtowicz[1]

Streszczenie

Celem prowadzonych badań była ocena wpływu *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma atroviride*, *Sarocladium strictum*, *Wickerhamomyces anomalus* oraz *Bacillus* spp. na hamowanie wzrostu grzybni *Fusarium* spp. oraz rozwój i zdrowotność siewek pszenicy ozimej odmiany Euforia. W warunkach laboratoryjnych, do gatunków najsilniej ograniczających wzrost grzybni *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* i *Fusarium avenaceum* należały *T. atroviride* i *T. harzianum*. Najsilniej wykształcone strefy hamowania wzrostu obserwowano w przypadku bikultur zawierających szczepy *Bacillus* oraz *W. anomalus*. Wyniki testów szalkowych, w których oceniano rozwój siewek pszenicy w obecności grzybów patogenicznych i antagonistycznych były zróżnicowane. Do gatunków zapewniających najlepszą ochronę przed *F. culmorum* i *F. graminearum* – potencjalnymi sprawcami zgorzeli siewek należał *W. anomalus*. Wpływ poszczególnych mikroorganizmów antagonistycznych na zieloną masę pszenicy w wariantach z inokulacją patogenami był zmienny. Najwyższe wartości odnotowano w próbach traktowanych *T. atroviride*, *S. strictum* oraz *Bacillus* spp.

Słowa kluczowe: patogen, antagonista, zgorzel siewek, *Fusarium* spp.

Abstract

The study aimed to assess the impact of *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma atroviride*, *Sarocladium strictum*, *Wickerhamomyces anomalus* and *Bacillus* spp. on the growth inhibition of *Fusarium* spp. colonies, and on the health and development of winter wheat varietas Euforia seedlings. In the laboratory conditions, the presence of *T. atroviride* and *T. harzianum* the most strongly limited the growth of the colonies of *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* and *Fusarium avenaceum*. Well-developed growth inhibition zones were observed in the bicultures containing strains of *Bacillus* spp. and *W. anomalus*. The development of wheat seedlings in the presence of antagonistic and pathogenic fungi was varied, but *W. anomalus* provided the best protection against damping off caused by *F. culmorum* and *F. graminearum*. The influence of individual antagonistic microorganisms in variants with inoculation with pathogenic microorganisms on the green mass of wheat seedlings was variable. The best results were achieved with *T. atroviride*, *S. strictum* and *Bacillus* spp.

Key words: pathogen, antagonist, seedlings damping off, *Fusarium* spp.

[1]Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
ul. Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań
[2]Aquanet S.A., ul. Dolna Wilda 126, 61-492 Poznań
*corresponding author: k.pieczul@iorpib.poznan.pl

Wstęp / Introduction

W ostatnich dziesięcioleciach stosowanie fungicydów jest najpopularniejszą metodą ochrony roślin uprawnych przed grzybami patogenicznymi. Niestety, mimo wysokiej skuteczności fungicydy nie są substancjami obojętnymi dla zdrowia ludzi i zwierząt oraz stanu środowiska naturalnego. Obecnie kolejnym problemem w ich stosowaniu jest wzrost odporności patogenów na substancje czynne fungicydów (Yin i wsp. 2023).

Jedną ze strategii ograniczających zużycie fungicydów jest zastępowanie ich mikroorganizmami lub produktami pochodzenia naturalnego (Monte 2001; Vinale i wsp. 2008b; Subedi i wsp. 2020; Thambugala i wsp. 2020; Tyśkiewicz i wsp. 2022). Większość biopreparatów zawiera szczepy bakterii rodzajów: *Acinetobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Rhizobium* (Etesami i Maheshwari 2018) oraz grzybów i organizmów grzybopodobnych m.in. rodzajów: *Aspergillus*, *Candida*, *Coniothyrium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Pythium*, *Phlebiopsis*, *Trichoderma* (Thambugala i wsp. 2020; Alam i wsp. 2021). Mikroorganizmy zawarte w biopreparatach angażują szereg mechanizmów wpływających biostatycznie i biobójczo na patogeny. Do najczęstszych należą: produkcja enzymów degradujących ściany komórkowe, synteza antybiotyków i innych metabolitów (m.in.: terpenoidów, alkaloidów, steroidów, chinonów), rywalizacja o przestrzeń i składniki odżywcze oraz pasożytnicze oddziaływania na patogeny (Howell 2003; Contreras-Cornejo i wsp. 2016). Biopreparaty są jednocześnie często czynnikami stymulującymi odporność i wzrost roślin, wspomagającymi nawożenie roślin oraz poprawiającymi właściwości gleby (Ghorbanpour i wsp. 2018; Thambugala i wsp. 2020; Khan i wsp. 2022).

Spośród wielu bakterii rodzaju *Bacillus*, szczególnie *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus* i *Bacillus pumilus* uznawane są za taksony o największym znaczeniu dla produkcji biologicznych środków ochrony roślin (Verschuere i wsp. 2000; Etesami i Alikhani 2018). Odgrywają one istotną rolę we wspomaganiu produkcji roślinnej – stymulują wzrost korzeni i tolerancję roślin na różne stresy środowiskowe: suszę, zasolenie gleby, wysoką i niską temperaturę, polepszają wiązanie azotu i dostępność składników odżywczych oraz strukturę gleby, a jednocześnie hamują rozwój patogenów (Miljaković i wsp. 2020; Saxena i wsp. 2020; Blake i wsp. 2021). Istnieje szereg doniesień wskazujących na skuteczność bakterii w ograniczaniu porażenia roślin przez grzyby chorobotwórcze, takie jak: *Rhizoctonia solani* (Yi i wsp. 2022), *Botrytis cinerea* (Toral i wsp. 2018), *Fusarium oxysporum* (Khedher i wsp. 2021) i *Fusarium graminearum* (Gu i wsp. 2017).

Grzyby rodzaju *Trichoderma* występują powszechnie w agrocenozach, a wiele z nich wykazuje właściwości antagonistyczne wobec innych grzybów (Howell 2003; Zafari i wsp. 2008; Piegza i wsp. 2009; Rajeswari i Kannabiran 2011; Nosir 2016; Kumar i wsp. 2017; Gaikwad i wsp. 2018; Ghorbanpour i wsp. 2018). *Trichoderma* spp. łatwo dostosowuje się do różnych warunków środowiskowych, szybko zasiedla obszar ryzosfery, może także produkować związki stymulujące odporność roślin, ich wzrost i rozwój (Kleifeld i Chet 1992; De Meyer i wsp. 1998; Altomare i wsp. 1999; Benítez i wsp. 2004; Wojtkowiak-Gębarowska 2006; Shoresh i Harman 2008; Vinale i wsp. 2008a; Akladious i Abbas 2012; Hermosa i wsp. 2012; Zhang i wsp. 2013; Colla i wsp. 2015; Khomari i wsp. 2018). Niektóre gatunki m.in. *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma harzianum* oraz *Trichoderma viride* znalazły zastosowanie w ochronie roślin jako składniki biopreparatów (Tyśkiewicz i wsp. 2022). Są one dedykowane ochronie wielu istotnych gospodarczo roślin uprawnych przed patogenami rodzajów: *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Mycosphaerella*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Thielaviopsis* (Thambugala i wsp. 2020; Degani i Dor 2021; Sánchez-Montesinos i wsp. 2021). Popularność *Trichoderma* spp. w preparatach biologicznych wynika m.in. ze zdolności do szybkiego wzrostu na sztucznych podłożach, wykorzystania do wzrostu szerokiego zakresu substratów oraz odporności na środki grzybobójcze i zanieczyszczenia środowiska (Zin i Badaluddin 2020). Także wiele z naturalnie występujących endofitów może być źródłem nowych środków biologicznej ochrony roślin. Do gatunków będących aktualnie obiektem badań zalicza się m.in. *Sarocladium strictum* i *Wickerhamomyces anomalus*, gatunki powszechnie występujące w agrocenozach.

Celem prowadzonych badań była ocena wpływu wybranych mikroorganizmów antagonistycznych na wzrost strzępek grzybów patogenicznych rodzaju *Fusarium* oraz zdrowotność i rozwój siewek pszenicy ozimej odmiany Euforia w warunkach laboratoryjnych oraz szklarniowych. W badaniach porównano skuteczność komercyjnie dostępnego preparatu zawierającego wyselekcjonowane szczepy *Bacillus*, izolatów *T. harzianum* i *T. atroviride* – gatunków o dobrze udokumentowanym wykorzystaniu w biologicznej ochronie roślin oraz grzybów drożdżopodobnych, dotychczas rzadziej stosowanych – *S. strictum* i *W. anomalus.*

Materiały i metody / Materials and methods

Materiał biologiczny

W prowadzonych badaniach wykorzystano 5 kultur grzybów patogenicznych rodzaju *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae*, *F. oxysporum*; 4 izolaty gatunków antagonistycznych: *T. harzianum*, *T. atroviride*, *S. strictum* i *W. anomalus* oraz preparat Bacto G-stop (PU-H „Chemirol" sp. z o.o.) zawierający cztery wyselekcjonowane szczepy *Bacillus* (dwa *B. amyloliqefaciens* oraz dwa *B. subtilis*). Grzyby zostały wyizolowane w latach 2020–2022 z prób ziarna zbóż zbieranego z pól należących

do Polowej Stacji Doświadczalnej Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Winnej Górze. Identyfikacja gatunkowa *Fusarium* spp. została wykonana na podstawie cech morfologicznych zarodników konidialnych oraz kolonii rosnącej na podłożu PDA (potato dextrose agar), a grzybów antagonistycznych na podstawie analizy sekwencji zmiennych regionów rybosomalnego rDNA ITS1/ITS2. Wykorzystane w badaniach grzyby antagonistyczne zostały wybrane na podstawie wcześniejszej oceny zdolności do hamowania wzrostu kolonii *F. graminearum* na pożywce PDA.

Badania laboratoryjne

Ocenie poddano stopień hamowania wzrostu izolatów grzybów rodzaju *Fusarium* przez mikroorganizmy antagonistyczne oraz wytwarzane pomiędzy nimi strefy hamowania wzrostu. Testowane kultury wyszczepiano w układzie patogen–antagonista, we wszystkich możliwych kombinacjach pomiędzy ww. organizmami. Każdorazowo na pożywkę PDA rozlaną na sterylnych płytkach Petriego o średnicy 90 mm nanoszono 0,5 cm^2 krążek pożywki przerośniętej odpowiednim gatunkiem patogenu oraz 200 µl inokulum zarodników grzybów antagonistycznych (o stężeniu 10^5/µl) w postaci linii oddalonej od krążka o 4 cm. Komercyjny preparat zawierający szczepy *Bacillus* przygotowano według zaleceń producenta. W kombinacji kontrolnej wyszczepiano poszczególne mikroorganizmy pojedynczo w analogiczny sposób. Hodowlę bikultur prowadzono w temperaturze 21°C. Po 7 dniach od momentu inokulacji mierzono liniowy wzrost kolonii w bikulturach, porównując go ze wzrostem kultur na płytkach kontrolnych. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie za pomocą analizy wariancji dwuczynnikowej przy użyciu testu Duncana, na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Szczegółowym obserwacjom poddano miejsce styku wzrostu kultur – tworzenie strefy antagonistycznej pomiędzy testowanymi parami izolatów. Obserwację wykonano po 14 dniach od momentu inokulacji. Doświadczenie wykonano 3-krotnie.

Testy szalkowe

Ocenie poddano wpływ grzybów na kiełkowanie ziarniaków oraz rozwój siewek pszenicy. Z kolonii grzybów patogenicznych (*F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae*, *F. oxysporum*) oraz antagonistycznych (*T. harzianum*, *T. atroviride*, *S. strictum* i *W. anomalus*) rosnących na PDA wykonano wodne zawiesiny zarodników (o stężeniu 10^5/µl). Komercyjny preparat zawierający szczepy *Bacillus* przygotowano według zaleceń producenta. Ziarno pszenicy Euforia (20 g) moczono w wodnej zawiesinie zarodników/bakterii (po 1 ml) odpowiedniej kombinacji patogenu i antagonisty. Na szalki Petriego wyłożone wilgotną bibułą wykładano po 40 sztuk inokulowanych ziaren i inkubowano w termostacie przez 7 dni w temperaturze 21°C. Doświadczenie wykonano 3-krotnie.

Badania szklarniowe

Doświadczenia przeprowadzono z wykorzystaniem pszenicy ozimej Euforia. Rośliny wysiewano do doniczek wypełnionych ziemią ogrodniczą w ilościach po 25 sztuk ziaren na doniczkę. Roztwory inokulum przygotowano w sposób opisany powyżej. Dla każdej kombinacji zastosowano 4 powtórzenia. Doświadczenie szklarniowe prowadzono w temperaturze 17–21°C utrzymując przez cały czas wysoką wilgotność podłoża. Po upływie 3 tygodni dokonano oceny roślin w obiektach doświadczenia ważąc ich zieloną masę. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie za pomocą analizy wariancji jednoczynnikowej przy użyciu testu Duncana, na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Badane mikroorganizmy antagonistyczne charakteryzowały się różną zdolnością hamowania wzrostu grzybni weryfikowanych taksonów rodzaju *Fusarium*. Do gatunków najsilniej ograniczających wzrost strzępek *F. culmorum*, *F. graminearum* i *F. avenaceum* – najważniejszych patogenów pszenicy należały *T. atroviride* i *T. harzianum* – gatunki często stosowane w biologicznej ochronie roślin. Wzrost kolonii w tych kombinacjach został ograniczony w zakresie 50–70%. Grzyby rodzaju *Trichoderma* ze skutecznością w zakresie 40–50% ograniczały także wzrost kolonii *F. poae* i *F. oxysporum* – patogenów pszenicy o mniejszym znaczeniu gospodarczym (tab. 1). Słabiej wzrost *Fusarium* spp. ograniczały *W. anomalus* (z wyjątkiem kombinacji z *F. graminearum*), *S. strictum*, a najsłabiej preparat zawierający szczepy *Bacillus* (tab. 1). Wyniki przeprowadzonych badań laboratoryjnych wskazują, że *Trichoderma* spp., a także inne badane gatunki grzybów mogą skutecznie ograniczać wzrost patogenów wywołujących zgorzel siewek. Wyniki te są szczególnie istotne w przypadku patogenów o największym znaczeniu ekonomicznym – *F. culmorum* i *F. graminearum*. Należy zaznaczyć, że uzyskane wyniki są jedynie częścią opisu skuteczności działania antagonistów. Rojas i wsp. (2020) wykazali, że izolaty *S. strictum* nie hamowały znacząco wzrostu kolonii *Fusarium* spp. w testach laboratoryjnych wykonywanych na pożywce agarowej. Jednak w naturalnych warunkach, izolaty te kolonizując tkanki roślinne skutecznie ograniczały zasiedlenie ziaren pszenicy przez *F. graminearum*.

Oprócz zahamowania wzrostu kolonii patogenów obserwowano także strefy inhibicji powstające na styku poszczególnych bikultur patogen–antagonista. Najsilniej wykształcone strefy obserwowano w przypadku wariantu zawierającego szczepy *Bacillus*, dotyczyło to wszystkich badanych gatunków *Fusarium* spp. Jednocześnie *Bacillus* spp. najsłabiej ograniczały wzrost kolonii wszystkich patogenów. Wyniki te wskazują, że grzybobójcze oddziaływanie bakterii jest możliwe dopiero w bliskim sąsiedztwie

Tabela 1. Promień grzybni badanych patogenów w bikulturze z organizmami antagonistycznymi [mm]
Table 1. Mycelium radius of tested pathogens in bicultures with antagonistic cultures [mm]

Gatunek grzyba Species of fungus	*Fusarium culmorum*	*Fusarium graminearum*	*Fusarium avenaceum*	*Fusarium poae*	*Fusarium oxysporum*
Trichoderma atroviride	14,7 a-e	12,0 ab	13,7 a-d	19,0 f-h	16,0 b-f
Trichoderma harzianum	12,7 ab	10,7 a	17,7 d-g	17,3 c-g	16,0 b-f
Bacillus spp.	20,7 g-j	20,0 f-i	22,0 h-k	22,7 h-l	18,7 e-h
Sarocladium strictum	22,0 h-k	21,0 g-k	26,7 l	30,7 m	20,3 g-i
Wickerhamomyces anomalus	20,7 g-j	13,3 a-c	23,7 i-l	23,7 i-l	21,3 g-k
Kontrola patogen – Control pathogen	43,3 o	25,0 kl	37,0 n	37,7 n	24,7 j-l

Średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie przy poziomie α = 0,05
Mean values marked with the same letters were not statistically significant α = 0.05

strzępek rosnącego patogenu. Wyraźna strefa hamowania obserwowana była także w bikulturach zawierających *W. anomalus*, szczególnie w kombinacjach z *F. graminearum* i *F. avenaceum*. Pozostałe patogeny – *F. poae*, *F. culmorum* i *F. oxysporum* w kontakcie z *W. anomalus* nie wytwarzały wyraźnej strefy inhibicji. Strzępki ww. grzybów kończyły swój wzrost w miejscu zetknięcia się, bez wzajemnego zarastania. Podobne obserwacje odnotowano w przypadku bikultur zawierających *T. harzianum* i *T. atroviride*. Większość z patogenów kończyła swój wzrost w miejscu zetknięcia się ze strzępkami ww. antagonistów, jedynie w przypadku *F. oxysporum* pomiędzy gatunkami wytwarzała się niewielka strefa hamowania. Izolaty *Trichoderma* spp. charakteryzują się szybkim tempem wzrostu, co pozwala konkurować o przestrzeń do wzrostu z innymi szybko rosnącymi gatunkami grzybów (Popiel i wsp. 2008). Cecha ta znalazła także odzwierciedlenie w przeprowadzonych testach hamowania wzrostu, w których *Trichoderma* spp. była wysoce skuteczna. Efektywne ograniczanie wzrostu grzybni różnych grzybów patogenicznych przez *Trichoderma* spp. w bikulturach potwierdzają badania wielu autorów (Zafari i wsp. 2008; Piegza i wsp. 2009; Rajeswari i Kannabiran 2011; Gaikwad i wsp. 2018). Największe zróżnicowanie stref hamowania odnotowano pomiędzy bikulturami zawierającymi *S. strictum*. Antagonista ten nie hamował wzrostu izolatów *F. poae*. W przypadku izolatów *F. culmorum*, *F. avenaceum* i *F. graminearum* wzrost patogenów kończył się w miejscu zetknięcia ze strzępkami *S. strictum*, a w bikulturach z *F. oxysporum* obserwowano niewielką strefę hamowania. Zmienność reakcji badanych kultur mikroorganizmów może wskazywać na złożone mechanizmy oddziaływania antagonistów, jak wydzielanie do podłoża substancji hamujących wzrost patogenów czy też konkurencję o przestrzeń do rozwoju kolonii pomiędzy poszczególnymi gatunkami. Jednoczesne zastosowanie różnych taksonów antagonistów (bakterie, grzyby) wskazuje na wysoki potencjał, jaki środki biologiczne mogą przynieść w kontrolowaniu chorób roślin (Zubair i wsp. 2021).

Wyniki testów szalkowych, w których oceniano rozwój siewek pszenicy w obecności grzybów antagonistycznych oraz patogenicznych były zróżnicowane, a ich wynik nie korelował z testami hamowania wzrostu w bikulturach (tab. 2). Jedynie 18% siewek inokulowanych zawiesiną *F. culmorum* i *T. atroviride* rozwijało się prawidłowo, więc

Tabela 2. Procent zdrowych siewek pszenicy ozimej Euforia inokulowanych zawiesiną zarodników patogenu i antagonisty
Table 2. Percentage of healthy Euforia winter wheat seedlings inoculated with a spore suspension of the pathogen and the antagonist

	Fusarium culmorum	*Fusarium graminearum*	*Fusarium avenaceum*	*Fusarium poae*	*Fusarium oxysporum*	Kontrola antagonista Control antagonist
Trichoderma atroviride	18	47	56	65	42	98
Trichoderma harzianum	45	35	62	95	60	100
Bacillus spp.	12	34	31	81	46	95
Sarocladium strictum	26	56	55	92	67	90
Wickerhamomyces anomalus	55	68	50	80	64	98
Kontrola patogen Control pathogen	16	58	59	57	61	99

wynik ten jest zbliżony do siewek traktowanych jedynie samym patogenem (16%). Jeszcze mniej, bo jedynie 12% prawidłowo rosnących siewek odnotowano w kombinacji łączącej *F. culmorum* ze szczepami *Bacillus*. Na niską skuteczność ochrony mogły wpływać różne czynniki – np. kiełkowanie roślin na bibule w warunkach wysokiej wilgotności sprzyjającej infekcji *F. culmorum*. Pozostałe z badanych antagonistów zapewniały prawidłowy rozwój 26–55% siewek inokulowanych *F. culmorum* z najlepszym działaniem protekcyjnym *W. anomalus*. Gatunek ten jest zdolny do szybkiej kolonizacji tkanek roślinnych, zajmując tym samym przestrzeń dla patogenów. Może on także korzystnie wpływać na kondycję roślin uprawnych np. pomidorów poprzez stymulowanie produkcji enzymów PPO, POD, APX i SOD, fenoli oraz związków flawonoidowych (Raynaldo i wsp. 2021; Lanhuang i wsp. 2022; Zhu i wsp. 2023). Nie jest wykluczone, że może on działać ochronnie także na ziarno pszenicy, chroniąc je przed kolonizacją grzybami patogenicznymi, także w trakcie przechowywania. W przypadku pozostałych badanych patogenów oddziaływanie protekcyjne antagonistów było zazwyczaj korzystne. Szczególnie pozytywnie wpływały one na rozwój siewek traktowanych *F. poae* – patogena, którego wzrost był słabo hamowany w testach laboratoryjnych. W kilku przypadkach więcej roślin prawidłowo rozwijało się w kombinacjach traktowanych samym patogenem niż patogenem i jego antagonistą. Takie obserwacje odnotowano w stosunku do kombinacji łączących *F. graminearum* z *T. atroviride*, *T. harzianum* z *Bacillus* spp., *F. avenaceum* z *Bacillus* spp. oraz *F. oxysporum* z *T. atroviride*.

Zastosowanie *T. atroviride* i *T. harzianum* pozytywnie wpłynęło na zieloną masę badanych siewek, także w wariantach z inokulacją patogenami. Jedynie kombinacja *T. harzianum* z *F. culmorum* charakteryzowała się niższą zieloną masą w porównaniu z grupą kontrolną oraz innymi badanymi wariantami (tab. 3). Grzyby rodzaju *Trichoderma*, niejednokrotnie wykorzystywano w ograniczaniu rozwoju patogenów roślin uprawnych, takich jak np.: *F. oxysporum*, *B. cinerea*, *R. solani*, *Rhizopus oryzae*, *Sclerotinia sclerotiorum* (Howell i wsp. 2000; Howell 2002; Matroudi i Zamani 2009; Herrera-Téllez i wsp. 2019) oraz poprawie kondycji siewek pszenicy (Donoso i wsp. 2008; Zafari i wsp. 2008; Rawat i wsp. 2011; Zhang i wsp. 2013). Jednocześnie należy wspomnieć, że szczepy niektórych gatunków *Trichoderma* spp. (np. *T. viride*, *T. afroharzianum*) mogą również być patogenami roślin uprawnych (Pfordt i wsp. 2020; Sánchez-Montesinos i wsp. 2021). Zastosowanie *Bacillus* spp. szczególnie korzystnie wpłynęło na masę roślin poddanych inokulacji *F. poae* i *F. oxysporum*. Z kolei, zastosowanie *S. strictum* bardzo dobrze wpływało na masę roślin w kombinacjach z najczęstszymi patogenami wywołującymi zgorzel siewek – *F. graminearum* i *F. culmorum* (tab. 3). *Sarocladium strictum* należy do wszechobecnych gatunków i także może być czynnikiem chorobotwórczym dla wielu roślin, w tym pszenicy i kukurydzy (Racedo i wsp. 2013), jednak ze względu na jego właściwości antagonistyczne jest on badany pod kątem możliwości zastosowania w biologicznej ochronie upraw np. przed fuzariozą kłosów pszenicy (Cobo-Díaz i wsp. 2019; Rojas i wsp. 2020). Nie odnotowano natomiast korzystnego wpływu *W. anomalus* na zieloną masę roślin, pomimo że w testach laboratoryjnych dość skutecznie ograniczał on wzrost badanych izolatów *Fusarium*. Gatunek ten dotychczas wykorzystywany był w ograniczaniu wzrostu *B. cinerea*, *Alternaria alternata* czy *Penicillium expansum* (Lanhuang i wsp. 2022; Zhu i wsp. 2023).

Biologiczna ochrona wykorzystuje szereg naturalnych procesów zachodzących pomiędzy roślinami, patogenami oraz ich antagonistami. Ze względu na złożoność tych procesów jej efektywność zależy od wielu czynników i nie

Tabela 3. Średnia waga roślin traktowanych zawiesiną zarodników patogen–antagonista [g]
Table 3. The average weight of plants treated with spores of pathogen–anthagobistic species suspension [g]

	Fusarium culmorum	*Fusarium graminearum*	*Fusarium avenaceum*	*Fusarium poae*	*Fusarium oxysporum*	Kontrola antagonista Control antagonist
Trichoderma atroviride	4,1 b-e	5,3 jk	5,2 i-k	5,2 i-k	5,0 g-k	5,1 h-k
Trichoderma harzianum	3,6 ab	4,8 f-k	4,5 e-i	4,9 g-k	4,7 e-k	4,9 g-k
Bacillus spp.	3,8 a-d	4,7 e-k	4,9 g-k	5,3 jk	5,3 jk	4,6 e-k
Sarocladium strictum	4,3 d-g	5,3 jk	4,8 f-k	4,9 g-k	4,6 e-k	4,6 e-k
Wickerhamomyces anomalus	3,6 ab	4,3 d-g	4,6 e-k	4,8 f-k	4,2 c-f	4,4 d-h
Kontrola patogen Control pathogen	3,6 ab	4,6 e-k	4,8 f-k	4,8 f-k	4,8 f-k	4,9 g-k

Średnie oznaczone w rzędach tymi samymi literami nie różnią się istotnie przy poziomie α = 0,05
Mean values marked in rows with the same letters were not statistically significant α = 0.05

zawsze możliwa jest do ustalenia na podstawie odseparowanych badań. Na poziom jej skuteczności wpływa szereg czynników, takich jak: skład mikrobiomu glebowego, rodzaj stosowanych mikroorganizmów, warunki pogodowe panujące w sezonie wegetacyjnym, rodzaj nawożenia, stosowane zabiegi chemiczne itp. Uzyskanie powtarzalnego, stałego poziomu skutecznej ochrony roślin jedynie metodami biologicznymi może być więc trudne. Niemniej może stanowić ona alternatywę dla ochrony chemicznej lub umożliwić zredukowanie ilości stosowanych pestycydów oraz korzystnie wpływać na zdrowie roślin. Nie jest wykluczone, że zastosowanie różnych organizmów antagonistycznych może przynieść lepsze działanie protekcyjne, niż byłoby to uzyskane w przypadku zastosowania pojedynczego gatunku.

Wnioski / Conclusions

1. Wzrost kolonii *F. culmorum*, *F. graminearum* i *F. avenaceum* najsilniej ograniczały *T. atroviride* oraz *T. harzianum.*
2. Do taksonów wytwarzających wyraźne strefy inhibicji wzrostu z badanymi izolatami *Fusarium* należały *Bacillus* spp. i *W. anomalus.*
3. Najlepszą ochronę siewek pszenicy przed zgorzelą wywoływaną *F. culmorum* i *F. graminearum* zapewniał gatunek *W. anomalus*.
4. Zastosowanie *T. atroviride*, *S. strictum* oraz *Bacillus* spp. w wariantach z inokulacją *Fusarium* spp. zwiększało zieloną masę badanych prób pszenicy.

Literatura / References

Akladious S.A., Abbas S.M. 2012. Application of *Trichoderma harzianum* T22 as a biofertilizer supporting maize growth. African Journal of Biotechnology 11 (35): 8672–8683. DOI: 10.5897/AJB11.4323

Alam B., Lǐ J., Gě Q., Khan M.A., Gōng J., Mehmood S., Yuán Y., Gǒng W. 2021. Endophytic fungi: from symbiosis to secondary metabolite communications or vice versa? Frontiers in Plant Science 12: 791033. DOI: 10.3389/fpls.2021.791033

Altomare C., Norvell W.A., Björkman T., Harman G.E. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Applied and Environmental Microbiology 65 (7): 2926–2933. DOI: 10.1128/AEM.65.7.2926-2933.1999

Benítez T., Rincón A.M., Limón M.C., Codon A.C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology 7 (4): 249–260.

Blake C., Christensen M.N., Kovács Á.T. 2021. Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*. Molecular Plant-Microbe Interactions 34 (1): 15–25. DOI: 10.1094/MPMI-08-20-0225-CR

Cobo-Díaz J.F., Baroncelli R., Le Floch G., Picot A. 2019. Combined metabarcoding and co-occurrence network analysis to profile the bacterial, fungal and *Fusarium* communities and their interactions in maize stalks. Frontiers in Microbiology 10: 261. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00261

Colla G., Rouphael Y., Di Mattia E., El-Nakhel C., Cardarelli M. 2015. Co-inoculation of *Glomus intraradices* and *Trichoderma atroviride* acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of vegetable crops. Journal of the Science of Food and Agriculture 95 (8): 1706–1715. DOI: 10.1002/jsfa.6875

Contreras-Cornejo H.A., Macías-Rodríguez L., del-Val E., Larsen J. 2016. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. FEMS Microbiology Ecology 92 (4): fiw036. DOI: 10.1093/femsec/fiw036

De Meyer G., Bigirimana J., Elad Y., Höfte M. 1998. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. European Journal of Plant Pathology 104: 279–286. DOI: 10.1023/A:1008628806616

Degani O., Dor S. 2021. *Trichoderma* biological control to protect sensitive maize hybrids against late wilt disease in the field. Journal of Fungi 7 (4): 315. DOI: 10.3390/jof7040315

Donoso E.P., Bustamante R.O., Carú M., Niemeyer H.M. 2008. Water deficit as a driver of the mutualistic relationship between the fungus *Trichoderma harzianum* and two wheat genotypes. Applied and Environmental Microbiology 74 (5): 1412–1417. DOI: 10.1128/AEM.02013-07

Etesami H., Alikhani H.A. 2018. *Bacillus* species as the most promising bacterial biocontrol agents in rhizosphere and endorhiza of plants grown in rotation with each other. European Journal of Plant Pathology 150: 497–506. DOI: 10.1007/s10658-017-1276-8

Etesami H., Maheshwari D.K. 2018. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. Ecotoxicology and Environmental Safety 156: 225–246. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.03.013

Gaikwad S.N., Salve S.N., Rajurkar S.K. 2018. *In vitro* antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* against soilborne fungal pathogens. International Journal of Biology Research 3 (2): 87–89.

Ghorbanpour M., Omidvari M., Abbaszadeh-Dahaji P., Omidvar R., Kariman K. 2018. Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. Biological Control 117: 147–157. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2017.11.006

Gu Q., Yang Y., Yuan Q., Shi G., Wu L., Lou Z., Huo R., Wu H., Borriss R., Gao X. 2017. Bacillomycin D produced by *Bacillus amyloliquefaciens* is involved in the antagonistic interaction with the plant-pathogenic fungus *Fusarium graminearum*. Applied and Environmental Microbiology 83 (19): e01075-17. DOI: 10.1128/AEM.01075-17

Hermosa R., Viterbo A., Chet I., Monte E. 2012. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. Microbiology 158 (1): 17–25. DOI: 10.1099/mic.0.052274-0

Herrera-Téllez V.I., Cruz-Olmedo A.K., Plasencia J., Gavilanes-Ruíz M., Arce-Cervantes O., Hernández-León S., Saucedo-García M. 2019. The protective effect of *Trichoderma asperellum* on tomato plants against *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea*

diseases involves inhibition of reactive oxygen species production. International Journal of Molecular Sciences 20 (8): 2007. DOI: 10.3390/ijms20082007

Howell C.R. 2002. Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. Phytopathology 92 (2): 177–180. DOI: 10.1094/PHYTO.2002.92.2.177

Howell C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease 87 (1): 4–10. DOI: 10.1094/PDIS.2003.87.1.4

Howell C.R., Hanson L.E., Stipanovic R.D., Puckhaber L.S. 2000. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. Phytopathology 90 (3): 248–252. DOI: 10.1094/PHYTO.2000.90.3.248

Khan A.R., Mustafa A., Hyder S., Valipour M., Rizvi Z.F., Gondal A.S., Yousuf Z., Iqbal R., Daraz U. 2022. *Bacillus* spp. as bioagents: uses and application for sustainable agriculture. Biology 11 (12): 1763. DOI: 10.3390/biology11121763

Khedher S.B., Mejdoub-Trabelsi B., Tounsi S. 2021. Biological potential of *Bacillus subtilis* V26 for the control of Fusarium wilt and tuber dry rot on potato caused by *Fusarium* species and the promotion of plant growth. Biological Control 152: 104444. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2020.104444

Khomari S., Golshan-Doust S., Seyed-Sharifi R., Davari M. 2018. Improvement of soybean seedling growth under salinity stress by biopriming of high-vigour seeds with salt-tolerant isolate of *Trichoderma harzianum*. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 46 (2): 117–132. DOI: 10.1080/01140671.2017.1352520

Kleifeld O., Chet I. 1992. *Trichoderma harzianum* – interaction with plants and effect on growth response. Plant and Soil 144: 267–272. DOI: 10.1007/BF00012884

Kumar G., Maharshi A., Patel J., Mukherjee A., Singh H.B., Sarma B.K. 2017. *Trichoderma*: a potential fungal antagonist to control plant diseases. Annual Technical Issue 21: 206–218.

Lanhuang B., Yang Q., Godana E.A., Zhang H. 2022. Efficacy of the yeast *Wickerhamomyces anomalus* in biocontrol of gray mold decay of tomatoes and study of the mechanisms involved. Foods 11 (5): 720. DOI: 10.3390/foods11050720

Matroudi S., Zamani M.R. 2009. Antagonistic effects of three species of *Trichoderma* sp. on *Sclerotinia sclerotiorum*, the causal agent of canola stem rot. Egyptian Journal of Biology 11: 37–44.

Miljaković D., Marinković J., Balešević-Tubić S. 2020. The significance of *Bacillus* spp. in disease suppression and growth promotion of field and vegetable crops. Microorganisms 8 (7): 1037. DOI: 10.3390/microorganisms8071037

Monte E. 2001. Understanding *Trichoderma*: Between biotechnology and microbial ecology. International Microbiology 4 (1): 1–4. DOI: 10.1007/s101230100001

Nosir W.S. 2016. *Trichoderma harzianum* as a growth promoter and bio-control agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. *tuberosi*. Advances in Crop Science and Technology 4 (2): 1–7. DOI: 10.4172/2329-8863.1000217

Pfordt A., Schiwek S., Karlovsky P., von Tiedemann A. 2020. *Trichoderma afroharzianum* ear rot – a new disease on maize in Europe. Frontiers in Agronomy 2: 547758. DOI: 10.3389/fagro.2020.547758

Piegza M., Stolaś J., Kancelista A., Witkowska D. 2009. Wpływ grzybów rodzaju *Trichoderma* na wzrost patogennych grzybów strzępkowych w testach biotycznych na nietypowych źródłach węgla. Acta Scientiarum Polonorum, Biotechnologia 8 (1): 3–14.

Popiel D., Kwaśna H., Chełkowski J., Stępień Ł., Laskowska M. 2008. Impact of selected antagonistic fungi on *Fusarium* species – toxigenic cereal pathogens. Acta Mycologica 43 (1): 29–40. DOI: 10.5586/am.2008.004

Racedo J., Salazar S.M., Castagnaro A.P., Díaz Ricci J.C. 2013. A strawberry disease caused by *Acremonium strictum*. European Journal of Plant Pathology 137 (4): 649–654. DOI: 10.1007/s10658-013-0279-3

Rajeswari P., Kannabiran B. 2011. *In vitro* effects of antagonistic microorganisms on *Fusarium oxysporum* [Schlecht. Emend. Synd & Hans] infecting *Arachis hypogaea* L. Journal of Phytology 3 (3): 83–85.

Rawat L., Singh Y., Shukla N., Kumar J. 2011. Alleviation of the adverse effects of salinity stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) by seed biopriming with salinity tolerant isolates of *Trichoderma harzianum*. Plant and Soil 347 (1): 387–400. DOI: 10.1007/s11104-011-0858-z

Raynaldo F.A., Dhanasekaran S., Legrand G., Ngea N., Yang Q., Zhang X., Zhang H. 2021. Investigating the biocontrol potentiality *of Wickerhamomyces anomalus* against postharvest gray mold decay in cherry tomatoes. Scientia Horticulturae 285: 110137. DOI: 10.1016/j.scienta.2021.110137

Rojas E.C., Jensen B., Jørgensen H.J., Latz M.A., Esteban P., Ding Y., Collinge D.B. 2020. Selection of fungal endophytes with biocontrol potential against Fusarium head blight in wheat. Biological Control 144: 104222. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2020.104222

Sánchez-Montesinos B., Santos M., Moreno-Gavíra A., Marín-Rodulfo T., Gea F.J., Diánez F. 2021. Biological control of fungal diseases by *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* and its compatibility with fungicides. Journal of Fungi 7 (8): 598. DOI: 10.3390/jof7080598

Saxena A.K., Kumar M., Chakdar H., Anuroopa N., Bagyaraj D.J. 2020. *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. Journal of Applied Microbiology 128 (6): 1583–1594. DOI: 10.1111/jam.14506

Shoresh M., Harman G.E. 2008. The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: A proteomic approach. Plant Physiology 147 (4): 2147–2163. DOI: 10.1104/pp.108.123810

Subedi P., Gattoni K., Liu W., Lawrence K.S., Park S.W. 2020. Current utility of plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents towards plant-parasitic nematodes. Plants 9 (9): 1167. DOI: 10.3390/plants9091167

Thambugala K.M., Daranagama D.A., Phillips A.J.L., Kannangara S.D., Promputtha I. 2020. Fungi vs. fungi in biocontrol: an overview of fungal antagonists applied against fungal plant pathogens. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 10: 604923. DOI: 10.3389/fcimb.2020.604923

Toral L., Rodríguez M., Béjar V., Sampedro I. 2018. Antifungal activity of lipopeptides from *Bacillus* XT1 CECT 8661 against *Botrytis cinerea*. Frontiers in Microbiology 9: 1315. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01315

Tyśkiewicz R., Nowak A., Ozimek E., Jaroszuk-Ściseł J. 2022. *Trichoderma*: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. International Journal of Molecular Sciences 23 (4): 2329. DOI: 10.3390/ijms23042329

Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P., Verstraete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiology and Molecular Biology Reviews 64 (4): 655–671. DOI: 10.1128/MMBR.64.4.655-671.2000

Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Marra R., Barbetti M.J., Li H., Woo S.L., Lorito M. 2008a. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. Physiological and Molecular Plant Pathology 72 (1–3): 80–86. DOI: 10.1016/j.pmpp.2008.05.005

Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Marra R., Woo S.L., Lorito M. 2008b. Trichoderma-plant-pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry 40 (1): 1–10. DOI: 10.1016/j.soilbio.2007.07.002

Wojtkowiak-Gębarowska E. 2006. Mechanizmy zwalczania fitopatogenów glebowych przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*. Postępy Mikrobiologii 45 (4): 261–273.

Yi Y., Luan P., Liu S., Shan Y., Hou Z., Zhao S., Jia S., Li R. 2022. Efficacy of *Bacillus subtilis* XZ18-3 as a biocontrol agent against *Rhizoctonia cerealis* on wheat. Agriculture 12 (2): 258. DOI: 10.3390/agriculture12020258

Yin Y., Miao J., Shao W., Liu X., Zhao Y., Ma Z. 2023. Fungicide resistance: progress in understanding mechanism, monitoring, and management. Phytopathology 113 (4): 707–718. DOI: 10.1094/PHYTO-10-22-0370-KD

Zafari D., Koushki M.M., Bazgir E. 2008. Biocontrol evaluation of wheat take-all disease by *Trichoderma* screened isolates. African Journal of Biotechnology 7 (20): 3650–3656.

Zhang F., Yuan J., Yang X., Cui Y., Chen L., Ran W., Shen Q. 2013. Putative *Trichoderma harzianum* mutant promotes cucumber growth by enhanced production of indole acetic acid and plant colonization. Plant and Soil 368: 433–444. DOI: 10.1007/s11104-012-1519-6

Zhu M., Yang Q., Godana E.A., Huo Y., Hu S., Zhang H. 2023. Efficacy of *Wickerhamomyces anomalus* in the biocontrol of black spot decay in tomatoes and investigation of the mechanisms involved. Biological Control 186: 105356. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2023.105356

Zin N.A., Badaluddin N.A. 2020. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. Annals of Agricultural Sciences 65 (2): 168–178. DOI: 10.1016/j.aoas.2020.09.003

Zubair M., Farzand A., Mumtaz F., Khan A.R., Sheikh T.M.M., Haider M.S., Yu C., Wang Y., Ayaz M., Gu Q., Gao X., Wu H. 2021. Novel genetic dysregulations and oxidative damage in *Fusarium graminearum* induced by plant defense eliciting psychrophilic *Bacillus atrophaeus* TS1. International Journal of Molecular Sciences 22 (22): 12094. DOI: 10.3390/ijms222212094