

Badania oddziaływania grzybów saprofitycznych na patogeniczne dla pomidorów

Recherches sur l'influence des champignons saprophytes sur des champignons parasites des tomates

WANDA TRUSZKOWSKA I MAŁGORZATA NARKIEWICZ-JODKO

I. *Verticillium alboatrum*

W konsekwencji dotychczas przeprowadzonych badań nad chorobami pomidorów powodowanymi przez grzyby (Truszkowska 1964; Truszkowska i Pudełkowa 1966) i wobec trudności zapobiegania im lub zwalczania podjęto próbę bliższego poznania współzycia pomiędzy niektórymi grzybami saprofitycznymi a patogenicznymi w poszukiwaniu pomiędzy nimi oddziaływania antagonistycznego.

Z wcześniejszych badań wynikało, że w ostatnim dziesięcioleciu we Wrocławiu i okolicy znaczne szkody w szklarniowych uprawach pomidorów wyrządziły choroby systemiczne powodowane przede wszystkim przez *Verticillium alboatrum* Reinke & Berth i *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen. W warunkach polowych do najpospolitszych należały choroby wywoływane przez *Ascochyta lycopersici* Brun. (*Didymella lycopersici* Kleb.) i *Colletotrichum atramentarium* (Berk. & Br.) Taubenh. Wobec takich faktów objęto obserwacjami 4 wymienione gatunki patogeniczne dla pomidorów.

Upřednio wykonana analiza mikologiczna materiału nasiennego (Truszkowska 1967) dostarczyła pewnej ilości szczepów różnych saprofitycznych grzybów okolicznościowo nawiązujących kontakt z pomidorami. Znajdowały się wśród nich gatunki znane z wydzielania substancji o działaniu antagonistycznym, jak: *Aspergillus fumigatus* Fres., *A. flavus* Link, *Penicillium chrysogenum* Thom, *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz (Flórey i inni 1964) oraz szereg innych o nie znanych dotychczas bliżej właściwościach biochemicznych. Najliczniej reprezentowane gatunki użyto do badań mających na celu poszukiwanie antagonistów w stosunku do patogenów. Nadmienić należy, że saprofityczne grzyby wykorzystane do tych doświadczeń izolowano w toku równoległe prowadzonych badań nie tylko z nasion, lecz również i z gleby w obrębie systemu korzeniowego zdrowych pomidorów.

Antagonistyczne działanie różnych mikroorganizmów w stosunku do grzybów pasożytniczych na pomidorach analizowało dotychczas wielu badaczy (Stessel, Leben, Keit 1953; Kerr 1961; Chisler, Smith, Menon, Allison 1962; Bhelva, Philips, Allison 1962; Youssef 1960—61).

Do głównych wytwórców antybiotyków Bilai (1963) zaliczyła spośród grzybów gatunki należące do rodzajów: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cephalosporium*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Alternaria* i *Fusarium*. Szczególnie wiele badań poświęcono dotychczas substancjom biologicznie aktywnym wydzielanym przez *Trichoderma lignorum* [= *T. viride*] oraz sposobowi jej oddziaływania na inne mikroorganizmy, jak również *Penicillium chrysogenum* i *Aspergillus fumigatus* (Subba Rao, Bidwell, Bailey 1961; Catani i Petersen 1963, 1967; Webster i Lomas 1964; Jackson 1965; Boosalis i Mankau 1965).

Materiał i metody badań

Materiał. Przedmiotem badań były 7-dniowe kultury grzybów patogenicznych wyizolowane z organów chorych pomidorów, rozmnażane na pożywce glukozowo-ziemniaczanej, potraktowane jako kultury testowe. Obok tego materiałem eksperymentalnym była mała kolekcja również 7-dniowych kultur saprofitycznych grzybów pochodzących z izolacji z nasion. W skład tej kolekcji weszło 10 gatunków grzybów: *Mucor racemosus*, *Chaetomium elatum*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *Penicillium funiculosum*, *P. chrysogenum*, *P. oxalicum*, *P. roqueforti*, *Coniosporium arundinis* i *Trichoderma lignorum*. Gatunki te potraktowano jako testowane.

Metody badań. Przeprowadzono kolejno trzy doświadczenia w 3 kombinacjach.

Doświadczenie I miało na celu prześledzenie wzajemnego bezpośredniego oddziaływania pomiędzy gatunkami patogenicznymi a wybranymi 10 grzybami saprofitycznymi. Eksperyment przeprowadzono na 3 pożywkach: glukozowo-ziemniaczanej, maltozowej i Czapek-Doxa, na szalkach Petriego 10 cm ϕ , w 3 kombinacjach. Pierwsza kombinacja polegała na równoczesnym wyszczepianiu grzyba testowego i testowanego, mniej więcej w środku szalki, w odległości 2 cm od siebie. Kombinacja 2 polegała na wyszczepianiu grzyba testowego w taki sam sposób, ale o 3 dni wcześniej niż testowanego. Kombinacja 3 stanowiła odwrotność drugiej, tzn. o 3 dni wcześniej wyszczepiano grzyby testowane niż testowe. W obrębie każdej kombinacji doświadczalnej wykonano 4 powtórzenia oraz próbę kontrolną, polegającą na wyszczepianiu pojedynczo kolonii poszczególnych grzybów na odpowiednim podłożu. Obserwacje przeprowadzono po 5 i 10 dniach od inokulacji. Przy ocenie wyników posłużono się 7-stopniową skalą Mańki (1961).

Doświadczenie II miało na celu poznanie działania produktów przemiany materii kultur saprofitycznych grzybów zawartych w podłożu na wzrost patogenicznych. Dodatkowym zadaniem było zorientowanie się w stabilności tych wydzielin przy skrajnych temperaturach (-5°C i $+100^{\circ}\text{C}$). Doświadczenie to wykonano przy użyciu filtratów pożywek, na których saprofityczne grzyby, przez okres 21 dni, rosły w kolbach Farenbacha o pojemności 1800 ml zawierających 1000 ml pożywki. Podłoża zastosowano te same co w doświadczeniu I, ale w formie płynnej. Do tego doświadczenia wybrano 4 gatunki grzybów: *Trichoderma lignorum*, *Mucor racemosus*, *Penicillium chrysogenum* i *Aspergillus fumigatus*, które poprzednio odznaczyły się bądź to bardzo silną dynamiką wzrostu, bądź antagonistycznym oddziaływaniem w stosunku do patogena. Uzyskane przesącze pożywek wzbogacone metabolitami poszczególnych gatunków grzybów dzielono każdorazowo na 3 części i każdą z nich z kolei traktowano odmiennie. Pierwszą część, rozlaną po 15 ml do kolb o pojemności 50 ml, przemrażano w temp. -5°C przez 48 godz. (komb. 1); drugą, rozlaną jw., sterylizowano 3-krotnie w aparacie Kocha (komb. 2); trzecią sączono przez bakteryjny filtr Seitza do sterylnych, kalibrowanych rozdzielaczy, po czym rozlewano jw. (komb. 3).

Patogeniczne grzyby pochodzące z 7-dniowych kultur, wyszczepiano na odpowiednich podłożach, w danym przypadku *Verticillium alboatrum* i inkubowano je w termostacie w temp. 25°C przez 14 dni. Ocena wyników doświadczenia polegała na analizie wagowej suchej masy wyrosłych w tych warunkach kolonii patogena; wykonywano to wg powszechnie przyjętych metod (Lilly i Barnett 1959). Kontrola w obrębie tego doświadczenia była podwójna: pierwsza (K_1) polegała na wyszczepieniu patogena jw. na czystej pożywce, a druga (K_2) na wyszczepianiu patogena na tej samej pożywce poddanej uprzednio takim zabiegom jak zmodyfikowane podłoże.

Doświadczenie III miało na celu przeanalizowanie działania na patogena 3 stężeń (75%, 50%, 25%) zmodyfikowanych podłoży, uzupełnianych odpowiednią czystą pożywką płynną. W przypadku próby kontrolnej pożywkę uzupełniano destylowaną wodą sterylizowaną.

Dla łatwiejszego cytowania zmodyfikowanych podłoży zawierających metabolity saprofitów określono je symbolami.

Symbole utworzono z pierwszej litery nazwy rodzajowej grzyba i skrótu nazwy pożywki, na której był wyhodowany: Pgz, Pm, PC-D (*Penicillium chrysogenum*); Agz, Am, AC-D (*Aspergillus fumigatus*); Tgz, Tm, TC-D (*Trichoderma lignorum*); Mgz, Mm, MC-D (*Mucor racemosus*).

Skróty nazw grzybów: V — *Verticillium alboatrum*; F — *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*; A — *Ascochyta lycopersici*; C — *Colletotri-*

chum atramentarium; Af — *Aspergillus fumigatus*; Po — *Penicillium oxalicum*; Che — *Chaetomium elatum*; Pf — *Penicillium funiculosum*; Afl — *Aspergillus flavus*; Pch — *Penicillium chrysogenum*; Pr — *Penicillium roqueforti*; Tl — *Trichoderma lignorum*; Mr — *Mucor racemosus*; Ca — *Coniosporium arundinis*.

Wyniki badań

Wyniki doświadczenia I przedstawiono graficznie schematycznymi rysunkami z uwzględnieniem kombinacji doświadczalnych (ryc. 1). Poszczególne rysunki zostały opatrzone stopniami skali określającymi stosunek pomiędzy partnerami po upływie 10 dni. Próba kontrolna została przedstawiona w liczbach określających wymiary średnic (tabela 1). Wyniki doświadczenia II i III zostały przedstawione również graficznie (wykres 1).

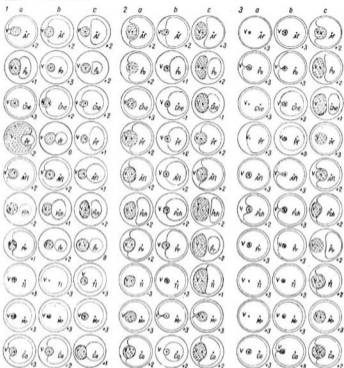
Tabela 1 — Tableau 1

Zestawienie pomiarów średnic kolonii badanych grzybów patogenicznych oraz saprofitycznych z doświadczenia kontrolnego

Les dimensions de diamètre de thalle des champignons parasites ainsi que saprophytes semés particulièrement comme témoin

Pożywka Substrat	Nazwa grzyba w umownym skrócie Nom du champignon en symbole													
	V	F	A	C	Pch	Che	Pf	Pr	Af	Afl	Ca	Tl	Po	Mr
Glukozowo- ziemniaczana Pomme de terre glucosée	4,6	9,6	9,6	7,6	8,5	9,6	9,6	9,0	9,6	9,0	9,6	9,6	9,2	9,6
Maltozowa Maltose	3,4	8,9	9,6	6,8	9,0	9,6	9,6	8,2	9,6	9,2	9,6	9,6	8,4	9,6
Czapek-Doxa Czapek-Dox	5,7	9,6	9,6	7,2	9,2	9,6	9,6	7,8	9,6	9,2	9,6	9,6	7,6	9,6

W wyniku doświadczenia I w przypadku równoczesnego wyszczepienia *Verticillium alboatrum* z grzybami saprofitycznymi, na wszystkich zastosowanych podłożach, stwierdzono wyraźną i bardzo znaczną nad nim przewagę gatunków: *Trichoderma lignorum* i *Mucor racemosus*. Wyrażało się to całkowitym otoczeniem bardzo niskich kolonii patogena przez wymienione grzyby (+3). Również znaczną przewagę uzyskał nad nim *Aspergillus fumigatus* (+2). Jedynie, w danym przypadku, na po-

Verticillium alboatum

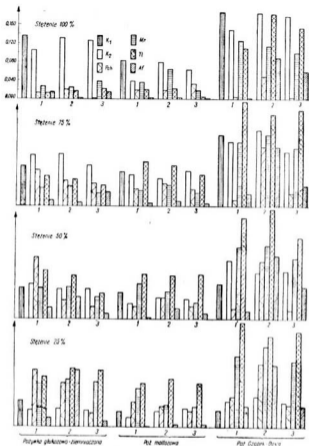
Ryc. 1. Układ stosunków pomiędzy *Verticillium alboatum* a 10 saprofitami na 3 pożywkach w 3 kombinacjach doświadczalnych

1, 2, 3 — kombinacje doświadczalne; a — pożywka glukozowo-ziemniaczana, b — poź. maltozowa, c — poź. Czapek-Doxa. Uwaga: Liczby ze znakiem + lub - oznaczają stopnie skali (M a Ń k a 1961). Punktami oznaczono na rysunkach inokula

Divers types de rapports entre le *Verticillium alboatum* et 10 saprophytes sur 3 milieux de culture et selon trois conditions différentes

1, 2, 3 — conditions différentes; a — pomme de terre glucosée, b — maltose, c — Czapek-Dox. Remarque: les chiffres munis des signes + ou - correspondent aux degrés de l'échelle de Ma Ń k a. Les points sur les dessins indiquent la localisation des semis

żywcze Czapek-Doxa wystąpiła neutralna strefa pomiędzy koloniami obu przeciwników świadcząca o wzmożonej aktywności *Verticillium alboatum*. Niemniej, pod koniec trwania doświadczenia opór ten słabł, co pod-



Wykres 1. Wpływ podłoża zawierającego metabolity saprofitycznych grzybów na wzrost kolonii *Verticillium albo-atrum* przedstawiony na podstawie analizy wagowej suchej masy wyrażonej w mg

1 — podłoże przemrażane (komb. 1), 2 — podł. tyndalizowane (komb. 2), 3 — podł. sączone przez filtr Seitz (komb. 3); K₁ — pierwsza kontrola, wzrost grzyba patogennego na normalnej pożywce; K₂ — druga kontrola, wzrost grzyba patogennego na pożywce poddanej takim samym zabiegom jak zmodyfikowane podłoża, inne objaśnienia na str. 14—25

Influence du substrat contenant des metabolites de champignons saprophytes sur le développement du thalle du *Verticillium albo-atrum*, présentée sur la base de l'analyse du poids sec en mg

1 — substrat frigorifié (condition 1), 2 — substrat tyndalisé (condition 2), 3 — substrat filtré sur filtre Seitz (condition 3). K₁ — premier témoin, développement du champignon parasite sur milieu simple; K₂ — deuxième témoin, développement du champignon parasite sur un milieu de culture soumis aux mêmes conditions que le substrat modifié, autres explications régardez pages 14—25

kreślało lekkie cofanie się kolonii *Verticillium alboatrum* przed *Aspergillus fumigatus*.

Wyraźną przewagę nad *Verticillium alboatrum* uzyskały: *Penicillium oxalicum* (+1, +2, +3), *Chaetomium elatum* (+2, +3), *Coniosporium arundinis* (+1, +2).

Verticillium alboatrum nawet przy wyszczepianiu o 3 dni wcześniej od partnerów uległo ich przewadze. *Mucor racemosus* i w tych warunkach powodował otoczenie kolonii patogena na wszystkich podłożach (+3, +3, +3). Podobnie działało się przy zestawieniu z *Trichoderma lignorum* na pożywkach: glukozowo-ziemniaczanej i maltozowej (+3, +3, +3). Natomiast na podłożu Czapek-Doxa *Verticillium alboatrum* osiągnęło przewagę nad *Chaetomium elatum* (-1) i *Penicillium roqueforti* (-2). Również na tym podłożu zaobserwowano tworzenie się stref neutralnych.

Uprzywilejowanie saprofitycznych grzybów wyszczepianiem o 3 dni wcześniej niż *Verticillium alboatrum* spowodowało, prawie powszechnie, zarosnięcie jego kolonii przez partnerów. Zaznaczyło się to wyłącznie dodatnimi stopniami skali. Jednocześnie wystąpiło to zjawisko na pożywkach: glukozowo-ziemniaczanej i maltozowej. Szereg odchyżeń zaobserwowano na podłożu Czapek-Doxa, gdzie pojawiły się neutralne strefy pomiędzy koloniami.

Porównując te wyniki z wynikami otrzymanymi z doświadczeń kontrolnych, gdzie wszystkie grzyby rosły pojedynczo na analogicznych podłożach, stwierdzono różnice w ich wzroście oceniane na podstawie zajmowanej powierzchni na szalkach. Grzyby saprofityczne, w większości przypadków, po 10 dniach zarastały całą powierzchnię szalek (9,6 cm ϕ , tab. 1), na wszystkich podłożach. Zjawisko to nie zawsze powtarzało się przy wyszczepieniu z *Verticillium alboatrum*. Kolonie *Verticillium alboatrum* najslabiej rosły na pożywce maltozowej, a najlepiej na podłożu Czapek-Doxa, zajmując pojedynczo większą przestrzeń niż w układzie parami.

Analizując z kolei wyniki doświadczenia II i III zaobserwowano hamujące działanie zmodyfikowanych podłoży Am i Agz (we wszystkich zastosowanych stężeniach i kombinacjach doświadczalnych), zawierających produkty przemiany materii *Aspergillus fumigatus*. Podobne działanie stwierdzono przy użyciu podłoża AC-D, z wyjątkiem kombinacji doświadczalnej 1 i 2, gdzie zahamowanie wzrostu patogena wystąpiło w obrębie stężeń od 100 do 50%.

Również hamujący wpływ na *Verticillium alboatrum* wykazały podłoża Pm i Pgz w 3 kombinacjach przy stężeniach od 100 do 50%. W przypadku natomiast pożywki PC-D metabolity *Penicillium chrysogenum*, w granicach stężeń od 100 do 75% działały na patogena hamująco w obrębie kombinacji 1 i 2.

Bardzo słabe hamowanie wzrostu *Verticillium alboatrum* wykazało podłoże Mm, działające jedynie w stężeniach 100 i 75%. Podłoża Mg₂ i MC-D wykazywały oddziaływanie hamujące już tylko przy 100%-wym stężeniu. Wynika z tego, że metabolity *Mucor racemosus* mają minimalny wpływ na wzrost tego patogena.

Pożywki Tm, Tg₂ i TC-D zawierające metabolity *Trichoderma lignorum* działały hamująco na wzrost *Verticillium alboatrum* jedynie w 100%-wym stężeniu, podczas gdy niższe ich stężenia wykazywały na patogena działanie stymulujące.

Zestawiając te wyniki z wynikiem doświadczenia kontrolnego (K₁) stwierdzono, że podobnie jak w doświadczeniu I przy zastosowaniu pożywek agarowych, również na tych samych podłożach płynnych, *Verticillium alboatrum* najlepiej rosło na pożywce Czapek-Doxa, a najslabiej na maltozowej. Największy przyrost suchej masy jego kolonii uzyskano na podłożu Czapek-Doxa, a najmniejszy na maltozowej. Stąd hamujący wpływ metabolitów uwidocznił się najwyraźniej przy użyciu do hodowli saprofita pożywki maltozowej, a stosunkowo najslabiej pożywki Czapek-Doxa. Stopniowe rozcieńczanie zmodyfikowanych pożywek czystą pożywką wpływało korzystnie na przyrost ciężaru suchej masy kolonii *V. alboatrum*, gdyż niwelowało się działanie metabolitów. Odwrotne były natomiast wyniki doświadczenia kontrolnego, gdzie pożywka zmodyfikowana była rozcieńczana wodą destylowaną, gdyż w miarę rozcieńczania pożywki malał ciężar suchej masy kolonii *V. alboatrum*.

Drugie doświadczenie kontrolne (K₂) wskazało również na pewien wpływ rodzaju kombinacji doświadczalnych na przyrost suchej masy kolonii patogena. Najwyższy przyrost suchej masy uzyskano na pożywce Czapek-Doxa poddanej tyndallizacji, a najniższy przemrażanej. Identyczne zjawisko nastąpiło przy użyciu pożywki glukozowo-ziemniaczanej. W przypadku podłoża maltozowego największy przyrost suchej masy kolonii patogena otrzymano po tyndallizacji, lecz tylko w przypadku stężeń 100% i 50%. Przy stężeniach 75% i 25% najwyższy przyrost suchej masy uzyskano na podłożu przesączonym przez filtr Seitz.

Podsumowując uzyskane wyniki stwierdzono, że: *Trichoderma lignorum* i *Mucor racemosus* przy bezpośrednim kontakcie najefektywniej hamowały wzrost kolonii *Verticillium alboatrum*, nawet w przypadku wcześniejszego jego wyszczepiania (dośw. I).

Pożywka maltozowa okazała się podłożem, na którym hamujące działanie saprofita w stosunku do patogena występowało najwyraźniej. Na pożywce Czapek-Doxa, wyraźnie sprzyjającej wzrostowi *Verticillium alboatrum*, uzyskano słabszy obraz hamującego działania saprofitów.

Pomiędzy *Verticillium alboatrum* a saprofitami, takimi jak *Aspergillus fumigatus* i *Penicillium chrysogenum*, zaznaczył się antagonistyczny stosunek w postaci neutralnej strefy. Przechodzące do podłoża metabolity

tych saprofitów okazały się szkodliwe dla wzrostu *Verticillium alboatrum*. Zaobserwowane zahamowanie wzrostu kolonii *V. alboatrum* było wynikiem zarówno oddziaływania podłoża, jak i zawartych w nim metabolitów grzybów saprofitycznych.

Najsilniejszym antagonistą *Verticillium alboatrum* okazał się *Aspergillus fumigatus*.

Przechodzące do pożywki metabolity przebadanych grzybów charakteryzowała termolabilność w zakresie skrajnych temperatur, jak -5°C i $+100^{\circ}\text{C}$.

Przechodzące do podłoża metabolity *Trichoderma lignorum* charakteryzowało dwojakie oddziaływanie na wzrost *Verticillium alboatrum*: słabo hamujące w stężeniu 100%-owym, a stymulujące w przypadku niższych stężeń.

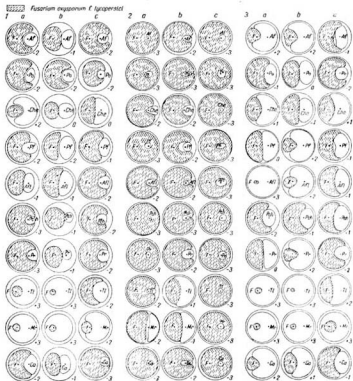
II. *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*

Z kolei podjęto podobne badania oddziaływania niektórych grzybów saprofitycznych na *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* sprawcę drugiej systemicznej choroby pomidorów wyrządzającej znaczne szkody w uprawach zarówno szklarniowych, jak i gruntowych. I tym razem, wobec trudności zapobiegania chorobie uwiądu, podjęto poszukiwania grzybów o działaniu antagonistycznym w stosunku do patogena. Na pewne szanse powodzenia tego rodzaju dociekań naprowadziła, m. in., praca Yousefa (1960—61), w której autor wykazał, na podstawie przeprowadzonych przy użyciu pomidorów doświadczeń, antagonistyczne oddziaływanie *Penicillium chrysogenum* w stosunku do *Fusarium oxysporum*.

W danym przypadku przeprowadzono w analogiczny sposób jak w cz. I trzy doświadczenia laboratoryjne. Materiałem eksperymentalnym, oprócz szczepów *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* uzyskanych z chorych pomidorów, były te same saprofityczne grzyby.

Wyniki badań przedstawiono graficznie (doświadczenie I — ryc. 2; próba kontrolna do tego doświadczenia — tab. 1; wyniki doświadczenia II i III — wykres 2).

Z kombinacji 1 doświadczenia I wynikało, że zjawisko antagonizmu wystąpiło najwyraźniej pomiędzy *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* a *Trichoderma lignorum* i *Mucor racemosus* na pożywkach: glukozowo-ziemniaczanej i maltozowej. Wymienione grzyby zdołały całkowicie otoczyć kolonie patogena, odznaczającego się również szybkim wzrostem. Pewne różnice zaistniały jedynie na podłożu Czapek-Doxa, gdzie przy zestawieniu z *Trichoderma lignorum* (-2) patogen uzyskał przewagę. *Mucor racemosus* na tym samym podłożu osiągnął już stopień skali + 2. Poza tym *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* uzyskiwało w tych warunkach przeważnie ujemne stopnie skali. Strefy zahamowania wzrostu za-

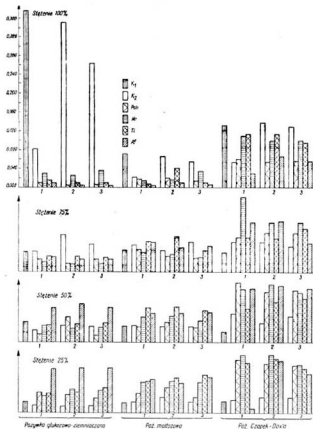


Ryc. 2. Układ stosunków pomiędzy *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* a 10 saprofitami na 3 pożywkach w 3 kombinacjach doświadczalnych

1, 2, 3 — kombinacje doświadczalne; a — pożywka glukozowo-ziemniaczana, b — poź. maltosowa, c — poź. Czapek-Doxa. Uwaga: Liczby ze znakiem + lub - oznaczają stopnie skali (Mańka 1961). Punktami oznaczono na rysunkach inokula

Divers types de rapports entre le *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* et 10 champignons saprophytes sur 3 milieux de culture et selon 3 conditions différentes

1, 2, 3 — conditions différentes; a — pomme de terre glucosée, b — maltose, c — Czapek-Dox. Remarque: les chiffres munis des signes + ou - correspondent aux degrés de l'échelle de Mańka. Les points sur les dessins indiquent la localisation des semis



Wykres 2. Wpływ podłoża zawierającego metabolity saprofitycznych grzybów na wzrost kolonii *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* przedstawiony na podstawie analizy wagowej suchej masy wyrażonej w mg

1 — podłoże przemrażane (komb. 1), 2 — podł. tyndalizowane (komb. 2), 3 — podł. sączone przez filtr Seitz (komb. 3); K₁ — pierwsza kontrola, wzrost grzyba patogenicznego na normalnej pożywce; K₂ — druga kontrola, wzrost grzyba patogenicznego na pożywce poddanej takim samym zabiegom jak zmodyfikowane podłoże, inne objaśnienia na str. 24—25

Influence du substrat contenant des métabolites de champignons saprophytes sur le développement du thalle du *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*, présentée sur la base de l'analyse du poids sec en mg

1 — substrat frigorifié (condition 1), 2 — substrat tyndalisé (condition 2), 3 — substrat filtré sur filtre Seitz (condition 3); K₁ — premier témoin, développement du champignon parasite sur milieu simple; K₂ — deuxième témoin, développement du champignon parasite sur un milieu de culture soumis aux mêmes conditions que le substrat modifié, autres explications réglez pages 24—25

obserwowano w przypadku zestawienia patogena z *Aspergillus fumigatus* na pożywkach glukozowo-ziemniaczanej i maltozowej oraz z *Penicillium funiculosum* — na maltozowej.

Uprzywilejowanie wcześniejszym wyszczepieniem tak dynamicznego patogena, jak *F. oxysporum* f. *lycopersici*, dało mu znaczną przewagę nad partnerami. Jedynie *Trichoderma lignorum* na pożywce maltozowej uzyskała stopień skali +1. W jednym tylko przypadku zaistniała strefa zahamowania wzrostu pomiędzy patogenem a *Mucor racemosus* na pożywce glukozowo-ziemniaczanej. Z kolei podobne uprzywilejowanie saprofitów pozwoliło im na poważną przewagę nad patogenem, szczególnie gatunkom *Trichoderma lignorum* i *Mucor racemosus* na pożywkach glukozowo-ziemniaczanej i maltozowej.

W wyniku doświadczeń II i III zaobserwowano hamujące działanie (na wzrost *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*) zmodyfikowanych podłoży Pgz i Pm, zawierających produkty przemiany materii *Penicillium chrysogenum*, w granicach stężeń od 100 do 75%.

Również hamujący wpływ na *F. oxysporum* f. *lycopersici* wykazały podłoża wzbogacone metabolitami *Aspergillus fumigatus*: Am w 100% stężeniu oraz Agz w stężeniach od 100 do 75%. Podobne działanie hamujące wzrost patogena obserwowano przy zastosowaniu podłoży Tm i Tgz, zawierających produkty przemiany materii *Trichoderma lignorum* w stężeniach od 100 do 75%. Podłoże Mm zawierające metabolity *Mucor racemosus* (w stężeniach od 100 do 75%) działało hamująco na wzrost patogena, a Mgż tylko w stężeniu 100%-wym. W przypadku użycia podłoży: PC-D, AC-D, TC-D i MC-D zahamowanie wzrostu patogena uzyskano jedynie przy 100%-wym stężeniu.

Porównując te wyniki z próbą kontrolną (K₁) stwierdzono, że najmniejszy przyrost suchej masy kolonii *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* uzyskiwano na pożywce maltozowej (wykres 2), stąd wzbogacenie jej metabolitami saprofitów dało najefektowniejszy obraz zahamowania wzrostu patogena. Największy natomiast przyrost suchej masy kolonii *F. oxysporum* f. *lycopersici* zaobserwowano na pożywce glukozowo-ziemniaczanej. Pomimo, że sama pożywka sprzyjała patogenowi, to jednak również wyraźnie wystąpiło hamujące oddziaływanie zawartych w nim metabolitów saprofitycznych grzybów. Fakt ten wskazywałby, że jest to pożywka sprzyjająca nie tylko wzrostowi grzybów, ale również produkcji substancji biologicznie aktywnych.

Przy użyciu do hodowli saprofitów pożywki Czapek-Doxa uzyskano mało widoczne efekty działania metabolitów saprofitycznych grzybów na *F. oxysporum* f. *lycopersici*.

Biorąc pod uwagę kombinacje doświadczalne, największy przyrost suchej masy kolonii *F. oxysporum* f. *lycopersici* zaobserwowano w przypadku kombinacji 2, na każdej z zastosowanych pożywek (wyjątek sta-

nowiła próba wykonana przy użyciu pożywki maltozowej w 75%-wym stężeniu, przy kombinacji 3, gdzie osiągnięto wyjątkowo wysoki ciężar suchej masy kolonii).

Najmniejszy przyrost suchej masy kolonii *F. oxysporum* f. *lycopersici* uzyskiwano na ogół na pożywkach przemrażanych (komb. 2).

Rozcieńczanie podłoży zawierających metabolity saprofitów czystą pożywką wpływało na przyrost ciężaru suchej masy kolonii rosnących na nich patogenów. W przypadku próby kontrolnej drugiej (K_2) przy rozcieńczaniu wodą zachodziło zjawisko odwrotne.

Przedstawione wyniki można zreasumować następująco: *Trichoderma lignorum* i *Mucor racemosus* przy bezpośrednim kontakcie okazały się antagonistami *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*.

Ze względu na podobną szybkość wzrostu grzybów: *Trichoderma lignorum*, *Mucor racemosus* i *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* — dwu pierwszym dla osiągnięcia przewagi nad patogenem potrzebne jest wcześniejsze lub równoczesne opanowanie środowiska. Wcześniejsze opanowanie środowiska dało również duże szanse gatunkom: *Aspergillus fumigatus* i *A. flavus* — tak dalece, że mogą one stanowić niebezpieczne zagrożenie dla *F. oxysporum* f. *lycopersici*.

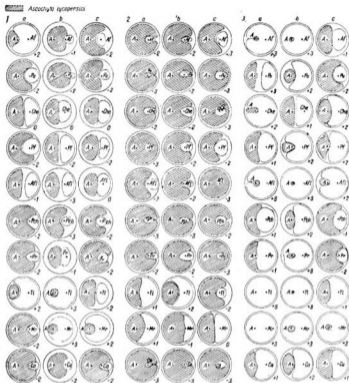
Zastosowane zmodyfikowane podłoża, czyli wzbogacone metabolitami *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium chrysogenum*, *Trichoderma lignorum* i *Mucor racemosus*, podobnie jak w przypadku *Verticillium alboatrum* wykazały działanie w stosunku do *F. oxysporum* f. *lycopersici* dwojakie: w stężeniach od 100 do 75% — hamujące, a od 50 do 25% — stymulujące.

Najkorzystniejszym podłożem do hodowli zarówno 4 saprofitów, jak i *F. oxysporum* f. *lycopersici* okazała się pożywka glukozowo-ziemniaczana pozwalająca wszystkim grzybom na dobry wzrost i aktywność chemiczną.

III. *Ascochyta lycopersici*

Ascochyta lycopersici [= *Diplodina lycopersici*; stadium doskonale *Didymella lycopersici*] należy³ do najbardziej rozpowszechnionych patogenów pomidorów. Atakuje rośliny we wszystkich fazach rozwojowych, a szczególnie w zaawansowanych (Liesau 1933). Najczęściej notowanym schorzeniem jest zgorzel podstawy łodyg i zgnilizna owoców. Ponieważ dotychczas nie osiągnięto w pełni skutecznych metod zapobiegania wzmiankowanym chorobom, objęto ten gatunek badaniami nad zjawiskiem antybiozy pomiędzy grzybami.

W analogiczny sposób jak w części I przeprowadzono trzy doświadczenia laboratoryjne. Materiałem eksperymentalnym były szczepy *Ascochyta lycopersici* wyizolowane z chorych pomidorów oraz te same, co poprzednio, saprofityczne grzyby.



Ryc. 3. Układ stosunków pomiędzy *Ascochyta lycopersici* a 10 saprofitami na 3 pożywkach w 3 kombinacjach doświadczalnych

1, 2, 3 — kombinacje doświadczalne; a — pożywka glukozowo-gleminaczana, b — poź. maltozowa, c — poź. Czapek-Doxa. Uwaga: Liczby ze znakiem + lub - oznaczają stopnie skali (Mańka 1961). Punktami oznaczono na rysunkach inokula

Divers types de rapports entre l'*Ascochyta lycopersici* et 10 champignons saprophytes sur 3 milieux de culture et selon trois conditions différentes

1, 2, 3 — conditions différentes; a — pomme de terre glucosée, b — maltose, c — Czapek-Dox. Remarque: les chiffres munis des signes + ou - correspondent aux degrés de l'échelle de Mańka. Les points sur les dessins indiquent la localisation des semis

Wyniki badań przedstawiono graficznie (doświadczenie I — ryc. 3; II i III — wykres 3; próba kontrolna do doświadczenia I — tabela 1).

Z kombinacji 1 doświadczenia I wynikło, że stosunki pomiędzy *Asco-*

chyta lycopersici a grzybami saprofitycznymi układały się rozmaicie w zależności od rodzaju podłoża. Na pożywce glukozowo-ziemniaczanej patogen uległ przewadze *Aspergillus fumigatus* i *Trichoderma lignorum*. W ostatnim przypadku zaznaczyła się pomiędzy koloniami neutralna strefa. Ponadto neutralne strefy stwierdzono przy zestawieniu *Ascochyta lycopersici* z *Penicillium oxalicum*, *P. funiculosum*, *Chaetomium elatum*, *Aspergillus flavus*, przy niekiedy nawet dość równomiernym wzroście kolonii.

Na pożywce maltozowej patogen uległ całkowitemu otoczeniu przez kolonie *Trichoderma lignorum* i *Mucor racemosus*. Neutralne strefy zaznaczyły się pomiędzy nim a *Penicillium funiculosum*, *P. chrysogenum*, *Aspergillus flavus*. Na pożywce Czapek-Doxa wyraźną przewagę nad *Ascochyta lycopersici* uzyskał tylko *Mucor racemosus*. Neutralna strefa powtórzyła się kilkakrotnie przy różnych zestawieniach.

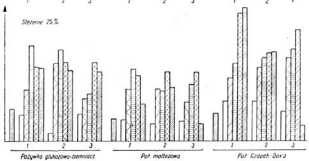
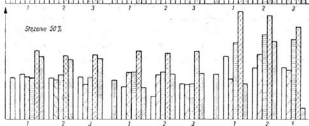
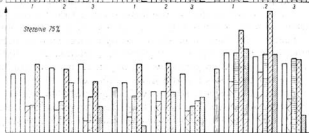
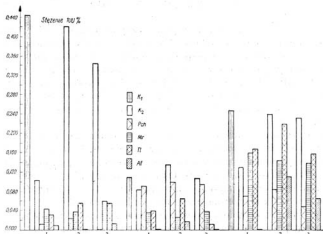
W przypadku kombinacji doświadczalnej 2, przy wcześniejszym wyszczepieniu patogena, kolonie *Trichoderma lignorum* uzyskały nad nim przewagę na pożywkach glukozowo-ziemniaczanej i maltozowej, podczas gdy kolonie *Mucor racemosus* tylko na pierwszej z wymienionych pożywek. Fakt ten świadczy o bardzo dużej dynamice wzrostu kultur obu wzmiankowanych grzybów saprofitycznych, ponieważ *Ascochyta lycopersici* należy również do gatunków rosnących szybko. Neutralną strefę zaobserwowano przy kilku różnych zestawieniach.

W kombinacji 3 doświadczenia I, wobec uprzywilejowania saprofitów wcześniejszym wyszczepieniem, uzyskały one wyraźną i uzasadnioną przewagę nad patogenem na pożywkach glukozowo-ziemniaczanej i maltozowej. W kilku przypadkach na podłożu Czapek-Doxa stosunki układały się odmiennie. Neutralną strefę obserwowano stosunkowo rzadko.

W wyniku doświadczeń II i III zaobserwowano, że zmodyfikowane podłoża Pgz, Pm i PC-D, zawierające produkty przemiany materii *Penicillium chrysogenum*, oddziaływały hamująco na wzrost kolonii *Ascochyta lycopersici* w granicach stężeń od 100 do 50% we wszystkich kombinacjach doświadczalnych, a szczególnie wyraźnie w trzeciej.

Podobnie działały zmodyfikowane podłoża Agz i Am zawierające metabolity *Aspergillus fumigatus* w zakresie stężeń od 100 do 75% w 3 kombinacji doświadczalnej. Działanie hamujące podłoża AC-D było w tym przypadku wyjątkowo silniejsze niż pozostałych; obserwowano je w granicach stężeń od 100 do 25% również w kombinacji doświadczalnej 3. Podłoża Mgz i Mm zawierające produkty przemiany materii *Mucor racemosus* hamowały wzrost patogena tylko w stężeniach od 100 do 75% bez względu na rodzaj kombinacji doświadczalnej; na podłożu MC-D — tylko przy stężeniu 100%.

Podłoża Tgz i Tm zawierające metabolity *Trichoderma lignorum* ograniczały możliwość wzrostu patogena jedynie przy stężeniu 100%.



Analizując te wyniki porównawczo z uzyskanymi z próby kontrolnej stwierdzono, że najmniejszy przyrost suchej masy kolonii *Ascochyta lycopersici* uzyskiwano na pożywce maltozowej. Stąd przy użyciu jej do hodowli saprofitów zaznaczyło się najwyraźniej zahamowanie wzrostu patogena. Największy przyrost suchej masy kolonii *Ascochyta lycopersici* uzyskano na pożywce glukozowo-ziemniaczanej. Pomimo, że podłoże to sprzyjało wzrostowi patogena, oddziaływanie hamujące zawartych w nim metabolitów saprofitycznych grzybów wystąpiło również wyraźnie.

Drugie doświadczenie kontrolne (K_2), pozwalające na analizę wpływu kombinacji doświadczalnych, jakim poddane były pożywki, wskazywało, że w danym przypadku nieuchwytny był wpływ rodzaju kombinacji na wzrost patogena.

W przypadku podłoży wzbogaconych metabolitami saprofitów kombinacja doświadczalna 3 (tyndalizacja) wpływała wyraźnie na zwiększenie ciężaru suchej masy kolonii patogena.

Przedstawione wyniki pozwalają na następujące zreasumowanie: *Trichoderma lignorum* i *Mucor racemosus* okazały się również najpoważniejszymi antagonistami *Ascochyta lycopersici* przy kontakcie bezpośrednim, jednak nie w takim stopniu, jak w przypadku *Verticillium alboatum*.

Ascochyta lycopersici okazała się gatunkiem wykazującym dużą dynamikę wzrostu i wskutek tego trudno było znaleźć dla niej odpowiednich antagonistów.

Wcześniejsze zadomowienie saprofitycznych grzybów w określonym środowisku może stworzyć niesprzyjające warunki dla *Ascochyta lycopersici*. Zahamowanie wzrostu kolonii *Ascochyta lycopersici* wystąpiło pod wpływem produktów przemiany materii *Penicillium chrysogenum* niezależnie od zastosowanego podłoża do jego hodowli.

Zawarte w podłożu produkty przemiany materii *Aspergillus fumigatus* wykazały najsilniejsze działanie ograniczające wzrost patogena.

Wykres 3. Wpływ podłoża zawierającego metabolity saprofitycznych grzybów na wzrost kolonii *Ascochyta lycopersici* przedstawiony na podstawie analizy wagowej suchej masy wyrażonej w mg

1 — podłoże przemrażane (komb. 1), 2 — podł. tyndalizowane (komb. 2), 3 — podł. sączone przez filtr Seitz'a (komb. 3); K_1 — pierwsza kontrola, wzrost grzyba patogenicznego na normalnej pożywce; K_2 — druga kontrola, wzrost grzyba patogenicznego na pożywce poddanej takim samym zabiegom jak zmodyfikowane podłoża, inne objaśnienia na str. 24—25

Influence du substrat contenant des metabolites de champignons saprophytes sur le développement du thalle de l'*Ascochyta lycopersici*, présentée sur la base de l'analyse du poids sec en mg

1 — substrat frigorifié (condition 1), 2 — substrat tyndalisé (condition 2), 3 — substrat filtré sur filtre Seitz (condition 3); K_1 — premier témoin, développement du champignon parasite sur milieu simple; K_2 — deuxième témoin, développement du champignon parasite sur un milieu de culture soumis aux mêmes conditions que le substrat modifié, autres explications régardez pages 24—25

IV. *Colletotrichum atramentarium*

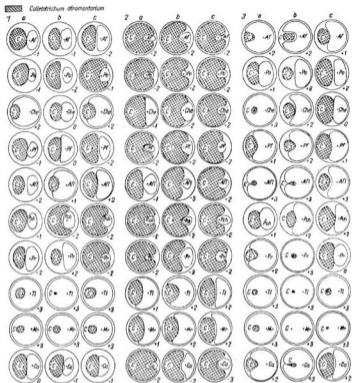
W ostatnim dziesięcioleciu pojawiło się w Polsce szereg prac na temat chorobotwórczości *Colletotrichum atramentarium* dla pomidorów, a szczególnie ich owoców (Mieczyńska i Wnękowski 1957; Jakubczyk 1961, 1962; Truszkowska i Pudełkowa 1966). Gatunek ten został dotychczas wielostronnie opracowany jako patogen ziemniaków. Ponadto notowano jego występowanie na innych roślinach, głównie spośród *Solanaceae*. W przypadku pomidorów obserwowano objawy wędnięcia całych roślin, zgniliznę korzeni, lub plamistość i zgniliznę owoców (Jakubczyk 1962), a także zasiedlanie nasion (Juraszek i Czarnocka 1958; Truszkowska 1967). Szczególnie dużą wagę wielu autorów przywiązywało do zgnilizny korzeni powodowanej przez *C. atramentarium* (Williams 1928; Coquhoun 1941; McKay 1942; McNeil 1957 — wg Termohlena 1957, 1962). Z dotychczasowych badań holenderskich wynika, że bardzo często notowano jego występowanie na korzeniach pomidorów dotkniętych chorobą skorkowacenia, której poświęcono wiele uwagi (Termohlen 1962). Wobec takiego faktu włączono ten gatunek do badań nad zjawiskiem antybiozy pomiędzy grzybami patogenicznymi a saprofitycznymi.

W analogiczny sposób, jak w cz. I, przeprowadzono 3 doświadczenia laboratoryjne przy użyciu izolatów *Colletotrichum atramentarium* pochodzących z chorych roślin (pomidorów) oraz tych samych gatunków saprofitycznych grzybów.

Wyniki przedstawiono graficznie (doświadczenie I — ryc. 4; II i III — wykres 4; próba kontrolna do doświadczenia I — tabela 1).

Z kombinacji 1 doświadczenia I wynikało, że podobnie jak poprzednio, najpoważniejsze zagrożenie dla *Colletotrichum atramentarium* stanowiły *Trichoderma lignorum* i *Mucor racemosus* bez względu na zastosowane podłoże. To ważne zjawisko powtórzyło się w dużej mierze nawet w kombinacji doświadczalnej 2, polegającej na wcześniejszym wyszczepianiu patogena niż saprofita na wszystkich podłożach: na pożywce Czapek-Doxa wytworzyła się ponadto neutralna strefa wskazująca na próbę obrony ze strony patogena. Zadomowienie saprofitów w środowisku (kombinacja doświadczalna 3) spowodowało powszechne i znaczne upośledzenie patogena. W nielicznych przypadkach zaobserwowano tworzenie się neutralnych stref wskazujących na stawiany przez niego opór.

W wyniku doświadczenia II i III stwierdzono, że hamujący wpływ na wzrost patogena wykazały podłoża Pgz, Pm, PC-D (w stężeniach od 100 do 50%), zawierające produkty przemiany materii *Penicillium chrysogenum* przesączone przez filtr Seitza (komb. 3). Podobne działanie wykazały podłoża Mgz i Mm we wszystkich kombinacjach doświadczalnych przy stężeniach od 100 do 75%.



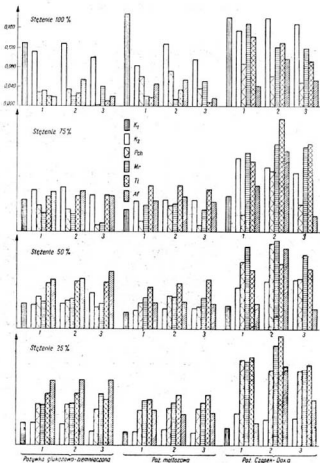
Ryc. 4. Układ stosunków pomiędzy *Colletotrichum atramentarium* a 10 saprofitami na 3 pożywkach w 3 kombinacjach doświadczalnych

1, 2, 3 — kombinacje doświadczalne; a — pożywka glukozowo-ziemniaczana, b — poż. maltozowa, c — poż. Czapek-Doxa. Uwaga: Liczby ze znakiem + lub - oznaczają stopnie skali (Mańka 1941). Punktami oznaczono na rysunkach inokula

Divers types de rapports entre le *Colletotrichum atramentarium* et 10 champignons saprophytes sur 3 milieux de culture et selon 3 condition différentes

1, 2, 3 — conditions différentes; a — pomme de terre glucosée, b — maltose, c — Czapek-Doxa. Remarque: les chiffres munis des signes + ou - correspondent aux degrés de l'échelle de Mańka. Les points sur les dessins indiquent la localisation des semis

Wyjątkowo zaobserwowano silne zahamowanie wzrostu patogena pod wpływem podłoża AC-D (w stężeniach od 100 do 25%) zawierającego metabolity *Aspergillus fumigatus*, szczególnie przy kombinacji doświad-



Wykres 4. Wpływ podłoża zawierającego metabolity saprofitycznych grzybów na wzrost kolonii *Colletotrichum atramentarium* przedstawiony na podstawie analizy wagowej suchej masy wyrażonej w mg

1 — podłoże przemarzane (komb. 1), 2 — podł. tyndalizowane (komb. 2), 3 — podł. sączone przez filtr Seitz'a (komb. 3); K₁ — pierwsza kontrola, wzrost grzyba patogenicznego na pożywce poddanej takim samym zabiegom jak zmodyfikowane podłoża, inne objaśnienia na str. 24—25

Influence du substrat contenant des métabolites de champignons saprophytes sur le développement du thalle du *Colletotrichum atramentarium*, présentée sur la base de l'analyse du poids sec en mg

1 — substrat frigorifié (condition 1), 2 — substrat tyndalisé (condition 2), 3 — substrat filtré sur filtré Seitz (condition 3); K₁ — premier témoin, développement du champignon parasite sur milieu simple; K₂ — deuxième témoin, développement du champignon parasite sur un milieu de culture soumis aux mêmes conditions que le substrat modifié, autres explications régardez pages 24—25

czalnej 3. Natomiast podłoża Agz i Am hamowały wzrost patogena jedynie w stężeniu 100%, przy kombinacji doświadczalnej 3.

Najsłabsze zahamowanie wzrostu *Colletotrichum atramentarium* spowodowały podłoża Tm, Tgz i TC-D tylko w 100% stężeniu, zawierające metabolity *Trichoderma lignorum* we wszystkich kombinacjach doświadczalnych. Stężenia niższe wpływały wręcz stymulująco na wzrost patogena.

Porównując te wyniki z uzyskanymi z próby kontrolnej (K_1), która wskazywała na bardzo niski przyrost suchej masy kolonii *C. atramentarium* na pożywce maltozowej oraz niekiedy na glukozowo-ziemniaczanej, znajduje się wyjaśnienie faktu, że na tych podłożach najlepiej uwidoczniło się zahamowanie wzrostu patogena spowodowane metabolitami saprofitów.

W przypadku pożywki Czapek-Doxa przyrost ciężaru kolonii *C. atramentarium* był bardzo znaczny, a oddziaływanie metabolitów saprofitycznych grzybów, z wyjątkiem *Aspergillus fumigatus*, widocznie osłabione.

Największy przyrost suchej masy kolonii patogena zaobserwowano w kombinacji doświadczalnej 2 na wszystkich zastosowanych podłożach.

Przedstawione wyniki zreasumowano następująco: *Trichoderma lignorum* i *Mucor racemosus* okazały się, podobnie jak w analizowanych poprzednio przypadkach, najpoważniejszymi antagonistami *Colletotrichum atramentarium*, które znajdowało łatwo wielu przeciwników wśród saprofitycznych grzybów, szczególnie jeśli były one wcześniej zadomowione w środowisku.

Gatunki grzybów skutecznie przeciwdziałające wzrostowi *C. atramentarium* pochodziły z nasion pomidorów, wobec czego można przypuszczać, że za ich pośrednictwem mogą być wprowadzane do gleby i służyć jako obrona dla wschodów.

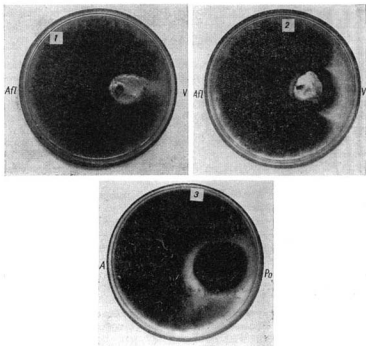
Metabolity badanych saprofitów zawarte w podłożu hodowlanym działały na *C. atramentarium* hamująco w stężeniach od 100 do 75%, a w niższych stymulująco. W przypadku *Penicillium chrysogenum* nie stwierdzono różnicy oddziaływania jego metabolitów zawartych w podłożu w zależności od hodowlanego podłoża o ile nie było ono poddane sterylizacji.

DYSKUSJA

W efekcie przeprowadzonych badań uzyskano szereg wyników potwierdzających obserwacje dokonane wcześniej przez innych autorów.

Wykonane doświadczenia potwierdziły obserwacje Youssefa (1960—61) o antagonistycznym działaniu *Penicillium chrysogenum* w stosunku do *Fusarium oxysporum*. Okazało się również, że *Aspergillus*

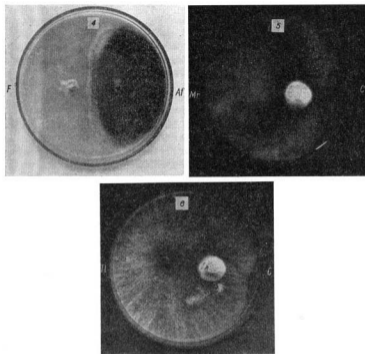
Tablica I — Tableau I



1 — *Verticillium albo-atrum* (V) wyszczone o 3 dni wcześniej niż *Aspergillus flavus* (Afl + 2) na pożywkę glukozowo-ziemniacaną, 2 — *V. albo-atrum* (V) wyszczone o 3 dni wcześniej niż *A. flavus* (Afl + 2) na pożywkę Czapek-Doxa. Wyraźnie zanaczyła się neutralna strefa między koloniami. 3 — *Ascochyta lycopersici* (A) wyszczone o 3 dni wcześniej niż *Penicillium oxalicum* (Po -2) na pożywkę glukozowo-ziemniacaną. Wyraźnie zaznaczyła się neutralna strefa między koloniami

1 — *Verticillium albo-atrum* (V) semé 3 jours avant que l'*Aspergillus flavus* (Afl + 2) sur pomme de terre glucosée. 2 — *V. albo-atrum* semé 3 jours avant que l'*A. flavus* (Afl + 2) sur Czapek-Dox. Une zone d'inhibition se dessine nettement entre les thalles. 3 — *Ascochyta lycopersici* (A) semé 3 jours avant que le *Penicillium oxalicum* (Po -2) sur pomme de terre glucosée. Une zone d'inhibition est visible entre les thalles

Tablica II — Tableau II



4 — *Aspergillus fumigatus* (Af -1) wyszczepiony o 3 dni wcześniej niż *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (F) na pożywce Czapek-Doxa. 5 — *Mucor racemosus* (Mr + 3) wyszczepiony o 3 dni wcześniej niż *Colletotrichum atramentarium* (C) na pożywce Czapek-Doxa. 6 — *Trichoderma lignorum* (Tl + 3) wyszczepiona o 3 dni wcześniej niż *C. atramentarium* (C) na pożywce Czapek-Doxa

4 — *Aspergillus fumigatus* (Af -1) semé 3 jours avant que le *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (F) sur Czapek-Dox. 5 — *Mucor racemosus* (Mr + 3) semé 3 jours avant que le *Colletotrichum atramentarium* (C) sur Czapek-Dox. 6 — *Trichoderma lignorum* (Tl + 3) semé 3 jours avant que le *C. atramentarium* sur Czapek-Dox

fumigatus najefektywniej hamował wzrost *Verticillium albo-atrum* za pośrednictwem produktów przemiany materii zawartych w podłożu hodowlanym. Wynik ten można porównać z obserwacjami Catani i Petersena (1963) przeprowadzonymi na *Verticillium dahliae*. Autorzy ci stwierdzili, że wyciąg z kolonii *Aspergillus fumigatus* hamował wzrost grzybni i wytwarzanie sklerot u *V. dahliae*. W kilka lat później, bo w 1967 r., ci sami badacze na podstawie dalszych dociekań wykazali, że m. in., *Trichoderma lignorum* i *Aspergillus fumigatus* wyizolowane z korzeni *Acer platanoides*, ze względu na antagonistyczne oddziaływanie w stosunku do *V. dahliae*, mogą zapobiegać chorobie uwiędu we wczesnych fazach rozwoju roślin. Może również udałoby się wykorzystać te gatunki przeciwko *Verticillium albo-atrum* w przypadku pomidorów.

Wyniki osiągnięte przy użyciu do doświadczeń *Trichoderma lignorum* można porównać z uzyskanymi przez Subba Rao, Bidwella i Bailey (1961), którzy w efekcie zupełnie innych eksperymentów stwierdzili szkodliwe działanie tego grzyba na *Verticillium albo-atrum* przy bezpośrednim kontakcie. Działo się to w przypadku zakażenia korzeni pomidorów mieszaniną obu grzybów. W efekcie tego nie doszło do zachorowania roślin. W naszych doświadczeniach zaobserwowano całkowite otoczenie kolonii *V. albo-atrum* przez *Trichoderma lignorum*, co uniemożliwiało im zupełnie dalszy rozwój.

W obrębie uzyskanych wyników na szczególną uwagę zasługuje fakt występowania zasadniczej różnicy między oddziaływaniem bezpośrednim *Trichoderma lignorum* w stosunku do grzybów patogenicznych dla pomidorów, specjalnie *Verticillium albo-atrum*, a działaniem na nie jej metabolitów zawartych w podłożu. Zaznaczył się przy tym charakter tego oddziaływania określony przez wielu badaczy (Boasalis 1956, Butler 1957 — wg Maciejowskiej 1967; Moreau i Schaeffer 1959 — wg Jacksona 1965), jako niespecyficzna forma pasożytnictwa spotykana wśród grzybów glebowych uzależniona od warunków ekologicznych. Strzępki *Trichoderma lignorum*, jak to podali Webster i Lomas (1964), przy zetknięciu się z inną napotkaną grzybnią powodują zahamowanie jej wzrostu i marnienie; natomiast zawarte w podłożu same wydzieliny *T. lignorum* wykazały znikome działanie, gdyż wg Catani i Petersena (1967) są one termolabilne i słabo rozpuszczalne w wodzie. Obserwację tę potwierdziły wyniki przedstawionej pracy.

Jackson (1965 — za Subba Rao i Bailey 1961) podał, że nie stwierdzono „in vitro” antybiozy między izolatami *Trichoderma* a *Verticillium* na podłożach nie zawierających wydzielin korzeni. W wyniku naszych doświadczeń na wszystkich zastosowanych podłożach, bez dodatku wydzielin korzeni, obserwowano takie działanie.

Może podobnie przedstawia się charakter oddziaływania *Mucor race-*

mosus na patogeniczne grzyby. Gatunek ten okazał się bardzo dynamiczny w stosunku do 4 objętych doświadczeniami patogenów, ale jedynie przy bezpośrednim zetknięciu się z nimi. Jego natomiast metabolity zawarte w podłożu hodowlanym wykazywały znikome oddziaływanie. Mimo to nie można zaprzeczyć jego roli biologicznej w warunkach naturalnych. Po prostu nie był on dotychczas znany, chociaż jest bardzo pospolity w glebie i na materiałach roślinnych.

WNIOSKI OGÓLNE

Trichoderma lignorum i *Mucor racemosus* okazały się, przy bezpośrednim kontakcie, antagonistami 4 grzybów patogenicznych dla pomidorów: *Verticillium alboatrum*, *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*, *Ascochyta lycopersici* i *Colletotrichum atramentarium*. W przypadku *Verticillium alboatrum* najpoważniejszym antagonistą okazał się *Aspergillus fumigatus*, ponieważ oddziaływał przy bezpośrednim kontakcie, jak i za pośrednictwem produktów przemiany materii zawartych w podłożu.

Produkty przemiany materii *Trichoderma lignorum* i *Mucor racemosus* zawarte w podłożu w bardzo niskim stopniu hamowały wzrost wymienionych patogenów.

Zawarte w pożywce metabolity *Aspergillus fumigatus* na ogół najefektywniej hamowały wzrost badanych patogenów, o ile podłoże hodowlane nie było poddane dezynfekcji termicznej.

Wydajność wydzielania substancji biologicznie aktywnych przez badane saprofity była w dużej mierze uzależniona od rodzaju pożywki; najlepsze efekty zahamowania wzrostu uzyskano na pożywce glukozowo-ziemniaczanej.

Przechodzące do podłoża metabolity 4 saprofitów charakteryzowało działanie dwojakie: przy wysokim stężeniu (100—75%) — hamujące, przy niższych (50—25%) — stymulujące wzrost patogenów.

Przypuszczalnie przebadane saprofity można by zastosować w praktyce w postaci zaprawy do nasion pomidorów, co wymaga jeszcze wykonania odpowiednich doświadczeń.

Katedra i Zakład Fitopatologii WSR
Wrocław

RÉSUMÉ

Les auteurs ont étudié, au laboratoire, l'action de divers champignons saprophytes sur quatre espèces parasites des tomates: *Verticillium alboatrum*, *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*, *Ascochyta lycopersici*, *Colletotrichum atramentarium*.

Trois séries d'expériences ont été effectuées avec chaque champignon. La première avait pour objet la connaissance de l'interaction directe entre les quatre parasites et les champignons saprophytes suivants: *Mucor racemosus*, *Chaetomium*

elatum, *Aspergillus flavus*, *Penicillium funiculosum*, *P. chrysogenum*, *P. oxalicum*, *P. roqueforti*, *Coniosporium arundinis*, *Trichoderma lignorum*. Ces confrontations ont été réalisées en boîtes de Pétri sur trois milieux de culture gélosés: pomme de terre glucosée, maltose, Czapek-Dox, selon trois conditions différentes. Les résultats ont été évalués après 10 jours, à l'aide de l'échelle à 7 degrés de Mank a (1961). La deuxième et la troisième série d'expériences avaient pour but de connaître l'influence des métabolites des champignons saprophytes élaborés dans le substrat sur le développement des parasites ainsi que leur stabilité aux températures extrêmes (-5°C et $+100^{\circ}\text{C}$); quatre champignons saprophytes ont été utilisés; *Mucor racemosus*, *Trichoderma lignorum*, *Penicillium chrysogenum* et *Aspergillus fumigatus*.

Les résultats obtenus peuvent se résumer comme suit:

1. Les *Trichoderma lignorum* et *Mucor racemosus* se sont révélés — en confrontations — comme antagonistes à l'égard des quatre champignons parasites des tomates: *Verticillium albo-atrum*, *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*, *Colletotrichum atramentarium* et *Ascochyta lycopersici*.

2. Dans le cas du *Verticillium albo-atrum*, c'est l'*Aspergillus fumigatus* qui s'est révélé comme l'antagoniste le plus puissant tant en confrontations mutuelles que par l'intermédiaire des dérivés de métabolisme diffusés dans le substrat.

3. Les métabolites du *Trichoderma lignorum* et du *Mucor racemosus* émis dans le substrat n'inhibent que faiblement le développement des parasites sus-mentionnés.

4. Les produits du métabolisme de l'*Aspergillus fumigatus* élaborés dans le substrat ralentissent le développement des champignons parasites étudiés surtout lorsque le substrat n'est pas soumis à une désinfection thermique.

5. Le rendement en sécrétion de substances biologiquement actives par les saprophytes étudiés dépend dans une large mesure du milieu de culture; les meilleurs effets ont été obtenus dans le cas du milieu à base de pomme de terre gélosée.

6. Les métabolites des quatre saprophytes, élaborés dans le substrat, se caractérisent par une action double: inhibante dans le cas d'une concentration élevée (75—100%), stimulante à plus faible concentration (25—50%).

7. L'enrobage des semences de tomate par les saprophytes étudiés pourrait être envisagé, mais cela exigerait encore de nombreux essais.

Poczujemy się do miłego obowiązku podziękowania na tym miejscu Panu Dr. Klaudiuszowi Moreau z Brest (Francja) za wykonanie streszczenia w języku francuskim, które uprzystępniał tę publikację szerszemu ogółowi.

LITERATURA

- Bhelwa P. W., Phillips D. V., Allison C. C., 1962, Mitigation of *Fusarium* wilt symptoms of tomato seedlings by seed inoculation with a species of *Cephalosporium*, *Phytopathology* 52:725.
- * Biłaj V. J., 1963, Antibiotic — producing microscopic fungi, *RAM.*, 1964, 43:290.
- Boosalis M. G., Mankau R., 1965, *Ekology of Soil-Borne Plant Pathogens*, Univ. Calif. Press, Berk., Los Angeles, 375—389.
- Catani S. C., Peterson J. L., 1963, Antagonistic effect of some soil fungi on *Verticillium* sp. isolated from maple trees, *Phytopathology* 53:872.

- Catani S. C., Peterson J. L., 1967, Antagonistic relations between *Verticillium dahliae* and fungi isolated from the rhizosphere of *Acer platanoides*, *Phytopathology* 57:363—366.
- Chisler J. A., Smith G. E., Menon M. R., Allison C. C., 1962, Symptom retardation of *Fusarium* wilt of tomato, *Phytopathology* 52:728.
- Florey H. W. i inn., 1949, *Antibiotics 2*, Oxford Univ. Press, London, New York, Toronto.
- Jackson R. M., 1965, *Ekology of Soil-Borne Plant Pathogens*, Univ. Calif. Press, Berk., Los Angeles, 364—369.
- Jakubczyk H., 1961, O występowaniu grzybów z rodzaju *Colletotrichum* Cda na owocach pomidorów, *Acta Agrobot.* 10 (1):29—40.
- Jakubczyk H., 1962, Z badań nad pasożytnictwem *Colletotrichum atramentarium* występującego na pomidorach. I, II, *Acta Agrobot.*, 12:208—259.
- Juraszek H., Czarnocka H., 1958, Z badań nad mikoflorą na nasionach pomidorów, *Biuletyn IOR* 2:143—148.
- Kerr A., 1961, A study of tomato root surface organisms antagonistic to *Verticillium albo-atrum*, *Trans. Brit. mycol. Soc.* 44:365—371.
- Liesau O. F., 1933, Zur Biologie von *Didymella lycopersici* dem Erreger der Tomatenkrebskrankheit. *Phyt. Zeitsch.* 5:1—40.
- Mańka K., Błońska A., Wnękowski S., 1961, Badania nad składem mikoflory kilku rodzajów gleb i jej oddziaływaniem na rozwój niektórych pasożytniczych grzybów glebowych. *Prace Nauk. IOR*, 3 (2):145—231, PWRiL.
- Miczyńska Z., Wnękowski St., 1957, *Colletotrichum atramentarium* (Bet. Br.) Taub. jako czynnik chorobotwórczy, *Postępy Nauk Roln.* 4 (46):101—111.
- *Stessel G. J., Leben C., Keitt G. W., 1953, Screening tests designed to discover antibiotics suitable for plant disease control, *RAM.*, 1954, 33:369.
- Subba Rao N. S., Bidwell R. G. S., Bailey D. L., 1961, The effect of rhizoplane fungi on the uptake and metabolism of nutrients by tomato plants, *Canad. J. Bot.* 39:1747—1758.
- Termohlen G. P., 1957, Kurkwortelverschijnnselen van tomaat veroorzaakt door een steriel mycelium. *T. Pl-ziekten* 68:369—374.
- Termohlen G. P., 1962, Onderzoekingen over kurkwortel van tomaat en over de kurkwortelschimmel, *T. Pl-ziekten* 68:295—367.
- Truszkowska W., 1964, Obserwacje choroby owoców pomidorów powodowanej przez *Geotrichum candidum* L. K. we Wrocławiu i okolicy, *Acta Agrobot.* 16:41—54.
- Truszkowska W., Pudęłkowska Z., 1966, Obserwacje niektórych chorób pomidorów występujących w szklarni i na gruncie, *Acta Mycol.* 2:183—201.
- Truszkowska W., 1967, Analiza mykologiczna nasion pomidorów, *Acta Mycol.* 3:163—176.
- Webster J., Lomas N., 1964, Does *Trichoderma viride* produce gliotoxin and viridin? *Trans. Brit. mycol. Soc.* 47:535—540.
- Youssef Y. A., 1960—61, Antagonistic action of *Penicillium chrysogenum* in the control of tomato *Fusarium* wilt, *Phyt. Zeitsch.* 40:218—220.