

## Skuteczność płynów pohodowlanych bakterii antagonistycznych w ochronie soi przed grzybami odglebowymi

**ELŻBIETA PATKOWSKA, ALINA PASTUCHA**

Katedra Fitopatologii, Akademia Rolnicza w Lublinie,  
ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, e-mail: elzbieta.patkowska@ar.lublin.pl  
Department of Phytopathology, Agricultural University of Lublin,  
Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, Poland, e-mail: elzbieta.patkowska@ar.lublin.pl

The effectiveness of post-culture liquids of antagonistic bacteria  
in the protection of soybean from soil-borne fungi

(Otrzymano: 01.03.2005)

### Summary

The objective of the paper was to determine the effectiveness of post-culture liquids of *Bacillus* sp. Bs ch 19 and *Pseudomonas* sp. Ps ch 16 in the protection of soybean from soil-borne fungi. The use of post-culture liquids of those bacteria in seed dressing positively affected the number, healthiness and yielding of soybean plants. The plants were mainly infected by *Fusarium* spp., *Phoma exigua* var. *exigua*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*. Those fungi were isolated much more rarely from the plants in combinations with the use of post-culture liquids of antagonistic bacteria as compared with the plants from the control combination, i.e. without seed dressing. A reverse relation was found for the occurrence of saprophytic fungi from the genera of *Gliocladium*, *Penicillium* and *Trichoderma*.

Key words: soybean, *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., post-culture liquids, pathogenic fungi

### WSTĘP

W ostatnich latach dużo uwagi poświęca się możliwościom wykorzystania alternatywnych metod ochrony roślin przed chorobami, a tym samym ograniczania metod chemicznych. Biologiczne zwalczanie chorób roślin polega między innymi na wykorzystaniu mikroorganizmów antagonistycznych jako komponentów biopreparatów, stosowanych do zaprawiania materiału rozmnożeniowego (Singh i Mukhopadhyay, 2000; Orlikowski i Skrzypczak, 2003). Szczególnie w uprawach

ekologicznych, ze względu na brak możliwości wykorzystania pestycydów, zaleca się biopreparaty, a ich stosowanie polega głównie na zaprawianiu przez moczenie nasion, podlewaniu lub opryskiwaniu roślin (Mazur i in., 2003; Orlikowski i Skrzypczak, 2003; Patkowska i Pięta, 2004; Sadowski i in., 2004).

Znaczną rolę w ograniczaniu występowania fitopatogenów odgrywają bakterie antagonistyczne z rodzajów *Bacillus* i *Pseudomonas* oraz grzyby antagonistyczne z rodzajów *Gliocladium* i *Trichoderma*. Do powszechnie znanych antagonistów z rodzajów *Pseudomonas* i *Bacillus* należą takie gatunki, jak *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. cepacia*, *P. aureofaciens*, *B. subtilis*, *B. mycoides*, *B. polymyxa* (Saniewska i in., 1995; Goel i in., 2000; Manwarin, 2000; Yeole i Dube, 2000; Lewosz, 2002;). Bakterie te wytwarzają różne metabolity o właściwościach fungicydalnych lub fungistatycznych. Dlatego też w ochronie przed fitopatogenami korzystnym okazać się może stosowanie nie tylko materiału mikrobiologicznego sporządzonego z komórek bakterii antagonistycznych, lecz również płynów pochodowlanych zawierających różne metabolity tych bakterii.

Skuteczność ochronnego działania komórek bakterii *Bacillus* sp. i *Pseudomonas* sp. względem grzybów chorobotwórczych dla roślin motylkowatych została określona w Katedrze Fitopatologii we wcześniejszych badaniach (Pięta i in., 1998; 2003). Nie przeprowadzone jeszcze doświadczenia nad efektywnością płynów pochodowlanych tych bakterii oraz nieliczne informacje w piśmiennictwie skłoniły autorki do podjęcia badań zasygnalizowanych w tytule.

## MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań przeprowadzonych w latach 2002–2004 na polu Gospodarstwa Doświadczalnego Czesławice k/ Nałęczowa były rośliny soi odmiany ‘Mazowia’, wyrosłe z nasion zaprawianych płynem pochodowlanym bakterii antagonistycznych *Bacillus* sp. BsCh 19 oraz *Pseudomonas* sp. PsCh 16. Zabieg zaprawiania wykonano bezpośrednio przed wysiewem nasion i polegał on na moczeniu ich przez 5 minut w płynach pochodowlanych. Dla porównania skuteczności ochronnego działania płynów pochodowlanych bakterii, zastosowano również zaprawianie nasion preparatem chemicznym Zaprawa Oxafun T (substancja aktywna: karboksyna 37,5%+ tiuram 37,5%) w ilości 2 g·kg<sup>-1</sup> nasion. Kontrolę stanowiły nasiona nie zaprawione.

Bakterie użyte w doświadczeniu wyizolowano wcześniej z uprawnego środowiska glebowego soi (Patkowska, 2003), a antagonistyczne ich oddziaływanie względem przeżywających w glebie grzybów patogenicznych dla soi określono w laboratorium (Pięta i Patkowska, 2003). Płyn pochodowlany *Bacillus* sp. BsCh 19 oraz *Pseudomonas* sp. PsCh 16 uzyskano w wyniku hodowli tych bakterii na płynnej pożywce PDB (Difco) w temp. 24°C, przez 4 dni (Saniewska i in., 1995). Każda kombinacja doświadczenia obejmowała po 4 poletka (4 powtórzenia) o powierzchni 1,25 m<sup>2</sup>, na które wysiewano po 100 nasion. W każdym roku badań dwukrotnie, tj. po sześciu tygodniach od wysiewu nasion oraz w fazie kwitnienia soi, ustalono liczbę wyrosłych roślin i oceniono

ich zdrowotność. W tym czasie rośliny z wyraźnymi objawami nekrozy na podstawie lodygi oraz na korzeniach pobierano do laboratoryjnej analizy mikologicznej, którą wykonano wg metody opisanej przez Ł a c i o w ą i P i ę t ę (1998). Po zbiorze roślin i dosuszeniu nasion określono wielkość plonu nasion oraz udział nasion z plamami.

Wyniki dotyczące liczebności, zdrowotności oraz plonowania roślin soi opracowano statystycznie, a istotność różnic określono na podstawie przedziałów ufności Tukey'a (O k t a b a , 1987).

## WYNIKI

Podczas obserwacji przeprowadzonej po sześciu tygodniach od wysiewu nasion soi zanotowano różną liczbę siewek wyrosłych na poletkach poszczególnych kombinacji doświadczenia (tab. 1). Najwięcej siewek, bo odpowiednio średnio 87,6 i 87, wyrosło na poletkach obsianych nasionami zaprawianymi Zaprawą Oxafun T i nasionami moczonymi w płynie pohodowlanym *Bacillus* sp. Bsch 19. Nieco mniej siewek (średnio 84) wyrosło z nasion moczonych w płynie pohodowlanym *Pseudomonas* sp. Psch 16. Natomiast najłabsze wschody (średnio 66,6 siewek), uzyskano w kombinacji kontrolnej, czyli bez zaprawiania nasion (tab. 1). W obrębie badanych roślin wystąpiły również siewki o zahamowanym wzroście i żółknących dolnych liściach. Udział porażonych siewek wahał się od 1,9% do 14,0% w poszczególnych latach badań. Najmniej porażonych siewek (średnio 2,2%) wyrosło z nasion moczonych w płynie pohodowlanym *Bacillus* sp. Bsch 19, a najwięcej (średnio 11,0%) z nasion nie zaprawianych (tab. 1).

Tabela 1  
Liczebność i zdrowotność siewek soi  
Table 1  
Number and healthiness of soybean seedlings

Kombinacja doświadczenia Experimental combination	Liczba siewek na poletku Number of seedlings per plot				Udział porażonych siewek na poletku (%) Percentage of infected seedlings per plot (%)			
	2002	2003	2004	średnia mean	2002	2003	2004	średnia mean
Nasiona moczone w płynie pohodowlanym <i>Bacillus</i> sp. Bsch 19 Seeds soaked in post-culture liquids of <i>Bacillus</i> sp. Bsch 19	81 <sup>b*</sup>	93 <sup>b</sup>	87 <sup>b</sup>	87,0 <sup>b</sup>	1,9 <sup>a</sup>	2,4 <sup>a</sup>	2,3 <sup>a</sup>	2,2 <sup>a</sup>
Nasiona moczone w płynie pohodowlanym <i>Pseudomonas</i> sp. Psch 16 Seeds soaked in post-culture liquids of <i>Pseudomonas</i> sp. Psch 16	77 <sup>b</sup>	91 <sup>b</sup>	84 <sup>b</sup>	84,0 <sup>b</sup>	2,5 <sup>a</sup>	4,9 <sup>b</sup>	3,8 <sup>b</sup>	3,7 <sup>b</sup>
Nasiona zaprawiane Zaprawą Oxafun T The seeds dressed with Zaprawa Oxafun T	81 <sup>b</sup>	94 <sup>b</sup>	88 <sup>b</sup>	87,6 <sup>b</sup>	2,0 <sup>a</sup>	2,6 <sup>a</sup>	2,4 <sup>a</sup>	2,3 <sup>a</sup>
Kontrola Control	54 <sup>a</sup>	79 <sup>a</sup>	67 <sup>a</sup>	66,6 <sup>a</sup>	14,0 <sup>b</sup>	7,0 <sup>c</sup>	12 <sup>c</sup>	11,0 <sup>c</sup>

\*Wartości w kolumnach różnią się istotnie ( $P \leq 0,05$ ), jeśli nie są oznaczone tą samą literą.

Values in the columns differ significantly ( $P \leq 0,05$ ), if they are not marked with the same letter.

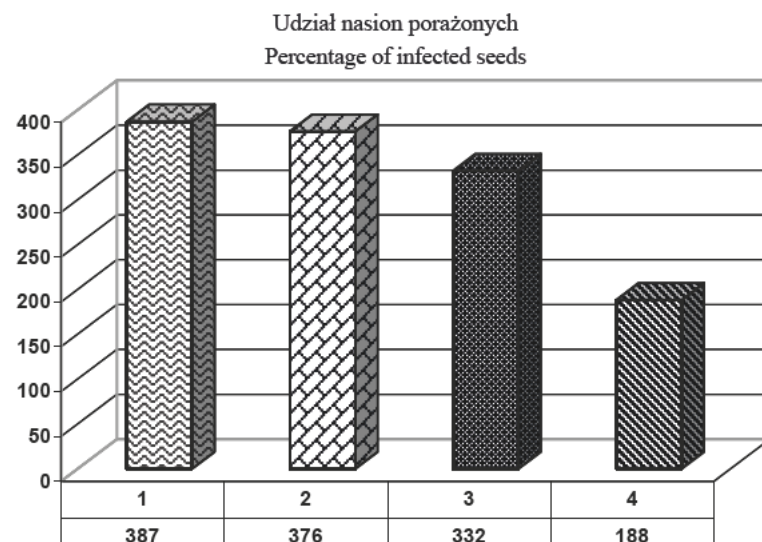
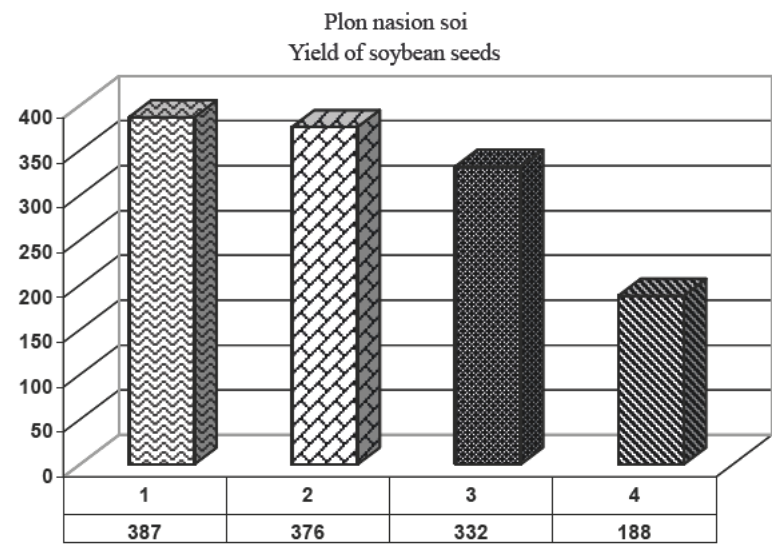
Drugą obserwację na poletkach przeprowadzono w okresie pełni kwitnienia soi. W tym czasie liczebność i zdrowotność roślin była zbliżona do wyników uzyskanych dla siewek. Zaobserwowano jedynie nieznaczny ubytek roślin na poletkach poszczególnych kombinacji doświadczenia oraz niewielki wzrost udziału roślin porażonych (tab. 2). Najwięcej porażonych roślin (średnio 15,5%) zanotowano w kombinacji kontrolnej, a najmniej (średnio po 3,5%) w kombinacjach z zaprawianiem chemicznym oraz zastosowaniem płynu pohodowlanego bakterii *Bacillus* sp. BsSch 19 (tab. 2).

Tabela 2  
Liczebność i zdrowotność roślin soi w fazie kwitnienia  
Table 2  
Number and healthiness of soybean plants at anthesis

Kombinacja doświadczenia Experimental combination	Liczba roślin na poletku Number of plants per plot				Udział porażonych roślin na poletku (%) Percentage of infected plants on the plot (%)			
	2002	2003	2004	średnia mean	2002	2003	2004	średnia mean
Nasiona moczone w płynie pohodowlanym <i>Bacillus</i> sp. BsSch 19 Seeds soaked in post-culture liquids of <i>Bacillus</i> sp. BsSch 19	78 <sup>b</sup>	91 <sup>b</sup>	83 <sup>b</sup>	84 <sup>b</sup>	3,4 <sup>a</sup>	3,5 <sup>a</sup>	3,6 <sup>a</sup>	3,5 <sup>a</sup>
Nasiona moczone w płynie pohodowlanym <i>Pseudomonas</i> sp. Psch 16 Seeds soaked in post-culture liquids of <i>Pseudomonas</i> sp. Psch 16	75 <sup>b</sup>	90 <sup>b</sup>	84 <sup>b</sup>	83 <sup>b</sup>	4,5 <sup>a</sup>	5,5 <sup>b</sup>	5,0 <sup>b</sup>	5,0 <sup>b</sup>
Nasiona zaprawiane Zaprawą Oxafun T The seeds dressed with Zaprawa Oxafun T	73 <sup>b</sup>	93 <sup>b</sup>	84 <sup>b</sup>	83,3 <sup>b</sup>	4,0 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	3,5 <sup>a</sup>	3,5 <sup>a</sup>
Kontrola Control	45 <sup>a</sup>	70 <sup>a</sup>	58 <sup>a</sup>	57,6 <sup>a</sup>	21,0 <sup>b</sup>	9,0 <sup>c</sup>	16,5 <sup>c</sup>	15,5 <sup>c</sup>

\*Wartości w kolumnach różnią się istotnie ( $P \leq 0,05$ ), jeśli nie są oznaczone tą samą literą.  
Values in the columns differ significantly ( $P \leq 0,05$ ), if they are not marked with the same letter.

Po zbiorze roślin soi określono wielkość i jakość plonu nasion. Średni plon nasion soi wahał się od 188 g do 387 g z poletka (ryc. 1). Największym plonem nasion wyróżniły się rośliny soi wyrosłe z nasion moczonych w płynach pohodowlanych bakterii *Bacillus* BsSch 19 i *Pseudomonas* sp. Psch 16 (odpowiednio 387 g i 376 g). Natomiast najmniejszy plon nasion uzyskano z roślin kombinacji kontrolnej. W zebranym plonie występowały nasiona słabo wykształcone, z brunatnymi plamami na okrywie. Najmniej takich nasion (średnio po 2,2%) było w plonie zebranym z roślin wyrosłych z nasion zaprawianych płynem pohodowlanym *Bacillus* sp. BsSch 19 oraz Zaprawą Oxafun T. Tylko niewiele większy udział porażonych nasion zanotowano w kombinacji z zastosowaniem płynu pohodowlanego *Pseudomonas* sp. Psch 16 (średnio 2,6%). Największy udział nasion z plamami (średnio 9,7%) wystąpił w kombinacji kontrolnej, czyli bez zaprawiania nasion (ryc. 1).



- 1 – nasiona moczone w płynie pochodowlanym *Bacillus* sp. Bs ch 19,  
 1 – seeds soaked in the post-culture liquids of *Bacillus* sp. Bs ch 19,  
 2 – nasiona moczone w płynie pochodowlanym *Pseudomonas* sp. Ps ch 16,  
 2 – seeds soaked in post-culture liquids of *Pseudomonas* sp. Ps ch 16,  
 3 – nasiona zaprawiane Zaprawą Oxafun T,  
 3 – seeds dressed with Zaprawa Oxafun T,  
 4 – kontrola, control

Ryc. 1. Plon nasion soi z poletka oraz udział nasion porażonych (średnia z lat 2002–2004)

Fig. 1. Yield of soybean seeds from the plot and percentage of infected seeds (mean for 2002–2004)

W wyniku analizy mikologicznej porażonych korzeni i podstawy łodygi badanych siewek uzyskano 519 izolatów grzybów (tab. 3). Spośród grzybów patogenicznych z siewek soi najczęściej wyosabniano grzyby z rodzaju *Fusarium* reprezentowane przez gatunki *F. culmorum*, *F. oxysporum* f. sp. *glycines* i *F. solani*. Ogólny udział tych grzybów stanowił 28,5% wszystkich wyosobnień. Często z analizowanego materiału roślinnego uzyskiwano także *Pythium irregulare* i *Rhizoctonia solani*. Wymienione grzyby chorobotwórcze wyosabniano znacznie rzadziej z siewek soi wyrosłych z nasion zaprawianych zarówno płynami pochodzonymi *Bacillus* sp. BsCh 19 i *Pseudomonas* sp. PsCh 16, jak i Zaprawą Oxafun T, aniżeli z nasion nie zaprawianych (tab. 3). Odwrotna zależność wystąpiła w przypadku grzybów saprotroficznych z rodzajów *Gliocladium*, *Penicillium* i *Trichoderma* (tab. 3).

Z porażonych roślin soi w fazie kwitnienia uzyskano 498 izolatów grzybów zaliczanych do 18 gatunków (tab. 4). Najczęściej wyosabnianymi gatunkami okazały się *F. oxysporum* f. sp. *glycines* (16,0%) i *F. solani* (9,2% wszystkich wyosobnień). Ponadto spośród grzybów chorobotwórczych izolowano również *F. culmorum*, *Phoma exigua* var. *exigua*, *Rhizoctonia solani* i *Sclerotinia sclerotiorum* (tab. 4).

W wyniku analizy mikologicznej nasion soi uzyskanych z poszczególnych kombinacji doświadczenia wyosobniono 412 izolatów grzybów zaliczanych do 15 rodzajów (tab. 5). Z nasion wykazujących brunatne plamy na okrywie wyosobniono ponad dwukrotnie więcej grzybów, aniżeli z nasion normalnie zabarwionych. Gatunkiem dominującym okazał się *Phomopsis sojae* (tab. 5). Spośród grzybów chorobotwórczych izolowano *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium* spp., *Phoma exigua* var. *exigua*, *Rhizoctonia solani* i *Sclerotinia sclerotiorum*. Wymienione grzyby izolowano nieco rzadziej z nasion soi w kombinacjach z zastosowaniem płynu pochodzącego *Bacillus* sp. BsCh 19 i Zaprawy Oxafun T, a najczęściej w przypadku kombinacji kontrolnej (tab. 5).

Tabela 3  
Grzyby wyizolowane z porażonych siewek soi (suma z lat 2002–2004)  
Table 3  
Fungi isolated from infected soybean seedlings (sums for 2002–2004)

Gatunek grzyba Fungus species	Kombinacja doświadczenia / Liczba izolatów Experimental combination/ Number of isolates												Ogółem Total			
	Nasiona moczone w płynie pohodowlanym <i>Bacillus</i> sp. Bsch 19 Seeds soaked in post-culture liquids of <i>Bacillus</i> sp. Bsch 19				Nasiona moczone w płynie pohodowlanym <i>Pseudomonas</i> sp. Psch 16 Seeds soaked in post-culture liquids of <i>Pseudomonas</i> sp. Psch 16				Nasiona zaprawiane Zapravą Oxafun I The seeds dressed Zaprava with Oxafun I					Kontrola Control		
	k	pl	Σ		k	pl	Σ		k	pl	Σ			k	pl	Σ
<i>Acremonium roseum</i> (Oud.) W. Gams	2	4	6	4	3	7	2	3	5	7	12	30				
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	3	2	5	2	2	4	2	5	7	6	10	32				
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	2	3				
<i>Cladosporium elatosporioides</i> (Fres) de Vries	2	3	5	3	1	4	2	2	4	3	4	7	20			
<i>Epitococcum purpurascens</i> Ehr. ex. Schl.	-	-	-	4	2	6	2	-	2	4	3	7	15			
<i>Fusarium culmorum</i> (W. G. Sm.) Sacc.	3	1	4	5	4	9	3	2	5	6	5	11	29			
<i>Fusarium oxysporum</i> Schl. f. sp. <i>glycines</i> Amst. Amst.	7	7	14	8	8	16	10	11	21	11	16	27	78			
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	5	3	8	4	5	9	5	4	9	9	6	15	41			
<i>Gliocladium catenulatum</i> Gilman et Abbott	7	5	12	6	7	13	6	2	8	-	-	33				
<i>Gliocladium fimbriatum</i> Gilman et Abbott	5	3	8	3	2	5	3	3	6	-	1	20				
<i>Humicola grisea</i> Domsch	1	2	3	-	1	1	1	2	3	5	2	7	14			
<i>Penicillium nigriticans</i> (Bain.) Thom	-	2	2	2	-	2	1	3	4	4	6	10	18			
<i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx var. <i>cyclospium</i> (West.) Samson, Stolk et Hadlok	1	3	4	3	1	4	3	2	5	4	7	11	24			
<i>Pythium irregulare</i> Buisman	4	5	9	4	2	6	3	5	8	9	14	23	46			
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	1	3	4	-	1	1	2	4	6	10	13	23	34			
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	6	8	14	5	6	11	3	1	4	-	1	30				
<i>Trichoderma koningii</i> Oud.	5	5	10	6	4	10	2	1	3	-	-	23				
<i>Trichoderma viride</i> (Link ex Pers.) Rifai	9	6	15	4	5	9	2	2	4	1	-	29				
<b>Razem Total</b>	<b>61</b>	<b>62</b>	<b>123</b>	<b>63</b>	<b>55</b>	<b>118</b>	<b>52</b>	<b>52</b>	<b>104</b>	<b>77</b>	<b>97</b>	<b>174</b>	<b>519</b>			

k – korzeń, root; pl – podstawa łodygi, stem base

Tabela 4  
Grzyby wyizolowane z porażonych roślin soi w fazie kwitnienia (suma z lat 2002–2004)  
Table 4  
Fungi isolated from infected soybean plants at anthesis (sums for 2002–2004)

Gatunek grzyba Fungus species	Kombinacja doświadczenia / Liczba izolatów Experimental combination/ Number of isolates														
	Nasiona moczone w płynie pohodowlanym <i>Bacillus</i> sp. Bsch 19 Seeds soaked in post-culture liquids of <i>Bacillus</i> sp. Bsch 19				Nasiona moczone w płynie pohodowlanym <i>Pseudomonas</i> sp. Psch 16 Seeds soaked in post-culture liquids of <i>Pseudomonas</i> sp. Psch 16				Nasiona zaprawiane Zaprawą Oxafulm T Zaprawa with Oxafulm T				Ogółem Total		
	k	pl	Σ	Σ	k	pl	Σ	Σ	k	pl	Σ	Σ	k	pl	Σ
<i>Acremonium roseum</i> (Oud.) W. Gams	3	4	7	4	4	8	8	3	3	6	6	5	6	11	32
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	4	3	7	3	4	7	-	3	5	8	8	4	4	8	30
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	1	-	1	-	-	-	-	-	1	1	1	1	3	3	5
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres) de Vries	3	3	6	4	3	7	3	3	5	8	8	5	4	9	30
<i>Epicoccum purpurascens</i> Ehr. ex. Schl.	1	-	1	2	1	3	2	2	2	4	4	3	7	7	15
<i>Fusarium culmorum</i> (W. G. Sm.) Sacc.	4	2	6	5	3	8	5	3	8	11	11	8	7	15	37
<i>Fusarium oxysporum</i> Schl. f. sp. <i>glycines</i> Amst. Amst.	7	8	15	8	8	16	7	9	16	25	25	13	20	31	80
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	6	4	10	5	6	11	5	4	9	13	13	6	10	16	46
<i>Gliocladium catenulatum</i> Gilman et Abbott	4	6	10	3	4	7	3	3	6	9	9	2	-	2	25
<i>Gliocladium fimbriatum</i> Gilman et Abbott	4	5	9	4	2	6	2	3	5	8	8	1	-	1	21
<i>Penicillium nigricans</i> (Bain.) Thom	2	3	5	2	2	4	1	2	3	5	5	3	8	11	20
<i>Phoma exigua</i> Desm. var. <i>exigua</i>	1	2	3	2	3	5	1	2	3	5	5	6	9	15	26
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	2	3	5	3	3	6	3	3	6	9	9	7	11	18	35
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary	3	2	5	4	3	7	2	3	5	8	8	7	15	22	32
<i>Torula herbarum</i> (Pers.) Link ex Fr.	1	2	3	2	1	3	2	2	4	6	6	4	2	6	16
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	4	2	6	3	3	6	-	2	2	4	4	-	-	-	14
<i>Trichoderma koningii</i> Oud.	3	3	6	4	2	6	2	2	4	6	6	1	-	1	17
<i>Trichoderma viride</i> (Link ex Pers.) Rifai	2	4	6	3	4	7	3	1	4	5	5	-	-	-	17
<b>Razem Total</b>	<b>55</b>	<b>56</b>	<b>111</b>	<b>61</b>	<b>56</b>	<b>117</b>	<b>47</b>	<b>55</b>	<b>102</b>	<b>157</b>	<b>157</b>	<b>78</b>	<b>90</b>	<b>168</b>	<b>498</b>

k – korzeń, root; pl – podstawa łodygi, stem base



Tabela 5  
Grzyby wyizolowane z nasion soi (suma z lat 2002–2004)  
Table 5  
Fungi isolated from soybean seeds (sums for 2002–2004)

Gatunek grzyba Fungus species	Kombinacja doświadczenia / Liczba izolatów Experimental combination/ Number of isolates										Ogółem Total	
	Nasiona moczone w płynie pohodowlanym <i>Bacillus</i> sp. Bsch 19 Seeds soaked in post-culture liquids of <i>Bacillus</i> sp. Bsch 19		Nasiona moczone w płynie pohodowlanym <i>Pseudomonas</i> sp. Psch 16 Seeds soaked in post-culture liquids of <i>Pseudomonas</i> sp. Psch 16		Nasiona zaprawiane Zaprawą Oxfafun T The seeds dressed Zaprawa with Oxfafun T		Kontrola Control					
	1	2	Σ	1	2	Σ	1	2	Σ	1	2	Σ
<i>Acremonium roseum</i> (Oud.) W. Gams	1	1	2	1	2	Σ	1	2	Σ	1	2	Σ
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	2	1	3	3	-	3	2	-	2	6	2	8
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	3	1	4	4	2	6	3	2	5	8	2	10
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres) de Vries	4	2	6	3	1	4	3	1	4	3	2	5
<i>Fusarium culmorum</i> (W. G. Sm.) Sacc.	3	2	5	4	2	6	4	2	6	8	1	9
<i>Fusarium oxysporum</i> Schl.	6	3	9	5	3	8	5	3	8	12	4	16
<i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb.	5	2	7	6	3	9	5	2	7	6	4	10
<i>Gliocladium fimbriatum</i> Gilman et Abbott	3	2	5	2	1	3	2	2	4	2	-	2
<i>Humicola grisea</i> Domsch	3	1	4	-	-	-	3	-	3	5	-	5
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	-	-	-	3	1	4	2	1	3	3	2	5
<i>Penicillium expansum</i> Link ex S. F. Gray	-	-	-	2	1	3	2	-	2	4	1	5
<i>Phoma exigua</i> Desm. var. <i>exigua</i>	5	2	7	6	3	9	5	1	6	6	4	10
<i>Phomopsis sojae</i> Lehman	6	3	9	7	4	11	5	2	7	14	6	20
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	3	1	4	4	2	6	3	2	5	8	5	13
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg	2	1	3	3	1	4	1	-	1	3	2	5
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary	5	3	8	6	3	9	5	3	8	10	6	16
<i>Trichoderma hamatum</i> (Bonord.) Bain	4	2	6	2	1	3	2	2	4	-	-	4
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	5	1	6	4	2	6	4	2	6	2	-	2
<b>Razem Total</b>	<b>60</b>	<b>28</b>	<b>88</b>	<b>66</b>	<b>31</b>	<b>97</b>	<b>57</b>	<b>26</b>	<b>83</b>	<b>102</b>	<b>42</b>	<b>144</b>

1 – nasiona z plamami, seeds with spots; 2 – nasiona bez plam, seeds without spots

## DYSKUSJA

Przeprowadzone badania potwierdziły dotychczasowe informacje o korzystnym wpływie mikroorganizmów antagonistycznych, w tym bakterii *Bacillus* sp. i *Pseudomonas* sp., na ograniczenie porażenia roślin przez grzyby chorobotwórcze (M a n w a r i in., 2000; D e i in., 2003; P a t k o w s k a , 2003; P i ę t a i in., 2003; P i ę t a i P a t k o w s k a , 2003). Zastosowane w doświadczeniu płyny pochodzące z bakterii antagonistycznych wpłynęły korzystnie na wschody, zdrowotność i plonowanie soi. Ponadto skutecznie chroniły rośliny przed porażeniem przez grzyby patogeniczne przeżywające w glebie. Jak podają S o b i c z e w s k i (2000) oraz F i d d m a n i in. (2000) z punktu widzenia ochrony, największe znaczenie mają bakterie stymulujące wzrost i plonowanie roślin, bakterie indukujące odporność roślin na choroby oraz bakterie działające antagonistycznie względem patogenów roślin poprzez antybiozę, konkurencję lub pasożytnictwo. Takimi właściwościami charakteryzują się właśnie bakterie z rodzajów *Bacillus* i *Pseudomonas*, których izolaty użyto w prezentowanych badaniach.

Duża efektywność ochronnego działania zastosowanych w doświadczeniu *Bacillus* sp. Bsch 19 i *Pseudomonas* sp. Psch 16 oparta była zapewne na działaniu metabolitów zawartych w płynach pochodzących z tych bakterii, a użytych do zaprawiania nasion. Wymienione mikroorganizmy antagonistyczne wydzielają takie metabolity ograniczające wzrost i rozwój fitopatogenów, jak: związki kompleksujące żelazo (siderofory), antybiotyki, substancje indukujące odporność roślin (kwas salicylowy i antranilowy), enzymy degradujące składniki ścian komórkowych grzybów (glukanazy, endochitynazy) i substancje hormonalne (M a n w a r i in., 2000; Y e o l e i D u b e , 2000; L e w o s z , 2002; S o b i c z e w s k i , 2002;).

Prezentowane badania potwierdzają fakt, że zastosowanie płynów pochodzących z drobnoustrojów antagonistycznych do zaprawiania nasion, zabezpiecza kiełki oraz korzenie roślin przed fitopatogenami. Moczenie nasion soczewicy w filtratach pochodzących z *P. fluorescens* ograniczyło porażenie roślin przez *F. oxysporum* f. sp. *lentis* (D e i in., 2003). Badania prowadzone przez B a b u i in. (2000) wykazały, że opryskiwanie roślin pomidorów płynami pochodzącymi z *P. fluorescens* redukowało objawy alternariozy na liściach od 15% do 38%. Natomiast w warunkach *in vitro* filtry pochodzące z *Bacillus subtilis* B-903 powodowały deformację strzępek i zarodników oraz dezintegrację ścian komórkowych *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* (J i a n i in., 1999). Ponadto kultury bakterii *Bacillus polymyxa* lub filtrat tej bakterii skutecznie ograniczały rozwój czerwonej plamistości na *Hippeastrum* i *Hymenocallis*, w wyniku zahamowania wzrostu strzępek grzybni *Phoma narcissi* (S a n i e w s k a , 2000). Badania *in vitro* wykazały również, że bakteria ta była antagonistyczna dla innych gatunków grzybów patogenicznych roślin ozdobnych (S a n i e w s k a , 2000).

Przykłady biologicznego zwalczania chorób roślin oraz wyniki prezentowanych badań wskazują na możliwość stosowania, zarówno materiału mikrobiologicznego *Bacillus* sp. Bsch 19 i *Pseudomonas* sp. Psch 16, jak i ich płynów pochodzących, do ochrony roślin soi przed grzybami odglebowymi, jako alternatywną metodę w stosunku do ochrony chemicznej.

## LITERATURA

- Babu S., Seetharaman K., Nandakumar R., Johnson I., 2000. Biocontrol efficacy of *Pseudomonas fluorescens* against *Alternaria solani* and tomato leaf blight disease. *Ann. Plant Prot. Sci.*, 8, 2: 252–254.
- De R.K., Dwivedi R.P., Narain U., 2003. Biological control of lentil wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. *Ann. Plant Prot. Sci.*, 11, 1: 46–52.
- Fiddman P.J., O'Neill T.M., Rossall S., 2000. Screening of bacteria for the suppression of *Botrytis cinerea* on lettuce (*Lactuca sativa*) using leaf disc bioassays. *Ann. App. Biol.*, 137, 3: 223–235.
- Goel A.K., Sindhu S.S., Dadarwal K.R., 2000. Pigment diverse mutant of *Pseudomonas* sp. inhibition of fungal growth and stimulation of growth of *Cicer arietinum*. *Biol. Planet.*, 43, 4: 563–569.
- Jian K., Wen Xi W., Bai Ge Z., Xiao Cheng S., 1999. Studies on *Bacillus subtilis* B-903 strain. Inhibitory action and control effect on plant pathogenic fungi. *Chinese J. Biol. Control* 15, 4: 157–161.
- Lewosz J., 2002. Wykorzystanie mikroorganizmów antagonistycznych wobec patogenów roślin w ochronie roślin. *Mat. XLII Sesji Nauk. IOR, Poznań*: pp 35.
- Łacicowa B., Pięta D., 1998. Evaluation of spring barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties in the field infested with pathogens of the stem and root diseases. *Ann. Agric. Sci.*, s. E, 27, ½: 17–25.
- Manwar A.V., Vaiganker P.D., Bhonge L.S., Chincholkar S.B., 2000. *In vitro* suppression of plant pathogens by siderophores of fluorescent *Pseudomonas*. *Indian J. Microbiol.*, 40, 2: 109–112.
- Mazur S., Szczeponek A., Nawrocki J., 2003. Effectiveness of chitosan applications in the control of some pathogens on cultivated plants. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives*. Ed. By H. Struszczyk, *Monograph* 9: 93–100.
- Oktaba W., 1987. *Metody statystyki matematycznej w doświadczeniach*. PWN, Warszawa: 449 pp.
- Orlikowski L.B., Skrzypczak C., 2003. Biocides in the control of soil-borne and leaf pathogens. *Hortic. Veget. Grow.*, 22, 3: 426–433.
- Patkowska E., 2003. The protective effect of antagonistic microorganisms in limiting the occurrence of certain pathogenic soil-borne fungi. *Acta Agrophys.*, 1, 1: 139–144.
- Patkowska E., Pięta D., 2004. Introductory studies on the use of biopreparations and organic compounds for seed dressing of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Folia Univ. Agric. Stetin.*, 239, *Agric.*, 95: 295–300.
- Pięta D., Pastucha A., Patkowska E., 1998. The efficiency of microbiological dressing of soybean seed (*Glycine max* (L.) Merrill) against root and stem base disease. *Ann. Agric. Sci., Ser. E Plant. Prot.*, 27, ½: 103–109.
- Pięta D., Patkowska E., 2003. The role of antagonistic fungi and bacteria limiting the occurrence of some phytopathogens inhabiting the soybean soil environment. *EJPAU, Horticulture*, Vol. 6, Issue 2. <http://www.ejpau.media.pl/series/volume/issue2/horticulture/art-04.html>

- Pięta D., Patkowska E., Pastucha A., 2003. Antagonistic microorganisms and chitosan in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protection from disease. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Sect. EEE Hort., vol. XII: 109–118.
- Sadowski Cz., Domoradzki M., Lenc L., Korpala W., Weiner W. 2004. Badania nad możliwością stosowania biopreparatu Trichodex do otoczkowania nasion warzyw ekologicznych. M. Mańka, Z. Weber (eds.), Choroby roślin na tle środowiska, PTFit., Poznań: pp. 201.
- Saniowska A. 2000. Antagonistyczny wpływ *Bacillus polymyxa* na wzrost i rozwój patogenów roślin ozdobnych. Ochr. Rośl., 7: 39–41.
- Saniowska A., Orlikowski L.B., Sobiczewski P., 1995. Effectiveness of *Bacillus* sp. in the control of *Phytophthora cryptogea* Pethybr. et Laff. M. Mańka (ed.), Environmental biotic factors in integrated plant disease control, Polish Phytopathol. Soc., Poznań: 479–184.
- Singh G., Mukhopadhyay A.N., 2000. Biocontrol potential of mutants of *Gliocladium virens* for wilt complex of lentil. Legume Research 23, 2: 133-135.
- Sobiczewski P., 2000. Bakterie w służbie ochrony roślin przed chorobami. Ochr. Rośl., 7: 41–43.
- Sobiczewski P., 2002. Biocontrol agents, resistance inducers and genetic engineering for protection of apple and pear against fire blight (*Erwinia amylovora*). Book of Abstracts of the 6<sup>th</sup> Conf. of EFPP “Disease resistance in plant pathology”, September 8-14, 2002, Prague, Czech. Republic: pp. 44.
- Yeole R.D., Dube H.C., 2000. Siderophore-mediated antibiosis of rhizobacterial fluorescent pseudomonads against certain soil-borne fungal plant pathogens. J. Mycol. Plant Pathol., 30, 3: 335–338.

## Streszczenie

Celem pracy było określenie skuteczności płynów pochodzących z *Bacillus* sp. Bsch 19 oraz *Pseudomonas* sp. Psch 16 w ochronie soi przed grzybami odglebowymi. Zastosowanie płynów pochodzących z tych bakterii do zaprawiania nasion wpłynęło korzystnie na liczebność, zdrowotność i plonowanie roślin soi. Rośliny porażone były głównie przez *Fusarium* spp., *Phoma exigua* var. *exigua*, *Rhizoctonia solani* i *Sclerotinia sclerotiorum*. Grzyby te wyosabniano znacznie rzadziej z roślin w kombinacjach z zastosowaniem płynów pochodzących z bakterii antagonistycznych, aniżeli z roślin w kombinacji kontrolnej, tj. bez zaprawiania nasion. Odwrotną zależność stwierdzono w przypadku występowania grzybów saprotroficznych z rodzajów *Gliocladium*, *Penicillium* i *Trichoderma*.