

LESZEK ORLIKOWSKI

Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach

MECHANIZM OPORNOŚCI GLEB NA FORMY SPECJALNE
FUSARIUM OXYSPORUM

W artykule opublikowanym na łamach Postępów Nauk Rolniczych [25] przedstawiłem niektóre aspekty ewentualnego wykorzystania właściwości, jakie daje natura w ochronie roślin przed formami specjalnymi *Fusarium oxysporum*. Już od prawie stu lat wiadomo [9], że istnieją gleby, na których uprawiane rośliny nie chorują mimo obecności czynnika chorobotwórczego w środowisku. Gleby takie określa się jako „oporne”, w odróżnieniu od „podatnych”. Badania Alabouvette i wsp. [1], wykazały, że „aktywność gleby” jest ograniczona i skierowana w stosunku do określonego czynnika chorobotwórczego lub grupy tych czynników powodujących określoną chorobę. W badaniach autorów, gleba znana pod nazwą Chateaufort była oporna na różne formy specjalne *Fusarium oxysporum* (*cucumerinum*, *dianthi*, *lini*, *lycopersici*, *melonis* rasa 1 i 2, *raphani*).

Dlaczego tyle uwagi poświęca się obecnie opracowaniu sposobów biologicznego zwalczania fuzariozy naczyniowej roślin? Przyczyn jest kilka i oto ich krótka charakterystyka.

Fuzarioza naczyniowa wywoływana przez formy specjalne grzyba *F. oxysporum* stanowi ciągle bardzo poważny problem ekonomiczny w uprawie roślin ozdobnych, warzywnych, a także innych upraw. Przykładem może być fuzarioza naczyniowa goździka, która pojawiła się w Polsce w latach 70-tych. Straty z powodu wypadania roślin dochodziły (i jest to nadal duży problem) do 50% [23]. We Francji, w rejonie Lazurowego Wybrzeża, gdzie uprawiano bardzo dużo goździków, w ciągu kilku lat powierzchnia zajęta pod tę roślinę spadała około 5-krotnie. Główną tego przyczyną była również fuzarioza naczyniowa.

Stosowanie fungicydów benzimidazolowych lub iprodionu profilaktycznie lub po wystąpieniu objawów chorobowych w nasadzeniach jest kosztowne i na ogół mało skuteczne [24]. Efektywność zabiegu wiąże się z podwyższoną dawką preparatu oraz rodzajem podłoża [24]. Wszędzie tam, gdzie w uprawie stosuje się substrat korowy, torf lub ich mieszanki z innymi komponentami, fungicydy benzimidazolowe wykazują na ogół niższą skuteczność.

Parowanie podłoża eliminuje grzyba ze środowiska tylko wtedy, gdy uprawę prowadzi się na betonowych parapetach lub w pojemnikach. Zabieg ten jest jednak bardzo kosztowny i musi być bardzo dokładnie przeprowadzony [42].

Fumigacja podłoża lub gleby eliminuje tylko częściowo czynnik chorobotwórczy. Grzyb pozostaje zawsze w warstwie poniżej 30 cm, która penetrowana jest przez system korzeniowy roślin i gdzie często dochodzi do zakażenia [42].

Wymiana podłoża w szklarniach i tunelach foliowych jest zabiegiem kosztownym i musi być prowadzona w warunkach nie pozwalających na zakażenie nowego substratu lub ziemi.

Przy uwzględnieniu wymienionych już czynników w ochronie roślin przed fuzariozą naczyniową trzeba liczyć się z możliwością zakażenia roślin lub podłoża przez zarodniki *F. oxysporum* znajdujące się w wodzie lub przenoszone z prądami powietrza i przez owady [42].

Mimo obiecujących wyników badań nad biologiczną ochroną roślin przed fuzariozą naczyniową problem ten nie jest wcale taki łatwy do rozwiązania. Większość dotychczasowych doświadczeń prowadzono w laboratoriach, natomiast w warunkach praktycznych ograniczono się tylko do kilku miesięcy uprawy roślin, nie obejmując całego cyklu produkcyjnego. W dotychczasowych pracach nad możliwością biologicznego zwalczania form specjalnych *F. oxysporum* oraz innych czynników chorobotwórczych najbardziej konsekwentni są badacze francuscy. O dużej randze tego problemu może świadczyć fakt, że 24 Zjazd francuskiego Towarzystwa Fitoopatologicznego w 1983 roku poświęcono tylko mikroorganizmom antagonistycznym, ich oddziaływaniu na czynniki chorobotwórcze oraz wykorzystaniu ich w ochronie roślin. Otwierający ten Zjazd dr Ponchet [28] powiedział między innymi, że po serii badań laboratoryjnych stanowiących pierwsze rozpoznanie problemu, przyszedł już czas na prowadzenie tych badań *in vivo*. Trzeba (stwierdził autor) przeprowadzić rozpoznanie nad rolą tych mikroorganizmów antagonistycznych w środowisku, ich ekologii, współzależności zachodzących pomiędzy nimi a czynnikami chorobotwórczymi.

Już w 1980 roku Louvet [18] rozważając czynniki, które mają wpływ na oporność gleby podkreślił, że najważniejsze są mikroorganizmy, które stanowią barierę mikrobiologiczną uniemożliwiającą rozwój patogenów glebowych lub przynajmniej hamują ich rozprzestrzenianie. Zniszczenie tej bariery poprzez parowanie lub dezynfekcję chemiczną prowadzi do wyeliminowania oporności. Stąd też w przyszłościowych metodach ochrony roślin przed patogenami glebowymi należy traktować podłoże jako twór żywy, bardzo aktywny, w którym toczy się nieustająca walka o źródło energii. Stwierdzenie Louvet [18] nie jest nowe i od szeregu lat jest

ono również podkreślane przez szereg polskich fitopatologów. Jednakże Louvet, będący kierownikiem laboratorium badań nad glebą, już od kilku lat kierował badaniami nad czynnikami powodującymi oporność gleby Chateaurenard na *F. oxysporum* f. sp. *melonis*. Zarówno pracownicy laboratorium w Dijon jak również Couteaudier i wsp. [10, 17], Racine [29], Pionnat i Tramier [27], Tebibel [36], Tramier i wsp. [37, 38] uważają, że grzyby antagonistyczne są główną przyczyną oporności gleb na formy specjalne *F. oxysporum*.

Występowanie grzybów antagonistycznych dla form specjalnych *F. oxysporum* w glebach opornych

Rouxel i wsp. [30] po wykonaniu analizy mikologicznej gleby Chateaurenard stwierdzili w niej dużą liczbę grzybów z rodzaju *Aspergillus*, a następnie *Fusarium solani*, *F. roseum* i *F. oxysporum*. W dalszych badaniach Rouxel i wsp. [31] wprowadzali poszczególne rodzaje lub gatunki grzybów wyosobnionych z gleby odpornej do tejże gleby po jej parowaniu i zakażeniu przez *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (100°C przez 30 minut) i określali wpływ tej mikoflory na zdrowotność melonów. Wśród grzybów, których obecność w środowisku powodowała hamowanie rozwoju czynnika chorobotwórczego znalazły się w kolejności od najmniej do najbardziej aktywnych *Aspergillus* nr 2, *Pythium*, *Trichoderma*, *Myrothecium*, *Cephalosporium*, *Aspergillus* nr 1, *Fusarium roseum* var. *gibbosum*, *F. solani* i *F. oxysporum*. Przy wprowadzeniu *F. oxysporum* do gleby parowanej, zainokulowanej *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, około 75% roślin nie wykazywało żadnych objawów chorobowych. W następnym doświadczeniu, autorzy wprowadzali do ziemi parowanej zainokulowanej przez czynnik chorobotwórczy kilka różnych gatunków grzybów antagonistycznych. Przy wprowadzeniu *F. oxysporum* lub *F. solani* uzyskano podobne, bardzo dobre wyniki jak przy dodaniu równocześnie *F. oxysporum*, *F. solani* i innych grzybów wyłączając *F. roseum*. Wprowadzenie *F. oxysporum* do parowanej gleby ale podatnej na *F. oxysporum* f. sp. *melonis* zahamowało rozwój choroby na melonach w około 25% (w glebie odpornej 75—100%). Grzyb *F. solani* dodany do parowanej gleby podatnej okazał się nieskuteczny [31].

O tym jak, duże znaczenie mają grzyby z rodzaju *Fusarium* w mechanizmie oporności gleb na formy specjalne *F. oxysporum* świadczy stwierdzenie Couteaudier i wsp. [11]. Zdrowotność roślin uzależniona jest od stosunku ilościowego populacji czynnika chorobotwórczego do liczebności innych gatunków z rodzaju *Fusarium*. Rodzi się pytanie, czy rzeczywiście tylko gatunki z rodzaju *Fusarium* są antagonistami dla form

specjalnych tego grzyba powodujących fuzariozy naczyniowe? Tramier [37] wraz ze współpracownikami znaleźli kilka różnych gleb lub substratów charakteryzujących się opornością na tego grzyba. Skład fizykochemiczny tych gleb jest bardzo różny. Wśród nich znajdują się gleby o wysokiej zawartości części spławialnych i wysokim pH oraz piasek z drobnymi kamieniami wydobywany z dna rzeki o nazwie „Sablé du Var”. Po wstępnych badaniach laboratoryjnych właściwości antagonisticznych flory grzybowej uzyskanej z tych podłoży, do dalszych badań szklarniowych wybrano gatunki z rodzajów *Fusarium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Penicillium*, *Paecilomyces* i *Chaetomella* [27, 36, 37]. Dodatek *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp. oraz innych gatunków grzybów zarodnikujących do perlitu, torfu lub piasku spowodowało bardzo silne ograniczenie występowania objawów fuzariozy. Spośród testowanych grzybów antagonistycznych najlepsze efekty uzyskano dodając do perlitu gatunek *F. roseum*. Dobre efekty uzyskano również stosując jako grzyb antagonistyczny *Trichoderma hamatum* [27, 37]. W dalszych badaniach prowadzonych przez Tramier [39] oraz Tramier i wsp. [40] jako grzyb antagonistyczny wykorzystywano gatunek *F. oxysporum* (izolaty TF₂ i TF₃) wyosobniony z gleby odpornej na *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*. Ich skuteczność była wyższa aniżeli przy zastosowaniu *F. roseum*.

W badaniach polowych na uwagę zasługują wyniki uzyskane przez Schneidera [34]. Na polu, gdzie selery masowo zółkły, autor obserwował występowanie niewielkich powierzchni z zupełnie zdrowymi roślinami pozostającymi w tym stanie aż do zbioru. Analiza mykologiczna gleby odpornej i podatnej wykazała podobną liczebność populacji *F. oxysporum* f. sp. *apii*. Ze zdrowych korzeni selerów autor wyosobnił izolaty *F. oxysporum*, które następnie analizował pod kątem ich wpływu na zdrowotność roślin, w obecności czynnika chorobotwórczego. Dodatek 1 g inokulum *F. oxysporum* na 1 kg powodował około 3-krotne zmniejszenie natężenia choroby.

Mechanizm działania antagonistycznych grzybów z rodzaju Fusarium na czynnik chorobotwórczy

Z dotychczas zaprezentowanych danych wynika, że głównymi antagonistami form specjalnych *F. oxysporum* w glebach opornych są gatunki saprofityczne *F. oxysporum*, *F. solani* i ewentualnie *F. roseum*. Rouxel i wsp. [31] wprowadzali do parowanej gleby odpornej lub podatnej na *F. oxysporum* f. sp. *melonis* różne ilości chlamydospor *F. solani*, a następnie po 3,5 miesiącach badali liczebność jego populacji. Okazało się, że

w glebie odpornej liczebność gatunku antagonistycznego była bardzo wysoka (tab. 1).

Tabela 1

*Liczba jednostek propagacyjnych Fusarium solani ($\times 10^3/g$ gleby);
wg Rouxel i wsp. [31]*

Populacja inicjalna		0,1	1	2	3	5
Populacja	gleba oporna	13	10	54	49	68
po 3,5 miesiącach	gleba podatna	5	7	6	3	10

Przy wprowadzeniu 2000 chlamydospor *F. solani* na 1 g gleby odpornej, po 3,5 miesiącach populacja wzrosła 27-krotnie, natomiast w glebie podatnej tylko 3-krotnie. Wprowadzenie różnej ilości inokulum *F. solani* (od 2000 do 5000 chlamydospor na 1 g) do gleby odpornej zainokulowanej przez *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, nie miało wpływu na wzrost czy spadek liczby zdrowych roślin. Zdrowotność ta utrzymywała się w granicach 80%. Przy tej samej ilości inokulum *F. solani* dodanego do gleby podatnej stwierdzono około 33% zdrowych roślin (w kontroli tylko 10%). Te różnice w zdrowotności roślin uprawianych w 2 glebach były spowodowane zróżnicowaniem populacji czynnika antagonistycznego (tab. 1). Rouxel i wsp. [31] uważają, że oporność gleby to nie tylko obecność w niej określonych mikroorganizmów ale również jej właściwości uniemożliwiające rozwój gatunków patogenicznych. Jakiego typu są to właściwości i jak wpływają one na gatunki antagonistyczne i patogeniczne? Gleba oporna Chateaufrenard charakteryzuje się bardzo wysokim pH (8,1) oraz dużą ilością części spławialnych Louvet i wsp. [17]. Jednakże Tramier i wsp. [37] obok gleb bogatych w części spławialne i o wysokim pH za podłoże odporne uważają również piasek rzeczny stosowany do prac murarskich. Zawartość makro- i mikroelementów w glebie może być ściśle kontrolowana i nie wpływa istotnie na oporność. Schneider [34] uważa, że ta współzależność jaka zachodzi w glebie pomiędzy *F. oxysporum* a czynnikiem chorobotwórczym jest ciągle niewiadomą czekającą na rozwiązanie. Jednakże autor rozważa wpływ czynników środowiska i fizjologicznych właściwości „współpartnerów” we wzajemnym oddziaływaniu w glebie. Dotychczasowe badania przeprowadzone przez pracowników laboratorium w Dijon we Francji ukierunkowane są na wyjaśnienie tej współzależności. W 1980 roku Alabouvette i wsp. [1, 2] opublikowali pracę dotyczącą kiełkowania chlamydospor i mikrokonidiów w glebie odpornej i podatnej na *F. oxysporum* f. sp. *melonis*. W glebie odpornej, po 24—72 godzinach kiełkowało poniżej 5% chlamydospor czynnika cho-

robotwórczego, a po 144 godzinach praktycznie nie obserwowano tego procesu. W glebie podatnej kiełkowało ponad 30% chlamydospor po 24—48 godzinach, a po upływie 144 godzin jeszcze około 5%. Autorzy stwierdzili również różnice w długości strzępek kiełkowych mierzonych po 24 godzinach. Były one ponad 2-krotnie dłuższe przy kiełkowaniu chlamydospor w glebie podatnej na czynnik chorobotwórczy. Znaczne różnice w kiełkowaniu chlamydospor w obu badanych glebach stwierdzili autorzy również i wśród innych 7 analizowanych form specjalnych *F. oxysporum*. Stwierdzono ponadto, że gleba oporna hamowała kiełkowanie saprofitycznych izolatów *F. oxysporum* i *F. solani* wyosobnionych z obu typów gleb. Parowanie gleby odpornej (100°C przez 30 min.) lub dodatek glukozy powodował wyeliminowanie czynnika hamującego kiełkowanie chlamydospor grzyba chorobotwórczego.

Przy badaniach nad kiełkowaniem mikrokonidiów w obu typach gleb, różnice te były niewielkie. Można więc przyjąć, że mikrokonidia *F. solani* nie reagują przy kiełkowaniu na czynnik lub ich grupę oddziałujących inhibicyjnie na chlamydospory.

Mikroflora korzeni roślin uprawianych w glebach odpornej i podatnej

Mimo wielu przeprowadzonych badań, nie można odpowiedzieć ściśle na pytanie dotyczące natury oporności gleby. Alabouvette i wsp. [4] wprowadzając do gleb odpornej i podatnej taką samą liczbę jednostek infekcyjnych *F. oxysporum* f. sp. *melonis* stwierdzili, że przy braku rośliny żywicielskiej populacja czynnika chorobotwórczego w obu środowiskach była podobna. Wynika z tego, że w glebie odpornej nie występuje mechanizm biologicznej aktywności uniemożliwiający zasiedlenie tego środowiska przez *F. oxysporum* f. sp. *melonis*. Alabouvette i wsp. [5] sformułowali więc hipotezę, że istnieje bardzo duże współzawodnictwo pomiędzy gatunkami saprofitycznymi z rodzaju *Fusarium*, a czynnikiem chorobotwórczym w glebie odpornej w zasiedlaniu korzeni rośliny żywicielskiej. Ta konkurencja uniemożliwia lub w bardzo dużym stopniu ogranicza infekcję korzeni przez *F. oxysporum* f. sp. *melonis*. Po przeprowadzeniu badań cytowani autorzy stwierdzili że:

a) system korzeniowy melonów uprawianych w obu typach gleb zasiedlany był przez podobne gatunki i rodzaje grzybów,

b) grzyby z rodzaju *Fusarium* stanowiły najliczniejszą grupę izolowanych mikroorganizmów (w tym głównie *F. oxysporum*),

c) z melonów rosnących w glebie odpornej, grzyby z rodzaju *Fusarium*

izolowano z 82% fragmentów korzeni, natomiast z gleby podatnej tylko z 58% korzeni,

d) grzyby z rodzaju *Fusarium* stanowiły 30% mikoflory gleby odpornej, 64% mikoflory powierzchni korzeni i 31% grzybów penetrujących korzenie. W glebie podatnej, *Fusarium spp.* stanowiły 2% całej mikoflory ale 57% całości grzybów wyizolowanych z powierzchni korzeni i 51% penetrujących tkanki korzeni. Jednakże w glebie odpornej stwierdzono 10600 jednostek propagacyjnych *Fusarium spp.* (w tym 1200 *F. oxysporum*) a w podatnej tylko 260 (w tym 180 *F. oxysporum*).

Realizując badania nad zasiedleniem korzeni melonów przez *Fusarium spp.*, Alabouvette i wsp. [5] wprowadzili również do obu gleb *F. oxysporum f. sp. melonis* (200 i 2000 jednostek infekcyjnych na 1 g gleby). Po 3 tygodniach autorzy przeprowadzili analizę mikologiczną korzeni. Stwierdzili, że korzenie były znacznie częściej zasiedlane przez czynnik chorobotwórczy w glebie podatnej aniżeli w glebie odpornej.

Współzawodnictwo grzybów z rodzaju *Fusarium* w wykorzystywaniu źródła energii w glebach podatnej i odpornej

Cytowany już wielokrotnie zespół autorów [6] sformułował hipotezę, że oporność gleby jest głównie wynikiem współzawodnictwa mikroorganizmów saprofitycznych (w tym głównie *F. oxysporum* i *F. solani*) i czynnika chorobotwórczego w zdobywaniu źródła energii. Aby sprawdzić tę hipotezę Alabouvette i wsp. [6] badali wpływ dodatku glukozy (jako źródła energii) do gleb odpornej i podatnej na kiełkowanie chlamydospor i liczebność populacji izolatów *F. oxysporum* i *F. solani*. Autorzy wprowadzili 0,1, 0,5 i 1 mg glikozy na 1 g gleby. Po 24 godzinach obserwowali kiełkowanie chlamydospor oraz wykonali pomiary długości strzępek kiełkowych. Mając procentową liczbę kiełkujących zarodników pomnożoną przez średnią długość strzępek kiełkowych obliczyli teoretyczny indeks kolonizacji korzeni przez badane grzyby. Stwierdzili, że zwiększenie stężenia glukozy w glebie powoduje stymulację kiełkowania chlamydospor przy czym w środowisku podatnym proces ten był o wiele intensywniejszy aniżeli w glebie odpornej. Dla przykładu, chlamydospory *F. oxysporum f. sp. dianthi* i *F. oxysporum*, izolat 50 kiełkowały podobnie dopiero przy dodatku 1 mg glukozy na 1 g gleby. Porównanie indeksu kolonizacji wskazuje na jego znacznie wyższą wartość dla gleby podatnej. W większości przypadków był on około 2-krotnie wyższy przy wprowadzeniu do obu środowisk po 1 mg glukozy na 1 g ziemi.

Przeprowadzono również ocenę wpływu różnej ilości glukozy na liczebność populacji *F. oxysporum*, *F. oxysporum f. sp. melonis*, *F. roseum*

i *F. solani* w obu glebach. Zwiększenie dawki glukozy powodowało wzrost liczebności grzybów. Wzrost procentowy w porównaniu do liczebności populacji w glebach bez dodatku glukozy był jednak zawsze wyższy lub znacznie wyższy w glebie podatnej. Dla przykładu, w glebie odpornej przy 0,1 mg glukozy, populacja *F. oxysporum* f. sp. *melonis* wzrosła o 93% a przy 1 mg o 168%. Dla gleby podatnej uzyskane dane wynosiły odpowiednio 357% (0,1 mg) i 847% (1 mg). Wskazuje to, że w glebie odpornej fungistaza jest znacznie intensywniejsza aniżeli w podatnej, a dostarczone źródło energii nie jest wystarczające do stymulowania kiełkowania każdej jednostki propagacyjnej *Fusarium* spp. zasiedlającej środowisko.

Dla sprawdzenia intensywności procesów biologicznych w obu glebach wzbogaconych glukozą, Alabouvette i wsp. [7] badali ilość wydzielającego się dwutlenku węgla. Uzyskane dane przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2

Intensywność oddychania (ilość CO₂ w g/godz.) w glebach odpornej i podatnej wzbogaconych glukozą

Gleba	Ilość glukozy w mg/g gleby		
	0,1	0,5	1
Oporna	29	94	120
Podatna	14	24	40

Uzyskane wyniki wskazują, że proces oddychania przebiegał znacznie intensywniej w glebie odpornej i wzrastał przy zwiększonej ilości glukozy. Świadczy to o większej liczebności mikroorganizmów (biomasy) w glebie odpornej. Pomiarzy przebiegu procesu oddychania w obu glebach w różnym czasie wykazały, że w środowisku opornym aktywność mikroorganizmów rozpoczynała się bezpośrednio po dodaniu glukozy. Jednakże po 12 godzinach proces oddychania gwałtownie się obniżał i utrzymywał się następnie na ustabilizowanym, niskim poziomie. W glebie podatnej proces ten wzrastał powoli ale poziom jego był jeszcze wysoki po 60 godzinach od wprowadzenia 1 mg glukozy/g. Dane te wskazują, że w glebie odpornej chlamydospory *Fusarium* spp. mają znacznie mniej czasu na wykorzystanie źródła energii tj. na kiełkowanie i ewentualne zasiedlenie korzeni aniżeli w środowisku podatnym. Jednocześnie, znacznie większa liczba mikroorganizmów (w tym głównie z rodzaju *Fusarium*), ma znacznie mniejsze szanse na wykorzystanie źródła energii. Dotyczy to zapewne również czynnika chorobotwórczego.

Reasumując przytoczone dotychczas wyniki badań nad przyczyną występowania oporności można stwierdzić, że jest ona wynikiem konkurencji mikroorganizmów w wykorzystywaniu źródeł energii w środowisku. Jej efektem jest silne hamowanie rozwoju form specjalnych *F. oxysporum* i ograniczenie zasiedlania systemu korzeniowego roślin żywicielskich.

Wykorzystanie antagonistycznych grzybów z rodzaju *Fusarium* w praktyce

Wspomniano już o wynikach doświadczeń prowadzonych w laboratorium w Antibes we Francji przez Tramier i wsp. [37, 40]. Spośród grzybów antagonistycznych izolowanych z gleb opornych na *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* najbardziej interesującym wydaje się saprofityczna forma *F. oxysporum*. Badania laboratoryjne nie wykazały różnic pomiędzy formą antagonistyczną i chorobotwórczą tego gatunku. W testach szalkowych, forma saprofityczna *F. oxysporum* nie hamowała rozwoju czynnika chorobotwórczego. Dopiero po wprowadzeniu obu form do perlitu i posadzeniu goździków okazało się, że *F. oxysporum* chroni rośliny przed *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*. Wyniki jednego z doświadczeń przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3

Skuteczność grzybów antagonistycznych w ochronie goździków przed *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* po 7 miesiącach uprawy w perlicie [41]

Gatunek grzyba antagonistycznego	% chorych goździków
<i>Fusarium oxysporum</i> , izolat 1	2,1
<i>Fusarium oxysporum</i> , izolat 2	6,7
<i>Fusarium oxysporum</i> , izolaty 1 + 2	2,0
<i>Fusarium roseum</i>	16,2
Kontrola	39,0

Izolat *F. roseum*, o którym już wzmiankowano wcześniej, chronił również goździki ale jego skuteczność w tym doświadczeniu była znacznie niższa aniżeli *F. oxysporum*. Tramier i wsp. [40] prowadzili również badania nad wykorzystaniem 2 antagonistycznych izolatów *F. oxysporum* na plantacji produkcyjnej goździków w cyklu 18-miesięcznej uprawy. Grzyby wprowadzono do substratu w formie pudru stanowiącego miesza-

ninę zarodników i grzybni *F. oxysporum* ze śrutą pszenną, maltozą i perlitem. Wyniki z tych badań przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4

Skuteczność izolatów *F. oxysporum* w ochronie goździków przed fuzariozą naczyniową [42]

Izolat	Dawka na m ² w g	Procent chorych goździków po miesiącach uprawy	
		10	18
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i>		75	100
<i>F. oxysporum</i> izolaty 2+3	90	4,8	25
izolaty 2+3	140	2,4	13

W innym doświadczeniu [42], wprowadzenie obu izolatów antagonistycznych do perlitu spowodowało ochronę około 98% roślin przed czynnikiem chorobotwórczym w ciągu 12-miesięcznej uprawy.

Przedstawione dane są z pewnością interesujące dla praktyki kwiatarskiej. Istnieje jednak konieczność opracowania technologii produkcji biocydu oraz jego stosowania. Nie wiemy bowiem, jak często i w jakiej ilości należy biocyd wprowadzać do podłoża i jak przebiega dynamika liczebności populacji gatunku antagonistycznego. Brak jest również danych o skuteczności grzybów antagonistycznych w różnych substratach.

Próby wykorzystania antagonizmu w ochronie pomidorów przed *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* przeprowadzili Couteaudier i wsp. [10]. Grzyby antagonistyczne wprowadzono do podłoża stosując 2 sposoby:

a) traktowano ziemię temperaturą 70°C przez 30 minut i wprowadzano do niej grzyby wyosobnione z gleby odpornej Chateaubrenard tj. *Fusarium*, *Aspergillus*, *Cephalosporium*, *Mucor*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Rhizopus* i *Trichoderma*. Następnie ziemię tę mieszano z podłożem parowanym, przygotowanym do uprawy pomidorów w stosunku 1:12.3 (do głębokości 20 cm).

b) torf zakażono antagonistycznymi izolatami *F. oxysporum* i *F. solani* uzyskując liczebność populacji 3×10^5 jednostek propagacyjnych/g. Następnie szczepiono nim parowane podłoże przygotowane do uprawy pomidorów.

Przy obu sposobach szczepienia podłoża grzybami, uzyskano bardzo silne ograniczenie rozwoju fuzariozy na roślinach nawet w okresie 3-let-

niej uprawy pomidorów. Jednakże dość skomplikowany sposób przygotowania mieszanki grzybów do szczepienia podłoża oraz duża masa ziemi użyta do tego celu, nie pozwoli z pewnością na zastosowanie tej metody ochrony w praktyce. Konieczne są dalsze badania nad przygotowaniem skoncentrowanego biopreparatu do szczepienia podłoża.

Używanie ziemi odpornej do szczepienia podłoża podatnego zastosowane zostało z pozytywnym wynikiem już przez Alabouvette i wsp. [7] w uprawie melonów, pomidorów, cyklamenów i goździków. Dla uzyskania zadowalających danych wprowadzono 10—20% ziemi odpornej do parowanej gleby podatnej na formy specjalistyczne *F. oxysporum*. W badaniach amerykańskich, zadowalające efekty uzyskano już przy szczepieniu gleby podatnej 1% ziemi odpornej. W praktyce jest to bardzo łatwe tam, gdzie gleba oporna znajduje się w dyspozycji ogrodnika lub w niewielkiej odległości od zakładu. W krajach Europy Zachodniej produkuje się już gotowe substraty, zwłaszcza do uprawy roślin w pojemnikach. Stanowią one mieszankę torfu, kory sosnowej, łusek okrywających nasiona kawy z dodatkiem podłoża o dużej ilości części spławialnych. Badania Grouet i Lesaint [13] wykazały, że podłoża te charakteryzują się zróżnicowaną opornością na formy specjalne, *F. oxysporum* (*cylaminis*, *chrystanthemi*, *raphani*). Autorzy wykazali, że kompostowana kora sosnowa stanowiła komponent hamujący rozwój fuzariozy naczyniowej cyklamenów i chryzantem. Potwierdza to wcześniejsze badania Nelson i Hoitink [22] wskazujące na inhibicyjny wpływ kompostowanej kory na grzyby chorobotwórcze dla roślin.

Tabela 5

Wpływ podłoża na rozprzestrzenianie się *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* [26] w nasadzeniach goździków

Podłoże	Stosunek ilościowy substratów	Liczba chorych roślin (z 40 szt.)
Torf	—	18,5
Kompostowana kora sosnowa	—	17,4
Torf + ziemia bielkowa	1:1	6,4
Kompostowana kora sosnowa + ziemia bielkowa	1:1	6,3
Kompostowana kora sosnowa + ziemia ilasta	1:3	4,4

Próby wykorzystania różnych komponentów do przygotowania podłoża opornego, przydatnego do uprawy goździków przeprowadzono rów-

niez w Instytucie Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach [26]. Wykazano, że dodatek do torfu i kory sosnowej ziemi bielcowej lub ilastej znacznie podnosi zdrowotność roślin uprawianych w takich mieszankach nawet przy wysokiej liczebności czynnika chorobotwórczego (tab. 5). Badania te będą nadal kontynuowane.

Rola bakterii i chelatów żelazowych jako czynników wywołujących oporność gleb na formy specjalne F. oxysporum

Próby wykorzystania bakterii w ochronie goździków przed chorobotwórczymi grzybami z rodzaju *Fusarium* przeprowadzili Koths i Gunner [15], Aldrich i Baker [8], Michael i Nelson [20], a następnie Sneh [5]. Wśród izolowanych bakterii, najczęściej wykorzystywano *Arthrobacter* sp. W badaniach przeprowadzonych przez Sneh [5] bakteria ta oraz gatunek *Serratia liquifasciens* powodowały rozkład strzępek *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*. Pierwsza z bakterii użyta przez autora do inokulacji korzeni goździków, powodowała znaczne ograniczenie występowania fuzaryjnego wędnięcia (tab. 6) w ciągu 160 dni uprawy roślin.

Tabela 6

Skuteczność Arthrobacter sp. w ochronie goździków przed F. oxysporum f. sp. dianthi

Doświadczenie	% porażonych roślin po dniach od sadzenia		
	110	135	160
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i> + <i>Arthrobacter</i>	10*	20*	40*
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i>	29	45	55

* istotne różnice (5%) wdg testu Duncana.

Rozpoczęte badania nie były jednak kontynuowane przez autora stąd też nadal brakuje informacji dotyczących sposobu ewentualnego przygotowania bakterii do ich praktycznego użycia, metody i częstotliwości ich aplikacji, dynamiki populacji bakterii w podłożu itd. Problem ten wypłynął jednak w badaniach Yuen i wsp. [43], którzy wyizolowali bakterie *Alcaligenes* sp. i *Pseudomonas putida*. Do dalszych badań, obok tych gatunków włączyli również *Bacillus subtilis* i *Pseudomonas* sp. Traktując ukorzenione sadzonki goździków filtratem z gleby odpornej autorzy uzys-

kali znaczne ograniczenie inokulacji roślin przez czynnik chorobotwórczy przez 2—4 miesiące. Moczenie korzeni w zawieszynie bakterii *Alcaligenes* sp., *P. putida*, *B. subtilis* i *Pseudomonas* sp. spowodowało ograniczenie wystąpienia fuzariozy naczyniowej o około 30—40% w ciągu 75 dni uprawy goździków. Badania liczebności bakterii antagonistycznych na korzeniach goździków wykazały, że ich populacja obniżała się stopniowo, a po 5 miesiącach nie znajdowano już ich w rizosferze. Bakterie utrzymywały się dłużej w glebach o pH obojętnym i przewiewnych. Na podstawie przeprowadzonych badań autorzy uważają, że stosowanie poszczególnych gatunków bakterii do ochrony goździków przed fuzariozą nie ma znaczenia dla praktyki z uwagi na długi cykl produkcyjny (do 2 lat) i podatność roślin na czynnik chorobotwórczy we wszystkich fazach rozwojowych.

Czy rzeczywiście należy być pesymistą? W 1980 roku Scher i Baker [32] stwierdzili, że czynników powodujących oporność gleb należy szukać we florze bakteryjnej. Powołując się na badania innych autorów wskazują, że:

a) traktowanie gleby odpornej parą o temperaturze 54—60°C przez 10—30 minut powoduje wyeliminowanie ze środowiska bakterii, a w ślad za tym utratę oporności,

b) wzrost grzybni, kiełkowanie chlamydospor niektórych form specjalnych *F. oxysporum*, a nawet rozkład strzępek powodują bakterie. W glebach opornych stwierdzono znacznie wyższą ich populację aniżeli w glebach podatnych,

c) gleby alkaliczne (a do takich należą m.in. te, które wykazują naturalną oporność na formy specjalne *F. oxysporum*) są dobrym środowiskiem dla rozwoju bakterii z rodzajów *Arthrobacter*, *Bacillus* i *Pseudomonas*.

Kloepper i wsp. [14] przypuszczają, że gleby odporne na grzyby powodujące fuzariozę naczyniową są bogate w bakterie fluorescencyjne z rodzaju *Pseudomonas* wytwarzające siderofory wiążące żelazo, które jest mniej dostępne między innymi dla *Fusarium* spp. Za główny czynnik tworzący siderofory w glebie uważa się bakterie *Pseudomonas putida* [12, 33, 35]. W doświadczeniach Scher i Baker [33], pierwszym etapem badań było sprawdzenie zdrowotności lnu, ogórka i rzodkiewki rosnących w glebie podatnej, zakażonej odpowiednio przez *F. oxysporum* f. sp. *lini*, f. sp. *cucumerinum* i f. sp. *conglutinans*, w obecności i przy braku *P. putida* w środowisku. Stwierdzono istotne zmniejszenie liczby porażonych roślin odpowiednio o 22% (ln), 40% (ogórek) i 61% (rzodkiewka).

Co jest przyczyną hamowania rozwoju form specjalnych *F. oxysporum* przez *Pseudomonas putida* oraz inne bakterie fluorescencyjne i oporności gleby na te grzyby? Sneh i wsp. [35] na podstawie badań własnych i innych autorów uważają, że jest to konkurencja pomiędzy mikroorganiz-

mami glebowymi w wiązaniu żelaza. Fluorescencyjne bakterie wiążą znacznie więcej tego pierwiastka aniżeli grzyby powodujące fuzaryjne więdnienie. Prowadzi to do znacznego ograniczenia Fe^{+3} w środowisku i hamowania kiełkowania chlamydospor, które potrzebują tego jonu. Autorzy podkreślają również znaczenie innych bakterii takich jak *Bacillus sp.*, *Erwinia herbicola*, *E. cloacae*, *Enterobacter cloacae* i *Serratia liquifasciens* w indukowaniu oporności gleby. Ich rola nie jest jeszcze wyjaśniona.

Dla praktyki rolniczej istotna jest stała obecność *P. putida* i innych bakterii antagonistycznych w środowisku gwarantujących oporność gleby na formy specjalne *F. oxysporum*. Dupler i Baker [12] przeprowadzili badania nad przeżywalnością *P. putida* w glebie. Autorzy wykazali, że:

a) populacja bakterii wzrosła po ich wprowadzeniu do gleby i utrzymywała się na wysokim poziomie w ciągu 5 tygodni,

b) przeżywalność bakterii stymulowana jest przez wysoką wilgotność gleby. Gwałtowne odwodnienie gleby prowadzi do drastycznego ograniczenia populacji bakterii natomiast powolne osuszenie nie wywołuje tego negatywnego skutku,

c) wzrost populacji *P. putida* jest bardziej ewidentny przy wprowadzeniu do gleby mniejszej ilości inokulum (optimum około 10^5 jednostek propagacyjnych/g gleby),

d) okres zimy bakterie przeżywają w stanie uśpienia i liczba ich wzrasta wiosną przy podwyższonej temperaturze i dostępności materii organicznej,

e) rodzaj gleby ma wpływ na liczebność bakterii. Autorzy sądzą jednak, że niższa wykrywalność *P. putida* z gleby gliniasto-ilastej wiąże się z ich absorpcją przez koloidy,

f) większą liczbę bakterii notowano na głębokości 25 cm aniżeli w warstwie powierzchniowej co wiąże się zapewne ze zróżnicowaną wilgotnością,

g) *P. putida* przeżywa na korzeniach roślin uprawnych.

Kończąc ten artykuł zdaję sobie sprawę, że zasygnalizowałem w nim tylko niektóre zagadnienia istotne dla kontynuowania dalszych badań. Uważam, że rolą bakterii fluorescencyjnych w indukowaniu oporności gleb na formy specjalne *F. oxysporum* oraz ich wpływu na podniesienie zdrowotności roślin i wzrost plonów wymaga oddzielnego, szczegółowego opracowania. W ciągu minionych 20 lat ukazało się na ten temat szereg bardzo istotnych prac.

Myślę, że po przeczytaniu tego artykułu czytelnicy będą mieli nadal bardzo dużo wątpliwości związanych z czynnikami indukującymi oporność gleby:

a) czy rolę tę pełnią głównie saprofityczne formy *F. oxysporum* *F. solani* i *F. roseum*. Jeśli tak, to dlaczego ich liczebność populacji w glebach

opornych jest kilka-, kilkudziesięciokrotnie wyższa aniżeli w środowisku podatnym. Przecież te grzyby wymagają również do rozwoju jonów Fe^{+3} , które wiązane są bardzo szybko przez bakterie fluorescencyjne? Czyżby ich aktywność (zwłaszcza *F. oxysporum* i *F. solani*) w glebie była wyższa aniżeli form specjalnych *F. oxysporum*?

b) czy gleby odporne zasiedlane przez dużą liczbę grzybów z rodzaju *Fusarium* są ubogie w bakterie fluorescencyjne? Wiadomo, że spośród już znanych, niektóre gleby charakteryzują się wysokim pH sprzyjającym dla rozwoju tych bakterii,

c) czy istnieje kumulacyjne oddziaływanie grzybów z rodzaju *Fusarium* i bakterii fluorescencyjnych na grzyby wywołujące fuzaryjne wędniecie?

d) co jest przyczyną oporności gleb pozbawionych materii organicznej i części spławialnych (np. piasku z dna rzeki) o pH poniżej 6?

Sądzę, że na te oraz szereg innych pytań uzyskamy odpowiedzi już za kilka lat.

LITERATURA

1. Alabouvette C., Rouxel F., Louvet J.: Ann. Phytopathol., 12, 11—19, 1980.
2. Alabouvette C., Tramier R., Grouet D.: Ann. Phytopathol., 12, 83—93, 1980.
3. Alabouvette C., Couteaudier Y., Louvet J.: Agronomie 2, 1—6, 1982.
4. Alabouvette C., Couteaudier Y., Louvet J.: Agronomie 4, 729—733, 1984.
5. Alabouvette C., Couteaudier Y., Louvet J.: Agronomie 4, 735—740, 1984.
6. Alabouvette C., Couteaudier Y., Louvet J.: Agronomie 5, 63—68, 1985.
7. Alabouvette C., Couteaudier Y., Louvet J.: Agronomie 5, 69—72, 1985.
8. Aldrich J., Baker R.: Plant Dis. Repr., 54, 446—448, 1970.
9. Atkinson G.F.: Ala. Agric. Exp. Stn. Bull. 41, 1892.
10. Couteaudier Y., i in.: Agronomie 5, 151—156, 1985.
11. Couteaudier Y., Alabouvette C., Louvet J.: 28 Colloque de la SFP, 14—15.05.85 Versailles, 31—42, 1985.
12. Dupler M., Baker R.: Phytopathology 74, 195—200, 1984.
13. Grouet D., Lesaint Ch.: Rev. Hort. 250, 73—77, 1984.
14. Klopper I.W., i in.: Curr. Microbiol. 4, 317—320, 1980.
15. Koths J.S., Gunner H.B.: Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 91, 617—626, 1967.
16. Lockwood J.L., Bot. Rev., 52, 1—43, 1977.
17. Louvet J., Rouxel F., Alabouvette C.: Ann. Phytopathol. 8, 425—436, 1976.
18. Louvet J.: Phytoma 7/8, 19—21, 1980.

19. McCain A.H., i in.: *Calif. Agric.* 34 (5), 1980.
20. Michael A.H., Nelson P.E.: *Phytopathology* 62, 1052—1056, 1972.
21. Misaghi I.L., i in.: *Phytopathology* 72, 33—36, 1982.
22. Nelson E.B., Hoitink H.A.J.: *Phytopathology* 73, 274—278, 1983.
23. Orlikowski L., Dzieciol R.: *Prace Inst. Sad.*, s. B, tom 2, 185—191, 1976/77.
24. Orlikowski L.B.: *Acta Horticulturae* 150, 127—139, 1983.
25. Orlikowski L.B.: *Postępy Nauk Rolniczych* 1, 39—48, 1984.
26. Orlikowski L.B.: *Roczniki Nauk Rol.*, s. E, 16, 151—161, 1983.
27. Pionnat J.C., Tramier R.: 24^e colloque SFP, Bordeaux, 26—28, 1983, 169—177, 1983.
28. Ponchet J.: *Agronomie* 4, 199, 1984.
29. Racine R.: *Praca magisterska*, Uniwersytet w Marsylii, 1984.
30. Rouxel S., Alabouvette C., Louvet J.: *Ann. Phytopathol.* 9, 183—192, 1977.
31. Rouxel S., Alabouvette C., Louvet J.: *Ann. Phytopathol.* 11, 199—207, 1979.
32. Scher F.M., Baker R.: *Phytopathology* 70, 412—417, 1980.
33. Scher F.M., Baker R.: *Phytopathology* 72, 1567—1573, 1982.
34. Schneider R.W.: *Phytopathology* 74, 646—653, 1984.
35. Sneh B.: *Phytopath. Z.*, 100, 251—256, 1981.
36. Tebibel M.N.: *Praca doktorska*, Uniwersytet C. Bernard-Lyon, 1982.
37. Tramier R., Pionnat J.C., Tebibel N.: *Acta Hort.* 141, 55—59, 1983.
38. Tramier R., Pionnat J.C., Antonini C.: *Acta Hort.* 141, 89—94, 1983.
39. Tramier R.: *Premier Journees d'etudes des maladies des plantes Versailles*, 2, 263—270, 1985.
40. Tramier R., Antonini A., Bettachini A.: *Agronomie* 5, 90, 1985.
41. Tramier R.: *Raport roczny INRA*, Antibes, 1985.
42. Tramier R.: *Phytoma* 2, 45—48, 1986.
43. Yuen G.Y., Schroth M.N., McCain A.H.: *Plant Disease* 69, 1071—1075, 1985.