

ZASTOSOWANIE PREPARATÓW GRZYBÓW SAPROFITYCZNYCH JAKO ŚRODKÓW OCHRONY ROŚLIN W UPRAWIE POMIDORÓW

Katarzyna Bandurska¹, Piotr Krupa², Agnieszka Berdowska³, Igor Jatulewicz⁴

¹ Zakład Mikrobiologii i Biotechnologii, Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie, ul. Armii Krajowej 13/15, 42-200 Częstochowa, e-mail: k.bandurska@ajd.czyst.pl, p.krupa@ajd.czyst.pl, a.berdowska@ajd.czyst.pl, i.jatulewicz@ajd.czyst.pl

STRESZCZENIE

Realizację ochrony środowiska można skutecznie osiągnąć na wiele sposobów. Jednym z nich może być ograniczenie stosowania chemicznych środków ochrony roślin. W przeprowadzonych badaniach określano wpływ grzybów z rodzaju *Trichoderma* na kondycję i zdrowotność sadzonek pomidorów. Doświadczenia prowadzono w warunkach kontrolowanych w kulturach wazonowych. Wykorzystano komercyjny preparat TRIFENDER zawierający zarodniki *Trichoderma asperellum* oraz izolowany z gleby ogrodniczej szczep T12 *Trichoderma viride*. Jednym z czynników doświadczalnych był patogenny szczep *Fusarium* sp. – grzyb często atakujący rośliny uprawne, przeciw któremu stosowany jest obecnie cały arsenał środków chemicznych. Preparatami uzyskanymi z izolowanych i namnożonych kultur grzybowych traktowano części nadziemne sadzonek (oprysk) i podziemne (podlewanie). Działanie grzybów *Trichoderma* określano porównując ilość nekroz liści w poszczególnych wariantach hodowli w stosunku do kombinacji kontrolnej. Rozwój sadzonek określano na podstawie wysokości roślin i ich suchej masy. Uzyskane wyniki wykazały ochronną rolę grzybów z rodzaju *Trichoderma* w stosunku do patogenu z rodzaju *Fusarium*. Liście pomidorów traktowanych preparatami grzybów saprofitycznych miały statystycznie istotną mniejszą ilość zmian nekrotycznych wywołanych patogenem. Efektywniejszy pod tym względem był niekomercyjny izolant *T. viride*. Użyte w doświadczeniach preparat Trifender jak i izolant *T. viride* znacząco statystycznie wpływały na wzrost i rozwój sadzonek pomidorów o czym świadczyła większa w porównaniu z kontrolą sucha i świeża masa roślin.

Słowa kluczowe: biologiczna ochrona roślin, *Trichoderma viride*, *Trichoderma asperellum*.

USE OF SAPROPHYTIC FUNGI SPECIMENS AS A PLANT PROTECTION AGENTS IN TOMATO PLANTATION

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the effects of the *Trichoderma* spp. fungi on the conditions and health of tomato plants. The experiments were conducted in pot cultures and controlled conditions. Commercial formula TRIFENDER containing *Trichoderma asperellum* spores and isolated from garden soil strain T12 *Trichoderma viride* were used. In one embodiment, the plants were treated with pathogenic strain of *Fusarium* sp. that commonly damages crops and against which the whole arsenal of chemicals is used. Preparations obtained from isolated and multiplied fungal cultures were used for the treatment of the above-ground (spraying) and under-ground (sprinkling) parts of tomatoes. Influence of the *Trichoderma* fungi was determined by comparing the presence of necrosis on leaves in various groups of cultivated tomatoes compared to control samples. The development of seedlings was checked by measuring the length of plants and the weight of fresh and dry plants. The results demonstrated the protective role of *Trichoderma* spp. fungi in relation to the *Fusarium* sp.. Leaves of tomato treated with solutions of saprophytic fungi had a statistically significant lower amount of necrotic changes caused by the pathogen. More effective in this regard was uncommercial isolate of *T. viride*. Formulation used in the experiments Trifender and isolate *T. viride* statistically significant influence on the growth and development of the tomato plants as evidenced by increased compared to the control fresh and dry weight of plants.

Keywords: biological protection, *Trichoderma viride*, *Trichoderma asperellum*.

WSTĘP

Monokultury uprawowe są podatne na atak wszelkiego rodzaju patogenów bakteryjnych i grzybowych. Dlatego zintensyfikowana współczesna produkcja rolnicza wymaga stosowania dużej ilości środków ochrony roślin. Niestety w 90% są to tylko środki chemiczne, które jak wykazują liczne badania mogą mieć negatywny wpływ na zdrowie człowieka nawet po okresie karencji. Udowodniono, że nawet śladowe ilości pestycydów mogą prowadzić do zaburzeń funkcjonowania różnych narządów i układów, zwłaszcza układu nerwowego, wydzielania wewnętrznego, odpornościowego, rozrodczego (Martenie, Perry 2013), wydalniczego, sercowo-naczyniowego i oddechowego. Stwierdzono zależność pomiędzy ekspozycją na pestycydy a zwiększeniem częstości występowania chorób nowotworowych (raka sutka, prostaty, płuc, mózgu, okrężnicy, jąder, trzustki, przełyku, żołądka, skóry, chłoniaków non-Hodgkin, białaczek, szpiczaka mnogiego [Alavanja i wsp. 2013]. Alternatywą dla środków chemicznych, szczególnie cenną w tak zwanych uprawach ekologicznych może być zastosowanie czynników biologicznych do zwalczania patogenów [Tucci i wsp. 2011]. Od lat 30. XX wieku [Weindling, 1932] grzyby z rodzaju *Trichoderma* wymieniane są jako czynniki hamujące lub ograniczające występowanie fitopatogenów. Grzyby te są silnymi antagonistami mikroorganizmów pasożytniczych z rodzaju: *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Gaeumannomyces*, *Thielaviopsis*, *Verticillium*, *Botrytis*, a także licznych bakterii i wirusów [Howell 2003, Benitez 2004]. W ostatnich latach notuje się wzrost zainteresowania tymi mikroorganizmami, które mogą być komponentami w preparatach ochrony roślin [Pietr 1997; Alfano i wsp. 2007; Ebtsam i wsp. 2009; Świerczyńska i wsp. 2011]. Obecnie na rynku *Trichoderma sp.* jest jednym z najbardziej popularnych rodzajów grzybów wykorzystywanym jako tzw. grzyby poprawiające wzrost roślin (PGPF – plant growth promoting fungus) [Chetan i wsp. 2014]. Istotne jest także, że grzyby te nigdy nie atakują roślin a wręcz stymulują ich wzrost i odporność [Kowalska i wsp. 2012]. Zwiększone zainteresowanie tymi grzybami wynika również z tego, że są one niezwykle powszechne w naturze, mają zdolność dostosowania do różnych środowisk. Ponadto są łatwe do izolacji i hodowli w warunkach sztucznych, gdzie cechuje je szybki

wzrost i obfita produkcja zarodników konidialnych, a często przetrwalników typu chlamydospori.

Większość prac które ukazały się na temat *Trichoderma sp.* wskazuje na antagonizm w stosunku do grzybów patogenicznych zasiedlających systemy korzeniowe [Pietr 1997; Ebtsam 2009]. Nieliczni autorzy wykazują jednak, że grzyb działa antagonistycznie na mikroorganizmy bytujące dla przykładu na owocach [Howell 2003; Benitez 2004].

Celem niniejszej pracy było sprawdzenie działania ochronnego grzybów z rodzaju *Trichoderma* w stosunku do grzybów z rodzaju *Fusarium* oraz porównanie działania preparatu komercyjnego zawierającego *Trichoderma asperellum* i szczepu dzikiego T12 *Trichoderma viride* izolowanego z gleby. Interesujące było także czy preparaty stosowane w formie oprysku będą skuteczne zwalczające patogeny egzystujące na nadziemnych częściach roślin.

OBSZAR I METODY BADAŃ

Doświadczenie prowadzono w hodowlach wazonowych w miesiącach kwiecień, maj, obserwację polową kontynuowano do sierpnia 2014. Do doświadczeń wykorzystywano preparat TRIFENDER WP producenta: Bioved – mikrobiologiczny preparat wspomagający uprawę roślin, zawierający konidia grzyba antagonistycznego *Trichoderma asperellum* oraz wybrany szczep T12 *Trichoderma viride* izolowany z gleby. Z podłoża niekomercyjnego pochodzącego spod hodowli pomidorów wyizolowano 8 szczepów *Trichoderma spp.*, natomiast z zamierających pędów pomidorów uzyskano szczep patogenny *Fusarium sp.* Izolacje i selekcje grzybów przeprowadzano na autorskiej pożywce mineralnej o następującym składzie:

- agar 25 g
- glukoza 15 g
- maltoza 2 g
- winian amonu 0,5 g
- KH_2PO_4 0,1 g
- ZnSO_4 (1:500 roztwór) 0,5 ml
- tiamina 30 mg
- H_2O destylowana do 1000 ml

Namnażanie grzybów służących do sporządzenia preparatu przeprowadzono na pożywce glukozowo-ziemniaczanej. Metodą szalkową wykonano selekcję opartą na antagonizmie szczepu

z rodzaju *Trichoderma* w stosunku do grzyba z rodzaju *Fusarium*. Testowane grzyby wszczepiano parami – inokula dwutygodniowych hodowli umieszczano w odległości 3 cm od siebie na wcześniej przygotowaną i zestaloną pożywkę. Do dalszych badań wybrano szczep oznaczony jako T12 cechujący się największą wirulencją i wykazujący silne cechy antagonistyczne w stosunku do szczepu *Fusarium* sp. Grzyby hodowano powierzchniowo na szalkach Petriego w temperaturze 22 °C doprowadzając do zarodnikowania. Zarodniki wraz z grzybnią napowietrzną zmywano z powierzchni roztworem soli fizjologicznej, a następnie wirowano w gradiencie soli fizjologicznej. Zagęszczony osad rozcieńczano w sterylnej wodzie do uzyskania stężenia aplikacyjnego zarodników na poziomie 10⁸ cfu/ ml.

Preparat Trifender stosowano wg instrukcji. Rozpuszczano 2 g w 10 l wody, roztwór służył zarówno do oprysku roślin, jak i ich podlewania. Według producenta preparat zawiera żywe organizmy. Rozpuszczone w wodzie i rozpryskane zarodniki lokalizują się wokół korzeni, działając korzystnie na rozwój roślin.

Hodowlę wazonową prowadzono w warunkach kontrolowanych: temperatura 25 °C, wilgotność 70%, fotoperiod 14 h dzień/ 12h noc. Do wszystkich wariantów doświadczenia użyto komercyjnej ziemi ogrodniczej niesterylizowanej. Nasiona pomidorów odmiany (Słonka) F1 kielkowano w fitotronie (Biosell) na pożywce MS (Sigma – Aldrich) z dodatkiem 0,8% agaru i 1% sacharozy. Dwutygodniowe siewki pikowano do pojemników 250 cm³ z ziemią. Po tygodniowym czasie adaptacyjnym wykonywano staranny oprysk całej części nadziemnej roślin i podlanie do przelania pojemników w następujących kombinacjach:

- siewki kontrolne – bez oprysku podlewane wodą wodociągową,
- siewki opryskane i podlewane roztworem zawierającym zarodniki *Fusarium* sp.
- siewki opryskane i podlewane roztworami zawierającym zarodniki *Fusarium* sp. i *Trichoderma viride*,
- siewki opryskane i podlewane roztworami zawierającym zarodniki *Fusarium* sp. i *Trichoderma asperellum* (Trifender).

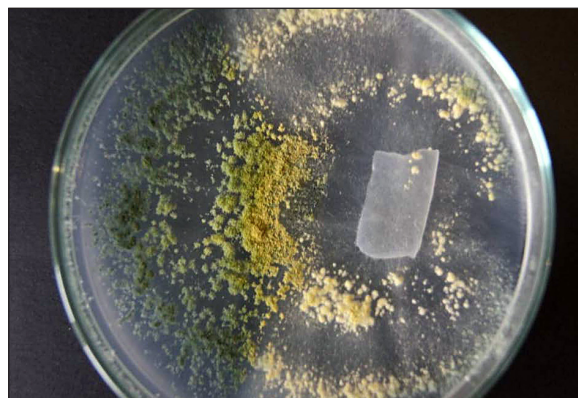
W wariacie 3 i 4 oprysk *Fusarium* sp. wykonano po 10 dniach od zastosowania preparatów *Trichoderma* spp. W każdej grupie wariantowej użyto do badań 50 roślin.

Po 6 tygodniach wzrostu wykonano odczyt parametrów wzrostowych sadzonek z uwzględnieniem: suchej i świeżej masy sadzonek, ilości nekroz na liściach, długości części nadziemnej i podziemnej roślin.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu STATISTICA 10.0. Normalność rozkładu sprawdzono testem W Shapiro-Wilka a istotność różnic określano przy użyciu testu t-Studenta dla prób niezależnych. Jako istotne statystycznie przyjęto $p < 0,05$.

WYNIKI I DYSKUSJA WYNIKÓW

Analiza makroskopowa grzybni drugiej fazy wzrostowej pozwoliła na identyfikację szczepu T08 jako: *Trichoderma viride* PERS (1829). Wykazano silny antagonizm tego szczepu w stosunku do *Fusarium* sp. (rys. 1).



Rys. 1. Antybioza *Trichoderma viride* (z lewej) w stosunku do *Fusarium* sp. (z prawej). Widoczna strefa ograniczenia wzrostu tak zwana strefa przejaśnienia
Fig. 1. Antibiosis of *Trichoderma viride* (left) against *Fusarium* sp. (right). Visible zone of reduced growth so-called zone of brightening



Rys. 2. Nekrozy liści pomidorów po 6 tygodniach wzrostu
Fig. 2. Leaves necrosis after 6 weeks of growing

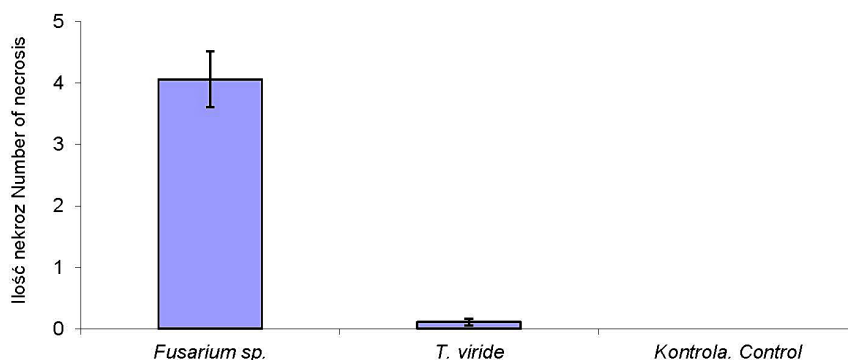
Wyniki uzyskane po 6 tygodniach od oprysku nadziemnych części pomidorów i podlewaniu preparatami grzybowymi w kombinacjach opisanych w metodyce badań analizowano pod kątem obecności nekroz powstałych na liściach badanych roślin (rys. 2).

Grupa poddana działaniu jedynie grzyba pasożytniczego charakteryzowała się obecnością licznych nekroz w porównaniu z grupą traktowaną grzybami saprofitycznymi oraz kontrolą (rys. 3, 4).

Kolejnym analizowanym parametrem była sucha masa roślin (rys. 5). Była ona wyraźnie większa w przypadku serii pomidorów w których zastosowano preparaty grzybów saprofitycznych. Najwyższą średnią zawartość suchej masy roślin odnotowano dla roślin traktowanych preparatem zawierającym szczep T12 *Trichoderma viride*. Jeszcze wyraźniej tendencja ta jest wykazana w analizie suchej masy korzeni (rys. 6).

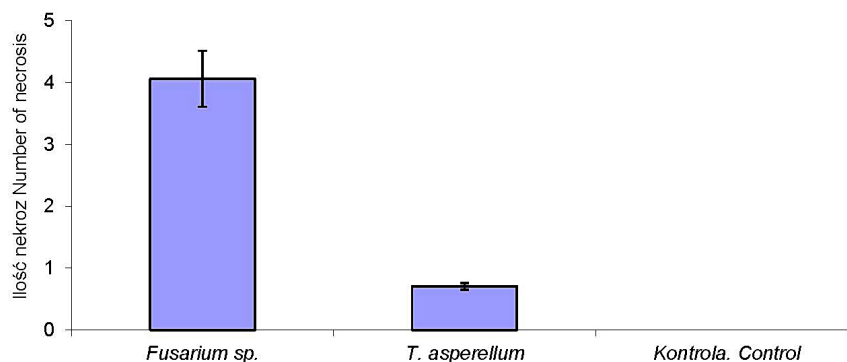
Otrzymane wyniki dotyczące zdrowotności i masy wzrostowej korzeni pomidorów wykazały, że mikroorganizmy saprofityczne takie jak *Trichoderma viride* i *Trichoderma asperellum*

mogą mieć wpływ zarówno na ograniczenie chorób powodowanych przez patogeny roślinne, jak i wzrost masy hodowanych roślin. Koresponduje to z licznymi doniesieniami literaturowymi [Hag, Khan 2000; Mesta i Amaresh 2000; Świerczyńska i in. 2011; Kowalska, Remlein-Starosta, Drożyński 2012]. W walce z patogenami grzyby z rodzaju *Trichoderma* wykorzystują różne mechanizmy – najlepiej udokumentowana jest produkcja licznych antybiotyków i toksycznych dla mikroorganizmów związków lotnych takich jak: kwas harzianowy, alamentycyna, tricholin, peptaibole, 6-pentyl- α -pyrol, massoilacton, wiridin, gliowirin, gliotoksyn, glisopreniny, kwas heptelidowy [Benítez 2004; Vey i in. 2001; Howell 2006; Reino i in. 2008]. Czynniki te też ograniczają konkurencję dając przewagę w walce o niszę ekologiczną. Zjawisko to było obserwowane w toku doświadczeń niniejszej pracy. Jeżeli pomidory były w pierwszej kolejności opryskane preparatami zawierającymi zarodniki *Trichoderma*, grzyb patogeniczny wprowadzony na liście nie wykazywał wirulencji i nie wywoływał zmian nekrotycz-



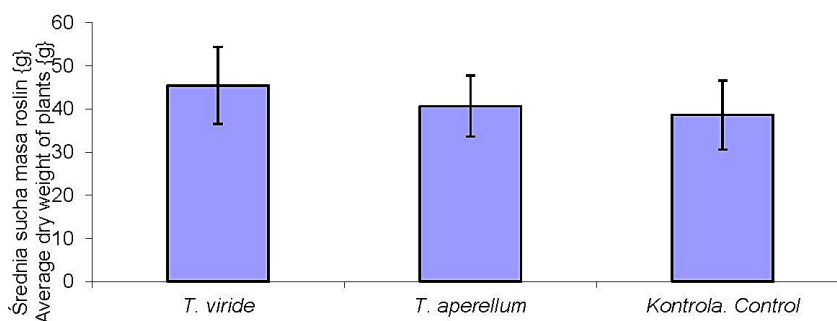
Rys. 3. Porównanie średniej ilości nekroz liści pomidorów traktowanych preparatem zawierającym grzyba z rodzaju *Fusarium sp.* i wcześniej zabezpieczonych preparatem *Trichoderma viride*

Fig. 3. Comparison of the average number of necrosis on the tomato leaves treated with *Fusarium sp.* fungus and earlier treated with *Trichoderma viride*

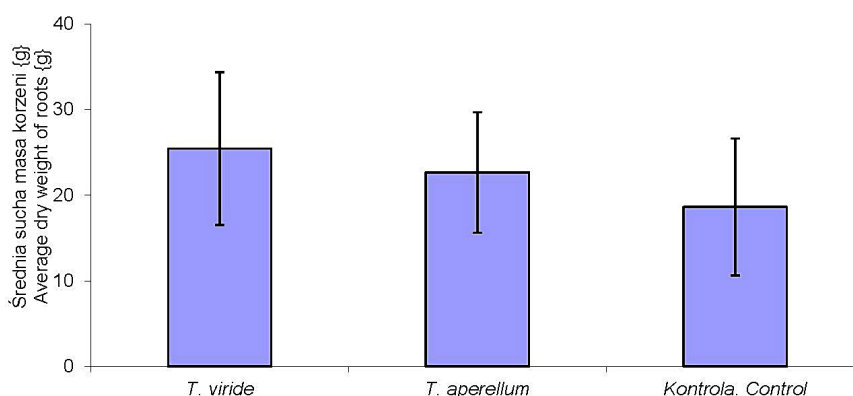


Rys. 4. Porównanie średniej ilości nekroz liści pomidorów traktowanych preparatem zawierającym grzyba rodzaju *Fusarium sp.* i wcześniej zabezpieczonych preparatem *Trichoderma asperellum* (Trifender)

Fig. 4. Comparison of the average number of necrosis on the tomato leaves treated with *Fusarium sp.* fungus and earlier treated with *Trichoderma asperellum* (Trifender)



Rys. 5. Średnia zawartość suchej masy roślin traktowanych preparatami *T. viride* i *T. asperellum*
Fig. 5. Average dry weight of tomato plants treated with *T. viride* i *T. asperellum* mixtures



Rys. 6. Średnia zawartość suchej masy korzeni traktowanych preparatami *T. viride* i *T. asperellum*
Fig. 6. Average dry weight of tomatoes roots treated with *T. viride* i *T. asperellum* mixtures

nych. Obserwuje się też synergistyczne działanie antybiotyków i enzymów hydrolitycznych szczególnie skuteczne w hamowaniu kiełkowania konkurencyjnych konidiów [Rey i in. 2001; Howell 2003]. Chet i Inbar [1994] natomiast wykazali, że niektóre szczepy są zdolne do produkcji sideroforów, wychwytyjących ze środowiska jony żelaza, przez co hamowany jest wzrost innych grzybów. Vitti i wsp. [2014] wykazali, że *Trichoderma harzianum* (T-22) stymuluje reakcje odpornościowe z udziałem reaktywnych form tlenu (ROS – reactive oxygen species) u pomidora (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) przeciwko wirusowi mozaiki ogórka (CMV). Jednak badania Tucci i wsp. [2011] dowodzą iż nie u wszystkich odmian pomidorów *Trichoderma* sp. zwiększa oporność na patogeny w takim samym stopniu i że zależy to w dużej mierze od genotypu rośliny. To pokazuje jak złożone są interakcje pomiędzy *Trichoderma* a pomidorami, i że modyfikacje genetyczne roślin mogą mieć na nie znaczący wpływ. Wyniki niniejszej pracy potwierdzają jednak w pełni dodatni efekt oporności na patogeny, jak i wzrostowy korzeni skolonizowanych przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*. Zwiększona masa korzeni pomidorów pozostających pod wpływem grzy-

bów rodzaju *Trichoderma* może być wynikiem zwiększonego pobierania składników pokarmowych jak wykazali Chet i in. [1997]; Benítez i in. [2004], czy lepszą dostępnością mikroelementów stwierdzaną przez Yedida i in. [2001] gdzie traktowanie ogórków *T. harzianum* T-203 zwiększyło masę korzeni i nadziemnych części roślin. Z kolei Harman i in. [2004] wskazują na jeden z mechanizmów prowadzący do zwiększenia biodostępności pierwiastków. Udowodniono, że grzyby te mogą wytwarzać słabe kwasy organiczne takie jak kwas glukonowy, cytrynowy czy kumarynowy, dzięki którym uwalniane są fosforany i mikroelementy z których mogą skorzystać rośliny.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Uwzględniając liczne wyniki badań dotyczących dodatnich efektów traktowania roślin preparatami *Trichoderma*, w tym wyniki niniejszej pracy, można stwierdzić, że grzyby te są doskonałymi antagonistami w stosunku do patogenów, oraz że stymulują wzrost i odporność roślin. Jako czynnik biologiczny można je stosować bez obaw o skażenie środowiska, a dodatkowymi ko-

rzyściami są polepszenie walorów zdrowotnych produkcji roślinnej, jak i efektywność upraw. Zastosowanie tego typu biologicznych czynników może w znacznym stopniu ograniczyć użycie chemicznych środków ochrony roślin a tym samym przyczynić się do szeroko pojętej ochrony środowiska. Wstępne wnioski można także wyciągnąć odnośnie znaczenia doboru odpowiedniego szczepu grzyba. Szczep dziki T12 izolowany z danego terenu na którym hodowano wcześniej pomidory wykazał większą efektywność zarówno ochronną, jak i wspomagającą wzrost niż komercyjny szczep preparatu „Trifender”. Sugeruje to adaptację grzybów do warunków lokalnych, terenowych czy może klimatycznych. Jednak te przypuszczenia wymagają kontynuacji badań.

LITERATURA

- Alavanja M., Ross M., Bonner M., 2013. Increased cancer burden among pesticides applicators and others due to pesticide exposure. *CA Cancer J. Clin.* 63(2), 120–124.
- Alfano G., Lewis Ivey M.L.C., Cakir C., Bos J.I.B., Miller S.A., Madden L.V., Kamoun S., Hoitink H.A.J. 2007. Systemic modulation of gene expression in tomato by *Trichoderma hamatum*. *Phytopathology* 97, 429–437.
- Benítez T., Rincón A.M., Limón M.C., Codón A.C., 2004., Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7, 249–260.
- Chet I., Inbar J., 1994. Biological control of fungal pathogens. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 48, 37–43.
- Chet I., Inbar J., Hadar I., 1997. Fungal antagonists and mycoparasites. W: D.T. Wicklow, B. Söderström (Eds.) *The Mycota IV: Environmental and microbial relationships*. Springer-Verlag, Berlin, 165–184.
- Chetan K., Sandhya M., Sarma B.K., Singh S.P., Singh H.B., 2014. Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. *Appl. Microbiol., and Biotechnol.* 98, 533–544.
- Ebtsam M.M., Abdel-Kawi K.A., Khaliil M.N.A., 2009. Efficiency of *Trichoderma viride* and *Bacillus subtilis* as biocontrol agents against *Fusarium solani* on tomato plants. *Egypt. J. Phytopathol* 37(1), 47–57.
- Hag I., Khan S.M., 2000. Antagonistic reaction of ten fungal isolates from root rot affected cotton plants. *Pakistan J. Phytopath.* 12(2), 109–111.
- Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M. 2004. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Rev.*, 2, 43–56.
- Howell C.R., 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.*, 87, 4–10.
- Howell C.R., 2006. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. *Phytopathol.*, 96, 178–180.
- Kowalska J., Remlein-Starosta D., Drożyński D., 2012. Wykorzystanie *Trichoderma asperellum* w ekologicznej uprawie truskawek. *Post. Ochr. Roślin* 52(2), 351–353.
- Martenies S., Perry M., 2013. Environmental and occupational pesticide exposure and human sperm parameters: a systematic review. *Toxicology.*, 307, 66–73.
- Mesta R.K., Amaresh Y.S. 2000. Biological control of Sclerotium wilt of sunflower. *Plant Disease Res.* 15(2), 202–203.
- Pietr S.J. 1997. The mode action of *Trichoderma*: short summary. *Mat. VIII Conf. of the Section for biological Control of Plant Diseases of the Polish Phytopath. Soc., Skierniewice*, 7–14.
- Reino J.L., Guerrero R.F., Hernández-Galán R., Collado I.G., 2008. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochem. Rev.*, 7, 89–123.
- Rey M., Delgado-Jarana J., Benítez T., 2001. Improved antifungal activity of a mutant of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 which produced more extracellular proteins. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 55, 604–608.
- Świerczyńska I., Korbas M., Horoszkiewicz-Janka J., Danielewicz J., 2011. Antagonistyczne oddziaływanie *Trichoderma viride* na patogeny z rodzaju *Fusarium* w obecności biopreparatów. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. 56(4), 157–160.
- Tucci M., Ruocco M., De Masi L., De Palma M., Lorito M., 2011. The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. *Mol. Plant Pathol.* 12(4), 341–354.
- Vey A., Hoagland R.E., Butt T.M., 2001. Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. W: *Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential*. Ed.: T.M. Butt, C. Jackson, N. Magan. CAB International, Bristol., 311–346.
- Vitti A., Monaca Esther., Sofò A., Scopa A., Cuypers A., Nuzzaci M., 2015. Beneficial effects of *Trichoderma harzianum* T-22 in tomato seedlings infected by Cucumber mosaic virus (CMV). *BioControl* 60, 135–147.
- Wiendling R., 1932. *Trichoderma lignorum* as parasite of other soil fungi. *Phytopathol.*, 22, 837–845.
- Yedidia I., Shores M., Kerem Z., Benhamou N., Kapulnik Y., Chet I., 2003. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 7343–7553.