

<https://doi.org/10.61308/KUAY5502>

Биологично базиран подход за борба с питийно кореново гниене по оранжерийни краставици, отглеждани в каменна вата

Ценко Въчев*, Георги Пренгов, Иво Янашков

Институт по почвознание, агротехнологии и защита на растенията „Никола Пушкаров”,
отдел “Защита на растенията”, Костинброд, 2230, ул. „Панайот Волов” № 35,
Селскостопанска академия, София, България

*E-mail: vatchevtzenko@yahoo.com

Резюме: Изследването проследява ефекта от приложение на консорциум от четири вида *Trichoderma*, в т.ч. *T. asperellum*, *T. koningii*, *T. polysporum* и *Trichoderma gamsii*, върху питийно кореново гниене по оранжерийни краставици, отглеждани в каменна вата. Провеждани бяха опити (1) в експериментална хидропонна система, изградена от използвани матраци каменна вата, „естествено” заразени с *Pythium* spp. и допълнително инокулирани с *P. aphanidermatum*, *P. ultimum* и групи G, и F на патогена; и (2) в производствена оранжерия, където краставичните растения (с. Voncanale) бяха отглеждани върху еднократно използван субстрат от същия тип. Многокомпонентният биоагент беше произвеждан върху автоклавиран ечемичени зърна. Формираната спорова маса беше суспендирана във фертигационен разтвор, двукратно филтрирана и довеждана до $5.0-7.5 \times 10^7$ спори ml^{-1} . По 150 ml бяха внасяни около корените на растенията 0, 1, 2 или 3 пъти. Третирането беше осъществявано чрез ръчна поливка в експерименталната система, като първото третиране беше осъществявано на седмия ден след сеитбата, а другите две следваха през интервали от 14 дни. Третирането в производствената оранжерия беше провеждано чрез капковата инсталация: първо третиране – непосредствено след разсаждане, а останалите през интервали от 30 дни. Значително редуциране на честотата на срещане на болестта беше отбелязано след двукратно или трикратно третиране: общият брой увехнали и загинали растения беше редуциран съответно с 50% и 73% в експериментално изградената система и с 60% и 40% в производствените опити. Това изследване предлага иновативен подход за биоконтрол, включващ съвместно култивиране на биоагентите, приготвяне на спорова суспензия директно във фертигационния разтвор и приложение до кореновата система на растенията по поливната капковата система.

Ключови думи: оранжерийни краставици; безпочвена хидропонна система; *Pythium* spp.; биологична борба; *Trichoderma* spp.

Biologically based approach to controlling *Pythium* root rot of greenhouse cucumbers grown in rockwool system

Tzenko Vatchev*, Georgi Prengov, Ivo Yanashkov

Institute of Soil Science, Agro-Technology and Plant Protection “Nikola Pushkarov”, Plant Protection
Department, 2230 Kostinbrod, 35 Panayot Volov St., Agricultural Academy, Sofia, Bulgaria

*E-mail: vatchevtzenko@yahoo.com

Citation: Vatchev, T., Prengov, G., & Yanashkov, I. (2024). Biologically based approach to controlling *Pythium* root rot of greenhouse cucumbers grown in rockwool system. *Bulgarian Journal of Crop Science*, 61(4) 3-15 (Bg).

Abstract: This study aimed to examine the effect of co-cultured consortium of four *Trichoderma* spp., including *T. asperellum*, *T. koningii*, *T. polysporum* and *T. gamsii* on *Pythium* root rot of greenhouse cucumbers

grown in rockwool hydroponic culture. Experiments were carried out: (1) in experimental hydroponic system constructed with reused rockwool slabs “naturally” infested with *Pythium* spp. and additionally inoculated with *P. aphanidermatum*, *P. ultimum*, *Pythium* groups G and F; and (2) in commercial greenhouse wherein cucumber plants (с. Boncanale) were grown in reused *Pythium* infested rockwool system. The bioagents were co-produced on autoclaved barley grain. The abundant spore mass was suspended in ready-to-use fertigation solution, filtered twice and adjusted to $5.0\text{-}7.5 \times 10^7$ spores ml^{-1} . 150 ml of this solution were applied to the roots of treated plants zero, once, twice or three times. Treatments were performed manually in the experimentally constructed system starting at day 7th after sowing and followed at intervals of 14 days, or through the dripping irrigation system in the commercial greenhouse where the first treatment was performed immediately after planting while next two followed at 30 days intervals. Significant reduction in disease incidence was achieved through two or three subsequent treatments: total numbers of wilted and dead plants were reduced by 50% and 73%, respectively, in the experimental system, and by 60% and 40% in the commercially conducted experiments. This study suggests innovative biocontrol approach using preparation of multicomponent bioagent spore suspension directly in the fertigation solution, and application to the plants through dripping irrigation system.

Keywords: greenhouse cucumber; soilless rockwool system; *Pythium* spp.; biological control; *Trichoderma* spp.

ВЪВЕДЕНИЕ

Изследвания у нас и в чужбина върху краставици, отглеждани безпочвено в каменна вата, показват масово колонизиране на безпочвения субстрат с благоприятствани от водната среда гъбоподобни видове от клас Oomycetes и преди всичко фитопатогенни представители на род *Pythium*. С въвеждане на технологиите за безпочвено, хидропонно отглеждане, кореновото и базично гниене, причинявано от гъбоподобни фитопатогенни организми от род *Pythium*, се очерта като основен лимитиращ фактор за производството на краставици *Cucumis sativus* L. (Jenkins & Averre, 1983; Cherif & Belanger, 1992; Punja & Parker, 2000; Punja et al., 2019) и редица други зеленчукови култури (Jenkins & Averre, 1983; Moulin et al., 1994; Sutton et al., 2006). Оранжерийните краставици, култивирани хидропонно в каменна вата се нападат от най-ранни фенофази, когато болестта се развива под формата на „сечене” на разсада, до края на вегетационния период на културата (Moulin et al., 1994; Herrero et al., 2003). Симптомите на болестта по растения, засадени на постоянно място отначало са трудно забележими, а по-късно се проявяват като некротични петна и гниене по корените и кореновата шийка,

колонизиране и промяна в оцветяването на проводящата система в основата на стъблата. Инфектираните растения увяхват, първоначално през горещата част на денонощието, а много скоро – трайно и необратимо. Болните краставични растения загиват, обикновено много преди края на плододаването, като генерираният при това отрицателен икономически ефект е значителен (Moulin et al., 1994; Zhao, 2000; Sutton et al., 2006).

Етиологията на гниенето по корените и базите на оранжерийните краставици, отглеждани безпочвено в каменна вата е обект на изследване от редица автори и включва широк набор от фитопатогенни видове, предимно представители на род *Pythium* (Vallance et al., 2011). Съгласно van der Gaag & Wever (2005) каменната вата е сред най-благоприятните (кондусивни) за развитието на *Pythium* spp. субстрати за хидропонно отглеждане на краставици. Сред най-често споменаваните причинители на болестта по оранжерийни краставици е *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. Видът е широко разпространен практически във всички хидропонни системи (Paulitz et al., 1992), включително тези, базирани на каменна вата (Moulin et al., 1994; McCullagh et al., 1996; Postma et al., 2001, 2005, 2009; Asran & Abd-Elsalam, 2020). *Pythium ultimum* Trow

е друг представител на същия род, за който се съобщава, че е масово разпространен и причинява кореново и базично гниене по оранжерийни краставици, отглеждани в каменна вата (Cherif & Belanger, 1992; Sutton et al., 2006). Sutton et al. (2006) съобщават още за вида *Pythium dissotocum* Drechsler, като патоген по хидропонно отглеждани култури в каменна вата. Видът *Pythium intermedium* de Bary е установен за първи път по краставици в каменна вата от Stanghellini et al. (1988). От видимо здрави корени на краставици в каменна вата Menzies et al. (2005) и Punja et al. (2019) изолират патогенни за културата форми на *P. aphanidermatum* и *Pythium irregulare* Buisman.

По-рядко съобщавани по краставици и други култури, отглеждани в безпочвени, хидропонни (аквапонни) системи, но високо агресивни са видовете *Pythium sylvaticum* Campbell & Hendrix (Favrin et al., 1988; Moulin et al., 1994; Punja et al., 2019), *Pythium spinosum* Sawada (Gull et al., 2004), *P. aquatile* Hóhnik, *P. coloratum* Vaartaja, *P. intermedium* de Bary, *P. mamillatum* Meurs, *P. middletonii* Sparrow, *P. paroecandrum* Drechsler и др. (Herrero et al., 2003)

По хидропонни краставици, други зеленчукови и цветни култури са установени редица, очевидно хетероталични *Pythium* spp. (Gull et al., 2004), които формират изобилни зооспорангии, но не формират органи за полово размножаване – антериидии, оогонии и ооспори (Moulin et al., 1994; McCullagh et al., 1996; Sutton et al., 2006; Zhao, 2000). Това е причината, тези патогени да не се определят до вид, а да бъдат групирани в зависимост от формата на зооспорангиите, които образуват. По краставиците, отглеждани в каменна вата са съобщени *Pythium* sp. група F, притежаващи нишковидни (филаментозни) зооспорангии (Rafin & Tirilly, 1995; Sutton et al., 2006), *Pythium* sp. група G с кръгли (глобуларни) или с удължена форма непролифериращи зооспорангии (Menzies et al., 2005), *Pythium* sp. група SH, представителите на която формират хифни подутини, наподобяващи зооспорангии, но без зооспори в тях (van der Plaats-Niterink, 1981; Gull et al., 2004).

От прегледа на литературните източници е видно, че независимо от възможностите, които контролираните условия на хидропонното производство предлагат, култивираните растения от оранжерийни краставици в каменна вата са обект на нападение от коренови гъбоподобни и гъбни патогени. От друга страна методите и средствата за борба с причиняваните от тях болести са ограничени. Postma et al. (2009) и Maucieri et al. (2019) обобщават използваните методи за дезинфекция на хидропонните системи. Малка част от тях обаче намират приложение в практиката. Подмяната на каменната вата на всеки два вегетационни сезона (Maucieri et al., 2019), стерилизиране или филтриране на фертигационния разтвор се разглеждат като основни мероприятия, способстващи за опазване на краставиците от коренови фитопатогени (Goldberg et al., 1992). Самостоятелното прилагане на тези методи обаче често води до непредсказуеми резултати и се оказва неефективно.

Биологичният метод се разглежда като перспективен за борба с комплекса от патогенни гъби и гъбоподобни организми по корените и базите на оранжерийни краставици, отглеждани безпочвено в каменна вата. Към него се очертават два възможни подхода – първият, базиран на резидентна микрофлора, естествено обитаваща хидропонния субстрат (Postma et al., 2001; Rivas-García et al., 2020) и втори, с използване на интродуцирани или реинтродуцирани в системата специфични биоагенти (Rose et al., 2004). Каменната вата, като неорганичен субстрат се явява среда на относително ограничен брой видове микроорганизми – бактерии (Postma et al., 2005) и гъби (Menzies et al., 2005). С култивиране на растения в съчетание с процеса на ежедневна фертигация – напояване и подхранване, популационната плътност на микроорганизмите – полезни и вредни, в каменната вата рязко нараства (Chatterton et al., 2008). Установено е, че в резултат на повишената популационна плътност на естествено колонизиращи и обитаващи системата микроорганизми – предимно бактерии, през втория сезон на култивира-

не, каменната вата от биологично инертна в началото се трансформира в среда, оказваща известен супресивен (потискащ) ефект върху развиващите се фитопатогенни организми, в т.ч. *Pythium* spp. и *Fusarium oxysporum*, и причиняваните от тях заболявания (Postma et al., 2001; 2005; Rose et al., 2004; Minuto et al., 2007). Достиганите нива на супресивност, обаче се оказват недостатъчни за опазване на културите от коренови патогени. На този етап няма разработен надежден метод за контрол, базиран на естествената супресивност на хидропонния субстрат, а след Postma et al. (2008) изследванията в тази насока намаляват. По-успешен се оказва методът за биологична борба чрез реинтродукция и обогатяване на хидропонната система с бактерии-антагонисти, като щам 3.1Т8 на *Lysobacter enzymogenes* Christensen and Cook, естествено обитаващ каменната вата. Приложен самостоятелно (Folman et al., 2003) или в комбинация с хитозан (Postma et al., 2009), биоагентът контролира *P. aphanidermatum* по краставици в каменна вата. При същите условия Punja & Yip (2003) доказват потенциала на *Gliocladium catenulatum* Gilman et Abbott и *Streptomyces griseoviridis* Anderson et al. като биологични агенти, потискащи кореново гниене по краставици, с причинители *P. aphanidermatum* и *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*.

Установени са различни видове микроорганизми, които естествено обитават хидропонните системи и проявяват антагонистична активност по отношение на патогени по корените на краставици. Сред тях са *Pseudomonas fluorescens* Migula, *Achromobacter* sp., *Serratia* sp., *Rhodococcus* spp., *Streptomyces* spp., *Pythium oligandrum* Drechsler, *Trichoderma harzianum* Rifai и др. (Postma et al., 2005; Clemantis et al., 2009; Wallace et al., 2011). Редица видове, представители на род *Trichoderma* са добре известни антагонисти – конкуренти за екологична ниша и хранителен субстрат, продуценти на екстрацелуларни ензими и различни антибиотици, както и суперпаразити по отношение на широк кръг фитопатогенни гъби (микопа-

разити) и гъбоподобни организми (Benitez et al., 2004; Puyam, 2016; Köhl et al., 2019). Сред тях видове като *Trichoderma harzianum* Rifai и *Trichoderma viride* Persoon, изолирани от използван субстрат (каменна вата) се доказват като високо ефективни биоагенти за контрол на *P. aphanidermatum* по краставици (Paulitz, 1997; Rose et al., 2004), *P. ultimum* по домати и краставици в каменна вата (Liu et al. 2009). *Trichoderma virens* Miller, Giddens and Foster и *Gliocladium catenulatum* са показали активност спрямо *P. aphanidermatum*, причиняващ сечене на разсад от краставици, отглеждан в каменна вата (Punja & Yip, 2003). Направената литературна справка разкрива сравнително малко на брой публикации, особено през последните години, посветени на темата за биологична борба с кореновите патогени по краставици, отглеждани хидропонно в каменна вата.

Цел на настоящото изследване беше да се проследи ефектът от приложението на селектиран от нас консорциум от четири вида *Trichoderma* spp., култивирани съвместно, върху проявите на питийно кореново гниене по оранжерийни краставици, отглеждани безпочвено в каменна вата. Изследването насочва вниманието на оранжерийни производители към биологично базирано технологично решение за опазване на оранжерийните краставици от масово разпространени в хидропонните системи патогени от род *Pythium*, причиняващи гниене по корените и базите на растенията.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Място и условия на провеждане на изследването

Настоящото изследване включваше два последователно проведени опита в хидропонна (безпочвена) система, изградена от каменна вата в експериментална оранжерия на отдел „Защита на растенията”, ИПАЗР „Никола Пушкиров” гр. Костинброд. Други два опита бяха проведени при производствени условия

в съседни, изолирани един от друг оранжерийни блока на промишлен комплекс „Росела“ ЕООД, гр. Симитли, област Благоевград с хидропонно отглеждане на краставици в същия безпочвен субстрат.

Многокомпонентен биофунгицид: видо- състав и производство на инокулум

В качеството на биологичен агент в това изследване беше използван предварително формулиран консорциум от четири съвместими, интерактивни щама на гъби-антагонисти от род *Trichoderma*, включващ видовете *Trichoderma* spp. в т.ч. видовете *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf & Nirenberg (syn.: *T. harzianum* Rifai, изолат PPI-Tr6-Th23), *T. koningii* Oud. (PPI-Tr6-Tk9), *T. polysporum* (Link) Rifai (PPI-Tr6-Tr11) и *Trichoderma gamsii* Samuels & Druzhin. (syn.: *T. viride* Pers. ex Fries, PPI-Tr6-Tv3). Четирите съставни компонента от консорциума бяха предварително изолирани от почви в оранжерии с отглеждане на зеленчукови култури. След идентифициране до вид и предварителни тестове за ефикасност (ефективност, фитотоксичност и евентуален стимулиращ ефект върху културите) спрямо болести, причинявани от почвено преносими патогени при домати, краставици, пипер, цветя и др., по отделно и в комбинации, изходните щамове бяха смесвани при лабораторни условия, култивирани и поддържани и тествани съвместно, като многокомпонентен биофунгицид. Комбинирано приложение на четирите изолата на *Trichoderma* spp. в предишни изследвания показва адитивно взаимодействие и по-висока ефективност в борбата с почвенопреносими фитопатогенни гъби и гъбоподобни оомицети, отколкото при използване на всеки един от изолатите поотделно, както и липса на фитотоксичност спрямо третираните растения (Въчев, *непубликувани данни*). Като хранителна среда за производство на чиста култура от биоагентите бяха използвани предварително автоклавиращи при 121 °C за 30 min ечемичени зърна. Културите бяха развивани в продължение на 21 дни при 26 °C на тъмно.

Опити в експериментална хидропонна система

Опитите в експериментално създадената хидропонна система бяха проведени с „матраци“ от каменна вата (130 x 20 x 10 cm), тип Grogan Master, всеки с четири квадратни отвора 10 x 10 cm, разположени симетрично в полиетиленовото покритие по дължината на матрака с отстояние 22 cm един от друг. Предварително матраците от каменна вата бяха използвани за промишлено производство на краставици в производствена оранжерия (Росела ЕООД, гр. Симитли). В предварителни наблюдения беше установено силно нападение от питийно кореново гниене по краставичните растения, отглеждани в производствената оранжерия. При направените фитопатологични анализи бяха установени инфекции по корените и основата на стъблата на растенията от оомицети от род *Pythium*, в т.ч. *P. ultimum*, *P. aphanidermatum*, както и представители на Група G и Група F, съответно с глобуларни и филаментозни зооспорангии.

Схема на опитите. Матраците от каменна вата бяха разполагани върху бетонен плот в застъклена експериментална оранжерия. Всеки вариант се състоеше от по четири независими повторения, разположени в четири рандомизирани блока. Всяко повторение (експериментална единица) се състоеше от по два матрака от каменна вата, разположени последователно по дължина и формиращи непрекъснатата леха (ред). Върху всеки матрак бяха култивирани по четири краставични растения (по осем за повторение) на разстояние 30-31 cm между отделните растения в реда.

Условия на култивиране на растенията в експериментална хидропонна система. Матраците от каменна вата бяха разполагани в застъклена оранжерия, върху бетонен плот по напълно рандомизирана блокова схема. Съобразно технологията на производство (Росела ЕООД), върху всеки матрак бяха разполагани по четири кубчета от каменна вата (10 x 10 cm). Каменната вата беше насищана с фертигационен разтвор (pH ca. 5.5; електропроводимост 2.3-2.4 mS/cm), съдържащ

125 mg $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 100 mg KNO_3 , 6% Fe (Fe-DTPA), 2 mg NH_4NO_3 , 50 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, монокалий фосфат (MPK, 52% P_2O_5 ; 34% K_2O), 0.175 mg MnSO_4 , 0.15 mg ZnSO_4 , 0.3 mg $\text{B}_4\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 0.028 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и 0.012 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ L^{-1} вода. По едно семе от краставица (*Cucumis sativus*, с. Гергана) беше поставяно в семенната празнина на всяко кубче и покривано с компостна смес. В зависимост от възрастта на растенията, те бяха фертигирани 2-5 пъти на седмица с хранителен разтвор. Температурата в оранжерията варираше между 14 °C и 34 °C, а атмосферната влага – между са. 60% и 90%.

Гъбни патогени и инокулиране. При двата експеримента, с цел повишаване и изравняване на инфекциозния потенциал на използваните матраци от каменна вата, беше внасяна смес от инокулум на три изолата от род *Pythium*, в т.ч. вида *P. aphanidermatum* (изолат PPI K-337-AB), *Pythium* sp. група G (PPI K-355-A) и *Pythium* sp. група F (PPI K-358-BC). Изолатите са част от колекцията от патогенни гъби на отдел „Защита на растенията, гр. Костинброд” и бяха получени при предходещи изследването фитопатологични анализи на болни краставични растения, отглеждани хидропонно. Трите изолата бяха култивирани в чисти култури върху течна Овесена среда, в Петриеви блюда с диаметър 15 cm, при температура 26 °C, на тъмно, в продължение на 14 дни. Развитият във всяко блюдо мицел беше събиран, внимателно промиван на течаща вода за да се отстранят остатъците от хранителната среда, смесван и смилан при висока скорост в домакински миксер. Полученият инокулум беше суспендиран в стерилна дестилирана вода до концентрация 1×10^4 cfu ml^{-1} . По 180 ml от суспензията бяха добавяни в равни количества (х 65 ml) през всеки от отворите на полиетиленовото покритие на матраците от каменна вата.

Подготовка и приложение на биологичния агент. От развитата споровата маса на гъбните биоагенти беше приготвян изходен воден разтвор – спорова суспензия с титър $5.0\text{--}7.5 \times 10^8$ ml^{-1} . За целта обхванатите от гъбите

ечемичени зърна бяха потапяни във предварително подготвен фертигационен разтвор. След интензивно разбъркване за освобождаване на споровата маса, работният разтвор беше двукратно прецеждан през фина пореста материя за отстраняване на зърната и други по-едри частици. Титърът на получената споровата суспензия беше отчитан с помощта на хемацитометър и довеждан до желаната концентрация.

В опитите, провеждани в експериментална хидропонна система по 1 L от изходния разтвор бяха добавяни към 10 L фертигационен разтвор. Полученият работен разтвор (спорова суспензия) беше използван веднага за третиране чрез ръчна поливка на опитните растения. Вариантите включваха 0, 1, 2 или 3 последователни третираня с биоагент. По варианти първото третиране беше осъществявано на седмия ден след сеитбата, непосредствено след поникване на всички опитни растения, а следващите две следваха през интервали от 14 дни. Всяко растение беше поливано с по 150 ml от работния разтвор, внасян около основата на стъблото върху кубчето от каменна вата. Нетретираната контрола и растенията от съответни варианти без третиране в конкретния ден бяха поливани с по 150 ml фертигационен разтвор без добавка на биоагент.

Опити при производствени оранжерийни условия

Схема на опитите. Предвид производствения характер на изследването, в два съседни оранжерийни блока с отглеждане на краставици (сорт Boncanale F1, Rijk Zwaan, Нидерландия), бяха подбрани по три изолирани производствени участъка, всеки от по 5.6 декара – по един за всеки вариант. На базата на съществуващите поливни единици площта на всеки вариант беше разделяна на по две съседни дробни парцели от по 2.8 декара, съответно със и без третиране с биоагент. Така към всеки вариант със третиране беше оформяна по една прилежаща нетретирана контрола. Избраният експериментален дизайн имаше за цел да избегне или ограничи

евентуалното пространствено вариране в интензитета на заболяването в опитната площ. Допълнително, за статистическа пригодност на данните от опитите, всяка третирана и прилежащата ѝ нетретирана площ бяха разделени на по три субпарцели – повторения, всяко от които беше отчитано самостоятелно.

Подготовка и приложение на биологичния агент при производствени условия. По идентичен начин на описания по-горе, в опитите на терен от съвместно култивирани гъбни биоагенти беше приготвяна споровата суспензия с титър $5.0-7.5 \times 10^8 \text{ ml}^{-1}$. По 30 L от изходния разтвор бяха добавяни към бункера (300 L смесителна бака) с хранителен разтвор, предназначен за фертигация на краставичните растения в оранжерията. По капковата система биоагентът беше довеждан до зоната на корените на растенията с по 150 ml хранителен разтвор за всяко растение. Първото третиране беше провеждано непосредствено след разсаждане на растенията във фенофаза 2-3 лист (ВВСН 12-13). И тук опитните варианти включваха 0, 1, 2 или 3 последователни третираня, следващи през времеви интервали от 30 дни и проведени съответно в средата на март, април и май, 2021 и 2022 г. По варианти второто третиране беше проведено във фаза 10-12 листа на главното стъбло (ВВСН 19), а трето – в началото на плододаване (ВВСН 71-72).

Тип и време на отчитане.

Във всички опити – в експериментална хидропонна система и на терен в производствена оранжерия, по повторения и варианти беше отчитан броят, респективно % на трайно увехналите и загинали краставични растения с покафеняване на основата на стъблото. Провеждани бяха по три последователни отчитания за всеки опит: първо отчитане непосредствено преди второ третиране; второ – непосредствено преди трето третиране и трето – 15 дни след последното третиране. Последно, трето отчитане в опитите при производствени условия беше провеждано към края

на вегетационния сезон. При второ и трето отчитане във всички опити към видимо болните растения бяха добавяни вече изкоренените, трайно увехнали и изсъхнали растения, за чийто брой, освен от данните от предходни отчитания, се съдеше и по празните места върху матраците от каменна вата. Данните за разпространението на заболяването от всеки вариант бяха сравнявани с тези от съответната нетретирана контрола – „включена” за опитите в експерименталната система и „прилежаща” за опитите на терен. От всеки опит, вариант, респективно нетретирана контрола бяха събирани симптомни растения, които бяха подлагани на фитопатологичен анализ за потвърждаване на естеството на болестта.

Статистически анализи

Получените експериментални данни бяха анализирани след статистическа обработка по метода на вариационния анализ (ANOVA), използващ *F*-тест за оценка на значимостта на анализа и *t*-тест за значимост на разликите при нива на достоверност при $P = 0.05$, $P \leq 0.01$ и $P = 0.001$ (Gardiner, 1997). Всички анализи са извършвани с програмен продукт, разработен в отдел „Защита на растенията”, гр. Костинброд (С. Манева, *непубликувани материали*).

Ефективност на третиране

Ефективността от приложението на изпитвания биоагент или нивото на контрол по варианти беше изчислявано по формулата на Abbott (1925) след последното, трето отчитане:

$$E\% = 100 - (T \times 100 / K), \text{ където:}$$

E% – ефективност на третирането, ниво на контрол;

T – % видимо болни растения във вариант с третиране;

K – % видимо болни растения в съответен контролен вариант без третиране.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Опити в експериментална хидропонна система

В опитите, проведени в експериментално създадена хидропонна система от каменна вата бяха отчетени относително високи нива на нападение от питийно кореново гниене по опитните краставични растения във нетретирания вариант – 65.0% болни растения до петдесетия ден от сеитбата (инокулирането) на семената (таблица 1). Във всички варианти с третиране на растенията със смес от четири вида *Trichoderma* spp. беше наблюдавано редуциране на честотата на срещане на болестта. Статистическа значимост на разликите в нападението от това в контролата беше установена във вариантите с двукратно и трикратно внасяне на биоагента по време на вегетацията на растенията. Макар че между тези два варианта (3 и 4 на таблица 1) не беше констатирана статистическа разлика, то постигнатите нива на контрол бяха значителни – 50% и 73.1%, съответно след двукратно и трикратно третиране. При всички проведени фитопатологични (микробиологични) анализи на болни растения бяха изолирани представители на род *Pythium*, в т.ч. и видовете, внасяни в каменна вата за допълнително повишаване на инфекциозния потенциал на експерименталната система.

Опити при производствени оранжерийни условия

Резултатите, получени след трите отчитания на опитите, проведени при производствени условия са представени на таблица 2. Видно е, че еднократното внасяне на биоагент в областта на кореновата система на растенията непосредствено след разсаждане на краставиците води до известно инхибиране на заболяването – 10% ефективност. Значително по-силен инхибиращ ефект се наблюдава при двукратно – 64% и трикратно – 40%, третиране на растенията през интервали от 30 дни по време на вегетационния период. При проведените фитопатологични анализи на симптомни растения от всички варианти по време на вегетацията бяха установени инфекции по корените и базите на растенията преобладаващо от *Pythium* spp., но така също и от вида *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. Двете таксономични единици бяха изолирани самостоятелно от различни краставични растения или съвместно от нападнати коренови тъкани на едно и също растение.

Сред установените от нас патогени, причиняващи кореново и базично гниене, и преждевременно загиване на краставичните расте-

Таблица 1. Ефект от различни режими на третиране с *Trichoderma* spp. върху питийно кореново гниене по оранжерийни краставици в експериментална хидропонна система от каменна вата
Table 1. Effect of different treatment regimens with *Trichoderma* spp. on *Pythium* root rot of greenhouse cucumbers in a experimental rockwool hydroponic system

№	Брой приложения на биоагента/Numbers of bioagent's applications	Разпространение на болестта/Disease incidence (DI, %) ^a	Инхибиране на болестта/ Disease inhibition (%) ^c
1	Нетретирана контрола/Untreated control	65.0 ± 17.72 a ^b	-
2	Еднократно/Single application	55.0 ± 14.14 a	15.4
3	Двукратно/Double application	32.5 ± 14.88 b	50.0
4	Трикратно/Triple application	17.5 ± 1.69 b	73.1

$F = 14.59$; $Se = 5.62996$; $P = 0.00017$; $LSD_{0.05} = 16.3094$

^aОтчетено на 50-тия ден след сеитба (инокулиране) на растенията./Disease incidence was scored as the percentage of diseased cucumber plants on the day 50 after sowing (seed inoculation).

^bСтойности в колоната, обозначени с различен буквен символ са статистически различни при $P \leq 0.05$, съгласно метода за разпределение на Duncan./Means within the column followed by different letter are significantly different according to Duncan's range test.

^cИзчислено по формулата на Abbott (Abbott, 1925)./Calculated according to the Abbott's formula (Abbott, 1925).

Таблица 2. Ефект от различни режими на третиране с *Trichoderma* spp. върху питийно кореново гниене по оранжерийни краставици, отглеждани в каменна вата при производствени условия
Table 2. Effect of different treatment regimens with *Trichoderma* spp. on Pythium root rot of greenhouse cucumbers grown in rockwool under production conditions

№	Брой приложения на биоагента/ Numbers of bioagent's applications	DI (%) ^a	F	Sd	LSD _{0.05}	Статистическа доказаност/ Statistical significance ^b	Ниво на контрол/ Level of control ^c (%)
1	Нетретирана контрола/Untreated	29.21	31.22	0.371	1.995	-	-
2	Еднократно/Single application	26.28				+	10.03
3	Нетретирана контрола/Untreated	40.07	26.03	5.103	16.23	-	-
4	Двукратно/Double application	14.30				+++	64.31
5	Нетретирана контрола/Untreated	27.39	10.69	3.42	10.82	-	-
6	Трикратно/Triple application	16.21				+	40.82

^aРазпространението на болестта изразява общия процент болни растения, отчетен до фаза плододаване към края на вегетационния сезон./Disease incidence was expressed as the percentage of diseased cucumber plants shortly before the ending of the crop-growing season.

^bСтатистическа доказаност/Statistical significance: + = P≤0.05; ++ = P≤0.01; +++ = P≤0.001.

^cНивото на контрол (% инхибиране на болестта) е изчислено по формула на Abbott (1925)./Calculated according to the Abbott's formula (Abbott, 1925).

ния, отглеждани хидропонно в каменна вата бе и видът *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. У нас заболяването, причинявано при самостоятелно нападение от този вид е известно като Фузарийно кореново и стъблено гниене по краставици и други видове от сем. *Cucurbitaceae* (Vatchev, 2007; 2015). Съдейки по културалните характеристики на изолатите от вида *Fusarium oxysporum* и на база проявите на заболяване – кореново и базично гниене, които предизвикват, счетохме, че се касае за f.sp. *radicis-cucumerinum* Vakalounakis на патогена (Vatchev, 2007, Въчев, *непубликувани данни*). В хидропонните системи патогенът, респ. заболяването се срещат самостоятелно или в смесени инфекции с видове от род *Pythium* (Rose et al., 2004; Punja et al., 2019).

Дискусия

Резултатите от настоящото изследване убедително показват възможността за значително ограничаване на нападението от питийно кореново гниене по оранжерийни

краставици, отглеждани в каменна вата чрез използване на консорциум от четири вида съвместно култивирани *Trichoderma* spp. В опитите, проведени в експериментално създадена хидропонна система беше отчетено значително редуциране на болестта с 50% и 73% след двукратно и трикратно третиране на растенията с изпитвания биофунгицид през вегетационния период. Това даде основание изследването да се пренесе в условията на производството в оранжерии. Там, макар и статистически значимо, постигнатото редуциране на болестта с 10% в резултат на еднократно третиране на растенията след засаждане на постоянно място би било стопански неефективно от гледна точка на опазване на оранжерийните краставици от кореново и базично гниене при отглеждане в каменна вата. Достигнатите нива на контрол в производствена оранжерия от 60% и 40%, съответно при двукратно и трикратно третиране, дават основание да се приеме, че разработваната технология за приложение на *Trichoderma* spp. е ефективна за опазване на краставици

от кореново и базично гниене при култивиране на растенията в безпочвени субстрати.

Получените резултати в това изследване са изцяло в съответствие с известното от литературата. Голяма част от видовете, представители на род *Trichoderma* се отличават с висока конкурентна способност, антагонистична и антибиотична активност към широк кръг от почвени фитопатогени, в т.ч. *Pythium* spp. и *Fusarium* spp., атакуващи корени и бази на растенията, поради което са сред най-широко използваните биоагенти при краставици и много други култури (Venitez et al., 2004; Puyam, 2016; Köhl et al., 2019 и много други). Като почвообитаващи гъби, *Trichoderma* spp. естествено обитават ризосферата и повърхността на корените на краставици и редица други растителни видове (Menzies et al., 2005). В литературата има редица съобщения за представители на рода, които са в състояние да колонизират епидермиса и външните клетъчни слоеве на кореновата система (Yedidia et al., 2000). Популационната плътност на видове от род *Trichoderma* в безпочвени субстрати обаче е относително ниска, особено в хидропонни системи, изградени с нов, неизползван субстрат (Postma et al., 2005; 2008). Този факт изключва възможността за ефективен биоконтрол, базиран на резидентни популации на видове *Trichoderma* при хидропонно отглеждане на културите. За употреба при краставици и други култури, отглеждани хидропонно се препоръчват редица търговски продукти, създадени на базата на различни *Trichoderma* spp., в т.ч. видове, включени в настоящото изследване, като *T. asperellum* и *T. gamsii*. Наред с тях за същите цели се предлагат формулации с участие на видове от род *Gliocladium*, *Coniothyrium*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Pseudomonas* и др. (Alsanius & Wohanka, 2019).

Това изследване е базирано върху приложението на смес от четири взаимно съвместими видове биологични агенти (посочени по-горе), предварително изолирани, многократно изпитвани в предишни опити и дока-

зали своята антагонистична активност спрямо почвени фитопатогени – самостоятелно и в комбинации. Използването на консорциуми от отделни щамове или видове биоагенти (Wong et al., 2019; Chen et al., 2021) или смес от екстракти на техни метаболити (Chen et al., 2023) не е новост в биологичния метод за борба срещу почвени и други фитопатогени. Сред предимствата на този подход е потенциално по-широкият спектър от патогени и заболявания, които един многокомпонентен биоагент (биофунгицид) би могъл да предложи. Допълнително предимство са възможните интерактивни взаимодействия между отделните компоненти, водещи до адитивен или синергистичен ефект по отношение на прицелните патогени, както и достатъчна ефективност при различни условия на средата. Предизвикателство е съчетаването на различни таксономични единици с подходяща съвместимост помежду им и възможност да бъдат култивирани, и прилагани комбинирано без риск от фитотоксичност и други нежелани ефекти за третираните растения. За друг изкуствено създаден консорциум, комбиниращ щамове на *Trichoderma* и *Aspergillus*, с биологична активност спрямо *Fusarium oxysporum* и стимулиращ растежа на краставици съобщават Нao et al. (2022). Уникален в настоящото изследване е предлаганият от нас начин на приложение на биоагент, в частния случай *Trichoderma* spp. Методът включва приготвяне на спорова суспензия на биоагента (биофунгицид) директно във фертигационния разтвор, предназначен за подхранване и поливка, и довеждане до зоната на корените на безпочвено отглежданите растения чрез поливната (капкова) инсталация на оранжерията.

В нашето изследване при производствени условия беше отбелязана привидна нестабилност на отчетените ефекти – по-висока ефективност на третирането във вариант с двукратно от този с трикратно третиране. Това се обяснява с неравномерното разпределение на инокулума на патогените, а оттам и на съществени различия в инфекциозния фон в от-

делните компоненти на хидропонната система в рамките на една и съща производствена единица (блок) на оранжерията. Така отчетените резултати оправдават прилагания от нас и съобразен с конкретните условия статистически дизайн на опитите с прилежащи контроли към всяко повторение на всеки един от вариантите с третиране. Считаме, че за постигане на пълен контрол над болестта на терен, насищането с биологичен агент на безпочвения субстрат около корените на растенията би трябвало да се комбинира с предвегетационно обеззаразяване на капковата инсталация и използваната каменната вата (между първа и втора култура краставици) чрез прилагане на подходящ за целта метод (Postma et al., 2009; Maucieri et al., 2019). Авторите предлагат загряване на хранителния разтвор до висока температура (95 °C), третиране с UV радиация или филтриране на хранителния разтвор през пясъчни и други механични филтри. Методът за борба чрез постоянно филтриране е широко разпространен, особено в затворените хидропонни системи с рециркулиращ фертигационен разтвор (Goldberg, 1992). Към използваните химични агенти за дезинфекция на хидропонните системи извън вегетацията се посочват още обеззаразяване с озон (O₃), водороден прекис (H₂O₂) или натриев хипохлорид (NaOCl) (Maucieri et al., 2019).

Данните от опитите на терен също така сочат, че изпитваният многокомпонентен биоагент би способствал за ограничаване на съвместното нападение от двете основни болести по хидропонно отглеждани краставици – питийно и фузариено кореново гниене. Макар че причинителят на второто заболяване – *F. oxysporum*, в това и в предходни изследвания беше установяван със значително по-ниска честота на срещане от *Pythium* spp., очевидно е, че и този вид също ще играе роля в етиологията на проявите на гниене по корените и базите на краставичните растения. Това обстоятелство трябва да се има предвид при разработване на растителнозащитни програми за опазване на културата при хидропонни условия на отглеждане.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Това изследване предлага технологично решение за опазване на оранжерийни краставици от болести по корените и базите на растенията, чрез прилагане на несъобщаван досега консорциум от биоагенти от род *Trichoderma*, включващ видовете *Trichoderma asperellum* (syn.: *T. harzianum*), *T. koningii*, *T. polysporum* и *Trichoderma gamsii* (syn.: *T. viride*). В съответствие с известното ни от литературните източници, методът на приложение носи оригинален характер: включва съвместно култивиране на биоагентите, приготвяне на спорова суспензия директно във фертигационния разтвор за подхранване и поливане, и третираните на растенията чрез поливната (капкова) инсталация. Подходът би могъл да се прилага самостоятелно, особено в нов и неизползван за отглеждане на предишна култура безпочвен субстрат. Допълнителни изследвания са необходими за оптимизиране на условията на приложение, като брой, интервали и фенофази на третиране, и оптимална концентрация на споровата суспензия в разтвора. Комбинирано прилагане с методи за дезинфекция на безпочвения субстрат и поливната инсталация са препоръчителни в случаи на констатирано силно нападение по предходната култура, отглеждана в същия субстрат.

ЛИТЕРАТУРА

- Abbott, W. S.** (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Alsanius, B. W. & Wohanka, W.** (2019). Root Zone Microbiology of Soilless Cropping Systems. Chapter 5, pp. 149–194 In: Raviv, M., Lieth, J.H., Bar-Tal, A., Eds.; *Soilless Culture*, 2nd ed., Elsevier, Boston, MA, USA. DOI:10.1016/B978-0-444-63696-6.00005-0.
- Asran, A. & Abd-Elsalam, K. A.** (2020). Top Three Plant Pathogenic *Pythium* Species. In: Rai, M., Abd-Elsalam, K.A., Ingle, A.P., (eds.) *Pythium: Diagnosis, Diseases and Management*. CRC Press, pp. 77-91, 386 p.
- Benitez, M. T., Ana, M., Rincón, M., Carmen, L. A. & Codón, C.** (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Journal of Microbiology*, 7: 249-260.

- Chatterton, S., Jayaraman, J. & Punja, Z. K.** (2008). Colonization of cucumber plants by the biocontrol fungus *Clonostachys rosea* f. *catenulate*. *Biological Control*, 46: 267-278.
- Chen, L., Hao, D., Dou, K., Lang, B., Wang, X., Li, Y. & Chen, J.** (2023). Preparation of High Water-Soluble *Trichoderma* Co-Culture Metabolite Powder and Its Effects on Seedling Emergence Rate and Growth of Crops. *J. Fungi*, 9, 767. <https://doi.org/10.3390/jof9070767>
- Chen, D., Hou, Q., Jia, L. & Sun, K.** (2021). Combined Use of Two *Trichoderma* Strains to Promote Growth of Pakchoi (*Brassica chinensis* L.). *Agronomy*, 11, 726. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040726>
- Cherif, M. & Belanger, R. R.** (1992). Use of potassium silicate amendments in recirculating nutrient solutions to suppress *Pythium ultimum* on Long English Cucumber. *Plant Disease*, 76: 1008-1011.
- Clematis, F. A., Minuto, A., Gullino, M. L., & Garibaldi, A.** (2009). Suppressiveness to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in re-used perlite and perlite-peat substrates in soilless tomatoes. *Biological Control*, 48: 108-114.
- Favrin, R. J., Rahe, J. E., & Mauza, B.** (1988). *Pythium* spp. associated with crown rot of cucumbers in British Columbia greenhouses. *Plant Disease*, 72: 683-687.
- Folman, L. B., Postma, J. & Van Veen, J. A.** (2003). Characterization of *Lysobacter enzymogenes* (Christensen and Cook, 1978) strain 3.IT8, a powerful antagonist of fungal diseases of cucumber. *Microbiological Research*, 158: 107-115.
- Gardiner, W.P.** (1997). *Statistics for the biosciences: data analysis using minitab software*. Prentice Hall, London, 416 p.
- Goldberg, N. P., Stanghellini, M. E., & Rasmussen, S. L.** (1992). Filtration as a method for controlling *Pythium* root rot of hydroponically grown cucumbers. *Plant Disease*, 76: 777-779.
- Gull, C., Labuschagne, N., & Botha, W. J.** (2004). *Pythium* species associated with wilt and root rot of hydroponically grown crops in South Africa. *African Plant Protection*, 10: 109-116.
- Hao, D., Lang, B., Wang, Y. Liu, X., & Chen, T.** (2022). Designing synthetic consortia of *Trichoderma* strains that improve antagonistic activities against pathogens and cucumber seedling growth. *Microbial Cell Factories*, 21, 234. doi.org/10.1186/s12934-022-01959-2
- Herrero, M. L., Hermansen, A., & Elen, O. N.** (2003). Occurrence of *Pythium* spp. and *Phytophthora* spp. in Norwegian greenhouses and their pathogenicity on cucumber seedlings, *Journal of Phytopathology*, 151, 36-41. [doi:10.1046/j.1439-0434.2003.00676.x](https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2003.00676.x)
- Jenkins, S. F., & Averre, C. W.** (1983). Root diseases of vegetables in hydroponic culture systems in north Carolina greenhouses. *Plant Disease*, 67: 968-970.
- Köhl, J., Kolnaar, R. & Ravensberg, W. J.** (2019). Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. *Frontiers in Plant Science*, 10, 19 p. [doi:10.3389/fpls.2019.00845](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845)
- Liu, J. B., Gilardi, G., Gullino, M. L., & Garibaldi, A.** (2009). Effectiveness of *Trichoderma* spp. obtained from re-used soilless substrates against *Pythium ultimum* on cucumber seedlings. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 116: 156-163.
- Maucieri, C., Nicoletto, C., Os, E.V., Anseeuw, D., Havermaet, R.V., & Junge, R.** (2019). Hydroponic Technologies. In: S. Goddek, A. Joyce, B. Kotzen, & G.M. Burnell (Eds.), *Aquaponics Food Production Systems: Combined Aquaculture and Hydroponic Production Technologies for the Future* (pp. 77-110). Springer International Publishing, 619 p. https://doi.org/10.1007/978-3-030-15943-6_4.
- McCullagh, M., Utkhede, R., Menzies, J. G., Punja, Z. K., & Paulitz, T. C.** (1996). Evaluation of plant growth-promoting rhizobacteria for biological control of *Pythium* root rot of cucumbers grown in rockwool and effects on yield. *European Journal of Plant Pathology*, 102: 747-755. [doi:10.1007/bf01877149](https://doi.org/10.1007/bf01877149)
- Menzies, J. G., Ehret, D. L., Koch, C., Hall, J. W., Seifert, K. A., Bissett, J., & Barr, D. J.** (2005). Fungi associated with roots of cucumber grown in different greenhouse root substrates. *Canadian Journal of Botany*, 83: 80-92. [doi:10.1139/b04-153](https://doi.org/10.1139/b04-153)
- Minuto, A., Clematis, F., Gullino, M. L., & Garibaldi, A.** (2007). Induced suppressiveness to *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in rockwool substrate used in closed soilless systems. *Phytoparasitica*, 35: 77-85.
- Moulin, E., Lemanceau, P., & Alabouvette, C.** (1994). Pathogenicity of *Pythium* species on cucumber in peat-sand, rockwool and hydroponics. *European Journal of Plant Pathology*, 100: 3-17.
- Paulitz, T.** (1997). Biological control of root pathogens in soilless and hydroponic systems. *HortScience*, 32: 193-96.
- Paulitz, T. C., Zhou, T. & Rankin, L.** (1992). Selection of rhizosphere bacteria for biological control of *Pythium aphanidermatum* on hydroponically grown cucumber. *Biological Control*, 2: 226-237. [doi:10.1016/1049-9644\(92\)90063-j](https://doi.org/10.1016/1049-9644(92)90063-j).
- Postma J., Bonants P. J. M., & van Os E. A.** (2001). Population dynamics of *Pythium aphanidermatum* in cucumber grown in closed systems, Mededelingen - Universiteit Gent, Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, 66: 47-59.
- Postma J., Geraats B. P. J., Pastoor R., & van Elsas J. D.** (2005). Characterization of the microbial community involved in the suppression of *Pythium aphanidermatum* in cucumber grown on rockwool, *Phytopathology*, 95: 808-818.

- Postma J., Stevens L. H., Wieggers G. L., Davelaar E., & Nijhuis E. H.** (2009). Biological control of *Pythium aphanidermatum* in cucumber with a combined application of *Lysobacter enzymogenes* strain 3.IT8 and chitosan, *Biological Control*, 48: 301-309.
- Postma, J., van Os, E., & Bonants, P. J. M.** (2008). Pathogen detection and management strategies in soilless plant growing systems, Chapter 10, pp. 425-457, In: Raviev, M., Lieth, J.H. (eds.), *Soilless culture: theory and practice*. Amsterdam: Elsevier - ISBN 9780444529756.
- Punja, Z. K., & Parker, M.** (2000). Development of *Fusarium* root and stem rot, a new disease on greenhouse cucumber in British Columbia, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 22: 349-363.
- Punja, Z. K., Tirajoh, A., Collyer, D., & Ni, L.** (2019). Efficacy of *Bacillus subtilis* strain QST 713 (Rhapsody) against four major diseases of greenhouse cucumbers. *Crop Protection*, 124, 104845. doi:10.1016/j.cropro.2019.104845.
- Punja, Z. K., & Yip, R.** (2003). Biological control of damping-off and root rot caused by *Pythium aphanidermatum* on greenhouse cucumbers. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 25: 411-417.
- Puyam, A.** (2016). Advent of *Trichoderma* as a bio-control agent-A review. *Journal of Applied and Natural Science*, 8: 1100-1109. Available at: <https://library.net/document/qojjrg5z-advent-trichoderma-bio-control-agent-review.html>.
- Rafin, C. & Tirilly, Y.** (1995). Characteristics and pathogenicity of *Pythium* ssp. associated with root rot of tomatoes in soilless culture in Brittany, France. *Plant Pathology*, 44: 779-785.
- Rivas-García, T., González-Estrada, R. R., Chiquito-Contreras, R. G., Reyes-Pérez, J. J., González-Salas, U., Hernández-Montiel, L. G., & Murillo-Amador, B.** (2020). Biocontrol of Phytopathogens under Aquaponics Systems. *Water*, 12: 2021, 15 p. doi:10.3390/w12072061.
- Rose, S., Yip, R. & Punja, Z. K.** (2004). Biological control of *Fusarium* and *Pythium* root rots on greenhouse cucumbers grown in rockwool. *Acta Horticulturae*, 635: 73-78. doi:10.17660/actahortic.2004.635.9
- Stanghellini, M. E., White, J. G., Tomlinson, J. A. & Clay, C.** (1988). Root rot of hydroponically grown cucumbers caused by zoospore-producing isolates of *Pythium intermedium*. *Plant Disease*, 72: 358-359.
- Sutton, J. C., Sopher, C. R., Owen-Going, T. N., Liu, W., Grodzinski, B., Hall, J. C., & Benchimol, R. L.** (2006). Etiology and epidemiology of *Pythium* root rot in hydroponic crops: current knowledge and perspectives. *Summa Phytopathologica*, 32: 307-321. doi:10.1590/s0100-54052006000400001.
- Vallance, J., Déniel, F., Floch, G., Guérin-Dubrana, L., Blancard, D., & Rey, P.** (2011). Pathogenic and beneficial microorganisms in soilless cultures. *Agronomy for Sustainable Development*, 31: 191-203. doi:10.1051/agro/2010018.
- van der Gaag D. J., & Wever G.** (2005). Conduciveness of different soilless growing media to *Pythium* root and crown rot of cucumber under near-commercial conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 112: 31-41.
- van der Plaats-Niterink, A. J.** (1981). Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology*, 21: 1-242.
- Vatchev, T. D.** (2007). First report of *Fusarium* root and stem rot of greenhouse cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* in Bulgaria. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13: 151-152.
- Vatchev, T. D.** (2015). *Fusarium* root and stem rot of greenhouse cucumber: aerial distribution of inoculum. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21: 656-660.
- Wong C. K. F., Saidi, N. B., Vadamalai, G., Teh, C. Y., & Zulperi, D.** (2019). Effect of bioformulations on the biocontrol efficacy, microbial viability and storage stability of a consortium of biocontrol agents against *Fusarium* wilt of banana. *Journal of Applied Microbiology*, 127, 544-555.
- Yedidia, I., Benhamou, N., Kapulnik, Y., & Chet, I.** (2000). Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38: 863-873.
- Zhao, Z. H., Kusakari, S. I., Okada, K., Miyazaki, A., & Osaka, T.** (2000). Control of *Pythium* root rot on hydroponically grown cucumbers with silver-coated cloth. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 64: 1515-1518. doi:10.1271/bbb.64.1515

Received: March, 14, 2024; Approved: April, 26, 2024; Published: August, 2024