ATTIVITÀ ANTIMICROBICA *IN VITRO* DI TIOFANATE METILE, FLUTOLANIL E CEPPI DI *STREPTOMYCES* SPP. VERSO FUNGHI PATOGENI TERRICOLI

A.D. MARSICO [1], G. BUBICI[2], M. CIRULLI[1], F. GUASTAMACCHIA[3], A. CAPELLA[3] ,V. POLISENO[1],M. AMENDUNI[1]

[1]Dipartimento di Scienza del Suolo della Pianta e degli Alimenti, Università di Bari via G. Amendola 165/A 70126 Bari

[2]Istituto di Virologia Vegetale, Consiglio Nazionale delle Ricerche, via G. Amendola 165/A 70126 Bari

[3]Sipcam Italia S.p.A. - S.S. Sempione 195 20016 Pero (MI)

g.bubici@ba.ivv.cnr.it

RIASSUNTO

Lo spettro di attività antimicrobica *in vitro* di tiofanate metile, flutolanil, *Streptomyces lydicus* ceppo *WYEC 108* e *Streptomyces* sp. ceppo *AtB-42* è stato valutato nei confronti di otto funghi fitopatogeni terricoli: *Pythium* sp., *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Phytophthora* sp. e *Cylindrocarpon destructans*. Tiofanate metile è risultato particolarmente efficace nel ridurre la crescita di *C. destructans* (CL50=0,05 g/L, CL95=9,5 g/L), *F. solani* (CL50=0,006 g/L, CL95=10,0g/L), *P. lycopersici* (CL50=0,01 g/L, CL95=0,1 g/L), *S. sclerotiorum* (CL50=0,005 g/L, CL95=0,01 g/L) e *V. dahliae* (CL50=0,006 g/L, CL95=5,8g/L). Flutolanil è risultato, invece, più efficace nei confronti di *R. solani* (CL50=0,0006 g/L, CL95=0,007 g/L). L'attività antimicrobica di tiofanate metile e flutolanil nei confronti di *Pythium* sp. e *Phytophthora* sp. è stata inferiore a quella del formulato di riferimento, propamocarb+fosetil Al. I ceppi di streptomiceti saggiati hanno mostrato uno spettro di attività antimicrobica piuttosto ampia. *S. lydicus WYEC 108* ha completamente inibito la crescita di tutti i fitopatogeni saggiati. *Streptomyces* sp. *AtB-42* e *S. griseoviridis K61*, quest'ultimo utilizzato come ceppo microbico di riferimento in questo lavoro, hanno drasticamente ridotto (rispettivamente almeno 65% e 92%), ma solo in pochi casi inibito totalmente, la crescita dei fitopatogeni.

Parole chiave: streptomiceti, microrganismi benefici, antagonisti microbici, antibiosi, prodotti fitosanitari

SUMMARY

IN VITRO ANTIMICROBIC ACTIVITY OF METHYL THIOPHANATE, FLUTOLANIL AND *STREPTOMYCES* SPP. STRAINS AGAINST SOIL-BORNE PLANT PATHOGENS

The *in vitro* antagonistic activity of methyl thiophanate, flutolanil, *Streptomyces lydicus* strain *WYEC 108* and *Streptomyces* sp. strain *AtB-42* was studied using eight soil-borne plant pathogens. Methyl thiophanate was effective in reducing mycelial growth of *C. destructans* (LC50=0.05 g/L, LC95=9.5 g/L), *F. solani* (LC50=0.006 g/L, LC95=10.0 g/L), *P. lycopersici* (LC50=0.01 g/L, LC95=0.1 g/L), *S. sclerotiorum* (LC50=0.005 g/L, LC95=0.01 g/L) and *V. dahliae* (LC50=0.006 g/L, LC95=5.8 g/L). Flutolanil had the best performance against *R. solani* (LC50 0.0006 g/Land LC95 0.007 g/L). Both fungicides were not superior to propamocarb+fosetil Al, used as reference fungicide in these experiments, in inhibiting *Phytium* sp. and *Phythophtora* sp. growth. *Streptomyces* strains showed wide antimicrobic range. *S. lydicus WYEC 108* inhibited completely the growth of all fungal pathogens tested. *Streptomyces* sp. *AtB-42* and *S. griseoviridis K61*, the latter used here as reference product, reduced significantly (at least 65% and 92%, respectively), but just in a few cases completely, the growth of fungal pathogens.

Keywords: streptomycetes, beneficial microorganisms, biological control agents, antibiosis, plant protection products

INTRODUZIONE

La difesa delle piante orticole da malattie causate da microrganismi legati all'ambiente edafico riveste un ruolo fondamentale nella moderna agricoltura intensiva. La lotta contro queste malattie è basata spesso sull'impiego di mezzi chimici il cui numero sta subendo una continua erosione come effetto combinato di esigenze di tutela ambientale e sanitaria ed elevato costo, per le aziende produttrici di fitofarmaci, delle registrazioni o del loro rinnovo e/o della ricerca di nuovi principi attivi. La fumigazione del terreno con bromuro di metile, almeno per le colture ad alto reddito, è stata per molti anni il metodo più efficace per la lotta contro i patogeni terricoli (Cirulli, 1968). Dopo la revoca dell'uso del bromuro di metile, altri fumiganti meno efficaci, quali cloropicrina e precursori dell'isotiocianato di metile, sono stati utilizzati (Last *et al*., 1966), ma in seguito anche per essi la revoca è divenuta operativa o è stata calendarizzata. I pochi fungicidi rimasti disponibili dopo il processo di revisione europea, offrono una protezione contro i patogeni terricoli talvolta insufficiente ma, più spesso, il loro utilizzo è reso impraticabile a causa di problemi di residualità delle sostanze attive nel prodotto.

Nell'ambito dei metodi di lotta biologica, i più attivi antagonisti microbici finora individuati appartengono ai generi *Trichoderma* (Chet e Baker, 1981; Benhamou e Chet, 1993) e *Streptomyces* (Ciccarese *et al.*, 1994; El-Terabily *et al.*, 2000; Gracia-Garza *et al.*, 2003; Cao *et al.*, 2004; Coombs *et al.*, 2004; Tian *et al.*, 2004). In quest'ambito, ricerche condotte nel corso dell'ultimo decennio presso il Dipartimento di Scienza del Suolo della Pianta e degli Alimenti Università degli Studi di Bari hanno portato all'individuazione di alcuni isolati di *Streptomyces* sp. con spiccata attività antagonistica contro *Verticillium dahliae* Kleb. e, soprattutto, contro *Pyrenochaeta lycopersici* Schneid. & Gerlach, agente della suberosi radicale del pomodoro. Di particolare interesse si è dimostrato uno streptomicete (l'isolato *AtB-42*) che ha determinato in applicazioni di lotta in serra e pieno campo una riduzione del 30% della gravità della suberosi radicale del pomodoro, unitamente ad un incremento del 30% della produzione di frutti (Colella *et al*., 2001; Bubici *et al*., 2013).

Lo scopo di questo lavoro è stato la determinazione dello spettro di attività antimicrobica di tiofanate metile, flutolanil, *Streptomyces lydicus* ceppo *WYEC 108* e *Streptomyces* sp. ceppo *AtB-42* verso funghi fitopatogeni terricoli appartenenti a diversi taxa.

MATERIALI E METODI

Le sostanze attive di sintesi utilizzate sono state: tiofanate metile (Enovit metil FL, 41,7% p.a.), flutolanil (Moncut 50 WP, 50% p.a.) e, come prodotto commerciale di riferimento, propamocarb+fosetil Al (Previcur Energy, 47,2% + 27,6% p.a.). I ceppi microbici utilizzati sono stati: *S. lydicus* ceppo *WYEC 108* (Actinovate, $1 \cdot 10^7$ UFC/g), *Streptomyces* sp. *AtB-42* (Colella *et al.*, 2001; Bubici *et al*., 2013) e, come prodotto commerciale di riferimento, *S. griseoviridis* ceppo *K61* (Mycostop, $5 \cdot 10^8$ UFC/g). Lo spettro di attività antimicrobica è stato determinato utilizzando i seguenti funghi patogeni terricoli: *Pythium* sp., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Rhizoctonia solani* Kühn, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *V. dahliae*, *P. lycopersici*, *Phytophthora* sp. e *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Scholten. Per tale scopo è stato utilizzato il metodo del substrato avvelenato per le sostanze attive di sintesi e il metodo cellophane-agar per i ceppi microbici.

Prova di antagonismo con i principi attivi chimici

Per ciascuna sostanza attiva di sintesi è stata valutata, a differenti concentrazioni, la capacità di inibire la crescita micelica di isolati fungini riferibili ai sopracitati generi. Ciascuna sostanza attiva di sintesi è stata addizionata al substrato nutritivo Potato Destrose Agar (PDA) alle dosi necessarie ad ottenere concentrazioni finali (p/v) di 0 g/L (controllo), 1 g/L, 0,1 g/L 0,01 g/L,

0,001 g/L, 0,0001 g/L, 0,00001 g/L di sostanza attiva di sintesi. Per quanto riguarda Previcur Energy, ai fini di questa prova, è stato considerata quale sostanza attiva il solo propamocarb. Il substrato è stato quindi dispensato in capsule Petri di 86 mm di diametro alla dose di 15 ml per capsula. Dal margine di colonie su PDA di ciascuno dei patogeni fungini considerati sono stati prelevati, mediante un foratappi, tasselli del diametro di 6 mm per poi trasferirli, singolarmente, al centro delle capsule che, poi, sono state poste ad incubare in una camera di crescita (al buio) termostata alla temperatura di 25 °C. Per ciascuna combinazione sostanza attiva di sintesi/dose/patogeno sono state allestite 5 ripetizioni. Sono stati effettuati rilievi ad intervalli regolari di 48 ore misurando la lunghezza di due diametri ortogonali di ciascuna colonia. Il numero di rilievi relativi a ciascun microrganismo fungino è risultato differente in funzione delle rispettive velocità di accrescimento sul substrato privo della sostanza attiva. In particolare, nel caso di *S. sclerotiorum* sono stati eseguiti due rilievi, nel caso di *R. solani* tre rilievi, nel caso di *F. solani* quattro rilievi, nel caso di *Pythium* sp., *Phytophthora* sp. e *C. destructans* sei rilievi, nel caso di *P. lycopersici* otto rilievi ed, infine, nel caso di *V. dahliae* nove rilievi.

Per ciascun agente patogeno fungino, mediante la procedura statistica della regressione lineare, è stata calcolata la velocità di crescita micelica in presenza di ciascuna sostanza attiva di sintesi alle diverse concentrazioni saggiate. Successivamente sono stati individuati i modelli matematici che mettono in relazione la velocità di crescita con le dosi di sostanza attiva impiegata. Da tali modelli sono stati ricavati per interpolazione o estrapolazione i valori di CL50 e CL95, i quali sono stati sottoposti ad analisi della varianza mediante la procedura statistica Anova e le medie di ciascuna tesi sono state comparate mediante test multiplo di Duncan ($P<0,05$)

Prova di antagonismo con i principi attivi microbiologici

In questo caso, la prova è stata condotta mediante la tecnica del "cellophane agar". In capsule Petri del diametro di 86 mm, contenenti 15 ml di substrato nutritivo PDA, è stato posto un disco di cellophane del medesimo diametro, su cui sono stati distribuiti asetticamente 100 µL di ciascun ceppo microbico alla concentrazione di $1 \cdot 10^7$ cfu/mL. Per ciascun patogeno, inoltre, sono state allestite piastre testimone in cui sul disco di cellophane sono stati distribuiti 100 µL di acqua sterile. Le piastre cosi preparate sono state incubate in una camera di crescita (al buio) termostata alla temperatura di 25 °C per sette giorni. Dopo tale periodo i dischi di cellophane, ricoperti dalle colonie di ciascun ceppo microbico, sono stati allontanati e al centro di ciascuna piastra è stato posto un tassello di PDA del diametro di 6.0 mm colonizzato con il micelio di ciascun fungo patogeno. Le piastre cosi allestite sono state poste in una camera di crescita (al buio) termostata alla temperatura di 25 °C. Per ciascuna combinazione Streptomicete/patogeno sono state allestite 5 ripetizioni. Per ciascun microrganismo fungino sono stati eseguiti rilievi ad intervalli regolari di 48 ore, in cui sono state eseguite misurazioni lineari del diametro longitudinale e trasversale della colonia.

Per ciascun agente patogeno fungino, mediante la procedura statistica della regressione lineare, è stata calcolata la velocità di crescita micelica in presenza di ciascun fungicida. I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza mediante la procedura statistica Anova e le medie di ciascuna tesi sono state comparate mediante test multiplo di Duncan ($P<0,05$).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Prova di antagonismo con formulati chimici

Le sostanze attive di sintesi saggiate alle diverse concentrazioni, hanno variamente ridotto la velocità di accrescimento micelico giornaliero dei diversi funghi fitopatogeni (Figura 1).

Per tiofanate metile la dose minima, determinante il 100% di inibizione di crescita micelica

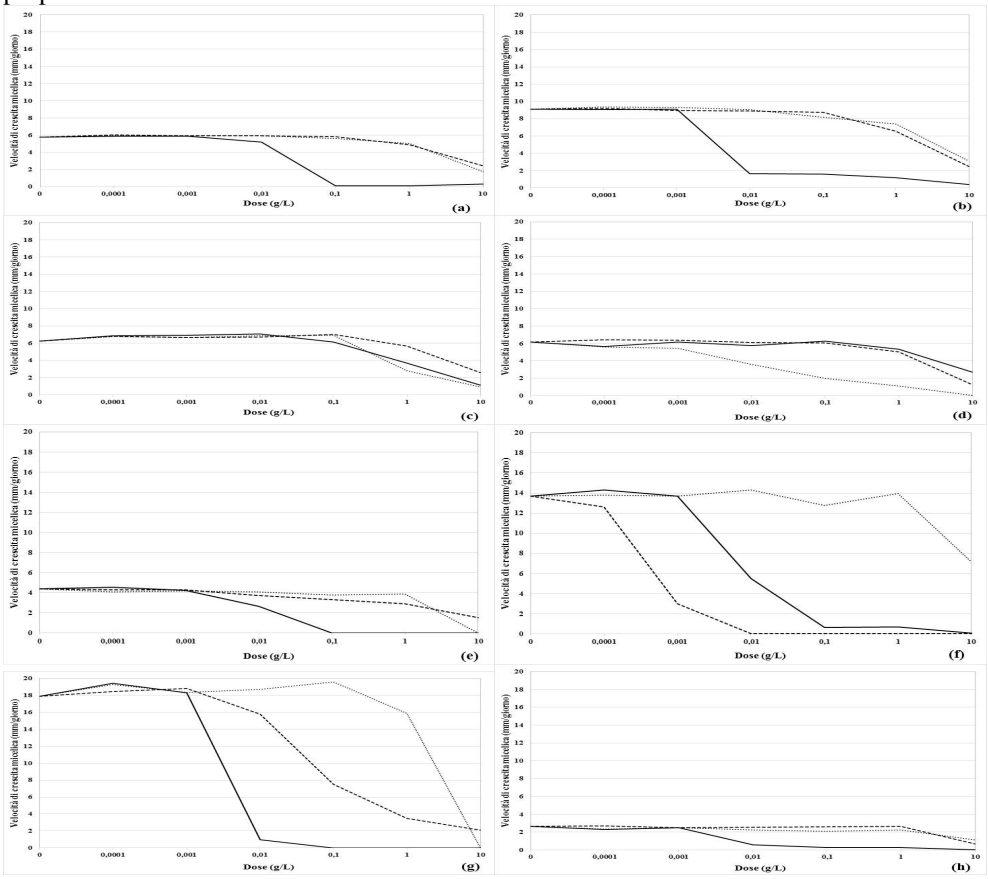
in vitro, è risultata essere 0,1 g/L, nel caso di *C. destructans* (Figura 1a), *P. lycopersici* (Figura 1e) e *R. solani* (Figura 1f), 0,01 g/L, nel caso di *S. sclerotiorum* (Figura 1g) e 10 g/L nel caso di *F. solani* (Figura 1b) e *V. dahliae* (Figura 1h). Nessuna concentrazione saggiata di tiofanate metile ha completamente inibito la crescita di *Pythium* sp. (Figura 1c) e *Phytophthora* sp. (Figura 1d).

Flutolanil in queste prove ha mostrato un'azione specifica solo nei confronti di *R. solani*; infatti nei confronti di questo fungo fitopatogeno, la dose minima di flutolanil determinante il 100% di inibizione di crescita micelica *in vitro*, è risultata essere 0,01 g/L (Figura 1f). Nessuna delle concentrazioni saggiate ha completamente inibito la crescita degli altri funghi fitopatogeni considerati nel lavoro.

Propamocarb+fosetil Al, infine, alla dose massima saggiata di 10 g/L, ha completamente inibito la crescita *in vitro* di *Phytophthora* sp. (Figura 1d) e *S. sclerotiorum* (Figura 1g).

Nessuna sostanza attiva saggiata a nessuna concentrazione ha completamente inibito lo sviluppo *in vitro* di *Pythium* sp. (Figura 1c).

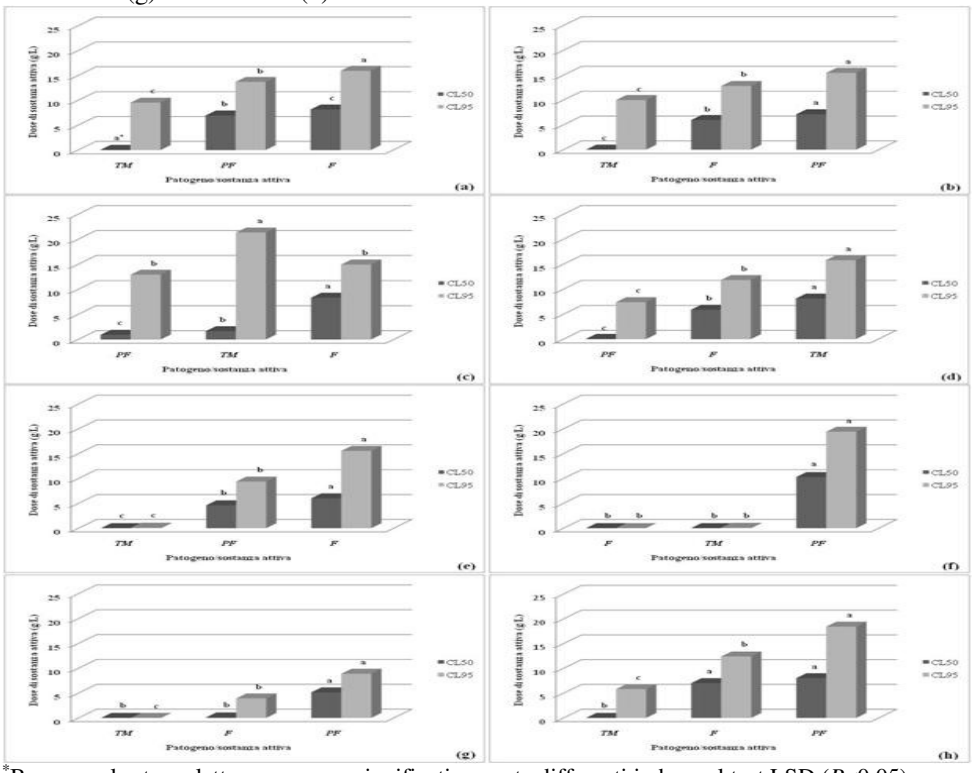
Figura 1. Velocità di accrescimento *in vitro* del micelio di *C. destructans* (a), *F. solani* (b), *Pyhtium* sp. (c), *Phytophthora* sp. (d), *P. lycopersici* (e), *R. solani* (f), *S. sclerotiorum* (g) e *V. dahliae* (h) in risposta a diverse concentrazioni di tiofanate metile, flutolanil e propamocarb+fosetil Al



In Figura 2 sono riportati, per ciascun principio attivo e ciascun microrganismo fungino saggiato, i valori di CL50 e CL95, stimati in base alla crescita micelica *in vitro*. Tiofanate metile ha mostrato i valori di CL50 e CL95, ricavati per interpolazione ed estrapolazione, significativamente inferiori rispetto alle altre due sostanze attive saggiate nel caso di *Cylindrocarpon* sp. (0,05 g/L e 9,5 g/L, rispettivamente; Figura 2a), *F. solani* (0,006 g/L e 10 g/L, rispettivamente; Figura 2b), *P. lycopersici* (0,01 g/L e 0,09 g/L, rispettivamente; Figura 2e) , *V. dahliae* (0,006 g/L e 5,8 g/L, rispettivamente; Figura 2h). Nel caso di *R. solani* (Figura 2f) e *S. sclerotiorum* (Figura 2g) i valori di CL50 e CL95 relativi a tiofanate metile (pari rispettivamente a 0,009 g/L e 0,08 g/L, nel caso di *R. solani* e pari rispettivamente a 0,005 g/L e 0,01 g/L, nel caso di *S. sclerotiorum*) e flutolanil (pari rispettivamente a 0,0006 g/L e 0,007 g/L, nel caso di *R. solani* e pari rispettivamente a 0,1 g/L e 3,9 g/L nel caso di *S. sclerotiorum*) sono risultati statisticamente simili e di gran lunga inferiori rispetto a quelli calcolati per propamocarb+fosetil Al di oltre due ordini di grandezza.

Propamocarb+fosetil Al, infine, rispetto alle altre due sostanze attive saggiate, ha mostrato i valori di CL50 e CL95 significativamente inferiori nel caso di *Pythium* sp. (0,9 g/L e 12,9 g/L, rispettivamente; Figura 2c) e di *Phytophthora* sp. (0,05 g/L e 7,4 g/L, rispettivamente; Figura 2d).

Figura 2. Valori di CL50 e CL95 di tiofanate metile, flutolanil e propamocarb+fosetil Al, stimati per la riduzione della velocità di crescita *in vitro* del micelio di *C. destructans* (a), *F. solani* (b), *Pyhtium* sp. (c), *Phytophthora* sp. (d), *P. lycopersici* (e), *R. solani* (f), *S. sclerotiorum* (g) e *V. dahliae* (h)



*Barre con la stessa lettera non sono significativamente differenti in base al test LSD (P<0,05)
TM = tiofanate metile; *F* = flutolanil; *PF* = propamocarb+fosetil Al

Prova di antagonismo con formulati microbiologici

Tutti gli isolati di *Streptomyces* impiegati nella prova hanno ridotto in maniera significativa la velocità di crescita micelica dei diversi funghi patogeni saggiati (Tabella 1).

In particolare, la crescita *in vitro* di tutti i funghi fitopatogeni saggiati è stata completamente inibita dal pre-trattamento al substrato agarizzato con spore di *S. lydicus WYEC 108*. La presenza di *S. griseoviridis K-61*, invece, ha completamente inibito la velocità di crescita giornaliera di *Phythophthora* sp., *V. dahliae*, *P. lycopersici*, *Pythium* sp. e *S. scelrotiorum*; mentre ha ridotto in maniera significativa la velocità di crescita micelica di *C. destructans*, *F. solani* e *R. solani*, rispettivamente del 96%, 92% e 97%, rispetto al testimone non trattato. Il ceppo di *AtB-42* di *Streptomyces* sp., infine, rispetto al testimone non trattato, ha drasticamente ridotto la velocità di crescita micelica giornaliera di *P. lycopersici* e *Pythium* sp. del 92%, del 98%, quella di *S. sclerotiorum*, dell'82%, quella di *C. destructans*, del 50% quella di *F. solani* e del 95% quella di *R. solani* (Tabella 1).

Tabella 1. Velocità di crescita *in vitro* dei patogeni terricoli saggiati su substrato agarizzato preventivamente colonizzato da differenti isolati di streptomiceti (metodo cellophane-agar)

Isolato di *Streptomyces*	Velocità di crescita del micelio (mm/giorno)							
	Cyl	*Fus*	*Phyto*	*Ply*	Py	*Rhizo*	*Scle*	*Vd*
Testimone	11,34 a*	14,78 a	13,06 a	6,94 a	6,10 a	21,12 a	19,26 a	6,99 a
AtB-42	2,07 b	7,40 b	0,00 b	2,42 b	0,49 b	1,00 b	0,30 b	0,00 b
K61	0,50 c	1,19 c	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,60 c	0,03 b	0,00 b
WYEC 108	0,00 d	0,00 d	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 d	0,00 b	0,00 b

* Nelle colonne, medie con lettera uguale non sono significativamente differenti in base al test di Duncan (P<0,05)
Cyl: *C. destructans*; *Fus*: *F. solani*; *Phyto*: *Phytophthora* sp.; *Ply*: *P. lycopersici*; *Py*: *Pythium* sp.; *Rhizo*: *R. solani*; *Scle*: *S. sclerotiorum*; *Vd*: *V. dahliae*

CONCLUSIONI

Le sostanze attive di sintesi saggiate hanno mostrato un certa specificità nei confronti dei funghi patogeni considerati. Tiofanate metile ha mostrato uno spettro d'azione piuttosto ampio, essendo stata la sostanza attiva più efficace nei confronti di *C. destructans* (CL50=0,05 g/L, CL95=9,5 g/L), *F. solani* (CL50=0,006 g/L, CL95=10,0g/L), *P. lycopersici* (CL50=0,01 g/L, CL95=0,1 g/L), *S. sclerotiorum* (CL50=0,005 g/L, CL95=0,01 g/L) e *V. dahliae* (CL50=0,006 g/L, CL95=5,8 g/L). Flutolanil è risultato, invece, il più efficace nei confronti di *R. solani* (CL50=0,0006 g/L, CL95=0,007 g/L). Queste due sostanze attive sono state meno

efficaci del prodotto di riferimento, propamocarb+fosetil Al, nei confronti di *Pythium* sp. e *Phytophthora* sp..

Gli streptomiceti saggiati hanno mostrato un ampio spettro di attività antifungina. *S. lydicus WYEC 108*, in particolare, ha completamente inibito la crescita di tutti i fitopatogeni saggiati. *Streptomyces* sp. *AtB-42* e *S. griseoviridis K61*, quest'ultimo utilizzato come ceppo microbico di riferimento in questo lavoro, hanno drasticamente ridotto (rispettivamente almeno del 65% e del 92%), ma solo in pochi casi inibito totalmente, la crescita dei fitopatogeni.

Questo studio rivela nuove possibilità di estensioni d'impiego dei formulati commerciali saggiati, che vanno oltre la già provata efficacia contro determinati patogeni. Infatti, tiofanate metile, attualmente registrato in Italia anche contro i patogeni tellurici *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp. e *Verticillium* spp., ha mostrato una buona efficacia (non ancora nota) anche contro *C. destructans*, *F. solani*, *P. lycopersici* e *S. sclerotiorum*. Anche *S. griseoviridis K61* ha mostrato uno spettro d'efficacia *in vitro* più ampio rispetto a quello rappresentato dai patogeni terricoli riportati in etichetta (*Alternaria* spp., *R. solani, Fusarium* spp., *Phytophthora* spp. e *Pythium* spp.). *S. lydicus WYEC 108*, registrato finora solo in America, ha mostrato proprietà molto interessanti in termini di efficacia e spettro d'azione *in vitro*, superiori a quelle del ceppo microbico di riferimento *S. griseoviridis K61*. Per flutolanil, attualmente registrato in Spagna contro *R. solani* su diverse colture, rimane confermata la sua efficacia solo contro *R. solani*.

LAVORI CITATI

Bubici G, Marsico AD, D'Amico M, Amenduni M, Cirulli M., 2013. Evaluation of *Streptomyces* spp. for the biological control of corky root of tomato and Verticillium wilt of eggplant. *Applied Soil Ecology* 72, 128-134

Cao L., Qiu Z., Dai X., Tan H., Lin Y., Zhou S., 2004. Isolation of endophytic Actinomycetes from roots and leaves of Banana (*Musa Acuminata*) plants and their activities against *Fusarium oxysporum*f. sp. *cubense*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 20, 501-504

Ciccarese F., Amenduni M., Schiavone D., Cirulli M., 1994. Antagonist activity of *Streptomyces* spp. against *Pyrenochaeta lycopersici* in tomato. 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Kusadasi Aydin, Türkiye, 1994, 201-203

Cirulli M., 1968. Prove di lotta chimica contro il "Corky root" del pomodoro. *Annali della Facoltà di Agraria – Bari* XXII, 453-460

Colella C, Amenduni M, D'Amico M, Cirulli M., 2001. Efficacia del bio-antiparassitario ottenuto da compost di sansa d'oliva nella lotta contro la suberosi radicale del pomodoro e la verticilliosi del carciofo. *Atti progetto POM B-10 "Sviluppo semi-industriale di matrici organiche da sansa di oliva pre-condizionate con microrganismi antagonisti di patogeni radicali di piante orticole"* Bari, 20 novembre 2001, pp.55-64

Coombs J.T., Michelsen P.P., Franco C.M.M., 2004. Evaluation of endophytic actinobacteria as antagonists of *Gaeumonnomyces graminis* var. *tritici* in wheat. *Biological control* 29, 359-366

El-Terabily K.A., Soliman M.H., Nassar A.H. Al-Hassani H.A., Silvasithamparam K., McKenna F., Hardy G.E. St.J., 2000. Biological control of Sclerotinia minor using a chitinolytic bacterium and actinomycetes. *Plant Pathology* 49, 573-583

Gracia-Garza J.A., Little M., Blom T.J., Schneider K., Allen W., Potter J., 2003. Efficacy of various biological control agents and biorationals against *Phytium* root rot in Possetia. *HortTechnology* 2003, 13(1), 149-153

Last F.T., Ebben M.H., Read W.H.,1966. Features of tomato brown rot and its control. *Scientia Horticulturae* 62, 68-75

Tian X.L., Cao L.X., Tan H.M., Zeng Q.G., Jia Y.Y., Han W.Q., Zhou S.N., 2004. Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities *in vitro*. *World Journal of Microbiology & Biotecnology* 20, 303-309