Efektywność wybranych mikroorganizmów w ograniczaniu zakażenia sadzonek winorośli przez *Phomopsis viticola* Sacc.

EWA KRÓL

Katedra Fitopatologii AR, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Król E. (Department of Plant Pathology, University of Agriculture, Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, Poland)

Effectiveness of some microorganisms in the limitation of grapevine cuttings infection by *Phomopsis viticola* Sacc.

(Otrzymano: 30.05.2003)

Summary

The possibilities of using antagonistic fungi and bacteria in the limitation of grapevine stems infection by *Phomopsis viticola* Sacc. were studied. *Trichoderma koningii* Oud., *T. viride* Persoon ex S.F., *T. harzianum* Rifai, *Gliocladium catenulatum* Gilman and Abbott, *G. fimbriatum* Gilman and Abbott, *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens* and five unidentified isolates of bacteria i.e.: 22a, 35, 40, 45, 66 were estimated. It was appeared what *Trichoderma* spp. were the most effective in protection of grapevine stems against the infection by *P. viticola*. After these antagonistic fungi were used on protected grapevine canes not numerous necrosis were observed and few cultures of pathogen were reisolated from them. Moreover, *Trichoderma* spp. survived on the grapevine stems during the period of experiment. The abilities of other microorganisms tested to protect grapevine cuttings against *P. viticola* infection and to exist on the stems were less than *Trichoderma* spp.

Key words: grapevine, antagonistic fungi and bacteria, *Phomopsis viticola*

WSTĘP

Phomopsis viticola, powodujący nekrozę kory winorośli, występuje powszechnie w różnych rejonach uprawy tej rośliny i może porażać nie tylko pędy, ale również liści i owoce (Cavannii i in., 1987; Hewitt i Pearson, 1988; Merrin i in., 1995). Ochrona przed tym patogenem rozpoczyna się od produkcji sadzonek i trwa przez cały okres wegetacji. Zwykle opiera się na stosowaniu różnych preparatów chemicznych i jeżeli jest prowadzona prawidłowo przynosi zadawalające efekty (Hewitt i Pearson, 1988; Simon, 1993; Scheper i in., 1997; Castillo-Pando i in., 1997).

W Polsce patogen ten został wykryty w ostatnim dziesięcioleciu, a jego szkodliwość dla pędów winorośli uprawianej pod osłonami potwierdzono za pomocą testów patogeniczności (Machowicz-Stefaniak, 1993; Machowicz-Stefaniak i Kuropatwa, 1993). Częste zasiedlanie przez *P. viticola* tkanek łoży stanowiącej materiał rozmnożeniowy wskazuje na dużą rolę sadzonek w rozprzestrzenianiu czynnika chorobotwórczego (Król, 2003 – w opracowaniu).

Produkcja sadzonek winorośli pod osłonami stwarza korzystne warunki dla ich ochrony przed *P. viticola* za pomocą mikroorganizmów antagonistycznych. Stosowanie antagonistów w warunkach kontrolowanej uprawy roślin daje im sposobność wykazania pełnych właściwości biotycznych i skutecznej ochrony roślin przed patogenami (Redmond i in., 1987; Wilson i Wiśniewski, 1989; Fokkema, 1993; Sobiczewski i in. 1996). Kontakt patogena i antagonisty w odpowiednim czasie, oraz optymalny mikroklimat to idealne dla antagonisty warunki, które rzadko zdarzają się w fytoferze roślin wzrastających w naturalnym środowisku (Fokkema, 1993; Jakobsen i Backman, 1993; Elad, 1996).

Celem niniejszej pracy było oszacowanie przydatności grzybów i bakterii antagonistycznych do ochrony pędów sadzonek winorośli przed infekcją przez *P. viticola*.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto patogeniczny dla winorośli szczep 197 *P. viticola* (Machowicz-Stefaniak i Kuropatwa, 1993) oraz mikroorganizmy antagonistyczne: *Trichoderma harzianum* Rifai 417, *Trichoderma koningii* Oud. 1313, *Trichoderma viride* Persoon ex. S.F. szczep uzyskany z Białoruskiego Naukowego Instytutu Ochrony Roślin w Mińsku, *Gliocladium catenulatum* Gilman et Abbott 1440, *Gliocladium fimbriatum* Gilman et Abbott 1372 oraz *Bacillus* sp. 1, *Pseudomonas fluorescens* 28a i pięć niezidentyfikowanych izolatów bakterii oznaczonych numerami: 22a, 35, 40, 45, 66. Wymienione mikroorganizmy pochodziły z winorośli i wykazywały antagonistyczne oddziaływanie w stosunku do *P. viticola*, co wykazano we wcześniej przeprowadzonych badaniach (Kuropatwa, 1995; Król, 2004 – Acta Agrobotanica, w druku).

Do badań rozpoczętych latem 1999 roku użyto 1-letnie sadzonki winorośli odmiany 'Iza'. Na pędach każdej z nich wybierano po 4 miejsca (powtórzenia) w kątach liści, które dezynfekowano poprzez przetarcie tamponem waty moczonej w 95% alkoholu etylowym i nakłuwano igłą. Aby zapewnić jak najdłuższy kontakt antagonisty z chronioną powierzchnią wokół każdego nakłucia wykonywano zabezpieczenie z plastikowej taśmy. Na tak przygotowane miejsca наносono kroplę zawiesiny badanych mikroorganizmów antagonistycznych o objętości 0,1 ml i gęstości 10^8 jtk (jednostek tworzących kulturę) w mililitrze. W wodnej zawieszynie zarodników grzybów znajdowały się także strzępki.

Kombinacja I – traktowanie pędów zawiesiną antagonisty na 24 godziny przed ich inokulacją 0,1 ml kroplą zawiesiny *Phomopsis viticola* o gęstości 10^6 jtk/ml.

Kombinacja II – traktowanie pędów zawiesiną antagonisty na 24 godziny przed ich inokulacją 3 mm krążkiem zarodnikującej kultury *Phomopsis viticola*.

Uwzględniono dwie kontrole pozytywne:

Kontrola I – traktowanie pędów 0,1 ml kroplą wody destylowanej, a po 24 godzinach zawiesiną patogena o gęstości 10^6 jtk/ml.

Kontrola II – traktowanie pędów 0,1 ml kroplą wody destylowanej, a po 24 godzinach krążkiem zarodnikującej kultury patogena,

oraz kontrole negatywne tj. nanoszenie 0,1 ml kropli wody destylowanej lub krążka pożywki agarowej, a po 24 godzinach 0,1 ml kropli każdego z badanych mikroorganizmów antagonizystycznych.

Dla każdego badanego mikroorganizmu i dla każdej kombinacji doświadczenia użyto po 2 rośliny, łącznie 48. Zmiany w liczebności bakterii z rodzaju *Bacillus* i *Pseudomonas fluorescens* po 24, 48 i 72 godzinach od ich naniesienia na pędy przebadano na oddzielnych sadzonkach. W tym celu pobierano po 4 fragmenty chronionych pędów o długości 5 cm. Badania te prowadzono wg metody podanej przez Sobiczewskiego i Klos (1998).

Sadzonki przetrzymywano w komorze klimatyzacyjnej, w ściśle określonych warunkach wilgotności, temperatury i oświetlenia. Wydzielono w ciągu doby cztery przedziały czasowe o zróżnicowanych parametrach. Od godziny 21⁰⁰ do 4⁰⁰ zapewniono roślinom temperaturę 15°C i 92% wilgotności powietrza oraz ciemność. W godzinach od 4⁰⁰ do 6⁰⁰ i od 18⁰⁰ do 21⁰⁰ rośliny przetrzymywano w temperaturze 16°C przy 92% wilgotności i przy natężeniu światła ok. 960 lux. W godzinach od 6⁰⁰ do 10⁰⁰ i od 14⁰⁰ do 18⁰⁰ temperatura wynosiła 20°C, wilgotność 92%, a oświetlenie ok. 1920 lux, a od 10⁰⁰ do 14⁰⁰, 24°C, 86% wilgotności, a natężenie światła 3200 lux. Obserwacje roślin prowadzono co 2 dni. Efektywność ochronnego działania badanych mikroorganizmów oceniono na podstawie liczby nekroz widocznych w miejscu inokulacji na chronionych pędach i częstotliwości izolowania patogena z zakażonych pędów. W tym celu jesienią tj. po 4 miesiącach od inokulacji wykonywano analizę mikologiczną pędów metodą sztucznych kultur (Machowicz-Stefaniak i Kuropatwa, 1993). Do analizy każdorazowo pobierano 4-5 cm długości fragmenty pędów, zawierające „miejsce inokulacji” i pochodzące z dwóch spośród czterech badanych powtórzeń na 1 roślinie. Kolejne dwa chronione „miejsca inokulacji” pozostawiano na roślinach do wiosny następnego roku tj. do 8 miesięcy od inokulacji, przy czym rośliny umieszczano na zimę w piwnicy w temperaturze 0-4°C. Z każdego pobranego do analizy pędu wykładano na szalki po 10 inokulów. Dla każdej kombinacji doświadczenia i każdego mikroorganizmu wykładano 80 inokulów (2 rośliny x 4 miejsca inokulacji x 10 inokulów).

WYNIKI

Wykazano, że żaden z badanych mikroorganizmów antagonizystycznych nie powodował objawów chorobowych na sadzonkach winorośli. Natomiast testowane mikroorganizmy w różnym stopniu chroniły pędy sadzonek przed infekcją przez *P. viticola* (tab. 1).

Tabela 1

Liczba nekroz powodowanych przez *Phomopsis viticola* na pędach winorośli chronionych mikroorganizmami antagonistycznymi

Table 1

Number of necrosis caused by *Phomopsis viticola* on the grapevine stems protected by antagonistic microorganisms

Badany mikroorganizm microorganisms studied	Liczba udanych infekcji na 8 punktów inokulacji Number of positive infection in 8 sites of inoculation	
	Kombinacja I combination I	Kombinacja II combination II
<i>Trichoderma harzianum</i>	1	2
<i>Trichoderma koningii</i>	2	2
<i>Trichoderma viride</i>	0	2
<i>Gliocladium catenulatum</i>	2	3
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	3	4
<i>Bacillus</i> sp.	3	4
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3	5
22a	7	8
35	7	8
40	7	8
45	8	8
60	8	8
Kontrola pozytywna positive control	8	8

W każdej kombinacji inokulowano pędy w 8 miejscach (2 rośliny x 4 miejsca inokulacji). Grapevine stems were inoculated in the 8 sites in each combination (2 cuttings x 4 sites of inoculation).

Najlepszy efekt ochronny uzyskano w kombinacji I doświadczenia po zastosowaniu *Trichoderma viride* i *T. harzianum*. Wymienione gatunki chroniły pędy sadzonek istotnie lepiej od większości pozostałych mikroorganizmów, bowiem w ich obecności stwierdzono tylko od 0 do 1 nekrozy w miejscu inokulacji (tab. 1). Po zastosowaniu *T. koningii*, *Gliocladium catenulatum*, *G. fimbriatum*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens* efekt ochronny był słabszy niż po zastosowaniu *T. viride*, ale liczba udanych infekcji pędów była mniejsza niż w kontroli pozytywnej tj. uwzględniającej inokulację pędów *P. viticola* (tab. 1). Pozostałe badane izolaty bakterii praktycznie nie chroniły pędów sadzonek winorośli przed infekcją przez *P. viticola* (tab. 1). Zaobserwowano ponadto, że w kombinacji II doświadczenia efekt ochronny był słabszy niż w kombinacji I, bowiem po zastosowaniu badanych grzybów antagonistycznych oraz bakterii *Bacillus* sp. i *Pseudomonas fluorescens* stwierdzono większą liczbę nekroz tj. pozytywnych infekcji w „miejscach inokulacji”, ale liczby te były

Fot. 1. Nekroza w miejscach inokulacji *Phomopsis viticola* (kontrola pozytywna)
Fot. 1. Necrosis in the sites of inoculation with *Phomopsis viticola* (positive control)

mniejsze niż w kontroli pozytywnej (tab. 1, fot. 1). Niezidentyfikowane izolaty bakterii, podobnie jak w kombinacji I, praktycznie nie chroniły pędów (tab. 1).

Analiza mikologiczna chronionych pędów winorośli wskazała na duże zróżnicowanie w częstotliwości izolowania patogena z zakażonych pędów (tab. 2).

Tabela 2

Częstotliwość izolowania *P. viticola* z pędów chronionych mikroorganizmami antagonistycznymi

Table 2

Frequency of *P. viticola* isolation from grapevine stems protected by antagonistic microorganisms

Badany mikroorganizm microorganisms studied	po 4 miesiącach od inokulacji 4 months after inoculation		po 8 miesiącach od inokulacji 8 months after inoculation	
	Kombinacja combination		Kombinacja combination	
	I	II	I	II
<i>Trichoderma harzianum</i>	1	5	4	6
<i>Trichoderma koningii</i>	1	3	6	10
<i>Trichoderma viride</i>	0	4	13	6
<i>Gliocladium catenulatum</i>	8	14	8	12
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	14	19	12	19
<i>Bacillus</i> sp.	4	10	10	13
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3	21	8	18
22a	16	22	24	27
35	5	30	10	35
40	19	38	20	37
45	6	24	15	28
66	7	38	12	36
Kontrola pozytywna positive control	22	43	34	43

W każdej kombinacji doświadczenia analizowano 80 inokulów (8 miejsc inokulacji x 10 inokulów)

80 inoculum was analyzed in each combination of experiment (8 sites of inoculation x 10 inoculum).

Z pędów, które chroniono za pomocą różnych gatunków *Trichoderma* zreizolowano tylko od 0 do 13 kolonii *P. viticola*, podczas gdy z kontroli pozytywnej uzyskiwano od 22 do 43 kolonii na 80 możliwych. Mimo ochronnego działania *Gliocladium* spp., z chronionych pędów reizolowano od 8 do 19 izolatów *P. viticola* (tab. 2). Po zastosowaniu bakterii z rodzaju *Bacillus* sp. i *Pseudomonas fluorescens* uzyskiwano od 3 do 21 kolonii *P. viticola*, a pozostałych, nieoznaczonych izolatów bakterii od 5 do 43 izolatów patogena (tab. 2).

Badane szczepy *Trichoderma* spp. reizolowano z chronionych pędów winorośli w każdej kombinacji doświadczenia. *Gliocladium catenulatum* uzyskiwano także z pędów w każdej badanej kombinacji, ale z mniejszą częstotliwością niż *Trichoderma* spp. Natomiast *G. fimbriatum* reizolowano w kombinacji I doświadczenia tylko po 8 miesiącach od inkubacji i w kombinacji II tylko po 4 miesiącach (tab. 3). Z pędów eksperymentalnych nie reizolowano kultur bakterii.

Tabela 3

Przeżywanie gatunków antagonistycznych na chronionych pędach

Table 3

Survival of antagonistic microorganisms on the protected stems

Gatunki grzybów antagonistycznych Antagonistic fungi species	4 miesiące po inokulacji 4 months after inoculation		8 miesiące po od inokulacji 8 month after inoculation	
	Kombinacja combination		Kombinacja combination	
	I	II	I	II
<i>Trichoderma harzianum</i>	7	11	12	16
<i>Trichoderma koningii</i>	8	13	10	19
<i>Trichoderma viride</i>	12	15	10	12
<i>Gliocladium catenulatum</i>	2	4	3	3
<i>Gliocladium fimbriatum</i>	0	4	1	0

Do grzybów towarzyszących występowaniu *Trichoderma* spp. i *Gliocladium* spp. na pędach winorośli, po okresie ich przechowywania, należały *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum purpurascens*, *Botrytis cinerea* oraz *Fusarium* spp. i *Penicillium* sp.

Wykazano ponadto, że w warunkach prowadzenia doświadczenia, po 24 godzinach od wprowadzenia bakterii *Bacillus* sp. i *Pseudomonas fluorescens* na pędy winorośli, ich liczebność znacznie się obniżyła (tab. 4).

Tabela 4

Liczebność bakterii antagonistycznych na pędach sadzonek winorośli

Table 4

Numbers of antagonistic bacteria on the stems of grapevine cuttings

Godziny po wprowadzeniu bakterii Hours after introduced of bacteria	Liczba bakterii na 1 cm długości pędu Number of bacteria per 1 cm long of the stem	
	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
24	$3,6 \times 10^3$	$2,9 \times 10^3$
48	$7,2 \times 10^4$	$5,4 \times 10^4$
72	$4,8 \times 10^4$	$3,8 \times 10^4$

Po 48 godzinach zaobserwowano jednak wzrost liczebności komórek bakterii, a po 72 ponownie ich liczba zmniejszyła się (tab. 4).

DYSKUSJA

Literatura dostarcza wielu informacji o ograniczaniu patogenów przez wprowadzenie do fylosfery mikroorganizmów antagonistycznych (Redmond i in., 1987; Fokkema, 1993; Elad i in., 1996). Natomiast w dostępnej literaturze brakuje doniesień o oddziaływaniu mikroorganizmów antagonistycznych na wzrost i rozwój *P. viticola* oraz o możliwości ich wykorzystania do ochrony pędów przed tym patogenem. Stwierdzona w przedstawionych badaniach mała liczba nekroz na pędach chronionych przez *Trichoderma* spp. oraz niewielka częstotliwość reizolowania patogena z tych organów pozwala przypuszczać, że grzyby te mogą skutecznie zapobiegać zakażaniu pędów przez *P. viticola* i ograniczać rozwój grzybni patogena w tkankach łoży, w badanych warunkach wzrostu roślin. Uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze informacje o ograniczaniu przez *Trichoderma* spp. rozwoju *P. viticola* na fragmentach pędów winorośli (Król, 2004 – Acta Agrobotanica, w druku) i są zbieżne z obserwacjami autorów, informujących o skutecznym ograniczaniu wzrostu innych patogenów krzewów i drzew owocowych przez *Trichoderma* spp. i *Gliocladium* spp. (Papavizas, 1985; Adams, 1990; Fokkema, 1993; Machowicz-Stefaniak i Kuropatwa, 1996; Sesan i in., 1995). Z literatury wiadomo, że *Trichoderma* spp. wykazują nie tylko działanie ochronne, ale i lecznicze w stosunku do niektórych patogenów powodujących zamieranie drzew i krzewów. Wprowadzenie *Trichoderma viride* do pni i gałęzi chorych drzew przyczyniło się do zmniejszenia występowania objawów chorobowych lub do całkowitego ich zaniku (Papavizas, 1985). O dużej skuteczności *Trichoderma* spp. i *Gliocladium* spp. decyduje zapewne fakt, że są one mikopasożytami, wytwarzają substancje toksyczne dla innych grzybów i są w stanie konkurować o pokarm i niszę ekologiczną (Papavizas, 1985; Łacicowa, 1989; Jakobson i Backman, 1993). Zaobserwowana w doświadczeniu większa częstotliwość reizolowania kultur *P. viticola* z pędów winorośli po 8 miesiącach od inokulacji niż po 4 miesiącach, pozwala przypuszczać, że podczas dłuższego kontaktu z patogenem słabnie ochronne oddziaływanie badanych mikroorganizmów antagonistycznych. Potwierdzeniem tym przypuszczeń jest duża liczba nekroz w kombinacji II doświadczenia, gdzie użyte do inokulacji krążki grzybni patogena zapewniły mu długotrwały kontakt z tkankami pędów. Ponadto wraz z upływem czasu grzybnia *P. viticola* przemieszcza się w głąb tkanek pędów i prawdopodobnie unika kontaktu z niektórymi mikroorganizmami antagonistycznymi, zwłaszcza z bakteriami, na co wcześniej zwrócili uwagę inni autorzy (Fokkema, 1993). Znalazło to potwierdzenie w dużej liczbie nekroz na pędach chronionych przez większość izolatów bakterii oraz w reizolowaniu z takich pędów licznych kultur patogena. Niezadawalające właściwości ochronne bakterii wynikają zapewne z faktu, że nanoszone populacje są mniej niż grzyby przystosowane do zmiennych czynników środowiska i ich liczebność szybko się zmniejsza (Fokkema, 1993; Sobiczewski i Klos, 1998), co zaobserwowano również w obecnej pracy. Przeprowadzone badania wskazują, że z dwóch grup testowanych mikroorganizmów antagonistycznych, perspektywiczne w ochronie pędów winorośli przed *P. viticola* wydają się grzyby, zwłaszcza z rodzaju *Trichoderma*.

LITERATURA

- Adams P. B., 1990: The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 28: 59-72.
- Castillo-Pando M. S., Nair N. G., Emmett R. W., Wicks T. J., 1997: Inhibition in pycnidial viability of *Phomopsis viticola* on canes in situ as an aid to reducing inoculum potential of cane and leaf blight disease of grapevine. *Australian Plant Pathology*, 26: 21-25.
- Cavannii P., Fantuz F., Ponti J., 198: La malattie crittogamiche del legno della vite. *Informatore Fitopatologico*, 37, 1: 27-34.
- Elad Y., 1996: Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. XIth International *Botrytis* Symposium, Programme and Book of Abstracts, 23-27 June, Wageningen, Netherlands, 67.
- Fokkema N. J., 1993: Opportunities and Problems of Control of Foliar Pathogenes with Microorganisms. *Pestic. Sci.*: 411-416.
- Hewitt W. B., Pearson R. C., 1988: *Phomopsis* Cane and Leaf Spot. In: Compendium of Grape Diseases. Eds. Pearson R. C., Goheen A. C., APS PRESS The American Phytopathological Society: 16-18.
- Jacobsen B. J., Backman P. A., 1993: Biological and Cultural Plant Disease Controls: Alternatives and Supplements to Chemicals in IPM Systems. *Plant Disease*, vol. 77, 3: 311-315.
- Król E., 2004: Oddziaływanie bakterii antagonistycznych uzyskanych z liści winorośli na *Phomopsis viticola* Sacc. *Acta Agrobotanica*, w druku.
- Król E., 2003: Grzyby izolowane z zamierających sadzonek winorośli. W opracowaniu.
- Kuropatwa E., 1995: Postępy badań nad *Phomopsis viticola* Sacc. powodującym nekrozę korową winorośli. *Mat. Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej „Nauka Praktyce Ogrodniczej”*, AR Lublin, 1995: 261-264.
- Łacicowa B., 1989: Niektóre aspekty wykorzystania grzybów z rodzaju *Trichoderma* i *Gliocladium* w biologicznej ochronie roślin. *Ochrona Roślin*, 3: 8-10.
- Machowicz-Stefaniak Z., 1993: *Phomopsis viticola* Sacc. (*Sphaeropsidales*, *Deuteromycotina*) nowy w Polsce patogen pędów winorośli. *Acta Mycol.*, XXI (1): 125-134.
- Machowicz-Stefaniak Z., Kuropatwa E., 1993: Pathogenicity of *Phomopsis viticola* Sacc. for grapevines (*Vitis vinifera* L.) under foil tunnel conditions. *Phytopathol. Polonica*, 5 (XVII): 67-72.
- Machowicz-Stefaniak Z., Kuropatwa E., 1996: Studies of the possibilities of limiting *Botrytis cinerea* Pers. on grapes by antagonistic fungi and bacteria. XIth. International *Botrytis* Symposium. Programme and book of abstracts, Wageningen, Netherlands, 80.
- Merrin S. J., Nair N. G., Tarran J., 1995: Variation in *Phomopsis* recorded on grapevine in Australia and its taxonomic and biological implications. *Australasian Plant Pathology*, 24: 44-56.
- Papavizas G. C., 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 23: 23-54.
- Redmond J. C., Marois J. J., Mac Donald J. D., 1987: Biological control of *Botrytis cinerea* on roses with epiphytic microorganisms. *Plant Disease*, 71: 799-802.
- Scheper R. W. A., Whisson D. L., Scott E. S., 1997: Revised disease cycles of the two types of *Phomopsis* on grapevine. *Grapegrower and Winemaker*, 9: 41-44.
- Sesan T. E., Nicolescu M. A., Mărmureanu M., Tica C., Filip I., Zinca N., Zamfir M., Turocanu P., Tomoioga L., 1995: Bioproduct Trichodex 25 WP tested in Romania against grapevine grey mould (*Botrytis cinerea*). In: M. Mańka (ed.), *Environmental biotic factors in integrated plant disease control*: 507-511.

- Simon J. L., 1993: Mesures d'hygiene lors du greffage de la vigne. Revue Suisse de viticulture, arboriculture, horticulture, 25(1): 53-54.
- Sobiczewski P., Bryk H., Berczyński S., 1996: Evaluation of epiphytic bacteria isolated from apple leaves in the control of postharvest apple diseases. J. Fruit Orn. Pl. Res., IV, (1): 35-45.
- Sobiczewski P., Kłos J., 1998: Survival and scanning electron microscopy of *Erwinia amylovora* on apple leaves. Phytopathol. Pol., 15: 57-63.
- Wilson C. L., Wiśniewski M. E., 1989: Biological control of postharvest diseases of fruit and vegetables: an emerging technology. Ann. Rev. Phytopathol., 27: 425-441.

Streszczenie

W pracy przebadano możliwość wykorzystania antagonistycznych grzybów i bakterii do zapobiegania porażaniu pędów sadzonek winorośli przez *Phomopsis viticola*. Uwzględniono *Trichoderma koningii*, *T. viride*, *T. harzianum*, *Gliocladium catenulatum*, *G. fimbriatum*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens* i 5 izolatów niezidentyfikowanych bakterii oznaczonych numerami: 22a, 35, 40, 45, 66. Okazało się, że *Trichoderma* spp. najefektywniej chroniły pędy przed zakażaniem przez *P. viticola*. Po ich zastosowaniu stwierdzono nieliczne nekrozy pędów i reizolowano niewiele kultur patogena. Stwierdzono ponadto, że *Trichoderma* spp. przeżywały na pędach sadzonek winorośli przez 8 miesięcy tj. przez cały czas trwania doświadczenia. Zdolność pozostałych badanych mikroorganizmów do ochrony pędów przed infekcją przez patogena, jak również do przeżywania na chronionych pędach była mniejsza niż *Trichoderma* spp.