

Katedra Ochrony i Kwarantanny Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. S. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin
e-mail: aguto@wp.pl

AGNIESZKA JAMIOŁKOWSKA, BEATA HETMAN

Mechanizm działania preparatów biologicznych stosowanych w ochronie roślin przed patogenami

The mechanism of action of biological preparations used in plant protection against pathogens

Streszczenie. Od 1 stycznia 2014 r. w krajach członkowskich Unii Europejskiej produkcja roślin opiera się na zasadach integrowanej ochrony. W większym stopniu uwzględnia ona metodę biologiczną, rozumianą nie tylko jako bezpośrednie zwalczanie, ale także jako wykorzystanie naturalnych procesów samoregulacji. W tej metodzie stosuje preparaty biologiczne oparte na antagonicznych mikroorganizmach (wirusy, bakterie, grzyby) oraz wyciągach roślinnych, naturalnych komponentach roślinnych i zwierzęcych. Obecnie w Polsce dostępnych jest kilka takich biopreparatów (Trianum, Vital Plus, Canna Aktrivator, Boni Protect Forte, Polyversum WP, Contans WG) oraz preparatów biotechnicznych (Bioczos Płynny, Biosept Active, Beta-Chikol). Działanie preparatów zawierających żywe mikroorganizmy opiera się na uzdolnieniach tych mikroorganizmów do pasożytnictwa, konkurencji i antybiozy. Preparaty biotechniczne charakteryzują się bezpośrednim działaniem wyniszczającym względem grzybów i bakterii chorobotwórczych. Antymikrobową aktywność tych produktów przypisuje się organicznym związkom chemicznym zawartym w komponentach roślinnych i zwierzęcych (allicyna, endogenne flawonoidy i glikozydy, terpeny, kumaryny, furanokumaryny, chitozan). Związki te hamują kiełkowanie zarodników i ograniczają wzrost strzępek kiełkowych grzybów. Preparaty biotechniczne oraz grzyby *Trichoderma* spp. nazywane są również biostymulatorami odporności roślin, ponieważ indukują odporność roślin na czynniki abiotyczne i biotyczne. Wpływają na produkcję metabolitów wtórnych (związków fenolowych) w roślinie oraz biorą udział w tworzeniu barier fizycznych, uniemożliwiających rozprzestrzenianie się patogenu.

Słowa kluczowe: biopreparaty, preparaty biotechniczne, stymulatory odporności roślin

WSTĘP

Obecnie produkcja roślinna zwiększa się głównie na drodze postępu biologicznego, warunkowanego jakością odmian, wzrostem zużycia nawozów mineralnych i środków

ochrony roślin. Nowa koncepcja rozwoju rolnictwa, zwana powszechnie rolnictwem zrównoważonym, zakłada użytkowanie zasobów naturalnych w sposób racjonalny, poprzez ograniczenie zużycia chemicznych środków ochrony roślin [Grzebisz 2008]. Stwarzają one zagrożenie dla zdrowia ludzi, zwierząt oraz dla środowiska naturalnego. Wiele z nich charakteryzuje się wysoką toksycznością oraz długim czasem degradacji, w związku z tym Wspólnota Europejska podjęła działania zmierzające do zrównoważonego stosowania pestycydów. Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) Nr 2009/128/WE z dnia 21 października 2009 r. ustanowiła ramy wspólnotowego działania na rzecz zrównoważonego ich stosowania. Państwa członkowskie powinny działać na rzecz rolnictwa o niskim zużyciu pestycydów, w szczególności na rzecz integrowanej ochrony roślin, oraz stworzyć niezbędne warunki i środki umożliwiające wdrożenie technik integrowanej ochrony roślin.

Intensywne badania z ostatnich lat pokazują, że wzrastające wymagania co do jakości spożywanej żywności oraz zainteresowanie problematyką środowiskową zwiększają udział alternatywnych metod produkcji w stosunku do rolnictwa uprzemysłowionego. Do ochrony roślin proponuje się wykorzystanie preparatów zawierających w swoim składzie żywe organizmy lub inne naturalne substancje [Zydlik 2008]. Dyrektywa Rady Unii Europejskiej 91/414 doprowadziła do ograniczenia o ponad połowę liczby substancji aktywnych chemicznych środków ochrony roślin stosowanych w krajach unijnych, co spowodowało wyraźne zmniejszenie liczby preparatów możliwych do stosowania w integrowanej ochronie roślin, a zwłaszcza w ramach metody biologicznej. Spowodowało to wycofanie z rynku wielu środków biologicznych i biotechnicznych [Lipa i Pruszyński 2010].

Obecnie kładzie się duży nacisk na zwiększenie bezpieczeństwa ochrony roślin oraz na jak najszersze wykorzystanie metody biologicznej i innych metod niechemicznych [Lipa i Pruszyński 2010]. Duża różnorodność oraz szkodliwość patogenów z różnych grup taksonomicznych zagrażających produkcji roślinnej na świecie zmusza do poszukiwania odpowiednich metod ochrony. Jedną z nich jest użycie preparatów biologicznych opartych na antagonistycznych mikroorganizmach (wirusy, bakterie, grzyby) oraz biotechnicznych opartych na wyciągach roślinnych, naturalnych komponentach roślinnych i zwierzęcych, zawierających jeden lub kilka biologicznie czynnych związków organicznych [Orlikowski i Skrzypczak 2003, Dłużniewska 2004, Pięta i in. 2004, Maleshko 2005, Gorczyca 2007, Patkowska 2006a, 2006b, Jamiołkowska i Wagner 2007, Sharma i in. 2009].

SPECYFIKA DZIAŁANIA PREPARATÓW BIOLOGICZNYCH

Biopreparaty

W ochronie biologicznej wykorzystuje się głównie organizmy antagonistyczne, które w wyniku antybiozy, konkurencji i pasożytnictwa obniżają liczebność lub eliminują ze środowiska gatunki patogeniczne [Okorski 2007]. W metodach biologicznej walki z patogenami stosuje się biopreparaty, które zawierają organizmy żywe (grzyby, bakterie, wirusy) lub ich formy przetrwalnikowe.

Grzyby rodzaju *Trichoderma* są grupą mikroorganizmów najczęściej wykorzystywanych w biologicznej ochronie roślin [Gębarowska i Pietr 2012]. W Polsce dostępnych

jest kilka preparatów opartych na różnych gatunkach tego rodzaju, m.in. Trianum (*T. harzianum* T-22), Vital Plus (*T. viride* B35), Canna Aktrivator (*T. harzianum* Tri 002/3). Przedstawiciele tego rodzaju są saprotrofami i występują w różnych strefach klimatycznych świata. Grzyby te bytują w glebie na korzeniach roślin. Dzięki szybkiemu wzrostowi i zdolnościom do wykorzystywania różnych związków jako źródła pożywienia są jednymi z pierwszych kolonizatorów podłoża [Błaszczuk i in. 2014]. Gatunki *Trichoderma* spp. wykazują silne uzdolnienia antagonistyczne względem innych mikroorganizmów. Są one antagonistami *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum* spp., *Rhizopus* spp., *Diaporthe* spp. Antagonizm rodzaju *Trichoderma* opiera się na uzdolnieniach tych grzybów do nadpasożytnictwa, konkurencji i antybiozy. Nadpasożytnictwo związane jest z bezpośrednim kontaktem antagonisty z patogenem i składa się z następujących faz: rozpoznanie patogenu, atak, penetracja komórek, śmierć patogenu [Vinale i in. 2008]. W procesie tym ważną rolę odgrywają enzymy lityczne (cell wall degrading enzymes) syntetyzowane przez *Trichoderma* spp. Grzyby tego rodzaju produkują również szereg enzymów (m.in. celulaza, ksylanaza, pektynaza, glukanaza, lipaza, amylaza, proteaza), jak również metabolitów wtórnych o charakterze antybiotyków (6-PAP) [Strakowska i in. 2014]. Antybiotyki odgrywają dużą rolę w biologicznej ochronie roślin przed *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, bakteriami Gram-dodatnimi i niektórymi wirusami. *Trichoderma* spp. kolonizują powierzchnie korzeni roślin podobnie jak grzyby mykoryzowe i są odporne na związki toksyczne wydzielane przez rośliny w momencie ataku patogenów (fitoaleksyny, flawonoidy, terpenoidy i fenole) [Błaszczuk i in. 2014]. Grzyby *Trichoderma* spp. nazywane są biostymulatorami wzrostu roślin, ponieważ dzięki wyżej opisanym uzdolnieniom regulują procesy życiowe roślin, takie jak transpiracja wody, fotosynteza, asymilacja, a także zwiększają odporność roślin na czynniki abiotyczne i biotyczne [Basak 2008].

Oprócz powszechnie znanych antagonistów z rodzajów *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Trichoderma* czy *Gliocladium* w ostatnich latach w ochronie biologicznej wykorzystuje się gatunek *Aureobasidium pullulans* (de By) Arnaud., szeroko rozpowszechniony epifit, występujący w fyllosferze różnych gatunków roślin. Znany jest pod popularną nazwą czarne drożdże (black yeast). Jest to grzyb saprotroficzny, związany z różnymi środowiskami, powietrznym i wodnym, występuje w temperaturze umiarkowanej i w warunkach tropikalnych [Gunde-Cimerman i in. 2000, Kordowska-Wiater i in. 2012]. Jest to organizm polimorficzny, zdolny rosnąć w formie pojedynczych komórek organizmu drożdżoidalnego lub w formie wielojądrowych strzępek. Niektóre izolaty *A. pullulans* wykazują aktywność antagonistyczną względem fitopatogenicznych grzybów, takich jak *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* i *Pezizula malicorticis* [Scheda i in. 2002, Pouliot i in. 2005]. W związku z tym grzyb stosowany jest w ochronie przed szarą pleśnią jabłek (*B. cinerea*), mokrą i gorzką zgnilizną jabłek (*Pezizula* spp.) [Achbani i in. 2005, Pouliot i in. 2005, Bencheqroun i in. 2007, Janisiewicz i in. 2008, Wagner i in. 2013]. Szczep *A. pullulans* L47 izolowany w południowej części Włoch z powierzchni owoców winorośli był z powodzeniem stosowany do ochrony różnych owoców i warzyw w okresie pozbiorowym [Scheda i in. 2002, Kordowska-Wiater i in. 2012]. Na jego bazie stworzono biopreparat o nazwie handlowej Boni Protrect Forte GmbH, zawierający blastospory *A. pullulans* przechowywane na naturalnym podłożu. Rozwój *A. pullulans* na powierzchni roślin zależy od wielu czynników, takich jak temperatura, pH, koncentracja tlenu oraz zawartość określonych składników pokarmowych w podłożu (węgiel, azot i wielocukry).

Obecność powyższych składników umożliwia właściwą dla grzyba produkcję związków biologicznie czynnych (enzymy, antybiotyki, metabolity) odpowiedzialnych za antygrzybowe i antibakteryjne właściwości [Gaur i in. 2010]. Nie każdy jednak rodzaj materiału roślinnego jest właściwym miejscem do rozwoju tego gatunku. Jamiołkowska [2013] wykazała, że liście i łodygi papryki słodkiej opryskiwane zawiesiną blastospor *A. pullulans* nie stanowiły właściwego podłoża do jego rozwoju. Rezultaty prowadzonego systemu ochrony były niekorzystne. Zielone części roślin, w przeciwieństwie do owoców, nie są źródłem polisacharydów niezbędnych do rozwoju grzyba. *A. pullulans* w warunkach naturalnych zasiedla głównie owoce, chroniąc je przed kolonizacją przez inne patogeny [Mounir i in. 2007, Kordowska-Wiater 2011]. Analiza mykologiczna owoców papryki chronionych preparatem Boni Protect Forte potwierdziła informacje zawarte w literaturze. Preparat stosowany w formie oprysku hamował rozwój alternariozy tylko w obrębie owoców papryki, lecz nie chronił liści przed infekcją. Skuteczność Boni Protect Forte w ochronie owoców w okresie pozbiorowym potwierdza wielu badaczy. Opryskiwanie owoców zawiesiną zarodników *A. pullulans* chroniło jabłka przed rozwojem *Penicillium expansum* (mokra zgnilizna owoców) i winogrona przed rozwojem szarej pleśni [Achbani i in. 2005, Angeli i in. 2007, Mounir i in. 2007, Wagner i in. 2006, 2013]. W ograniczaniu rozwoju grzybów chorobotwórczych przez grzyb drożdżoidalny największe znaczenie ma zjawisko antagonizmu, które wyraża się jako konkurencja o pokarm i powierzchnię [Bencheqroun i in. 2007]. Kordowska-Wiater [2011] opisuje mechanizmy aktywności antagonistycznej drożdży rodzaju *Aureobasidium*, *Saccharomyces*, *Debaryomyces*, *Metschnikowa*, *Pichia* i *Candida*. Działanie tych mikroorganizmów wobec grzybów fitopatogenicznych jest wielopoziomowe. Opiera się na współzawodnictwie o składniki odżywcze i przestrzeń, produkcji enzymów degradujących ścianę komórkową, produkcji metabolitów przeciwgrzybowych i związków lotnych oraz indukcji odporności gospodarza. Skuteczne działanie czynników biologicznej ochrony może być również efektem występowania kilku mechanizmów jednocześnie [Castoria i in. 2001, Kordowska-Wiater 2011]. Janisiewicz i in. [2008] podają, że *A. pullulans* w doświadczeniach *in vitro* hamował zarodnikowanie *P. expansum*. Grzyb jako naturalny antagonista wytwarza wiele związków biologicznie czynnych: enzymów pektynolitycznych (amylaza, ksylanaza, pektynaza i inne), metabolitów, antybiotyków, pojedynczych komórek protein (SCP – single cell proteins) i polisacharydów [Takesako i in. 1991, Pouliot i in. 2005, Prasongsuk i in. 2005, Chi i in. 2009]. Ważnym polisacharydem produkowanym przez *A. pullulans* jest pullulan, który powoduje degradację ściany komórkowej roślin i powierzchni przemysłowych [Gaur i in. 2010].

Kolejnym biopreparatem zarejestrowanym do ochrony roślin przed chorobami jest Polyversum WP, zawierający 10^6 oospor *Pythium oligandrum* (Dreschler) w 1 g produktu. W latach 60. XX w. czeski naukowiec Dáša Veselý odkrył mikropatogenne działanie *P. oligandrum* i stwierdził, że ma on charakter „drapieżny” względem innych grzybów. Od tego czasu badania Veselego były poświęcone możliwościom zastosowania *P. oligandrum* w dziedzinie ochrony biologicznej [Vaselý 1978]. *P. oligandrum* to organizm grzybopodobny należący do królestwa Chromista [Marcinkowska 2010]. Zasiedla strefę korzeni roślin, eliminując poprzez konkurencję i pasożytnictwo grzyby chorobotwórcze. W środowisku wilgotnym jego zarodniki aktywują się, produkując szereg enzymów o charakterze celulolitycznym. *P. oligandrum* rozpoczyna wyszukiwanie odpowiedniego substratu odżywczego, którym są inne, drobne grzyby. Podczas kontaktu z nimi penetruje

strzępkami komórki żywiciela i czerpie z nich substancje odżywcze, które wykorzystuje do własnego procesu reprodukcyjnego. Grzyb wpływa również na chronioną roślinę, pobudzając jej system odpornościowy, dzięki czemu staje się mniej podatna na porażenie. Zakres chorób zwalczanych przy użyciu Polyversum to szara pleśń, fuzarioza, zgnilizna twardzikowa, fytoftoroza, ryzoktonioza, mączniak prawdziwy i rzekomy. Skuteczność działania biopreparatu do ochrony roślin uprawnych potwierdziło już wielu autorów [Orlikowski i Skrzypczak 2003, Patkowska 2005, 2006b, Pięta 2006, Mieszka i Bielenin 2010]. Preparat stosowany do zaprawiania nasion soi i w formie profilaktycznych oprysków roślin w okresie wegetacji skutecznie chronił soję przed patogenami, a wyniki badań mykologicznych były zbliżone do uzyskanych po opryskach fungicydem Amistar 250 SC [Pięta 2006]. Badania nad skutecznością biopreparatu Polyversum WP w ochronie truskawki przed szarą pleśnią prowadziły Mieszka i Bielenin [2010]. Uzyskane wyniki wskazują na dobre działanie badanego preparatu w ochronie przed szarą pleśnią, a efektywność wykonywanych zabiegów wynosiła od 60 do 90%, w zależności od zagrożenia chorobowego. Ponadto zabiegi wykonywane preparatem Polyversum istotnie ograniczają nasilenie dwóch innych ważnych chorób truskawki: białej plamistości liści oraz mączniaka prawdziwego.

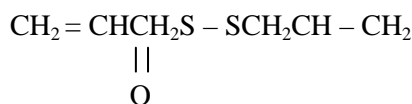
W Polsce zarejestrowany jest również preparat Contans WG (producent Bilogischer Pflanzenschutz GmbH). Jako czynnik biologiczny zawiera zarodniki grzyba *Coniothyrium minitans* (*Paraphaeosphaeria minitans* (A.W. Campb.) Verkley, Goker & Stielow) (Index Fungorum). Preparat zalecany jest do ochrony roślin ozdobnych, warzywnych oraz rzepaku przed chorobami powodowanymi przez grzyby rodzaju *Sclerotinia*. *P. minitans* jako nadpasożyt powoduje wyniszczenie i rozpad sklerocjów, tworząc nowe skupienia zarodników [Weber 2002, Hammond i in. 2008, Ojaghian 2010]. Biopreparat polecany jest szczególnie do ochrony selerów, sałaty i słoneczników przed zgnilizną twardzikową [McLaren i in. 1996]. Mykopasożyt jako czynnik biologicznej ochrony przed *S. sclerotiorum* został opisany po raz pierwszy w Kalifornii przez Campbella [1947]. Obecnie rozpowszechniony jest już w ponad 30 krajach świata. Grzyb potrafi infekować i niszczyć sklerocja patogenu przeżywające w glebie, zmniejsza ich zdolność kiełkowania i żywotność [Jones i Whipps 2002]. *C. minitans* może przetrwać w glebie wiele lat po jego zastosowaniu. Stwierdzono w warunkach *in vitro*, iż wystarczy jeden zarodnik grzyba, aby zainfekować sklerocjum *S. sclerotiorum* [Gerlagh i in. 2003].

Preparaty biotechniczne

W ochronie roślin i farmakologii duże znaczenie mają substancje biologiczne o działaniu przeciwbakteryjnym i przeciwgrzybowym. Ich stosowanie stwarza możliwość bezpiecznego leczenia i produkcję zdrowej żywności. Na bazie związków organicznych zawartych w produktach pochodzenia roślinnego lub zwierzęcego, na drodze określonych procesów technologicznych, powstają preparaty biotechniczne stosowane w ochronie roślin. Należą do nich m.in. Bioczos Płynny, Biosept Active, Beta-Chikoł, Timorex Gold 24 EC.

Bioczos Płynny zawiera wyciąg z czosnku i nazywany jest biofungicydem. Ekstrakty i homogenaty z czosnku wykazują właściwości antybakteryjne i antygrzybowe względem wielu grzybów patogenicznych, m.in. *F. oxysporum* i *S. sclerotiorum* [Saniewska 2002, 2004]. Sok z czosnku zastosowany *in vitro* hamuje wzrost bakterii rodzaju *Agrobacte-*

rium, *Erwinia*, *Pseudomonas* i *Xanthomonas*. Saniewska i Żurawska [2001] wykazały, że zastosowanie czosnku jako przedplonu powodowało silne zahamowanie rozwoju fuźariozy naczyń astra uprawianego w podłożu zawierającym *F. oxysporum* f. sp. *callistephi*. Wpływ ekstraktu z czosnku na patogeny glebowe (*Pythium aphanidermatum*, *P. ultimum*, *Phytophthora cinnamomi*) wykazali Sealy i in. [2007]. Antygrzybowe właściwości miazgi czosnkowej (Bioczos Płynny) zostały potwierdzone również w warunkach *in vitro* [Jamiołkowska i Wagner 2011]. Preparat hamował wzrost liniowy *A. alternata*, *B. cinerea*, *C. coccoodes* i *Rhizoctonia solani*. Preparat zalecany jest również do ochrony papryki słodkiej przed grzybami chorobotwórczymi i jest bardziej skuteczny niż fungicyd Amistar 250 SC [Jamiołkowska 2013]. O wysokiej efektywności preparatu pisze wielu autorów [Sadowski i in. 2007, 2009, Kaczmarek-Cichosz i Chojnacki 2010, Marjańska-Cichoń i Sapieha-Waszkiewicz 2010, Yazdani i in. 2011, Hadian 2012]. Horoszkiewicz-Janka i in. [2012] wykazali niski stopień porażenia nasion roślin strączkowych zaprawianych miazgą czosnkową, a skuteczność zaprawiania była podobna do działania zaprawy chemicznej Vitavax 200 FS. Miazga czosnkowa dodatkowo wpływała na poprawę energii kiełkowania nasion. Marjańska-Cichoń i Sapieha-Waszkiewicz [2010] wskazały na skuteczność preparatu Bioczos Standard w ochronie truskawki przed szarą pleśnią. Efektywność preparatu zależy jednak od warunków pogody. W sezonie wegetacyjnym obfitującym w opady jego skuteczność może być niezadowolająca. Antygrzybowe właściwości czosnku względem niektórych grzybów opisują Abdulrahman i Alkhail [2005]. Wyciągi wodne i etanolowe z czosnku były bardzo skuteczne w ograniczaniu wzrostu *A. alternata*, *F. moniliforme*, *Cercospora arachidicola*, *R. solani* w kulturach *in vitro*. Skuteczność preparatów opartych na czosnku zależy nie tylko od warunków pogody, lecz również od zwalczanego gatunku grzyba. Sadowski i współautorzy [2009] wykazali brak skuteczności preparatu Bioczos BR w ochronie cebuli nasiennej przed mączniakiem rzekomym cebuli. Analizy mykologiczne wykazały wpływ preparatu na wzrost bioróżnorodności gatunkowej w obrębie badanych organów rośliny, co minimalizuje ryzyko dominacji jednego gatunku, który może wywoływać chorobę. Antymikrobową aktywność czosnku przypisuje się głównemu składnikowi o nazwie allicyna, o następującym wzorze chemicznym [Ejaz i in. 2003]:



Allicyna jako czysty związek jest produktem powstającym w wyniku działania liazy allinowej na allinę. Jest to produkt mało stabilny i trudny do otrzymania w czystej formie jako produkt biologiczny stosowany w handlu.

Preparatem wykazującym dużą skuteczność w ochronie roślin przeciwko grzybom patogenicznym jest Biosept Active (Biosept 33 SL), zawierający ekstrakt z grejpfruta (33%). Produkt nadal wykorzystywany jest do zwalczania chorób pochodzenia bakteryjnego i grzybowego. Wielu autorów wykazało jego efektywność w zwalczaniu mączniaków prawdziwych, szarej pleśni, alternariozy i rdzy w uprawach warzyw i roślin ozdobnych [Orlikowski i Skrzypczak 2003, Saniewska i Jarecka 2006, Lenc 2007, Jamiołkowska 2009, 2011]. Środek wykazał znaczną skuteczność w zwalczaniu niektórych patogenów glebowych w uprawach roślin ozdobnych (*Phytophthora cryptogea*, *P. cinnamomi*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*) oraz w uprawach soi (*Phomopsis sojae*, *Fusa-*

rium spp., *S. sclerotiorum*, *Phoma exigua*) [Patkowska 2005, 2006b]. Jego skuteczność w ochronie ziemniaka i cebuli przed chorobami grzybowymi potwierdzili Lenc [2007] oraz Sadowski i in. [2009]. Preparat ograniczał rozwój alternariozy ziemniaka uprawianego w systemie ekologicznym. Kilka oprysków preparatem ograniczało również rozwój chwościka buraka (*Cercospora beticola*) na plantacjach ekologicznych buraka ćwikłowego [Sadowski i in. 2007]. Jamiołkowska [2011] podaje, że preparat silnie ograniczał wzrost *A. alternata* w warunkach *in vitro*, a jego skuteczność była wyższa niż badanego współrzędnie fungicydu. Preparat wykazywał działanie fungistatyczne nawet po 24 dniach trwania doświadczenia, hamując wzrost kolonii *A. alternata* nawet w 70% w porównaniu z kontrolą. W testach laboratoryjnych preparat nie tylko hamował wzrost strzępek grzybni, ale i rozwój zarodników. Również badania *in vivo* prowadzone przez autorkę [Jamiołkowska 2009, 2013] wskazują na wysoką skuteczność wyciągu z grejpfruta do ochrony owoców papryki słodkiej przed alternariozą. Jego antygrzybowe działanie związane jest z obecnością wielu związków biologicznie czynnych, zawartych w miąższu i zewnętrznej warstwie skórki. Związki te to endogenne flawonoidy i glikozydy oraz terpeny, kumaryny i furanokumaryny. Wykazują one silne właściwości antygrzybowe, hamując kiełkowanie zarodników, wzrost strzępek infekcyjnych i rozwój grzybni [Saniewska 2002, Pięta i in. 2004, Dłużniewska 2006]. Pozytywny wpływ Bioseptu na zbiorowiska grzybów glebowych opisuje również Patkowska [2006b]. Autorka wykazała wysoką skuteczność wyciągu z grejpfruta w ochronie siewek soi przed grzybami glebowymi. Jego korzystne działanie na skład mikrobiologiczny gleby wykazali również inni autorzy [Saniewska 2002, Orlikowski i Skrzypczak 2003], opisując hamujący wpływ produktu na rozwój *Phoma narcissi*, *F. oxysporum* f. sp. *tulipae*, *Phytophthora cinnamomi* i *Pythium ultimum*. Biosept wpływał na wzrost liczby grzybów saprotroficznych (*Trichoderma* spp. i *Penicillium* spp.) w zbiorowisku glebowym. Patkowska [2005] podaje, że preparat zwiększał liczbę jednostek tworzących kolonie antagonistycznych bakterii rodzaju *Bacillus* i *Pseudomonas* w glebie ryzosferowej soi. Badania prowadzone w warunkach *in vitro* [Pięta i in. 2004] wskazują, że wyciąg z grejpfruta efektywnie hamował wzrost strzępek grzybni, zarodnikowanie i powstawanie form przetrwalnikowych u grzybów, takich jak *A. alternata*, *B. cinerea*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani* i *S. sclerotiorum*.

Do grupy preparatów biotechnicznych należy również Beta-Chikol. Jest to preparat przeznaczony do ochrony roślin rolniczych, warzywnych i ozdobnych przed chorobami. W odróżnieniu od typowych środków grzybobójczych oprócz bezpośredniego oddziaływania na patogeny stymuluje mechanizm odporności roślin. Głównym składnikiem produktu jest chitozan, polisacharyd występujący w stanie naturalnym jako składnik pancerzyków skorupiaków morskich. Związek organiczny otrzymuje się poprzez destylację chityny w wyniku działania stężonego wodorotlenku sodu w podwyższonej temperaturze lub za pomocą enzymów [Placek i in. 2009]. Badania naukowe wykazały aktywność powyższej substancji organicznej względem wirusów, bakterii, grzybów i innych czynników chorobotwórczych. Chitozan znany jest również jako elicytor odporności roślin, stymulujący tworzenie fitoaleksyn, białek PR, syntezę ligniny i tworzenie kallozy [El Hadrami i in. 2010]. Patkowska i Pięta [2004] w badaniach *in vitro* potwierdziły skuteczność chitozanu w ograniczaniu rozwoju *Botrytis cinerea*. Korzystny wpływ chitozanu na zdrowotność soi wykazała również Pastucha [2008]. Po zastosowaniu wodnego roztworu chitozanu w postaci mikrożelu (0,1%) do zaprawiania nasion i profilaktycznej

ochrony roślin autorka zaobserwowała na roślinach mniejszą liczbę grzybów chorobotwórczych *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*. Mazur [2009] wykazał hamujący wpływ preparatu Biochikol 020 PC (chitozan) na rozwój *Botrytis cinerea* na owocach truskawki.

Preparatem zalecanym do ochrony roślin jest Timorex Gold 24 EC. Jest to produkt naturalny oparty na wyciągu z krzewu herbacianego *Malaleuca alternifolia*. Olejek z krzewu herbacianego (TTO) pozyskiwany jest z liści i małych gałązek drzew, rosnących w stanie naturalnym na terytorium Australii. Otrzymywany jest przy zastosowaniu destylacji parowej. Gotowy produkt stosowany w ochronie roślin zawiera 23,8% olejku i wykazuje silne działanie antyseptyczne. Swoje unikalne właściwości olejek zawdzięcza przede wszystkim związkom organicznym, takim jak terpinen-4-ol, gamma-terpinen i 1,8-cyneol [Terzi i in. 2007]. Timorex Gold wykazuje szerokie spektrum działania w zwalczaniu fitopatogenicznych grzybów, takich jak *Botrytis cinerea*, *Aspergillus fumigatus*, *Chaetomium globosum*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *Pyrenophora graminea*, *Ascochyta rabiei*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Drechslera avenae*, *Alternaria radicina* i *A. dauci* [Inouye i in. 2000, Angelini i in. 2006, Terzi i in. 2007, Roccioni i Orzali 2011]. Badania laboratoryjne i polowe prowadzone przez Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach wykazują wysoką skuteczność Timorex Gold w ograniczaniu *Bremia lactucae* na sałacie oraz wysoką efektywność ochrony tej rośliny przed mączniakiem rzekomym [Włodarek i Robak 2013]. Olejek z krzewu herbacianego zaleca się również do ochrony ogórka w uprawach pod osłonami przed mączniakiem prawdziwym (*Erysiphe cichoracearum*). Fungicydalny i fungistatyczny wpływ olejku na *E. cichoracearum* objawia się degeneracją zarodników konidialnych i zniekształceniem grzybni patogenu [Włodarek i Dyki 2014].

STYMULATORY ODPORNOŚCI ROŚLIN

Rośliny, oprócz wielu przystosowań do niesprzyjających warunków środowiska, wykształciły mechanizmy obronne chroniące je przed bakteriami, wirusami i grzybami chorobotwórczymi. Rośliny narażone na oddziaływanie patogenów rozwijają różne systemy obronne, kształtując określone cechy morfologiczne oraz wytwarzając metabolity wtórne [Copping 1996, Lozovaya i in. 2004, Vasconsuelo i Boland 2007].

Synteza metabolitów wtórnych jest szczególnie nasiloną w momencie zaatakowania rośliny przez patogeny czy pasożyty. W grupie takich substancji duże znaczenie mają polifenole, głównie duża grupa związków nazywanych fenolokwasami. W naturze fenolokwasy działają fungistatycznie i bakteriostatycznie, pełniąc rolę obronną przeciw pasożytom roślin. Do nabywania odporności może dochodzić nie tylko w następstwie lokalnej infekcji patogenem, lecz także po potraktowaniu roślin rasami niewirulentnymi patogena, mikroorganizmami niepatogenicznymi dla danej rośliny, a nawet ekstraktami pochodzenia roślinnego i niektórymi związkami chemicznymi [Goicoechea i in. 2010]. Preparaty stosowane w biologicznej ochronie roślin wywołują w roślinach określone reakcje obronne [Chirkov i in. 2001, Babosha 2004]. Wiele takich preparatów działa jako elicytory reakcji obronnych w roślinie [Chirkov i in. 2001]. W wyniku działania ekstraktów pochodzenia roślinnego w komórkach patogenu lub rośliny uwalniane są elicytory białkowe, lipidowe lub oligogalakturnowe. W komórkach roślin następuje

wówczas synteza fitoaleksyn, tworzenie kalozy i lignifikacja ścian komórkowych [Kozłowska i Konieczny 2003]. W grupie fitoaleksyn syntetyzowanych pod wpływem elicytorów są związki fenolowe. Flawonoidy, należące do tej grupy, wytwarzane są w roślinie głównie w następstwie procesu infekcji [Hassan i Mathesius 2012]. Podobne jak inne fenole hamują rozwój różnych patogenów: bakterii i grzybów [Makoi i Ndakidemi 2007, Cushnie i Lamb 2011]. Candela i in. [1995] stwierdzili wyższą zawartość kwasów fenolowych w łodygach odmian *C. annuum* odpornych na *Phytophthora capsici*. Związki fenolowe nazywane są również toksynami antimikrobiologicznymi i anty- lub prooksydantami [Jia i in. 2010]. Działanie biologiczne omawianych związków ma charakter mało specyficzny, a ich wpływ na patogeny jest wszechstronny. Działają hamująco na zarodnikowanie, kiełkowanie zarodników i wzrost strzępek kiełkowych [Kozłowska i Konieczny 2003]. Najnowsze badania wskazują, że wytwarzane przez roślinę flawonoidy obecne są również w wydzielinach korzeniowych roślin, działając na patogeniczne mikroorganizmy ryzosferowe [Hassan i Mathesius 2012]. Metabolity wtórne syntezowane przez rośliny mają zadanie ochronne w stosunku do „atakujących” patogenów. Na skutek uszkodzeń roślin przez czynniki chorobotwórcze szybko wzrasta ilość glikozydów fenolowych w zainfekowanych częściach rośliny. Stężenie związków fenolowych istotnie wzrasta w tkance porażonej, co skutkuje tworzeniem połączeń z białkami, prowadząc do denaturacji i precypitacji. Szczególne znaczenie w reakcjach skierowanych przeciwko patogenom mają nie same fenole, ale produkty powstające w wyniku ich przemian i utleniania (chinony i kwas chlorogenowy). Z obecnością kwasu chlorogenowego związana jest np. odporność ziemniaka na parcha zwykłego powodowanego przez *Streptomyces scabies*, natomiast jego zawartość w korzeniach marchwi wzrasta przeszło dwukrotnie po infekcji grzybem *Thielaviopsis basicola* [Walters i in. 2007]. Badania prowadzone przez Jamiołkowską [2013] pozwoliły określić wpływ preparatów Bioalgeen S90 Plus i Boni Protect Forte na kumulację flawonoidów i kwasów fenolowych w liściach, łodygach i korzeniach papryki. Zawartość związków fenolowych w badanych częściach roślin była różna i zależała od analizowanej części rośliny, rodzaju stosowanego preparatu, warunków pogody oraz kondycji zdrowotnej roślin. Stosowanie produktów biologicznych wzbudza w roślinach szereg reakcji obronnych, m.in. wytwarzanie i kumulację związków fenolowych, co jest efektem immunizacji roślin [Kozłowska i Konieczny 2003, Gayoso i in. 2004, Panina i in. 2007, Hassan i Mathesius 2012]. Jak wynika z literatury, zjawisko to ma charakter bardzo złożony. Nabywanie odporności może następować nie tylko po potraktowaniu rośliny ekstraktami pochodzenia roślinnego i niektórymi związkami chemicznymi, ale głównie w następstwie infekcji lokalnej patogenem [Kozłowska i Konieczny 2003]. Poza licznymi barierami natury biochemicznej ważną rolę w odporności odgrywają predyspozycje rośliny-gospodarza do tworzenia barier fizycznych, uniemożliwiających rozprzestrzenianie się patogenu. Barrierami utrudniającymi wnikanie jest impregnacja ścian komórkowych różnymi substancjami celulozowymi, jak woski, lignina i suberyna [Kozłowska i Konieczny 2003, Walters i in. 2007]. Oddziaływanie patogenu może mieć charakter lokalny albo obejmować organy niebędące obiektami porażenia, czyli może mieć zasięg systemiczny. Nabyta odporność systemiczna (SAR) może powstawać pod wpływem kolonizacji korzeni przez niepatogeniczne mikroorganizmy ryzosferowe, czy pod wpływem grzybów mykoryzowych jako czynników wspomagających wzrost roślin [Goicoechea i in. 2010]. Jednocześnie czynniki te stosowane są jako bioprotektory przed grzybami chorobotwórczymi dla roślin. Aplikacja grzybów mykoryzo-

wych (AMF) na korzenie papryki słodkiej przeciwko *Verticillium* spp. wywoływała nie tylko zjawisko bezpośredniej ochrony rośliny przed patogenem, ale wzbudzała szereg reakcji obronnych, takich jak powstawanie lignin w naczyniach oraz wzrost poziomu peroksydazy i liazy fenyloalaninowej w korzeniach [Goicoechea i in. 2010]. Lignifikacja może być bezpośrednią przyczyną ograniczania rozwoju patogenu oraz istotnym elementem reakcji nadwrażliwości, m.in. w bulwach ziemniaków porażonych *P. infestans* [Plich 2007]. Prekursorem syntezy ligniny w komórkach roślin zaatakowanych patogenem są kwasy fenolowe i fitoaleksyny. Lignina to polimer, który ma duże znaczenie w reakcji obronnej organizmu przy infekcji patogenem. Jest odporna na enzymatyczny rozkład przez patogen i ma różną naturę biochemiczną zależnie od rośliny żywicielskiej i rodzaju czynnika stresowego [Boudet 2007, Egea i in. 2001, Humphreys i Chapple 2002]. Indukowanie reakcji obronnych w uprawach roślin mogłoby się przyczynić do ograniczania stosowania w ochronie roślin substancji chemicznych ze względu na ochronę środowiska, a przede wszystkim na zdrowie konsumenta. W literaturze nadal brakuje informacji dotyczących wpływu preparatów biologicznych i biotechnicznych w procesie immunizacji roślin. Wpływ wybranych preparatów biologicznych (Bioczos Płynny, Biosept 33SL, Bioalgeen S90 Plus) na zmiany morfologiczno-anatomiczne w liściach papryki słodkiej zostały opisane przez Jamiołkowską [2013]. Opryski i podlewanie roślin ww. preparatami istotnie wpłynęło na wzrost grubości blaszki liściowej oraz kory wtórnej łodygi papryki.

ZALETY I WADY PREPARATÓW BIOLOGICZNYCH

Pomimo wielu zalet preparatów stosowanych w biologicznej ochronie ich udział w ogólnej liczbie środków ochrony wykorzystywanych w rolnictwie wynosi tylko kilka procent [Tomalak 2007, Zydlik 2008]. Wynika to m.in. z wolniejszego ich działania niż chemicznych środków ochrony roślin, dużych wymagań preparatów biologicznych dotyczących warunków ich użytkowania, wysokich kosztów zabiegów oraz selektywności środków biologicznych [Zydlik 2008]. Biologiczna ochrona roślin może być jednak metodą alternatywną dla metod chemicznych, a jej stosowanie w połączeniu z metodami chemicznymi przynosi pozytywne efekty. Zainteresowanie biologicznymi metodami ochrony wiąże się z ich bezpieczeństwem dla środowiska oraz z narastającym problemem odporności patogenów na stosowane dotychczas fungicydy [Abano i Sam-Amoah 2012]. Biologiczna metoda, rozumiana jako ograniczanie występowania patogenów i szkodników roślin oraz chwastów za pomocą czynników biologicznych z wyłączeniem hodowli odpornościowej prowadzonej metodami konwencjonalnymi i inżynierii genetycznej, ma za zadanie redukcję zdolności agrofagów do wywoływania choroby czy poważnych uszkodzeń [Kryczyński i in. 2002]. Celem nadrzędnym tej metody nie jest całkowite wytępienie patogenu/szkodnika, ale obniżenie jego liczebności poniżej progu szkodliwości i wprowadzanie równowagi biologicznej w zbiorowisku mikroorganizmów bytujących na roślinach. Wiele osób sceptycznie podchodzi do tego typu metody, twierdząc, że jest nieefektywna. Założenia funkcjonowania metody biologicznej są zupełnie inne niż metody chemicznej, a jej działanie rozłożone jest w czasie i wymaga gruntownej wiedzy ze strony producenta. Niemniej jednak, jak twierdzą analitycy, sprzedaż biolo-

gicznych środków ochrony (biopreparatów i preparatów biotechnicznych) w drugiej dekadzie XXI w. spadnie względem lat obecnych.

Mały udział biologicznych środków ochrony w ogólnym asortymencie dostępnych tego typu produktów wynika z faktu, że nie opracowano dotychczas skutecznych metod biologicznych do zwalczania lub ograniczania najważniejszych chorób w uprawach wielkoobszarowych, a skuteczność w przypadku większości biopestycydów jest mniejsza, ich aplikacja zaś trudniejsza i bardziej kłopotliwa niż środków chemicznych. Upowszechniana i rozwijana od ponad 20 lat strategia rolnictwa zrównoważonego nie przyczyniła się do znaczącego wzrostu wykorzystywania w ochronie roślin metod ochrony biologicznej (głównie wielkości zużycia preparatów biologicznych) [Martyniuk 2012]. Pomimo wielu trudności we wprowadzeniu na rynek i szerszym stosowaniu preparatów biologicznych istnieją producenci zainteresowani ich zakupem. Jest to wąska grupa rolników i ogrodników zainteresowana wytwarzaniem żywności głównie na rynek ekologiczny. Należy przypuszczać, że w przyszłości oni będą głównymi odbiorcami tego typu produktów.

PODSUMOWANIE

W produkcji roślinnej preparaty biotechniczne i biopreparaty stosowane są do ograniczania rozwoju patogenów i szkodników, jak również do stymulowania wzrostu i plonowania roślin. Produkty biologiczne wykorzystywane są w rolnictwie integrowanym i ekologicznym [Pięta i in. 2004, Horoszkiewicz-Janka i Michalski 2006, Patkowska 2006a, Lenc 2007, Sharma i in. 2009, Arunkumar i in. 2010, Martyniuk i Książak 2011]. Preparaty biologiczne, oprócz działania opartego na zjawisku antagonizmu oraz bezpośrednim wpływie związków biologicznie czynnych względem zwalczanych agrofagów, działają również pośrednio, wzbudzając w roślinach mechanizmy obronne. Odporność roślin na stresy (w tym patogeny) zależy nie tylko od uwarunkowań genetycznych, lecz może być kształtowana przez czynniki środowiska, m.in. przez stosowanie preparatów biologicznych. Wiele spośród stosowanych na rynku tego typu preparatów nazywanych jest induktorami odporności roślin oraz wiele ze względu na wysokie koszty rejestracji dopuszczonych jest do obrotu jako tzw. biostymulatory wzrostu roślin [Benhamou i in. 1994, Chirkov i in. 2001, Patkowska 2005, 2006a]. Mechanizm działania preparatów biologicznych jest różny. Preparaty te działają poprzez uruchamianie nabytej odporności systemicznej (SAR), są elicytorami reakcji obronnych w roślinie oraz biorą udział w tworzeniu barier fizycznych uniemożliwiających atak patogenu [Chirkov i in. 2001, Kozłowska i Konieczny 2003].

Pomimo braku szybkich efektów działania preparatów biologicznych warto włączyć je w system ochrony integrowanej, co z pewnością służy szeroko rozumianej ochronie środowiska, w tym zdrowia i życia człowieka.

PIŚMIENNICTWO

Abano E.E., Sam-Amoah L.K., 2012. Application of antagonistic microorganisms for the control of postharvest decays in fruits and vegetables. *Int. J. Adv. Biol. Res.* 2(1), 1–8.

- Abdulrahman A., Alkhail A., 2005. Antifungal activity of some extract against some plant pathogenic fungi. *Pak. J. Biol. Sci.* 8(3), 413–417.
- Achbani E.H., Mounir R., Jaafari S., Douira A., Benbouazza A., Jijakli M.H., 2005. Selection of antagonists of postharvest apple parasites: *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea*. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 70(3), 143–149.
- Angeli D., Longa C., Bozza E., Maines L., Elad Y., Simeone V., Abou Assaf H., Pertot I., 2007. Evaluation of new biological control agents against grapevine powdery mildew under greenhouse conditions. *IOBC/EPRS Bull.* 30(6), 37–42.
- Angelini P., Pagiotti R., Menghini A., Vianello B., 2006. Antimicrobial activities of various essential oils against foodborne pathogenic or spoilage moulds. *Ann. Microbiol.* 56(1), 65–69.
- Arunkumar K., Sivakumar S.R., Rengasamy R., 2010. Review on bioactive potential in seaweeds (Marine Macroalgae): a special emphasis on bioactivity of seaweeds against plant pathogens. *Asian J. Plant Sci.* 9(5), 227–240.
- Babosha A.V., 2004. Changes in lecithin activity in plants treated with resistance inducers. *Biol. Bull. Russ. Acad. Sci.* 31(1), 51–55.
- Basak A., 2008. Biostimulators – definitions, classification and legislation. W: Z.T. Dąbrowski (red.), *Biostimulators in modern agriculture, general aspects*. Plantpress, Warszawa, 7–17.
- Bencheqroun S.K., Bajji M., Massart S., Labhilili M., Jaafari S.E., Jijakli M.H., 2007. *In vitro* and *in situ* study of postharvest apple blue mold biocontrol by *Aureobasidium pullulans*: evidence for the involvement of competition for nutrients. *Postharv. Biol. Technol.* 46, 128–135.
- Benhamou N., Lafontaine P.J., Nicole M., 1994. Induction of systemic resistance to *Fusarium* crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. *Phytopathology* 84(12), 1432–1444.
- Błaszczak L., Siwulski M., Sobieralski K., Lisiecka J., Jędrzycka M., 2014. *Trichoderma* spp. – application and prospects for use In organic farming and industry. *J. Plant Prot. Res.* 54(4), 309–317.
- Boudet A.M., 2007. Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry* 68, 2722–2735.
- Campbell W.A., 1947. A new species of *Coniothyrium* parasitic on sclerotia. *Mycologia* 39, 190–195.
- Candela M.E., Alcazar M.D., Espin A., Egea C., Almela L., 1995. Soluble phenolic acids in *Cap-sicum annuum* stems infected with *Phytophthora capsici*. *Plant Pathol.* 44, 1, 116–123.
- Castoria R., De Curtis F., Lima G., Caputo L., Pacifico S., De Cicco V., 2001. *Aureobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogens on fruits: study on its modes action. *Postharv. Biot. Technol.* 22, 7–17
- Chi Z., Wang F., Chi Z., Yue L., Liu G., Zhang T., 2009. Bioproducts from *Aureobasidium pullulans*, a biotechnology important yeast. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82, 793–804.
- Chirkov A., Ina V.I., Surgucheva W.A., Letunova E.V., Yuvaritsev A.A., Tatarino N.Y., Varlamov V.P., 2001. Effect of chitosan on systemic Viral Infection and some defense responses in potato plants. *Russ. J. Plant Physiol.* 48(6), 774–779.
- Copping L.G., 1996. *Crop protection agents from nature: Natural products and analogues*. The Royal Society of Chemistry, London.
- Cushnie T.P., Lamb A.J., 2011. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents* 38, 99–107.
- Dłużniewska J., 2004. Activity of biopreparations for controlling fungous diseases of rose shoots. *Prog. Plant Prot.* 44(2), 648–650.
- Dłużniewska J., 2006. Usefulness of biopreparations for protection of common osier (*Salix viminalis* L.) against fungal pathogens. *Prog. Plant Prot.* 46(2), 633–635.
- Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) Nr 2009/128/WE z dnia 21 października 2009. Dz.U. UE L 309 z 21.11.2009.

- Dyrektywa Rady Nr 91/414/EEC z 15 lipca 1991 roku dotycząca wprowadzania do obrotu środków ochrony roślin. Dz.U. UE. L 230 z 19.08.1991.
- Egea C., Ahmed A.S., Candela M., Candela M.F., 2001. Elicitation of peroxidase activity and lignin biosynthesis in pepper suspension cells by *Phytophthora capsici*. J. Plant Physiol. 158, 151–158.
- Ejaz S., Woong L.C., Ejaz A., 2003. Extract of garlic (*Allium sativum*) in cancer chemoprevention. Exp. Oncol. 25, 93–97.
- El Hadrami A., Adam L.R., El Hadrami L., Daayf F., 2010. Chitosan in plant protection. Mar Drugs 8(4), 968–987.
- Gaur R., Singh R., Gupta M., Gaur M.K., 2010. *Aureobasidium pullulans*, an economically important polymorphic yeast with special reference to pullulan. Afr. J. Biotechnol. 9(47), 7989–7997.
- Gayoso C., Pomar F., Merino F., Bernal M.A., 2004. Oxidative metabolism and phenolic compounds in *Capsicum annuum* L. var. *annuum* infected by *Phytophthora capsici* Leon. Sci. Hort. 102, 1–13.
- Gerlagh M., Goossen-van de Geijn H.M., Hoogland A.E., Vereijken P.F.G., 2003. Quantitative aspects of infection of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia by *Coniothyrium minitans* – Timing of application, concentration and quality of conidial suspension of the mycoparasite. Eur. J. Plant Pathol. 109, 489–502.
- Gębarowska E., Pietr S.J., 2012. Aktywność przeciwgrzybowa szczepów *Trichoderma harzianum* odpornych na benomyl wobec fitopatogenów glebowych. Zesz. Nauk. UP we Wrocławiu, Rolnictwo 103(589), 81–92.
- Goicoechea N., Garmendia I., Sanchez-Diaz M., Aguirreolea J., 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) as bioprotector agents against wilt induced by *Verticillium* spp. in pepper. Spanish J. Agric. Res. 8(1), 25–42.
- Gorczyca A., 2007. Wpływ środków Biosept 33 SL i Bioczoz BR na wybrane grzyby owadobójcze *in vitro*. Prog. Plant Prot. 47(4), 142–144.
- Grzebisz W., 2008. Nawożenie roślin uprawnych. T. 1, Podstawy nawożenia. PWRiL, Poznań.
- Gunde-Cimerman N., Zalar P., de Hoog G.S., Plemenitas A., 2000. Hypersaline water in salterns – natural ecological niches for halophilic black yeasts. FEMS Microbiol. Ecol. 32, 235–240.
- Hadian S., 2012. Antifungal activity of some plant extracts against some plant pathogenic fungi in Iran. Asian J. Exp. Biol. Sci. 3(4), 714–718.
- Hammond C.N., Cummings T.F., Johnson D.A., 2008. Deposition of ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum* in and near potato fields and the potential to impact efficacy of a biocontrol agent in the Columbia Basin. Am. J. Potato Res. 85, 353–360.
- Hassan S., Mathesius U., 2012. The role of flavonoids in root-rhizosphere signaling: opportunities and challenges for improving plant-microbe interaction. J. Exp. Bot. 10, 1–16.
- Horoszkiewicz-Janka J., Jajor E., Korbas M., 2012. Usage of biopreparations as seed dressing in legume cultivation. J. Res. Appl. Agric. Eng. 57(3), 162–166.
- Humphreys J.M., Chapple C., 2002. Rewriting the lignin roadmap. Curr. Opin. Plant Biol. 5, 224–229.
- Index Fungorum, www.indexfungorum.org/Names/Names.asp.
- Inouye S., Tsuruoka T., Watanabe M., Takeo K., Akao M., Nishiyama Y., Yamaguchi H., 2000. Inhibitory effect of essential oils on apical growth of *Aspergillus fumigatus* by vapour contact. Mycoses 43(1–2), 17–23.
- Jamiołkowska A., 2009. The influence of bio-preparation Biosept 33 SL on fungi colonizing of sweet pepper plants (*Capsicum annuum* L.) cultivated in the field. EJPAU 12 (3), <http://www.ejpau.media.pl/volume12/issue3/art-13.html>.

- Jamiołkowska A., 2011. Laboratory effect of azoxystrobin (Amistar 250 SC) and grapefruit extract (Biosept 33 SL) on growth of fungi colonizing zucchini plants. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 10(2), 245–257.
- Jamiołkowska A., 2013. Preparaty biotechniczne i biologiczne w ochronie papryki słodkiej (*Cap-sicum annuum* L.) przed grzybami chorobotwórczymi i indukowaniu reakcji obronnych roślin. *Rozpr. Nauk. UP w Lublinie* 379.
- Jamiołkowska A., Wagner A., 2007. Próby zastosowania olejku tymiankowego do ochrony papryki uprawianej w polu przed grzybami chorobotwórczymi. *Prog. Plant Prot.* 47(4), 149–153.
- Jamiołkowska A., Wagner A., 2011. Effect of garlic pulp (Bioczys Płynny) on some fungi pathogenic to vegetables. W: AFPP – Fourth International Conference on Non Chemical Crop Protection Methods, Lille, 8–10 march 2011, 213–220.
- Janisiewicz W., Saftner R., Conway W., Yoder K., 2008. Control of blue mold decay of apple during commercial controlled atmosphere storage with yeast antagonists and sodium bicarbonate. *Postharv. Biol. Technol.* 49, 374–378.
- Jia L., Liu X., Bai Y. Y., Li S. H., Sun K., He C., 2010. Short-term effect of cocoa product consumption on lipid profile: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.* 92, 218–225.
- Jones E.E., Whipps J.M., 2002. Effect of inoculum rates and sources of *Coniothyrium minitans* on control of *Sclerotinia sclerotiorum* disease in glasshouse lettuce. *Eur. J. Plant Pathol.* 108, 527–538.
- Kaczmarek-Cichosz R., Chojnacki J., 2010. Effectivity of semi-dry seeds dressing method with ecological plant protection agent. *J. Res. Appl. Agric. Eng.* 55(3), 152–155.
- Kordowska-Wiater M., 2011. Drożdże jako czynniki ochrony biologicznej roślin. *Post. Mikrobiol.* 50(2), 107–119.
- Kordowska-Wiater M., Wagner A., Hetman B., 2012. Efficacy of *Candida melibiosica* for control of post-harvest fungal diseases of carrot (*Daucus carota* L.). *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 11(5), 55–65.
- Kozłowska M., Konieczny G., 2003. *Biologia odporności roślin na patogeny i szkodniki*. Wyd. AR, Poznań.
- Kryczyński S., Mańka M., Sobiczewski P., 2002. *Słownik fitopatologiczny*. Hortpress, Warszawa.
- Lenc L., 2007. Efficacy of Biosept 33SL in limiting of alternariosis on potato (*Alternaria* spp.) grown in organic farm. *J. Res. Appl. Agric. Eng.* 52(3), 101–104.
- Lipa J.J., Pruszyński S., 2010. Stan wykorzystania metod biologicznych w ochronie roślin w Polsce i na świecie. *Prog. Plant Prot.* 50(3), 1033–1043.
- Lozovaya V.V., Lygin A.V., Li S., Hartman G.L., Widholm J.M., 2004. Biochemical response of soybean roots to *Fusarium solani* f. sp. *glycine* infection. *Crop Sci.* 44(3), 819–826.
- Makoi J.H., Ndadkide P.A., 2007. Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of symbiotic legumes. *Afr. J. Biotechnol.* 6, 1358–1368.
- Maleshko N., 2005. *Możliwość zastosowania biologicznych środków przeciwko szarej pleśni truskawek (Botrytis cinerea Pers.)*. *Prog. Plant Prot.* 45, 236–240.
- Marcinkowska J., 2010. *Oznaczanie rodzajów grzybów ważnych w patologii roślin*. Fundacja „Rozwój SGGW”, Warszawa.
- Marjańska-Cichoń B., Sapięcha-Waszkiewicz A., 2010. Skuteczność preparatów biotechnicznych opartych na ekstrakcie z czosnku w zwalczaniu szarej pleśni na truskawce. *Prog. Plant Prot.* 50(1), 378–382.
- Martyniuk S., 2012. Factor affecting the use of microbial biopesticides in plant protection. *Prog. Plant Prot.* 52(4), 957–962.
- Martyniuk S., Księżak J., 2011. Ocena pseudomikrobiologicznych biopreparatów stosowanych w uprawie roślin. *Pol. J. Agronom.* 6, 27–33.

- Mazur S., 2009. Wpływ ochrony truskawki środkami naturalnymi na porażenie owoców i liści przez niektóre grzyby patogeniczne. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl.* 49(1), 379–382.
- McLaren D.L., Huang H.C., Rimmer S.R., 1996. Control of apothecial production of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Coniothyrium minitans* and *Talaromyces flavus*. *Plant Dis.* 80, 1373–1378.
- Meszka B., Bielenin A., 2010. Polyversum WP – a new biological product against strawberry grey mould. *Phytopathologia* 58, 13–19.
- Mounir R., Durieux A., Bodo C., Allard C., Simon J.P., Achbani E. H., El-Jaafari S., Douira A., Jijakli M.H., 2007. Production, formulation and antagonistic activity of the biocontrol like-yeast *Aureobasidium pullulans* against *Penicillium expansum*. *Biotechnol. Lett.* 29, 553–559.
- Ojaghian M.R., 2010. Biocontrol of potato white mold using *Coniothyrium minitans* and resistance of potato cultivars to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Pathol. J.* 26(4), 346–352.
- Okorski A., 2007. Biologiczna ochrona roślin przed chorobami – mechanizmy i perspektywy rozwoju. *Post. Nauk Rol.* 5, 21–36.
- Orlikowski L.B., Skrzypczak Cz., 2003. Biocides in the control of soil-borne and leaf pathogens. *Hortic. Veget. Grow.* 22, 426–433.
- Panina Y., Fravel D.R., Baker C.J., Shcherbakova A., 2007. Biocontrol and plant pathogenic *Fusarium oxysporum* – induced changes in phenolic compounds in tomato leaves and roots. *J. Phytopathol.* 155, 475–481.
- Patkowska E., 2005. The effect of biopreparations on the healthiness of soybean cultivated in a growth chamber experiment. *EJPAU* 8(4), <http://www.ejpau.media.pl/volume8/issue4/art-08.html>.
- Patkowska E., 2006a. The use of biopreparations in the control of soybean endangered by pathogenic soil-borne fungi. *EJPAU* 9(1), <http://www.ejpau.media.pl/volume9/issue1/art-19.html>.
- Patkowska E., 2006b. Effectiveness of grapefruit extract and *Pythium oligandrum* in the control of bean and peas pathogens. *J. Plant Prot. Res.* 46(1), 18–27.
- Patkowska E., Pięta D., 2004. Introductory studies on the use of biopreparations and organic compounds for seed dressing of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Folia Univ. Agric. Stetin., Agricultura* 239(95), 295–300.
- Pastucha A., 2008. Chitosan as compound inhibiting the occurrence of soybean diseases. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 7(3), 41–55.
- Pięta D., 2006. The use of Biosept 33 SL, Biochicol 020 PC and Polyversum to control soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) diseases against pathogens. Part I. Healthiness and yielding of soybean after using biopreparations. *Acta. Sci. Pol., Hortorum Cultus* 5(2), 35–41.
- Pięta D., Patkowska E., Pastucha A., 2004. Oddziaływanie biopreparatów na wzrost i rozwój niektórych grzybów chorobotwórczych dla roślin motylkowatych. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 3(2), 117–177.
- Placek M., Dobrowolska A., Wraga K., Zawadzińska K., Żurawik P. 2009. Wykorzystanie chitozanu w uprawie, przechowywaniu i ochronie roślin ogrodniczych. *Post. Nauk Rol.* (3–4), 101–110.
- Plich J., 2007. Resistance of the potato to *Phytophthora infestans* and its relations to earliness of cultivars – a review. *Biul. IHAR*, 246, 61–71.
- Pouliot J.M., Walton I., Parkhouse M.N., Abu-Lail L.I., Camesano T.A., 2005. Adhesion of *Aureobasidium pullulans* is controlled by uronic acid based polymers and pullulan. *Biomacromolecules* 6, 1122–1131.
- Prasongsuk S., Sullivan R.F., Kuhirun M., Eveleigh D.E., and Punnapayak H., 2005. Thailand habitats as source of pullulan producing strains of *Aureobasidium pullulans*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 21, 393–398.
- Roccioni L., Orzali L., 2011. Activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*, Cheel) and thyme (*Thymus vulgaris*, Linnaeus.). Essential oils against some pathogenic seed borne fungi. *J. Essent. Oil Res.* 23(6), 43–47.

- Sadowski Cz, Lenc L, Korpala., 2007. Investigations on the possibility of protection of organically grown red beet against fungal diseases. *J. Res. Appl. Agric. Eng.* 52(4), 38–44.
- Sadowski Cz., Lenc L., Łukanowski A., 2009. Pytopathological aspect of onion seed production in organic farm. *J. Res. Appl. Agric. Eng.* 54(4), 80–84.
- Saniewska A., 2002. Aktywność antygrzybowa endogennych flavonoidów grejpfruta (*Citrus paradisi*). *Mat. Symp. Nauk. „Fitopatologia polska w Europie”*, 17–19 września, s. 62.
- Saniewska A., 2004. Antifungal activity of grapefruit (*Citrus paradisi*) endogenic flavonoids. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 496, 609–617.
- Saniewska A., Żurawska I., 2001. Comparison of antifungal activity of four cultivars of garlic (*Allium sativum* L.) for several pathogenic fungi. *Folia Hort.* 13, 1A (Proceedings of the IX Scientific Horticulture Plant Breeding Symposium, Warsaw, 1–2 February 2001), 405–412.
- Saniewska A., Jarecka A., 2006. Wpływ endogennych flavonoidów grejpfruta (*Citrus paradisi* Macf.) na wzrost i rozwój dwóch form specjalnych *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Progr. Plant Prot.* 46(2), 517–520.
- Schena L., Finetti Sialer M.F., Gallitelli D., 2002. Molecular detection of strain L47 of *Aureobasidium pullulans* a biocontrol agent of postharvest diseases. *Plant Dis.* 86, 54–60.
- Sealy R., Evans M.R., Rothrock C., 2007. The effect of garlic extract and root substrate on soil-borne fungal pathogens. *Hort Technology* 17(2), 169–173.
- Sharma R.R., Singh D., Singh R., 2009. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biol. Control* 1–36.
- Strakowska J., Błaszczak L., Chełkowski J., 2014. The significance of cellulolytic enzymes produced by *Trichoderma* in opportunistic lifestyle of this fungus. *J. Basic Microb. (Suppl. 1)*, S2–13. DOI: 10.1002/jobm.201300821.
- Takesako K., Ikai K., Haruna F., Endo M., Shimanaka K., Sono E., Nakamura T., Kato I., Yamaguchi H., 1991. Aureobasidins, new antifungal antibiotics. Taxonomy, fermentation, isolation and properties. *J. Antibiot.* 44, 919–924.
- Terzi V., Morcia C., Faccioli P., Valé G., Tacconi G., Malnati M., 2007. *In vitro* antifungal activity of the tea tree (*Mealeuca alternifolia*). *Essentials oil and its major components against plant pathogens.* *Lett. Appl. Microbiol.* 44(6), 613–618.
- Tomalak M., 2007. Rejestracja biologicznych środków ochrony roślin w Europie – nowe perspektywy. *Prog. Plant Prot.* 47(4), 233–240.
- Vasconsuelo A., Boland R., 2007. Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Sci.* 172, 861–875.
- Veselý D., 1978. Studies of the mycoparasitism in rhizosphere of emerging sugar beet. *Zentbl. Bakt. Parasit Kde. Abt.* 133, 195–200.
- Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Marra R., Woo S.L., Lorito M., 2008. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biol. Biochem.* 40(1), 1–10.
- Wagner A., Hetman B., Kopacki M., Jamiołkowska A., Krawiec P., Lipa T., 2013. Laboratory effect of Boni Protect containing *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnoud in the control of some fungal diseases of apple fruit. *Acta Agrobot.* 66(1), 77–88.
- Wagner A., Kordowska-Wiater M., Hetman B., 2006. Wpływ wybranych szczepów drożdży na rozwój szarej pleśni na owocach jabłoni. *Prog. Plant Prot.* 46(2), 625–628.
- Walters D., Newton A., Lyon G., 2007. Induced resistance for plant defense, a sustainable approach to crop protection. Blackwell Publishing Ltd.
- Weber Z., 2002. Skuteczność biopreparatu Contans WG (*Coniothyrium minitans* Campb.) w ochronie rzepaku ozimego przed *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Rośl. Olei.* 23 (1), 151–156.
- Włodarek A., Dyki B., 2014. Nowe możliwości ochrony ogórka w uprawie pod osłonami przed mączniakiem prawdziwym (*Erysiphe cichoracearum*) z wykorzystaniem środków pochodzenia naturalnego. *ZNIO* 22, 147–155.

- Włodarek A., Robak J., 2013. Możliwości stosowania środków pochodzenia naturalnego w ochronie sałaty w uprawie polowej i pod osłonami przed chorobami. ZNIO 21, 117–126.
- Yazdani D., Tan Y.H., Zainal Abidin M.A., Jaganath I.B., 2011. A review on bioactive compounds isolated from plants against plant pathogenic fungi. J. Med. Plants Res. 5(30), 6584–6589.
- Zydlík P., 2008. Wykorzystanie preparatów pochodzenia naturalnego w zwalczaniu niektórych chorób roślin sadowniczych. Nauka Przyr. Technol. 2(1), 1–6.

Summary. Beginning with 1 January 2014 in all Member States of the European Union the crop production must be based on integrated pest management. It takes into account the biological method, understood not only as direct protection, but also as the use of natural processes of self-regulation. In the biological method biological preparations are used based on the antagonistic microorganisms (viruses, bacteria, fungi) as well as plant extracts, natural components of plants and animals. Currently in Poland there are several such biopreparations (Trianum Vital Plus, Canna Aktrivator, Boni Protect Forte, Polyversum WP, Contans WG) and biotechnical preparations (Bioczos Płynny, Biosept Active, Beta-Chikol, Bio-algeen S90 Plus). The mode of action of biopreparations containing microorganisms is based on the abilities of these microorganisms for parasitism, competition and antibiosis. Biotechnical preparations are characterized by a direct effect against pathogenic fungi and bacteria. Antimicrobial activity of these products is attributed to organic chemical compounds contained in plant and animal components (allicin, endogenous flavonoids and glycosides, terpenes, coumarins, furanocoumarins, chitosan). These compounds inhibit the germination of spores and limit hyphae growth by dehydration of the cell cytoplasm. Biotechnical preparations and *Trichoderma* spp. are also called stimulators of plant resistance because they induce resistance of plants to abiotic and biotic factors. They stimulate the production of secondary metabolites (e.g. phenolic compounds) in the plant and participate in the creation of physical barriers, preventing the spread of the pathogen.

Key words: biopreparations, biotechnical preparations, stimulators of plants resistance