

Możliwości biologicznej ochrony roślin przed chorobami w szkółkarstwie, ze szczególnym uwzględnieniem łęgniowców (Oomycetes) i grzybów z rodzaju *Fusarium*

The possibilities of biologically protecting plants against diseases in nurseries,
with special consideration of Oomycetes and *Fusarium* fungi

Adam Okorski^{1*}, Tomasz Oszako², Justyna A. Nowakowska³, Agnieszka Pszczółkowska¹

¹Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Katedra Diagnostyki i Patofizjologii Roślin, pl. Łódzki 5, 10–727 Olsztyn;

²Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Ochrony Lasu, Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090; ³Instytut Badawczy Leśnictwa, Laboratorium Biologii Molekularnej, Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn

* Tel. +48 89 5233511; e-mail: adam.okorski@uwm.edu.pl

Abstract. Achieving high quality propagative material is difficult today due to the limited number of pesticides recommended for use. Simultaneously, EU regulations on Integrated Pest Management (IPM) in forest nurseries came into a force, requiring a search for alternative plant protection methods that are safe for humans, animals and the environment. In this paper, we present the possibilities of using bio-fungicides against diseases in forest nurseries, their mechanisms of action, as well as the direction of their development (according to IPM rules). We reviewed the results achieved by different research teams presenting the possibilities and trends in combatting Oomycetes and *Fusarium* spp. pathogens currently having the most important economic impact.

Key words: forest protection, forest nurseries, biological control, Oomycetes, *Fusarium*

1. Wstęp

Ekosystemy lądowe stanowią niezwykle skomplikowany układ wzajemnych relacji i powiązań pomiędzy czynnikami środowiskowymi a żywymi organizmami. Tkanki roślinne są zasiedlane przez liczne mikroorganizmy (grzyby, bakterie, promieniowce, pierwotniaki, wirusy, itd.), które wykorzystują rośliny jako źródło pokarmu, środowisko życia lub środek transportu do nowych siedlisk. Ogromna różnorodność i liczebność mikroorganizmów występujących w ekosystemach leśnych daje podstawy, by przypuszczać, iż możliwości wykorzystania ich w różnych aspektach działalności człowieka, w tym w biologicznej ochronie roślin przed chorobami, są bardzo duże. Różnorodność biologiczna mikroorganizmów w środowisku leśnym decyduje często o zdrowotności roślin drzewiastych, ponieważ stoso-

wanie chemicznych środków ochrony roślin jest coraz bardziej ograniczane (Głowacka et al. 2012).

Najgroźniejszą chorobą występującą w szkółkach leśnych w Polsce jest zakaźna zgorzel siewek, która atakuje kielki (zgorzel przedwzrostowa) oraz rozwija się kilkanaście dni po skielkowaniu nasion (zgorzel powzrostowa). Powoduje ją szeroka grupa patogenów, obejmująca przede wszystkim łęgniowce z rodzajów *Phytophthora* i *Pythium* oraz grzyby z rodzajów *Fusarium*, *Cylindrocarpon* i *Rhizoctonia* (Mańka 2005; de Vasconcellos et Cardoso 2009; Lefort et al. 2013). Szkółkarstwo leśne w obliczu dążenia do eliminacji użycia substancji chemicznych nieprzyjaznych środowisku naturalnemu boryka się obecnie z trudnościami w ograniczaniu chorób leśnego materiału rozmnożeniowego. W tej sytuacji niezbędne jest wykorzystanie w leśnictwie alternatywnych metod ochrony roślin, do których zaliczana jest ochrona biologiczna. Zaprezentowane w ni-

niejszym artykule wyniki prac badawczych dotyczących wykorzystania czynników biologicznej ochrony w ograniczaniu występowania patogenów w szkółkach leśnych, drzewostanach oraz naturalnych ekosystemach wskazują na duży potencjał możliwości stosowania metod biologicznych w leśnictwie (Reglinski, Dick 2005; Hill et al. 2007; Lefort et al. 2013). Niniejsze opracowanie stanowi omówienie mechanizmów oddziaływania poszczególnych grup czynników biologicznej ochrony roślin, zarówno na patogeny, jak i rośliny, szczególnie w kontekście ograniczania chorób zgorzelowych. Zaprezentowano również perspektywy wykorzystania metod biologicznych w szkółkarstwie leśnym oraz trudności związane ze stosowaniem biologicznej ochrony.

2. Biologiczna ochrona – definicja, mechanizmy

W sformułowanych przez Bakera i Cooka (1974) podstawach biologicznej ochrony roślin jest ona określona jako ograniczenie występowania patogenicznych organizmów za pomocą innych organizmów żywych. Obecnie, pojęcie biologicznej ochrony roślin jest bardziej złożone i jest definiowane jako wykorzystanie biopestycydów (biopreparatów), czyli środków ochrony roślin zawierających czynnik lub czynniki pochodzenia biotycznego (biological control agents – BCA), do ograniczania występowania organizmów patogenicznych (za pośrednictwem jednego lub kilku mechanizmów działania) oraz do kontroli występowania chwastów. BCA wpływają bezpośrednio lub pośrednio jedynie na patogeny lub zarazem na patogeny i rośliny. Biotyczne czynniki mikrobiologiczne to żywe organizmy: bakterie, grzyby i wirusy, antagonistyczne w stosunku do patogenów lub indukujące mechanizmy obronne roślin (Cook 1993; Schouten et al. 2008).

Metoda z użyciem mikrobiologicznych BCA opiera się na wykorzystaniu ich zdolności konkurencyjnych (szybki wzrost, intensywne zarodnikowanie, duże zdolności adaptacyjne), które pozwalają na kolonizację nisz ekologicznych i ograniczenie liczebności populacji organizmów patogenicznych, zarówno w glebie, jak i roślinach. BCA, poza konkurencją o przestrzeń życiową, współzawodniczą z patogenami o składniki odżywcze, które znajdują się w glebie (Okorski 2007).

Bezpośrednie oddziaływanie BCA na mikroorganizmy patogeniczne polega na syntetyzowaniu enzymów litycznych oraz antybiotyków hamujących ich wzrost i rozwój, a także na nawiązywaniu z patogenem bezpośredniego kontaktu pasożytniczego (nadpasożytnictwo; Whipps 2001). W relacjach z roślinami BCA aktywują systemiczną odporność nabytą (systemic acquired resistance, SAR) poprzez syntezę kwasu salicylowego oraz

białek związanych z patogenezą (pathogenesis-related proteins, PR) (Kozłowska, Konieczny 2003) lub biorą udział we wzbudzeniu indukowanej odporności systemicznej (induced systemic resistance, ISR). W tym pierwszym przypadku, wyzwalaczami reakcji odpornościowej roślin są zarówno czynniki biotyczne, jak i abiotyczne (Salas-Marina et al. 2011). Indukcję systemicznej odporności ISR aktywują saprotroficzne grzyby i bakterie, cząsteczką sygnałową jest etylen, a kluczową rolę odgrywa kwas jasmonowy (JA) (Pieterse et al. 2001).

Skutkiem aktywacji odpowiedzi obronnej roślin jest akumulacja białek PR, fitoaleksyn (FA), chitynaz, glukanaz i peroksydaz oraz synteza związków fenolowych (Khan et al. 2004).

Najczęściej wykorzystywane grzyby w biologicznej ochronie roślin należą do rodzajów: *Ampelomyces*, *Candida*, *Coniothyrium*, *Dactylella*, *Gliocladium*, *Paecilomyces* i *Trichoderma* (Fravel 2005). Grzybowe BCA tworzą wtórne metabolity o właściwościach antybiotycznych (Vinale et al. 2008), syntetyzują enzymy (chitynazy, celulazy, glukanazy, proteazy) pozwalające na nawiązanie relacji pasożytniczej (Harman et al. 2004), oraz indukują w roślinach mechanizm SAR i ISR (Salas-Marina et al. 2011).

Bakterie zaliczane do czynników biologicznej ochrony należą do grupy PGPR (plant growth promoting Rhizobacteria), które poza antagonistycznymi oddziaływaniami na patogeny wywierają korzystny wpływ na rośliny. Bakterie PGPR udostępniają roślinom trudno dostępne formy składników mineralnych oraz poprawiają strukturę gleby, produkują analogi roślinnych regulatorów wzrostu, a także wiążą toksyczne metale ciężkie (Gutierrez-Manero et al. 2001). Bakterie PGPR to przede wszystkim przedstawiciele rodzajów: *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Derrxia*, *Enterobacter*, *Glucanacetobacter*, *Klebsiella*, *Ochrobactrum*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Serratia*, *Zoogloea* (Singh et al. 2011).

Bakterie z grupy PGPR stymulują rozwój roślin poprzez: indukowanie wydzielin korzeniowych, ograniczenie namnażania patogenów korzeniowych (produkcja cyjanowodoru oraz antybiotyków, i współzawodnictwo pokarmowe), produkcję sideroforów, redukcję azotanów, wiązanie azotu oraz uwolnienie fosforanów. Bakterie te ponadto wytwarzają kwasy organiczne i fitohormony (np. kwas indoliloctowy) oraz indukują odporność typu ISR (Figueiredo et al. 2010; Kaur et al. 2013). Czynnikiem biologicznej ochrony są także bakterie mykofagiczne, które za pomocą aktywnych mechanizmów pasożytniczych na strzępkach grzybów (de Boer et al. 2005; Fritsche et al. 2006).

Niezwykle ważną grupę BCA stanowią bakterie należące do typu *Actinobacteria*, zwane promieniowcami.

Mikroby te syntetyzują około 70–80% wszystkich znanych wtórnych metabolitów produkowanych przez mikroorganizmy (Berdy 2005; Golińska, Dahm 2013). Największym potencjałem do zwalczania chorób roślin charakteryzują się przedstawiciele rodzajów *Streptomyces* i *Micromonospora* (Lehr et al. 2008; El-Tarabily et al. 2010). Promieniowce oddziałują na patogeny poprzez produkcję antybiotyków, zewnątrzkomórkowych polisacharydów indukujących odpowiedź obronną roślin (exopolysaccharides, EPS), enzymów hydrolizujących ścianę komórkową grzybów (β -1,3-, β -1,4-, β -1,6-glukanaz), sideroforów i fitohormonów (Valois et al. 1996; Gohar et al. 2006; Ma, Berkowitz 2007; Khamna et al. 2009).

Grzyby mykoryzowe, jako czynniki biologicznej ochrony, pełnią istotną rolę w ochronie ekosystemów leśnych. Szacuje się, że około 5000–6000 gatunków grzybów może być zaangażowanych w ektomykorozy (Molina et al. 1992). Korzystny dla roślin efekt oddziaływania grzybów mykoryzowych polega na zwiększeniu zdolności systemu korzeniowego do absorpcji składników mineralnych i wody (Read, Perez-Moreno 2003), dlatego zaszczepianie grzybami mykoryzowymi sadzonek w szkółkach kontenerowych znacznie poprawia ich przeżywalność (Domenech et al. 2004). Istnieją doniesienia wskazujące, że grzyby mykoryzowe mogą zwiększać odporność roślin na infekcje wywołane przez patogeny glebowe (Azcón-Aguilar, Barea 1996; Graham 2001). Niektóre grzyby ektomykoryzowe produkują siderofory wiążące żelazo w glebie (Renshaw et al. 2002), inne zaś syntetyzują antybiotyki (Tsantrizos et al. 1991). Podstawowym mechanizmem oddziaływania tych grzybów na patogeny jest konkurencja oraz tworzenie fizycznej bariery uniemożliwiającej infekcję (Graham 2001). Najważniejsze grzyby mykoryzowe wykorzystywane w biologicznej ochronie należą do rodzaju *Glomus*, są to gatunki: *Gigaspora margarita*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Sclerocystis dussi* (Kowalski, Wojnowski 2009; Ozgonen et al. 2009; Kavatagi, Lakshaman 2012).

Kolejną grupą czynników biologicznej ochrony roślin są związki chemiczne pochodzenia organicznego i nieorganicznego, które mogą być aplikowane do gleby oraz bezpośrednio na rośliny i nasiona w celu ograniczenia chorób wywołanych przez patogeny. Do grupy związków pochodzenia organicznego zalicza się ekstrakty roślinne, olejki eteryczne, glukozynolany i chitozan oraz syntetyczne związki: kwas salicylowy, ester S-metylowy kwasu benzo[1,2,3]tiadiazolo-7-karbotiowego (ASM), benzotiadiazol (BTH), kwas β -aminomasłowy (BABA) oraz nadtlenek wodoru (Oostendorp et al. 2001; Alabouvette et al. 2006; Muthukumar et al. 2010; Abdel-Monaim 2013). Związki te działają hamująco na wzrost patogenów oraz podobnie jak mikroorga-

nizmy antagonistyczne aktywizują mechanizmy obronne roślin (Alabouvette et al. 2006).

3. Biologiczna ochrona w szkółkarstwie leśnym

Literatura dotycząca biologicznych metod ochrony roślin obejmuje opis wielu przykładów korzystnego zastosowania BCA w przypadku upraw rolniczych i ogrodniczych, natomiast przykłady wykorzystania czynników biologicznej ochrony w ograniczaniu chorób występujących w szkółkach leśnych są nieliczne. Autorzy prac badawczych podają, że biologiczne ograniczanie chorób drzew jest bardzo trudne, co wynika ze specyfiki produkcji (Reglinski, Dick 2005; Hill et al. 2007). W Nowej Zelandii (gdzie szkółkarstwo kontenerowe dostarcza rocznie około 50 mln sadzonek) ważnym wsparciem produkcji jest wykorzystanie czynników biologicznej ochrony, co ma zapewnić ochronę przed chorobami oraz korzystnie wpływać na wzrost sadzonek (Hohmann et al. 2011). BCA w szkółkach leśnych można stosować na dwa sposoby: poprzez zaprawianie nasion oraz opryskiwanie roślin (Hohmann et al. 2011). Na podkreślenie zasługuje fakt, iż zaprawianie nasion jest z punktu widzenia finansowego bardzo korzystne, a jednocześnie bardzo skuteczne, szczególnie w odniesieniu do chorób powodowanych przez grzyby związane ze środowiskiem glebowym (Mousseaux et al. 1998; Bell et al. 2000). Zdaniem Bent i in. (2001) istotnym elementem technologii produkcji szkółkarskiej jest inokulacja sadzonek drzew bakteriami z grupy PGPR, gdyż poprawia ich kondycję oraz zwiększa zdolności adaptacyjne roślin po przesadzeniu. Zdaniem Reglinskiego i Dicka (2005) możliwości wykorzystania antagonistycznych mikroorganizmów, do których należą grzyby rodzaju *Trichoderma*, do ograniczania patogenów podstawowych gatunków lasotwórczych są ogromne. Potwierdzeniem tej tezy są wyniki badań uzyskane przez Hilla i in. (2007), które wykazały, że stosowanie gatunków *Trichoderma* poprawiło stan zdrowotny sadzonek sosny kalifornijskiej (*Pinus radiata*) w hodowli kontenerowej. W innych badaniach wykazano korzystny wpływ grzybów z rodzaju *Trichoderma* na wzrost różnych roślin drzewiastych (Paderes et al. 2005; Adams et al. 2007; Grodnitskaya, Sorokin 2007), a wykorzystany w badaniach Kelley'a (1976) gatunek nadpasożyta *T. harzianum* ograniczał choroby zgorzelowe na sadzonkach sosny (*Pinus echinata*). Ten sam gatunek zastosowany w szkółkach kontenerowych zmniejszył śmiertelność sadzonek dąglezji zielonej *Pseudotsuga menziesii* na skutek infekcji roślin powodowanej przez *Fusarium oxysporum* (Mousseaux et al. 1998). Kolejne badania wykonane

przez Hilla i in. (2007), dowiodły, że zarówno zaprawianie nasion, jak i opryski preparatami zawierającymi antagonistyczne szczepy nadpasożytów z rodzaju *Trichoderma* poprawiły kiełkowanie nasion oraz stan zdrowotny sadzonek sosny kalifornijskiej (*P. radiata*) w szkółkach kontenerowych.

Zdaniem Bent i in. (2001) optymalizacja stosowania mikroorganizmów w szkółkarstwie leśnym wymaga precyzyjnego poznania mechanizmów oddziaływania mikroorganizmów PGPR na rośliny oraz określenia warunków środowiskowych stymulujących zasiedlenie niszy przez konkretne mikroorganizmy. Kelley (1976) wykazał, że w warunkach, gdy wilgotność gleby utrzymywała się blisko poziomu wysycenia, gatunki rodzaju *Trichoderma* nie były w stanie powstrzymać rozwoju zgorzeli na siewkach *P. echinata* wywołanej przez patogen *Phytophthora cinnamomi*. W innych pracach badawczych również nie wykazano skuteczności oddziaływania grzybów z rodzaju *Trichoderma* spp. ani związków wapnia w ograniczaniu rozwoju gatunków z rodzaju *Phytophthora*, dlatego autorzy proponują zintegrowaną metodę ochrony, łącznie z wykorzystaniem metody biologicznej (Reglinski et al. 2008). Z pracami Reglinskiego korespondują wyniki uzyskane przez Minchina i in. (2012), którzy także nie zaobserwowali korzystnego wpływu na wzrost roślin komercyjnego biopreparatu zawierającego pięć izolatów *Trichoderma atroviride* i jeden izolat *T. harzianum*. Nie stwierdzili oni jednak negatywnego oddziaływania BCA na kolonizację sadzonek sosny *P. radiata* przez grzyby ektomykoryzowe w szkółkach kontenerowych. Inne badania wykazały, że łączne stosowanie bakterii *Paenibacillus polymyxa* oraz *Ps. fluorescens* ma niekorzystny wpływ na wzrost i masę korzeni tworzonych przez sosnę wydmową (*Pinus contorta*) w przeciwieństwie do tych bakterii zastosowanych oddzielnie. Stwierdzono jednocześnie, że stopień kolonizacji ryzosfery przez bakterie nie koreluje z korzystnym oddziaływaniem bakterii na wzrost roślin (Bent et al. 2001). W badaniach wykonanych przez Hohmanna i in. (2011) wykazano jednak zwiększenie wzrostu sadzonek w stosunku do kontroli na skutek wprowadzenia do hodowli kontenerowej izolatów grzybów z rodzaju *Trichoderma* pochodzących z rdzennych ekosystemów. Korzystny wpływ mikroorganizmów BCA na stan zdrowotny sadzonek buka i dębu rodzimych populacji potwierdzają także najnowsze wyniki badań Lefort i in. (2013), którzy wykazali w doświadczeniach *in vivo* znaczącą redukcję infekcji sadzonek powodowaną przez łęgniowce *P. cambivora* i *P. cinnamomi*.

Biologiczna ochrona przed patogenami zgorzelowymi powodowanymi przez organizmy glonopodobne Oomycetes w hodowlach wazonowych i *in vitro*

Wiele zespołów badawczych koncentrowało swoje prace na badaniu wpływu mikroorganizmów antagonistycznych na patogeny wywołujące choroby zgorzelowe (Oomycetes oraz grzyby z rodzaju *Fusarium*) występujące w uprawach roślin rolniczych, ogrodniczych oraz drzew leśnych. W większości dostępnych prac, w testach *in vitro* badano aktywność mikroorganizmów antagonistycznych w stosunku do patogennych dla roślin grzybów i łęgniowców. Testy te często stanowiły wstęp do badań wazonowych, a w niektórych przypadkach dla polowych (tab. 1). Przykładem takich badań jest praca, w której Paul i Sarma (2006) dokonali oceny efektywności *Ps. fluorescens* (IISR-6), zawierającego substancje o silnych właściwościach antybiotycznych (pyoluteorin, pyrrolnitrin, HCH), w kierunku zwalczania *Phytophthora capsici*. Autorzy wykazali silne (sięgające około 70%) zahamowanie wzrostu grzybni, redukcję produkcji sporangiów oraz kiełkowania zarodników. Inny organizm – *Pythium oligandrum*, badali Picard i in. (2000b) pod kątem wykorzystania go w ochronie biologicznej. W przeprowadzonym teście szalkowym wykazali antagonistyczne działanie szczepu *Pythium oligandrum* (1010) w stosunku do *Phytophthora parasitica*. Autorzy sugerują, że silne powinowactwo *Ph. oligandrum* do komórek gospodarza zostało wywołane przez bodźce chemiczne lub chemotropizm, a uszkodzenie komórek nastąpiło w wyniku syntezy enzymów hydrolitycznych: β -1,3-glukanazy oraz celulazy. Jednocześnie autorzy wykazali, że wtórny metabolit syntetyzowany przez *Ph. oligandrum* hamował występowanie objawów chorobowych wywołanych przez *P. parasitica* na liściach pomidora. Zastosowanie oligandryny ograniczało liczbę roślin wykazujących objawy chorobowe oraz zmniejszało występowanie objawów chorobowych o około 60% (Picard et al. 2000a,b).

Zdaniem autorów, *Ph. oligandrum* oddziałuje bezpośrednio na komórki patogennych grzybów, a oligandryna jest elicytorem reakcji obronnych roślin. Rośliny pomidora mają funkcjonalne receptory oligandryny, pośredniczące w specyficznym szlak sygnałowym, prowadzącym do wystąpienia reakcji odpornościowej, przejawiającej się syntezą fitoleksyn oraz związków fenolowych (Picard et al. 2000a).

W ochronie roślin duże znaczenie ma zjawisko antybiozy. Przykładem jej wykorzystania jest zastosowanie szczepu bakterii *Serratia plymuthica* (A21-4), syntetyzujący makrocycliczny lakton, do zwalczania patogenu *Phytophthora capsici* na roślinach pieprzu *Capsicum annuum* (Shen et al. 2005). W warunkach *in vitro* zaob-

serwowano hamowanie rozwoju zoosporangiów i zoospor. Uzyskane w laboratorium wyniki zweryfikowano w doświadczeniach wazonowych i szklarniowych, w których stwierdzono wysoką skuteczność kolonizacji korzeni roślin przez ten szczep bakterii. Raz wprowadzona do środowiska populacja bakterii *S. plymuthica* stabilnie utrzymywała się w ryzosferze oraz na zaszczerpionych i nowo wyrosłych korzeniach pieprzu. Miesiąc po przesadzeniu roślin do zainfekowanego przez *P. capsici* podłoża, porażenie roślin kontrolnych sięgało 75%, natomiast rośliny objęte ochroną biologiczną porażone były tylko w 12,6% (Shen et al. 2005). Zjawisko antybiozy było także przedmiotem badań Logeshwaran i in. (2011), którzy wykazali, że antagonistyczne szczepy *Gluconacetobacter diazotrophicus* (L5 i PAL5), syntetyzujące wtórny metabolit o właściwościach antybiotycznych (pyoluteorin), hamowały wzrost grzybni *Fusarium oxysporum*. W przypadku szczepu PAL5 zahamowanie wynosiło odpowiednio 43 i 48%, a w przypadku szczepu L5 46 i 70%.

Należy podkreślić, że dotychczasowe badania prowadzono w warunkach laboratoryjnych lub w doświadczeniach wazonowych, w których sterylizowano glebę lub sztuczne podłoża (Gilbert et al. 1990; Smith et al. 1993; Chen et al. 1996; Okamoto et al. 1998; Picard et al. 2000ab; Jung, Kim 2005; Timmusk et al. 2009; Logeshwaran et al. 2011). Zatem efekt ochronny uzyskany w warunkach laboratoryjnych nie musi przekładać się na warunki *ex vitro*, czego przykładem są chociażby badania przeprowadzone przez Devaki i in. (1992). Badacze ci wykazali silne działanie antagonistyczne szczepu *Trichoderma harzianum* syntetyzującego β -(1,3)-glukanazy w stosunku do grzybni *Py. aphanidermatum* i *Py. myriotylum*. W testach szalkowych obserwowano autofluorescencję komórek fitopatogenu w rejonie interakcji z grzybnią BCA, co jednoznacznie wskazywało obecność martwych komórek. W przypadku doświadczeń wazonowych efektywność antagonisty potwierdzono jedynie w sterylnej glebie, natomiast efekt ochronny w glebie niesterylizowanej był nieznaczny (Devaki et al. 1992).

Różne zespoły badawcze przeprowadziły także szeroko zakrojone i wielowątkowe badania dotyczące wdrażania biologicznej ochrony w zwalczaniu patogenicznych lęgniowców. Przykładem są wielotorowe prace dotyczące wykorzystania szczepu *Bacillus cereus* (UW85) (syntetyzującego zwittermicynę A i kanozaminę), do zwalczania: *Py. torulosum* (Shang et al. 1999), *Py. aphanidermatum* (Chen et al. 1996), *P. cactorum* (Gilbert et al. 1990), *P. parasitica* i *P. megasperma* f. sp. *megasperma* (Handelsman et al. 1990). W pracach tych w warunkach *in vitro* stwierdzono m.in. istotny wpływ antybiotycznych metabolitów szczepu UW85 na funkcjonowanie zoospor *P. cactorum* (Gilbert et al. 1990),

a w warunkach kontrolowanych wyraźne zahamowanie rozwoju zgorzeli lucerny oraz tytoniu powodowanej przez *Py. torulosum* (Shang et al. 1999) oraz przez *P. megasperma* f. sp. *megasperma* (Handelsman et al. 1990).

Yuan i Crawford (1995), przeprowadzając testy biotyczne dwuorganizmowe, wykazali zahamowanie wzrostu wybranych grzybów patogennych dla roślin, w tym *Py. ultimum*, *Aphanomyces euteiches*, *F. oxysporum* i *Rhizoctonia solani*, przez *Streptomyces lydicus* (WYEC108). Autorzy zaobserwowali zaburzenie wzrostu i lizę strzępek grzybni oraz – dzięki zastosowaniu techniki skaningowej mikroskopii elektronowej – zniszczenie kiełkujących oospor i występowanie uszkodzeń ścian komórkowych grzybni *Ph. ultimum*. Yuan i Crawford (1995) zajmowali się ochroną nasion grochu przed infekcją przedwzrostową (*Ph. ultimum*). W przypadku zastosowania szczepu bakterii *Streptomyces lydicus* (WYEC108) stwierdzili porażenie tylko 40% nasion, podczas gdy w wariacie kontrolnym wszystkie nasiona wykazywały objawy chorobowe. Stwierdzili także, że liczebność bakterii *S. lydicus* była stabilna i wysoka, zarówno w glebie sterylnej, jak i nieodkazanej, co skutecznie ograniczało występowanie zgorzeli siewek grochu.

W zwalczaniu chorób zgorzelowych wykorzystywano także mikroorganizmy indukujące mechanizmy obronne roślin i jednocześnie konkurencyjne w stosunku do patogenów. Benhamou i in. (2000) badali na przykład przydatność bakterii *Serratia plymuthica* (R1GC) w zwalczaniu zgorzeli siewek ogórka. Nasiona ogórka moczyli przez 24 godziny w zawieszynie zawierającej komórki bakterii. Po pięciu dniach od momentu inokulacji roślin zarodnikami *Ph. ultimum* następowało silne porażenie korzeni i więdnienie roślin w obiekcie kontrolnym. Rośliny chronione biologicznie nie były całkowicie wolne od objawów chorobowych, przy czym zmiany chorobowe występowały głównie na korzeniach bocznych (Benhamou et al. 2000). Zdaniem autorów uzyskane przez nich wyniki wskazują, że ograniczenie objawów chorobowych wynika nie tylko z ograniczenia tempa rozwoju patogenu i kolonizacji tkanek, lecz także z indukcji barier strukturalnych i biochemicznych w roślinie gospodarzu. Taką koncepcję potwierdzają wyniki badań uzyskane przez van Peer i in. (1991), którzy wykazali zwiększoną akumulację fitoaleksyn w korzeniach goździka traktowanych bakterią *Pseudomonas* na początku infekcji powodowanej przez grzyby z rodzaju *Fusarium*.

Indukcję mechanizmu obronnego roślin potwierdzono także w badaniach nad zwalczaniem fitoftorozy pieprzu (Jung et al. 2005). W doświadczeniu wazonowym dzięki zaszczerpieniu korzeni pieprzu szczepem bakterii *Paenibacillus illinoisensis* (KJA-424) zmniejszono po-

Tabela 1. Organizmy antagonistyczne (BCA) stosowane samodzielnie w zwalczaniu chorób powodowanych przez patogeny z rodzaju *Phytophthora*, *Pythium* i *Fusarium*

Table 1. Biological Control Agent (BCA) used to eradicate diseases caused by pathogens of the genera *Phytophthora*, *Pythium* and *Fusarium*

Organizm BCA Biological Control Agent	Mechanizm Mechanism	Organizm zwalczany Organism to be eradicated	Roślina Plant	Zakres badań Scope of the research	Skuteczność/ efekt działania Effectiveness/results	Referencje References
<i>Bacillus cereus</i> UW85	antybioza (zwittermycyna A), (kanosamina) antybiozis (zwittermycine A), (kanosamine)	<i>P. cactorum</i> (1), <i>P. medicaginis</i> (2), <i>P. megasperma</i> f. sp. <i>medicaginis</i> (3), <i>P. parasitica</i> (3,4), <i>Ph. aphanidermatum</i> (4,6), <i>Ph. toluosum</i> (4,5),	(1) testy antagonizmu / tests of antagonism, (2,3) <i>lucerna</i> / alfalfa, (3,4) <i>tytoń</i> / tobacco, (6) <i>ogórek</i> / cucumber	(1,4) <i>in vitro</i> , III - laboratoryjne / laboratory (3) wazonowe / pots (6) warunki laboratoryjne / laboratory conditions	liza zoospor, redukcja śmiertelności siewek, zahamowanie zgorzeli siewek zoospore lysis, reduction of seedlings mortality, inhibition of damping off seedlings	(1) Gilbert et al. (1990), (2) Silo-Suh et al. 1994, (3) Handelsman et al. (1990, 1991) (4) Chen et al. (1996), (5) Shang et al. (1999), (6) Smith et al. (1993)
<i>Bacillus megaterium</i> KL39 (oczyszczony antybiotyk / purified antibiotic)	antybioza antibiosis	<i>P. capsici</i>	papryka <i>Capsicum annuum</i>	<i>in vitro</i> , <i>in vivo</i>	średnia medium	Jung et Kim (2005)
<i>Burkholderia cepacia</i> strain ASPB2D	indukcja ISR induction of ISR	<i>P. nicotianae</i>	tytoń / tobacco	<i>in vitro</i> , wazonowe / potted	wysoka / high	Coventry et Dubery (2001)
<i>G. mosseae</i>	konkurencja competition	<i>P. nicotianae</i> var. <i>parasitica</i>	pomidor / tomato	<i>in vivo</i>	średnia do wysokiej medium to high	Trotta et al. (1996)
<i>G. mosseae</i> BEG 12	indukcja ISR induction of ISR	<i>P. parasitica</i>	pomidor / tomato	wazonowe / potted	redukcja nekrozy korzeni (zależna od skuteczności mikoryzacji) reduction of root necrosis (depending on the effectiveness of mycorrhization)	Cordier (1998)
<i>Glomus macrocarpum</i> , <i>Glomus fasciculatum</i>	SAR/ISR, konkurencja / competition	<i>F. oxysporum</i>	pomidor / tomato	wazonowe / potted	wysoka / high	Kapoor (2008)
<i>Glomus mosseae</i> , <i>G. etunicatum</i> , <i>G. fasciculatus</i> , <i>Gigaspora margarita</i>	β-1,3- glukanazy, chitynazy β-1,3- glukanasase, chitynase	<i>P. capsici</i>	papryka <i>Capsicum annuum</i>	<i>in vivo</i>	średnia / medium	Ozgonen et al. (2009)
<i>Glucanacetobacter diazotrophicus</i> PAL5, L5	antybioza (pyoluteorin) antibiosis (pyoluteorin)	<i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i>	-	<i>in vitro</i>	ograniczenie wzrostu grzybnii / limitation of mycelia growth	Logeshwaran et al. (2011)

<i>Hebeloma crustuliniforme</i> , <i>Hebeloma sinapizans</i> , <i>Laccaria laccata</i> , <i>Paxillus involutus</i>	konkurencja competition	<i>P. cambivora</i> , <i>P. cinnamomi</i>	kasztanowiec horse-chestnut	<i>in vivo</i>	średnia / medium	Branzanti et al. (1999)
<i>Laccaria laccata</i>	konkurencja competition	<i>F. oxysporum</i> , <i>F. verticillioides</i>	sosna pinia umbrella pine	wazonowe / potted	ograniczenie objawów uzależnione od stopnia mykoryzacji reduction of root necrosis (depending on the efficiency of mycorrhization)	Machón et al. (2009)
<i>Laccaria laccata</i> PC050	konkurencja competition	<i>F. oxysporum</i>	sosna Banksa <i>Pinus Banksiana</i>	<i>in vitro</i>	hamowanie wzrostu grzybní oraz kiełkowania zarodników inhibition of mycelia growth and germination of spores	Chakravarty et Hwang (1991)
<i>P. fluorescens</i> 18 szczepów	konkurencja, antybioza competition, antibiosis	<i>F. oxysporum</i>	-	<i>in vitro</i>	ograniczenie wzrostu grzybní inhibition of mycelia growth	Kumar et al. (2002)
<i>P. fluorescens</i> 89B61	indukcja ISR induction of ISR	<i>P. infestans</i>	pomidor / tomato	wazonowe / potted	niska / low	Yan et al. (2002)
<i>Paenibacillus illinoisensis</i> KJA-424	SAR/ISR, akumulacja białek PR w liściach SAR/ISR, accumulation of PR proteins in leaves	<i>P. capsici</i>	papryka <i>Capsicum annuum</i>	wazonowe / potted	wysoka / high	Jung et al. (2005, 2006)
<i>Paenibacillus polymyxa</i> B2, B5, B6	antybioza antibiosis	<i>P. palmivora</i> , <i>Ph. aphaniidermatum</i>	rzodkiewnik <i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>in vitro</i>	efekt ochronny przed kolonizacją zoospor protection against colonization by zoospores	Timmusk et al. (2009)
<i>Paxillus involutus</i> 0262	antybioza antibiosis	<i>F. oxysporum</i>	sosna czerwona <i>Pinus resinosa</i>	<i>in vitro</i>	średnia / medium	Duchesne et al. (1989)
<i>Penicillium striatisporum</i> Pst10	antybioza: dwa niezidentyfikowane wtórne metabolity antibiosis: two unidentified secondary metabolites	<i>P. capsici</i>	papryka <i>Capsicum annuum</i>	<i>in vitro</i> , wazonowe / potted	wysoka / high	Ma et al. (2008)

Organizm BCA Biological Control Agent	Mechanizm Mechanism	Organizm zwalczany Organism to be eradicated	Roślina Plant	Zakres badań Scope of the research	Skuteczność/ efekt działania Effectiveness/results	Referencje References
<i>Ph. oligandrum</i> 1010	celulazy, nadpasożytnictwo, indukcja reakcji obronnej roślin cellulase, hyper- pathogenicity, induction of plant resistance reaction	<i>P. parasitica</i>	pomidor / tomato	<i>in vitro</i> , wazonowe (wernikult) / potted (vermiculite)	średnia / medium	Picard et al. (2000 a,b)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> IISR-6	antybioza: Pyoluteorin, pyrrrolinitrin, HCH antibiosis: Pyoluteorin, pyrrrolinitrin, HCH	<i>P. capsici</i>	pieprz czarny black pepper	<i>in vitro</i>	wysoka / high	Paul et Sarma (2006)
<i>Pseudomonas</i> spp. 3A17	konkurencja, produkcja sideroforów competition, production of siderophores	<i>P. cactorum</i>	jabłoń / apple <i>Malus</i>	<i>in vitro</i> , <i>in vivo</i>	średnia / medium	Janisiewicz et Covey (1983)
<i>Serratia marcescens</i> F- 1-1	antybioza antibiosis	<i>P. capsici</i>	ogórek / cucumber	<i>in vitro</i>	zahamowanie kiełkowania zoospor Inhibition of zoospore germination	Okamoto et al. (1998)
<i>Serratia phymthica</i> A21-4	makrocycliczny lakton (A21-4) (hamowanie wzrostu grzybnii, tworzenia zoospor i sporangiów) macrocylic lactone (A21-4) (inhibition of mycelia growth, creation of zoospores and sporangia)	<i>P. capsici</i>	papryka <i>Capsicum annuum</i>	wazonowe, szklarniowe potted, greenhouse	wysoka / high	Shen et al. (2005)
<i>Serratia phymthica</i> strain R1GC4	ISR	<i>Ph. ultimum</i>	ogórek / cucumber	wazonowe / potted	ograniczenie objawów chorobowych limitation of disease symptoms	Benhamou et al. (2000)
<i>Streptomyces griseus</i> H7602	chitynazy, α -1,3- glukanazy, lipazy, proteazy chitinase, β -1,3- glucanase, lipase, protease	<i>P. capsici</i>	papryka <i>Capsicum annuum</i>	<i>in vitro</i> , wazonowe / potted	średnia / medium	Nguyen et al. (2012)

<i>Streptomyces lydicus</i> WYEC 108	antybioza, chitynazy, produkcja sideroforów antibiosis, chitinase, production of siderophores	<i>Ph. ultimum</i>	bawełna, groch cotton, peas	<i>in vitro</i> , wazonowe / potted	niszczenie oosopor, liza grzybni, wysoki efekt ochronny elimination of oosopores, mycelium lysis, high protection effect	Yuan et Crawford (1995)
<i>Streptomyces</i> sp. (15, 32, 93, PonSSII, GS93-23, GS43-5, GS2-21, GS8-22)	antybioza antibiosis	<i>P. medicaginis</i> , <i>P. sojae</i>	lucerna, soja alfalfa, soy	<i>in vitro</i> , wazonowe / potted	redukcja objawów chorobowych reduction of disease symptoms	Xiao et al. (2002)
<i>T. asperellum</i> PR11	konkurencja, nadpasożytnictwo competition, hyperpathogenicity	<i>P. megakarya</i>	kakaowiec właściwy <i>Theobroma cacao</i>	polowe / field	niska / low	Deberdt et al. (2008)
<i>T. hamatum</i> s382	SAR	<i>P. capsici</i>	ogórek / cucumber	wazonowe / potted	wysoka / high	Khan et al. (2004)
<i>T. harzianum</i>	α-(1,3)-glukanazy α -(1,3)-glukanase	<i>Ph. aphaniidermatum</i> , <i>Ph. myriolytum</i>	tytoń / tobacco	<i>in vitro</i> , wazonowe / potted	ograniczenie objawów chorobowych w sterylizowanej glebie limitation of disease symptoms in sterile soil	Devaki et al. (1992)
11 izolatów promieniowców 11 isolates of Actinomycetes	β-1,3-, β-1,4- i β-1,6-glukanazy β -1,3-, β -1,4- and β -1,6-glukanase	<i>P. fragariae</i> var. <i>rubi</i>	malina / raspberry	<i>in vitro</i> , wazonowe / potted	redukcja zgnilizny korzeni maliny reduction of root rot of raspberry	Valois et al. (1996)

rażenie roślin przez *P. capsici* o około 84% w stosunku do wariantu kontrolnego. Podobnie wykorzystano grzyb mykoryzowy *Glomus mosseae* (BEG 12) do ochrony pomidora przed *P. parasitica* (Cordier et al. 1998). W mykoryzowanych roślinach uruchomiony został mechanizm ISR (indukowanej odporności systemicznej), czego konsekwencją był wzrost stężenia związków fenolowych. Dzięki temu nastąpiło zmniejszenie liczby i rozmiarów nekroz na korzeniach, przy czym efekt ochronny zależał od skuteczności mykoryzacji roślin. W przypadku mykoryzacji roślin pomidora nie tylko zaistniała miejscowa reakcja w korzeniach, lecz wystąpiła także odporność układowa, a w komórkach objętych mykoryzą powstawała kaloza, która stworzyła barierę utrudniającą infekcję.

Biologiczna ochrona przed chorobami zgorzelowych powodowanymi przez grzyby z rodzaju *Fusarium*

W literaturze można odnaleźć wiele przykładów skutecznego ograniczania występowania patogenicznych dla roślin grzybów należących do rodzaju *Fusarium*. Badania przeprowadzone przez Ślusarskiego (2008) wykazały istotne ograniczenie porażenia wywołanego przez *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* w wyniku zaszczepiania roślin pomidora *Trichoderma* spp.

W innych pracach badawczych z powodzeniem stosowano mykoryzowe gatunki grzybów *Glomus macrocarpum* i *Glomus fasciculatum* do zwalczania fuzaryjnego wędnięcia pomidora (sprawca: *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) (Kapoor 2008). W doświadczeniu wazonowym nad mykoryzacją pomidorów stwierdzono ponad 2-krotny wzrost stężenia związków fenolowych, 6-krotny wzrost aktywności enzymu PAL (amoniakolizazy fenyloalaniny) oraz ponad 18-krotny wzrost zawartości kwasu jasmonowego (w świeżej masie roślin) w stosunku do roślin kontrolnych. W badaniach tych *G. macrocarpum* i *G. fasciculatum* potwierdziły także wysoką efektywność biologicznej ochrony, ograniczając występowanie objawów chorobowych odpowiednio o 75% i 78%.

Obiecujące wyniki badań uzyskali także Chakravarty i Hwang (1991), wykorzystując ektomykoryzowy gatunek lakówki pospolitej (*Laccaria lacata*). Wykazali oni, że gatunek ten, na tle innych grzybów ektomykoryzowych, silnie hamował wzrost grzybni *F. oxysporum* na sadzonkach sosny Banksa (*Pinus banksiana*). Po mykoryzacji korzeni zaobserwowano zmniejszenie w rykosferze liczby izolowanych koloni grzybów z rodzaju *Fusarium*, a zastosowane w badaniach *in vitro* filtry metabolitów z kultur lakówki pospolitej silnie hamowały kiełkowanie zarodników oraz strzępek *F. oxyspo-*

rum. Mykoryzowane sadzonki sosny charakteryzowały się wyższą zawartością związków fenolowych w stosunku do roślin kontrolnych, co wskazuje na aktywację mechanizmów obronnych (Chakravarty, Hwang 1991). Lakówkę pospolitą wykorzystano także w ochronie podstawy łodyżek siewek sosny pini (*Pinus pinea*) przed infekcjami powodowanymi przez *F. oxysporum* i *F. verticillioides* (Machón et al. 2009). W doświadczeniu z użyciem doniczek wypełnionych autoklawowanym podłożem torfowo-wermikulitowym nie stwierdzono jednak istotnego wpływu obecności symbionta mykoryzowego na przeżywalność roślin w przypadku wystąpienia zgorzeli przedwzrostowej. Częstość występowania objawów zgorzeli powzrostowej zależała natomiast od stopnia mykoryzacji sadzonek sosny (Machón et al. 2009). Inny gatunek ektomykoryzowy - krowiak podwinięty (*Paxillus involutus*), został wykorzystany do zwalczania *F. oxysporum* – sprawcy zgorzeli korzeni sosny czerwonej (*Pinus resinosa*). Po 14 dniach od przeprowadzenia infekcji śmiertelność sadzonek sosny była niższa o 55% niż sadzonek kontrolnych, a zarodnikowanie *F. oxysporum* było mniej intensywne o około 80% (Machón et al. 2009).

Zaprezentowane w powyższym podrozdziale dane dotyczące wykorzystania w ochronie roślin pojedynczych mikroorganizmów BCA uzyskano w badaniach laboratoryjnych oraz w doświadczeniach wazonowych i szklarniowych. Najczęściej wykorzystywano w nich sztuczne podłoże lub sterylizowaną glebę. Introdukowane mikroorganizmy konkurowały jedynie z populacjami patogenów, którymi inokulowano rośliny, dlatego uzyskana przez autorów wysoka efektywność zwalczania patogenów zgorzelowych jest niezwykle trudna do osiągnięcia w warunkach polowych.

Prrowadzono również badania nad działaniem łącznym dwóch organizmów. Na przykład Hwang i in. (1995). w doświadczeniu *in vivo* przeprowadzonym w kolbkach Erlenmeyer'a zawierających sterylny wermikulit wykazali, że łączne zastosowanie grzyba ektomykoryzowego *Paxillus involutus* oraz szczepu bakterii o właściwościach antybiotycznych *B. subtilis* w stosunku do *Fusarium moniliforme* redukuje śmiertelność sadzonek sosny Banksa do poziomu 16%. Wysoką skuteczność ochrony biologicznej odnotowali także Roberts i in. (2005). w wyniku wykorzystania dwóch organizmów antagonistycznych do zwalczania zgorzeli siewek ogórka (sprawca: *P. ultimum*). W dwóch niezależnych eksperymentach badacze ci wykazali, że najlepsze rezultaty w ograniczeniu choroby uzyskano po zastosowaniu nadpasożyta *Trichoderma virens* (GL21) oraz w przypadku połączenia grzyba *T. virens* (GL3) z bakterią *Burkholderia cepacia* (BC-1).

Istnieją także doniesienia o próbach łącznego zastosowania komercyjnych preparatów biologicznych w

zwalczaniu chorób zgorzelowych. Ocenę efektywności pięciu komercyjnych preparatów biologicznych zawierających: *B. subtilis* (GB03), *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. subtilis* (QST 713), *S. lydicus* (WYEC 108), *Trichoderma atroviride* (CHS 861), *G. virens* (GL-2) do ograniczania *Phytophthora ramorum* przeprowadziła grupa badaczy pod kierunkiem Elliott (Elliott et al. 2009). Skuteczność preparatu badano w testach antagonizmu oraz w doświadczeniach *in vivo*, w których wykorzystano liście roślin wrażliwych na infekcje (rózaniecnik kaukaski, kamelia japońska). W testach szalkowych najskuteczniejszy okazał się preparat Plant Helper (z grzybem *T. atroviride*, CHS 561), powodując całkowite zahamowanie wzrostu grzybni wszystkich badanych izolatów *P. ramorum*. Natomiast w doświadczeniach *in vivo* najbardziej efektywne okazało się zastosowanie preparatu Serenade (z bakterią *Bacillus subtilis* QST 713), charakteryzującego się średnią skutecznością w testach szalkowych. Zdaniem autorów brak zależności pomiędzy wynikami testów szalkowych oraz badań na liściach wyklucza stosowanie pierwszej metody jako wiarygodnej oceny preparatów biologicznych (Elliott et al. 2009). W badaniach nie wykazano interakcji pomiędzy *T. atroviride* i *S. lydicus*, co pozwoliło na próby wykorzystania tych dwóch preparatów łącznie. Niestety, nie uzyskano korzystniejszego efektu ochronnego w porównaniu do samodzielnego zastosowania BCA. Brak poprawy efektywności biologicznej ochrony w wyniku łącznego zastosowania antagonistów w porównaniu ze stosowaniem mikroorganizmów samodzielnie zanotowano także w przypadku zwalczania zgorzeli siewek buraka cukrowego (sprawca: *Ph. ultimum*) (Fukui et al. 1994). Z kolei, de Boer i in. (2003) w badaniach *in vitro* zademonstrowali, że niekompatybilne izolaty *Ps. putida* (RS56 i RS111) zastosowane łącznie dawały identyczne wyniki jak szczepy zastosowane samodzielnie.

Badania polowe

Deberdt i in. (2008) w badaniach polowych nad zwalczaniem czarnej plamistości liści kakaowca (sprawca: *Phytophthora megakarya*), po zastosowaniu wyselekcjonowanego szczepu *Trichoderma asperellum* (PR11), uzyskali jedynie 20% ograniczenie występowania objawów chorobowych w stosunku do wariantu kontrolnego. Choć wynik ten jest statystycznie istotny, to jednak znacznie wyższą efektywność uzyskano w przypadku ochrony chemicznej, ograniczając porażenie kakaowca do około 2%. Receptą na zwiększenie skuteczności preparatów biologicznych w warunkach produkcyjnych jest łączne stosowanie kilku kompatybilnych mikroorganizmów w jednym zabiegu lub w kolejnych zabiegach wykonywanych w różnych fazach

rozwojowych roślin (tab. 2). Mikroorganizmy najczęściej stosowane w ochronie biologicznej mają zdolność syntezy wtórnych metabolitów o charakterze antybiotycznym, dlatego w przypadku ich łącznego stosowania konieczne jest wykonywanie testów zgodności w warunkach *in vitro*. Przykładem skutecznego połączenia mikroorganizmów w zwalczaniu *P. parasitica* oraz grzybów z rodzaju *Fusarium* było zastosowanie bakterii *Paenibacillus* sp. (B2), o właściwościach antybiotycznych, z grzybem mykoryzowym *G. mosseae*. W testach szalkowych potwierdzono, że bakteria nie wykazuje właściwości antagonistycznych wobec *G. mosseae*, ale ogranicza wzrost patogenów chorobotwórczych dla roślin (Budi et al. 2000). W warunkach *in vitro* stwierdzono zahamowanie kiełkowania sporangiów, wzrostu strzępek *P. parasitica* oraz wzrostu grzybni *F. oxysporum* i *F. culmorum*. W doświadczeniu *in vivo* wykazano ograniczenie występowania objawów nekrozy na pomidorach na skutek zastosowania mikroorganizmów antagonistycznych zarówno samodzielnie i łącznie. Najsilniejsze zahamowanie występowania objawów chorobowych stwierdzono na skutek łącznego zastosowania mikroorganizmów BCA (63%) (Budi et al. 2000).

Badania Kim i in. (2008) należą do nielicznych prac nad łącznym zastosowaniem preparatów biologicznych w warunkach polowych. Przeprowadzono je w celu zwalczania *P. capsici* oraz innych gatunków patogennych dla pieprzu, takich jak: *R. solani*, *F. oxysporum* i *F. solani*, za pomocą antagonistycznych bakterii *S. plymuthica* (C-1), *Chromobacterium* sp. (C-61), *Lysobacter enzymogenes* (C-3). Spośród wymienionych bakterii zastosowanych w doświadczeniu wazonowym samodzielnie, najsilniej antagonistycznie w stosunku do *P. capsici* działał szczep *S. plymuthica* (C-1), jednakże gdy użyto go do zwalczania kompleksu grzybów, to charakteryzowały się on średnią efektywnością. Z kolei skuteczność ograniczania rozwoju kompleksu patogenów przez wyżej wymienione szczepy bakterii zastosowane łącznie w badaniach wazonowych oraz w dwóch niezależnych doświadczeniach polowych (w trzech terminach), była wysoka (Kim et al. 2008).

Zwalczanie zgorzeli siewek buraka cukrowego (*Pythium*) z wykorzystaniem *Stenotrophomonas maltophilia* (W81) oraz *P. fluorescens* (F113Rif) w warunkach polowych badali Dunne i in. (1998). Autorzy wykazali, że łączne zastosowanie mikroorganizmów spowodowało obniżenie częstości infekcji roślin na poziomie identycznym z ochroną chemiczną.

Ezziyyani i in. (2007) próbowali zwalczać zgorzel pieprzu (*P. capsici*) za pomocą kombinacji dwóch mikroorganizmów: *T. harzianum* (2413) i *Streptomyces rochei* (467). Wyniki pokazały, że *S. rochei* zastosowany samodzielnie w najmniejszych dawkach nie miał wpływu na zgorzel pieprzu, w wysokich powodował

Tabela 2. Organizmy antagonistyczne (BCA) stosowane łącznie w zwalczaniu chorób powodowanych przez patogeny z rodzaju *Phytophthora*, *Pythium* i *Fusarium*
 Table 2. Biological Control Agent (BCA) used separately in eradication of diseases caused by pathogens genus *Phytophthora*, *Pythium* and *Fusarium*

Organizm BCA Biological Control Agent	Mechanizm Mechanism	Organizm zwalczany Organism to be eradicated	Roślina Plant	Zakres badań Scope of the research	Skuteczność/ efekt działania Effectiveness/results	Referencje References
<i>Burkholderia cepacia</i> 322, <i>T. harzianum</i> 2413	antybioza, mykoparazytizm antibiosis, mycoparasitism	<i>P. capsici</i>	pieprz pepper	<i>in vitro</i> , wazonowe potted	wysoka high	Ezzyyiani et al. (2009)
¹ <i>B. subtilis</i> GB03, ² <i>B. subtilis</i> QST 713, ³ <i>Streptomyces lydicus</i> WYEC 108	¹ iturina (antybiotyk), ¹ ISR, ² antybioza, ² ISR, ³ antybioza, ³ chitynazy, ³ produkcja sideroforów ¹ iturine (antibiotic), ¹ ISR, ² antibiosis, ² ISR, ³ antibiosis, ³ chitinase, ³ production of siderophores	<i>P. ramorum</i>	Różaniecnik kaukaski, kamelia japońska <i>Rhododendron</i> <i>caucasicum</i> , <i>Camellia</i> <i>japonica</i>	<i>in vitro</i> (oderwane liście) (detached leaves)	brak poprawy efektywności w łącznym stosowaniu BCA no improvement in the overall efficiency of the application of the BCA	Elliott et al. (2009)
<i>B. cereus</i> UFV-101, <i>Candida</i> sp. 266, <i>Aspergillus</i> sp. 138, <i>Cellulomonas flavigena</i> 328, <i>Cryptococcus</i> sp. 404	antybioza, konkurencja, ISR antibiosis, competition, ISR	<i>P. infestans</i>	pomidor tomato	szklarniowe greenhouse	wysoka high	Lourenco et al. (2006)
LS213 (<i>B. subtilis</i> GB03, <i>B. amyloliquefaciens</i> IN937a, chitozan), <i>B. licheniformis</i> CECT 5106, <i>P. fluorescens</i> CECT 5398, <i>Chryseobacterium balustinum</i> CECT 5399	³ produkcja sideroforów, SAR/ISR production of siderophores, SAR/ISR	<i>F. oxysporum</i>	pieprz, pomidor pepper, tomato	<i>in vivo</i> (kasety) (cartridge)	średnia do wysokiej medium to high	Domenech et al. (2006)
<i>Micromonospora carbonacea</i> M1, <i>Streptomyces violascens</i> S97	celulazy, antybioza cellulase, antibiosis,	<i>P. cinnamomi</i>	banksia <i>Banksia grandis</i>	szklarniowe greenhouse	wysoka high	El-Tarabily et al. (1996)
<i>P. fluorescens</i> WCS374, WCS417, <i>P. putida</i> WCS358, <i>F. oxysporum</i> Fo47, <i>Acremonium rutilum</i> 417PSB, <i>Verticillium lecanii</i> ,	SAR/ISR, produkcja sideroforów SAR/ISR, production of siderophores	<i>F. oxysporum</i>	rzodkiewka radish	wazonowe potted	niska low	Leeman et al. (1996)
<i>P. putida</i> 32-2, GR12-2, <i>P. fluorescens</i> A1, ML5, <i>P. aureofaciens</i> PGS12	konkurencja, produkcja sideroforów, antybioza competition, production of siderophores, antibiosis	<i>Ph. ultimum</i>	burak cukrowy sugar beet	<i>in vitro</i> , wazonowe potted	niska w łącznym stosowaniu BCA low in inclusive application of the BCA	Fukui et al. (1994)

<i>P. putida</i> RE8, <i>P. fluorescens</i> RS111	<i>F. oxysporum</i>	konkurencja, produkcja sideroforów competition, production of siderophores	rzodkiewka radish	wazonowe potted	niska low	de Boer et al. (1999)
<i>P. putida</i> : WCS358 i RE8	<i>F. oxysporum</i>	produkcja sideroforów, ISR production of siderophores, ISR	rzodkiewka radish	wazonowe potted	niska low	de Boer et al. (2003)
<i>Paenibacillus</i> sp. B2	<i>P. parasitica</i> , <i>F. oxysporum</i>	antybioza antibiosis (paenimyxin)	pomidor tomato	in vitro, in vivo	hamowanie wzrostu grzybní, kielkowanie zarodników inhibition of mycelia growth and germination of spores	Budi et al. (2000)
<i>Paxillus involutus</i> and, <i>Stailtus tomentosus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> ,	<i>F. moniliforme</i>	konkurencja, antybioza competition, antibiosis	sosna Banksa <i>Pinus banksiana</i>	<i>in vitro</i> , <i>in vivo</i> (Kolby Erlenmeyera + wernikuliit) (Erlenmeyer flasks + vermiculite)	wysoka high	Hwang et al. (1995)
<i>Serratia plymuthica</i> C-1, <i>Chromobacterium</i> sp. C-61, <i>Lyso bacter enzymogenes</i> C-3	<i>P. capsici</i>	antybioza, chitynazy, proteazy, lipazy, gluknanazy antibiosis, chitinase, protease, lipase, glucanase	pieprz pepper	wazonowe, szklarniowe, polowe potted, greenhouse, field	wysoka high	Kim et al. (2008)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> W81, <i>P. fluorescens</i> F113	<i>Pythium</i> spp.	chitynazy, proteazy, floroglucynol, siderofory, HCN chitinase, protease, phloroglucinol, siderophores, HCN	burak cukrowy sugar beet	<i>in vitro</i> , wazonowe, polowe potted, field	wysoka high	Dunne et al. (1998)
<i>T. vires</i> AUSB-26328, <i>T. harzianum</i> AUSB-26330, <i>Paeclomyces lilacinus</i> AUSB-26336, RIS (Bion, SA)	<i>Ph. debaryanum</i> , <i>F. oxysporum</i>	indukcja SAR, wzrost zawartości związków fenolowych w roślinach induction of SAR, increase in the content of phenolic compounds in plants	bawełna cotton	szklarniowe, polowe greenhouse, field	średnia medium	Abo-Elyouss et al. (2009)
<i>T. vires</i> GL3, GL21, <i>Burkholderia ambifaria</i> BC-F, <i>B. cepacia</i> BC-1, <i>Serratia marcescens</i> NI-1-14	<i>Ph. ultimum</i>	konkurencja, antybioza competition, antibiosis	ogórek cucumber	szklarniowe greenhouse	średnia do wysokiej medium to high	Roberts et al. (2005)
<i>Trichoderma harzianum</i> 2413, <i>Streptomyces rochei</i> 467	<i>P. capsici</i>	nadpasożytnictwo, antybioza hyperpathogenicity, antibiosis	pieprz piper	wazonowe, polowe potted, field	wysoka high	Ezzyyami et al. (2007)

opóźnienie wstępowania objawów, a w najwyższych zmniejszała śmiertelność roślin. Zastosowanie gatunku *T. harzianum* samodzielnie w ogóle nie poprawiało zdrowotności roślin pieprzu. Łączne zastosowanie mikroorganizmów w doświadczeniu wazonowym zmniejszyło częstość objawów fytoftorazy o 79,8 %, natomiast w doświadczeniu polowym o 74,8%. Nieznaczne obniżenie efektywności ochrony biologicznej obserwowane w doświadczeniu polowym (w stosunku do wazonowego) badacze tłumaczyli faktem, że antagonistyczne BCA musiały konkurować z rdzennymi mikroorganizmami bytującymi w glebie, podczas gdy w wazonach, w sterylnym podłożu taka konkurencja nie występowała.

Abo-Elyousr i in. (2009) do biologicznego zwalczania zgorzeli siewek bawełny powodowanej przez *Ph. debaryanum* i *F. oxysporum* wykorzystywali *T. hamatum* (AUSB-26328), *T. harzianum* (AUSB-26330), *Paecilomyces lilacinus* (AUSB-26336) oraz syntetyczne induktory odporności (resistance inducers – RIs): benzo-thiadiazol (BTH, nazwa handlowa Bion) i kwas salicylowy (SA). W badaniach polowych najkorzystniejsze wyniki w ograniczaniu patogenicznych gatunków *Ph. debaryanum* i *F. oxysporum* uzyskano w wariancie po zastosowaniu łącznie: *P. lilacinus*, *T. harzianum*, SA i Bion. Zmniejszenie nasilenia objawów choroby na zainfekowanych roślinach wyniosło około 50%.

4. Biologiczna ochrona przed chorobami: stan obecny i perspektywy rozwoju

W krajach Unii Europejskiej stosowanie biologicznych środków ochrony roślin regulowane jest dyrektywami 91/414/EEC (EU 1991), 2001/36/EC (EU 2001) i 2005/25/EC (EU 2005) oraz regulacją EC 1107/2009 (EU 2009). Komisja Europejska bardzo precyzyjnie określa zasady obowiązujące producentów przy rejestracji do użycia preparatów BCA. Poszczególne kraje członkowskie różnią się interpretacją przepisów prawnych, co skutkuje wydłużeniem procesu rejestracji, który jest różny w poszczególnych krajach członkowskich. Polska, jako jeden z sześciu krajów UE, nie posiada szczegółowych uregulowań prawnych dotyczących stosowania i rejestracji środków biologicznej ochrony.

Aktualnie w Europie dostępnych jest 16 biofungicydów (www.rebeca-net.de). Komercyjne preparaty biologiczne dostępne na rynku zawierają pojedyncze szczepy mikroorganizmów antagonistycznych o bardzo specyficznym mechanizmie oddziaływania na patogeny (Junaid et al. 2013; www.rebeca-net.de). Większość gatunków grzybów glebowych uważana jest za gatunki kosmopolityczne, co oznacza, że z łatwością mogą przenosić się do innych środowisk (Gams 2007). Analizy porównawcze populacji grzybów glebowych prowadzo-

ne w różnych szerokościach geograficznych wskazują, że zarówno liczba taksonów grzybów glebowych izolowanych z różnych środowisk, jak i ich skład jakościowy są podobne (Hawksworth 2001), dlatego zdaniem Bae i in. (2011) te same BCA można stosować w różnych warunkach środowiskowych.

Podstawową kwestią, którą należy rozważyć w odniesieniu do ochrony biologicznej, jest uzyskanie zadowalającej skuteczności biopreparatów i powtarzalności wyników w warunkach produkcyjnych. Aby efekt był dobry, organizmy BCA muszą skutecznie skolonizować tkanki roślin. Wzajemne interakcje dotyczą głównie konkurencji o przestrzeń życiową i składniki pokarmowe. Zachodzą w glebie i na roślinach, gdzie współzawodnictwo pomiędzy mikroorganizmami nie opiera się wyłącznie na szybkości kolonizacji (tempie wzrostu, szybkości cyklu życiowego, zdolnościach adaptacyjnych czy potencjale rozmnożeniowym), lecz dotyczy dynamicznej rywalizacji pomiędzy mikroorganizmami z wykorzystaniem wszelkich dostępnych środków obrony i agresji. Mikroorganizmy bytujące w określonej niszy ekologicznej wykształciły różne strategie umożliwiające im pokonanie konkurencji. Należy do nich zaliczyć: detoksyfikację wtórnych metabolitów innych mikroorganizmów, represję genów odpowiadających za syntezę metabolitów, syntezę antybiotyków szkodliwych dla konkurencyjnych organizmów oraz odporność na antybiotyki syntetyzowane przez inne mikroorganizmy (Duffy et al. 2003). Wymienione powyżej oddziaływania mogą przekładać się na mniejszą skuteczność biologicznej ochrony w naturalnych ekosystemach. Dodatkowo, na wzajemne relacje pomiędzy mikroorganizmami wpływa wiele czynników niepodlegających kontroli, a decydujących o skuteczności zabiegów ochronnych, takich jak: warunki środowiskowe: temperatura, opady, pH gleby, obecność czynników hamujących wzrost, skład gatunkowy mikroorganizmów w określonej niszy (Benhamou 2004). Z tego powodu, nie ma zależności między wynikami badań nad stosowaniem BCA uzyskanymi w warunkach *in vitro* a uzyskanymi w warunkach *in vivo* (Elliot et al. 2009). Modele matematyczne przebiegu choroby przy zastosowaniu ochrony biologicznej wykazały, że efektywność BCA zależy od stopnia kolonizacji tkanek roślinnych lub gleby oraz od czasu aktywności BCA (Jeger et al. 2009), a badania Zeng i in. (2012) udowodniły że skuteczność stosowania biologicznej ochrony zależy od stabilnego utrzymywania się populacji BCA introdukowanych do środowiska. Wobec powyższego można wnioskować, że skuteczność BCA nie zależy od krótkotrwałego oddziaływania mikroorganizmów antagonistycznych, a przełamanie mechanizmu obrony patogenów nie gwarantuje uzyskania satysfakcjonującego efektu ochronnego. Z tego też powodu efektywność biologicznej

ochrony w uprawach polowych jest ograniczona, a największe sukcesy z wykorzystaniem BCA uzyskuje się w uprawach szklarniowych (Paulitz, Belanger 2001). Obserwowana w niektórych doświadczeniach polowych niewielka skuteczność biologicznej ochrony roślin może wynikać także z wykorzystania organizmów antagonistycznych wobec wąskiego spektrum patogenów, dlatego zawsze wskazane jest stosowanie mikroorganizmów o szerokim wachlarzu zdolności antagonistycznych (Cook 1993). Wyspecjalizowany mechanizm oddziaływania na patogeniczne mikroorganizmy oznacza zarazem bardzo małe prawdopodobieństwo zmiany żywiciela, przykładem może być nadpasożytniczy gatunek *Ampelomyces quisqualis* – pasożytujący wyłącznie na grzybach powodujących mączniaka prawdziwego (Angeli et al. 2012). Zdaniem niektórych badaczy wysoka specjalizacja żywicielska może być skorelowana z ewolucyjną labilnością (Parker, Gilbert 2004). Heydari i Pessarakli (2010) twierdzą, że organizmy nadpasożytnicze wprowadzane do środowiska najczęściej nie zapewniają skutecznej ochrony, wykazują bowiem agresywne zachowania wobec innych organizmów jedynie w warunkach ograniczonej dostępności składników odżywczych.

Zastosowanie BCA oddziałujących wyłącznie na określony patogen, często nie wpływa na inne organizmy zasiedlające niszę, co z kolei prowadzi do kolonizacji roślin przez nowe organizmy patogeniczne. Takie zjawisko ma ogromne znaczenie w przypadku polifagicznych patogenów odglebowych, dających podobne lub identyczne objawy chorobowe na roślinach. W takim przypadku brak precyzyjnych procedur diagnostycznych stosowanych w szkółkarstwie leśnym nie daje odpowiedzi na temat skuteczności zabiegu zwalczania określonego organizmu, szczególnie jeśli rośliny zostaną skolonizowane przez inne organizmy patogeniczne. Dodatkowym utrudnieniem są liczne formy przetrwalnikowe oraz zarodniki tworzone przez mikroorganizmy patogeniczne, które zostają rozproszone w wodach gruntowych i glebie. W sytuacji silnej konkurencji pomiędzy mikroorganizmami formy te umożliwiają przetrwanie patogenom, natomiast wprowadzone do ekosystemu populacje nadpasożytniczych grzybów i bakterii podlegają stałej redukcji (Lourenco et al. 2006).

Podsumowując zebrane dane literaturowe należy stwierdzić, że w biologicznej ochronie przed chorobami zgorzelowymi różnych roślin najczęściej (30 na 47 prac) stosowano bakterie i promieniowce o właściwościach antybiotycznych (tab. 1). Szacuje się, że poznano zaledwie 12% wszystkich takich gatunków, dlatego w celu pozyskania dla biologicznej ochrony nowych gatunków potrzebna jest izolacja mikroorganizmów z gleby – jako potencjalnych producentów związków biologicznie aktywnych (wydzielania antybiotyków jako ubocznych procesów metabolicznych). Należy także podkreślić, że

metody ochrony biologicznej w porównaniu do metod chemicznych roślin są bardzo trudne. Stosowanie BCA w odniesieniu do konkretnych patogenów i gatunków roślin wymaga bowiem opracowania bardzo precyzyjnych procedur oraz znajomości biologii zarówno organizmów zwalczanych, jak i czynników biologicznej ochrony.

Należy poszukiwać nowych mikroorganizmów o właściwościach antagonistycznych w stosunku do patogenów, by powiększyć arsenał dostępnych środków na bazie BCA, oraz koncentrować się na wykorzystywaniu lokalnych szczepów o najkorzystniejszych właściwościach w określonych siedliskach. Tworzenie nowych biopreparatów jest oczywiście trudne, jednak poniesiony w tym zakresie wysiłek badawczy rekompensowany będzie poprawą ich skuteczności oraz uniknięciem introdukcji do środowiska mikroorganizmów pochodzących z odległych części świata. Receptą na poprawę skuteczności biopreparatów BCA jest wykorzystanie synergicznych czynników biologicznej ochrony, co zarówno poprawia efekt ochronny, jak i umożliwia zwalczanie większej liczby patogenów (Dunne et al. 1998; Jetyyanon, Kloepper 2002).

W literaturze funkcjonuje wiele doniesień o stosowaniu kilku BCA, kompatybilnych pod względem mechanizmu działania (tab. 2). Wątpliwości jednak budzi wzajemne ich oddziaływanie w środowisku naturalnym. Populacje BCA stosowane równocześnie lub w krótkich odstępach czasu mogą ze sobą konkurować (Xu et al. 2011), dlatego też łączne stosowanie kilku BCA może dawać korzystny, neutralny lub niekorzystny efekt ochronny. Efekt ten zależy od typu organizmu zwalczanego, wielkości jego populacji oraz doboru konkretnych BCA (Kessel et al. 2002; Lourenco et al. 2006; Ezziyiani et al. 2007; Xu et al. 2010). Analizując model aktywności BCA o różnych mechanizmach oddziaływania na patogen, Xu i in. (2011) doszli do wniosku, że w ograniczaniu chorób roślin bardziej skuteczne jest stosowanie pojedynczych organizmów o wielopunktowym mechanizmie oddziaływania na patogen, niż kombinacji kilku BCA, o różnych, lecz jednopunktowych zdolnościach antagonistycznych. Jednocześnie Xu i in. (2011) nie wykluczają zwiększenia efektywności BCA stosowanych łącznie, przy czym podkreślają, że synergiczne oddziaływanie uwarunkowane jest przez wzajemną kompatybilność mikroorganizmów, która musi zostać potwierdzona w wykonanych wcześniej analizach laboratoryjnych. Powyższe założenie potwierdzają najnowsze wyniki zaprezentowane przez Xu i Jeger (2013), którzy wykazali, że łączne stosowanie BCA o zdolnościach konkurencyjnych i nadpasożytniczych skutkowało opóźnieniem rozwoju choroby.

Bardzo korzystne wydaje się wprowadzenie do tego układu mikroorganizmów stymulujących reakcję obron-

ną roślin (SAR, ISR) przewencyjnie, czyli przed terminem największej wrażliwości roślin lub największej aktywności patogenu. Oczywiście wymaga to wnikliwych badań określających zasady łącznego stosowania poszczególnych BCA w odniesieniu do konkretnego patogenu, rośliny i siedliska. W ograniczaniu łęgniowców Oomycetes skuteczne jest łączenie czynników biologicznej ochrony z klasycznymi środkami ochrony roślin (Silva et al. 2004) oraz łączne stosowanie BCA z syntetycznymi induktorami odporności (Abo-Elyousr et al. 2009). Dla rozwoju biologicznych metod ochrony w szkółkarstwie leśnym ważne jest wykorzystanie grzybów mykoryzowych poprawiających wzrost roślin, a jednocześnie będących antagonistami patogenicznych grzybów (Poza et al. 1999). Jest to korzystne ze względu na brak ujemnego wpływu na środowisko oraz ze względów ekonomicznych (Harrier, Watson 2004). Poprawę efektywności grzybowych preparatów biologicznych można uzyskać poprzez wzbogacenie ich receptury w sole wapnia (CaCO_3), co wzmaga sporulację grzybów oraz zwiększa syntezę enzymów (Saxena et al. 2001; Wuyep et al. 2003). Wapń w biopreparatach poprawia ich jakość i aktywność antagonistów po aplikacji biofungicydu (Spadaro, Gullino 2004). W badaniach Sugimoto i in. (2008) wykazano, że jony wapnia wpływały ograniczająco na wzrost grzybni i uwalnianie zoospor *Phytophthora sojae*, tak więc celowe jest wzbogacanie preparatów BCA dedykowanych do zwalczania łęgniowców z rodzaju *Phytophthora* w wapń. Taką tezę potwierdzają również prace von Broembsen i Deacon (1997), którzy wykazali efektywność CaCl_2 i $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ w ograniczaniu *P. parasitica* oraz badania dotyczące zastosowania jonów Ca^{2+} w ochronie dębu *Quercus ilex* przed *P. cinnamomi* (Serrano et al. 2012).

5. Podsumowanie

Przytoczone w niniejszej pracy dane literaturowe wskazują na bardzo duże możliwości wykorzystania mikroorganizmów antagonistycznych w szeroko pojętej produkcji roślinnej, obejmującej leśnictwo, a w szczególności szkółkarstwo leśne. Krajowy rynek biologicznych środków ochrony roślin jest obecnie niewielki, w roku 2014 na listę preparatów fungicydowych rekomendowanych w leśnictwie wprowadzono pierwszy środek biologiczny zawierający oospory *Pythium oligandrum* (Polyversum WP). Stosowanie integrowanej ochrony roślin przez wszystkich profesjonalnych użytkowników, począwszy od 1 stycznia 2014 roku uprawomocnione przepisami ustawy z dnia 8 marca 2013 r. o środkach ochrony roślin (Dz. U. poz. 455) oraz rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 kwietnia 2013 r. w sprawie wymagań integrowanej ochrony roślin

(Dz. U. poz. 505), stwarza potrzebę wykorzystania wszystkich metod ochrony roślin alternatywnych w stosunku do metody chemicznej, co może wpłynąć na wzrost zainteresowania metodą biologiczną. Na całym świecie prowadzone są prace badawcze, których celem jest poszukiwanie nowych mikroorganizmów o właściwościach umożliwiających ich wykorzystanie w biologicznej ochronie. Jednocześnie znanych jest już wiele gatunków mikroorganizmów (o udokumentowanych właściwościach antagonistycznych), które wykorzystano do opracowania biopreparatów komercyjnych. Dlatego w ramach prac badawczych realizowanych w różnych krajowych jednostkach naukowo-badawczych należy postawić za cel opracowanie zasad stosowania preparatów biologicznych dostępnych w ramach UE w szkółkarstwie leśnym i jednocześnie podjąć starania dotyczące rejestracji kolejnych środków biologicznej ochrony roślin w Polsce.

Literatura

- Abdel-Monaim M.F. 2013. Improvement of Biocontrol of Damping-off and Root Rot/Wilt of Faba Bean by Salicylic Acid and Hydrogen Peroxide. *Mycobiology*, 41(1): 47–55.
- Abo-Elyousr K.A.M., Hashem M., Ali E.H. 2009. Integrated control of cotton root rot disease by mixing fungal biocontrol agents and resistance inducers. *Crop Protection*, 28: 295–301.
- Adams P., De-Leij F.A., Lynch J.M. 2007. *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22 mediates growth promotion of Crack willow (*Salix fragilis*) saplings in both clean and metal-contaminated soil. *Microbial Ecology*, 54: 306–313.
- Alabouvette C., Olivain C., Steinberg C., 2006. Biological control of plant diseases: the European situation. *European Journal of Plant Pathology*, 114: 329–341.
- Angeli D., Maurhofer M., Gessler C., Pertot I. 2012. Existence of different physiological forms within genetically diverse strains of *Ampelomyces quisqualis*. *Phytoparasitica*, 40 (1): 37–51.
- Azcón-Aguilar C., Barea J.M. 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens – an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6(6): 457–464.
- Bae H., Roberts D.P., Lim H., Strem M.D., Park S., Ryu C., Bailey B.A. 2011. Endophytic *Trichoderma* Isolates from Tropical Environments Delay Disease Onset and Induce Resistance Against *Phytophthora capsici* in Hot Pepper Using Multiple Mechanisms. *Molecular Plant Microbe Interaction*, 24(3): 336–351.
- Baker K.F., Cook R.J. 1974. Biological control of plant pathogens. San Francisco, W.H. Freeman and Company, 433.
- Bell M.J., Garside A.L., Magarey R.C. 2000. Effect of breaks on sugarcane growth: relations between glasshouse and field studies. *Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technology*, 22: 68–76.
- Benhamou N. 2004. Potential of the mycoparasite, *Verticillium lecanii*, to protect citrus fruit against *Penicillium digitatum*,

- the causal agent of green mold: A comparison with the effect of chitosan. *Phytopathology*, 94: 693–705.
- Benhamou N., Gagné S., Quéré D.L., Dehbi L. 2000. Bacterial-mediated induced resistance in cucumber: Beneficial effect of the endophytic bacterium *Serratia plymuthica* on the protection against infection by *Pythium ultimum*. *Phytopathology*, 90: 45–56.
- Bent E., Tuzun S., Chanway C.P., Enebak S. 2001. Alterations in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 47: 793–800.
- Berdy J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *Journal of Antibiotics*, 58:1–26.
- Branzanti M.B., Rocca E., Pisi A., 1999. Effect of ectomycorrhizal fungi on chestnut ink disease. *Mycorrhiza*, 9: 103–109.
- Budi S.W., van Tuinen D., Arnould C., Dumas-Gaudot E., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. 2000. Hydrolytic enzyme activity of *Paenibacillus* sp. strain B2 and effects of the antagonistic bacterium on cell integrity of two soil-borne pathogenic fungi. *Applied Soil Ecology*, 15: 191–199.
- Chakravarty P., Hwang S.F. 1991. Effects of ectomycorrhizal fungus, *Laccaria laccata*, on *Fusarium* damping-off in *Pinus banksiana* seedlings. *European Journal of Forest Pathology*, 21: 97–106.
- Chen J., Jacobson L.M., Handelsman J., Goodman R.M. 1996. Compatibility of systemic acquired resistance and microbial biocontrol for suppression of plant disease in a laboratory assay. *Molecular Ecology*, 5: 73–80.
- Cook R. J. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 31: 53–80.
- Cordier C., Pozo M.J., Barea J.M., Gianinazzi S. 1998. Cell Defense Responses Associated with Localized and Systemic Resistance to *Phytophthora parasitica* Induced in Tomato by an Arbuscular Mycorrhizal Fungus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11(10): 1017–1028.
- Coventry H.S., Dubery I.A. 2001. Lipopolysaccharides from *Burkholderia cepacia* contribute to an enhanced defensive capacity and the induction of pathogenesis-related proteins in *Nicotiana tabacum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 58: 149–158.
- de Boer M., Boom P., Kindt F., Keurentjes J.J.B., Van der Sluis I., Van Loon L.C., Bakker P.A.H.M. 2003. Control of *Fusarium* wilt of radish by combining *Ps. putida* strains that have different disease suppressive mechanisms. *Phytopathology*, 93: 626–632.
- de Boer W., Folman L.B., Summerbell R.C., Boddy L. 2005. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiology Reviews*, 29: 795–811.
- de Boer M., Van der Sluis I., vanLoon L.C., Bakker P.A.H.M. 1999. Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strains to enhance suppression of *Fusarium* wilt of radish. *European Journal of Plant Pathology*, 105: 201–210.
- de Vasconcellos R.L.F., Cardoso E.J.B.N. 2009. Rhizospheric *Streptomyces* as potential biocontrol agents of *Fusarium* and *Armillaria* pine rot and as PGPR for *Pinus taeda*. *BioControl*, 54: 807–816.
- Deberdt P., Mfegue C.V., Tondje P.R., Bon M.C., Ducamp M., Hurard C. et al. 2008. Impact of environmental factors, chemical fungicide and biological control on cacao pod production dynamics and black pod disease (*Phytophthora megakarya*) in Cameroon. *Biological Control*, 44: 149–159.
- Devaki N.S., Bhat S.S., Bhat S.G., Manjunatha K.R. 1992. Antagonistic activities of *Trichoderma harzianum* against *Phythium aphanidermatum* and *Pythium myriotylum* on tobacco. *Journal of Phytopathology*, 136: 82–87.
- Domenech J., Ramos-Solano B., Probanza A., Lucas-Garcia J.A., Colon J.J., Gutierrez-Manero F.J. 2004. *Bacillus* spp. and *Pisolithus tinctorius* effects on *Quercus ilex* ssp. ballot: a study on tree growth, rhizosphere community structure and mycorrhizal infection. *Forest Ecology and Management*, 194: 293–303.
- Domenech J., Reddy M.S., Klopper J.W., Ramos B. 2006. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne diseases in pepper and tomato. *BioControl*, 51(2): 245–258.
- Duchesne L.C., Peterson, R.L., Ellis B.E. 1989. The time-course of disease suppression and antibiosis by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. *New Phytologist*, 111(4): 693–698. doi:10.1111/j.1469-8137.1989.tb02364.
- Duffy B., Schouten A., Raaijmakers J.M. 2003. Pathogen self-defense: mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annual Review of Phytopathology*, 41: 501–538.
- Dunne C., Moenne-Loccoz Y., McCarthy J., Higgins P., Powell J., Dowling D.N., O’Gara F. 1998. Combining proteolytic and phloroglucinol-producing bacteria for improved control of *Pythium*-mediated damping-off of sugar beet. *Plant Pathology*. 47: 299–307.
- Elliott M., Shamoun S.F., Summampong G., James D., Masri S., Varga A. 2009. Evaluation of several commercial biocontrol products on European and North American population of *Phytophthora ramorum*. *Biocontrol Science and Technology*, 19(10): 1007–1021.
- El-Tarabily K.A., Hardy G.E.St.J., Sivasithamparam K. 2010. Performance of three endophytic actinomycetes in relation to plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum*, a pathogen of cucumber under commercial field production conditions in the United Arab Emirates. *European Journal of Plant Pathology*, 128: 527–539.
- El-Tarabily K.A., Sykes M.L., Kurtboke I.D., Hardy G.E.ST.J., Barbosa A.M., Dekker R.F.H. 1996. Synergistic effects of a cellulase-producing *Micromonospora carbonacea* and an antibiotic-producing *Streptomyces violaceus* on the suppression of *Phytophthora cinnamomi* root rot of *Banksia grandis*. *Canadian Journal of Botany*, 74: 618–624.
- Ezziyyani M, Requena M.E., Egea Gilabert C., Lamarti A. Candela M.E. 2009. Biological control of *Phytophthora capsici* root rot of pepper (*Capsicum annum* L.) plants using *Burkholderia cepacia* and *Trichoderma harzianum*. *Journal of Applied BioSciences*, 13: 745–754.
- Ezziyyani M., Requena M. E., Egea-Gilabert C., & Candela M. E. 2007. Biological control of *Phytophthora* root rot of

- pepper using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rochei* in combination. *Journal of Phytopathology*, 155(6): 342–349. doi:10.1111/j.1439-0434.2007.01237.x.
- Figueiredo M.V.B., Seldin L., Araujo F.F., Mariano R.L.R. 2010. Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications, w: Plant growth and health promoting bacteria, microbiology monographs 18 (red. D.K. Maheshwari), Berlin, Springer, 448. DOI 10.1007/978-3-642-13612-2_2.
- Fravel D.R. 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, 43: 337–359.
- Fritsche K., Leveau J.H.J., Gerards S., Ogawa S., De Boer W., van Veen J.A. 2006. *Collimonas fungivorans* and bacterial mycophagy. *IOBC/WPRS Bulletins*, 29: 27–30.
- Fukui R., Schroth M.N., Henderson M., Hancock J.G. 1994. Interaction between strains of pseudomonads in sugar beet spermospheres and their relationship to pericarp colonization by *Pythium ultimum* in soil. *Phytopathology*, 84: 1322–1330.
- Gams W. 2007. Biodiversity of soil-inhabiting fungi. *Biodiversity and Conservation*. 16(1), 69–72. doi:10.1007/s10531-006-9121-y.
- Gilbert G.S., Handelsman J., Parke J.L. 1990. Role of ammonia and calcium in lysis of zoospores of *Phytophthora cactorum* by *Bacillus cereus* strain UW85. *Experimental Mycology*, 14: 1–8.
- Głowacka B., Kolk A., Janiszewski W., Rosa-Gruszecka A., Pudelko M., Łukaszewicz J., Krajewski S. 2012. Środki ochrony roślin oraz produkty do rozkładu pni drzew leśnych zalecane do stosowania w leśnictwie w roku 2013 [Plant protection chemicals and products for the decay of forest tree trunks advised for the use in forestry in the year of 2013]. Analizy i Raporty. 19. Sękocin Stary, Instytut Badawczy Leśnictwa, 19: 75.
- Gohar Y., Beshay U., Daba A., Hafez E. 2006. Bioactive compounds from *Streptomyces nasri* and its mutants with special reference to proteopolysaccharides. *Polish Journal of Microbiology*, 55: 179–187.
- Golińska P., Dahm H. 2013. Antagonistic properties of *Streptomyces* isolated from forest soils against fungal pathogens of pine seedlings. *Dendrobiology*, 69: 87–97.
- Graham J.H. 2001. What do root pathogens see in mycorrhizas? *New Phytologist*, 149: 357–359.
- Grodnitskaya I.D., Sorokin N.D. 2007. Application of microbes to the soils of Siberian tree nurseries. *Eurasian Soil Science*, 40(3): 329–334.
- Gutierrez-Manero F.J., Ramos-Solano B., Probanza A., Mehouchi J., Tadeo F. R., Talon M., 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiological active gibberellins. *Physiologia Plantarum*, 111: 206–211.
- Handelsman J., Raffel S., Mester E.H., Wunderlich L., Grau C.R. 1990. Biological control of damping-off of alfalfa seedlings with *Bacillus cereus* UW85. *Applied Environmental Microbiology*, 56: 713–718.
- Handelsman J., Nesmith W.C., Raffel S.J. 1991. Microassay for biological and chemical control of infection of tobacco by *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Current Microbiology*, 22: 317–319.
- Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M. 2004. *Trichoderma* species – opportunistic avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2: 43–56.
- Harrier L.A., Watson C.A. 2004. The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Management Science*, 60: 149–157.
- Hawksworth D.L. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*, 105: 1422–1432.
- Heydari A., Pessarakli M. 2010. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. *Journal of Biological Sciences*, 10: 273–290.
- Hill R.A., Paderes D.E., Wigley P.J., Broadwell A.H. 2007. Growth of *Pinus radiata* seedlings in the nursery with novel microbial formulations (Poster abstract). *New Zealand Plant Protection*, 60: 305.
- Hohmann P., Jones E.E., Hill R.A., Stewart A. 2011. Understanding *Trichoderma* in the root system of *Pinus radiata*: associations between rhizosphere colonisation and growth promotion for commercially grown seedlings. *Fungal Biology*, 115: 759–767.
- Hwang S.F., Chakravarty P., Chang K.-F. 1995. The effect of two ectomycorrhizal fungi, *Paxillus involutus* and *Suillus tomentosus*, and of *Bacillus subtilis* on *Fusarium* damping-off in jack pine seedlings. *Phytoprotection*, 76: (2)57–66.
- Janisiewicz W.J., Covey R.P. 1983. Biological control of collar rot caused by *Phytophthora cactorum*. *Phytopathology*, 73: 822.
- Jeger M.J., Jeffries P., Elad Y., Xu X.M. 2009. A generic theoretical model for biological control of foliar plant diseases. *Journal of Theoretical Biology*, 256: 201–214.
- Jetiyanon K., Kloepper J.W. 2002. Mixtures of plant growth promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Biological Control*, 24: 285–291.
- Junaid J. M., Dar N.A., Bhat T.A., Bhat A.H., Bhat A. 2013. Commercial Biocontrol Agents and Their Mechanism of Action in the Management of Plant Pathogens. *International Journal of Modern Plant & Animal Sciences*, 1(2): 39–57.
- Jung H.K., Kim S.D. 2005. An antifungal antibiotic purified from *Bacillus megaterium* KL39, a biocontrol agent of red-pepper *Phytophthora* blight disease. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15: 1001–1010.
- Jung W.J., Jin Y.L., Kim K.Y., Park R.D., Kim T.H. 2005. Changes in pathogenesis-related proteins in pepper plants with regard to biological control of *Phytophthora* blight with *Paenibacillus illinoisensis*. *BioControl*, 50 (1): 165–178. doi:10.1007/s10526-004-0451-y.
- Jung W.J., Jin Y.L., Park R.D., Kim K.Y., Lim K.T., Kim T.H. 2006. Treatment of *Paenibacillus illinoisensis* suppresses the activities of antioxidative enzymes in pepper roots caused by *Phytophthora capsici* infection. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(9): 901–907. doi:10.1007/s11274-006-9131-7.

- Kapoor R. 2008. Induced Resistance in Mycorrhizal Tomato is correlated to Concentration of Jasmonic Acid. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 8(3): 49–56. doi:10.3844/ojbsci.2008.49.56.
- Kaur S., Dhillon G.S., Brar S.K., Chauhan V.B., Chand R., Verma M. 2013. Potential Eco-friendly Soil Microorganisms: Road Towards Green and Sustainable Agriculture. w: A. Malik, E. Grohmann, M. Alves (eds). Management of Microbial Resources in the Environment. Dordrecht Heidelberg New York London, Springer, 530 p.
- Kavatagi K.P., Lakshaman H.C. 2012. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi for their symbiotic efficiency on two varieties of *Solanum lycopersicum* L. *International Journal of Pharma and Biological Sciences*, 3(3): 1007–1017.
- Kelley W.D. 1976. Evaluation of *Trichoderma harzianum* impregnated clay granules as a biocontrol for *Phytophthora cinnamomi* causing damping off in pine seedlings. *Phytopathology*, 66: 1023–1027.
- Kessel G.J.T., De Hass B.H., van der Werf W., Köhl J. 2002. Competitive substrate colonisation by *Botrytis cinerea* and *Ulocladium atrum* in relation to biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen. *Mycological Research*, 106: 716–728.
- Khamna S., Yokota A., Lumyong S. 2009. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25: 649–655.
- Khan J., Ooka J.J., Miller S.A., Madden L.V., Hoitink H.A.J. 2004. Systemic resistance induced by *Trichoderma hamatum* 382 in cucumber against *Phytophthora* crown rot and leaf blight. *Plant Disease*, 88: 280–286.
- Kim H.S., Sang M.K., Jeun Y.C., Hwang B.K., Kim K.D. 2008. Sequential selection and efficacy of antagonistic rhizobacteria for controlling *Phytophthora* blight of pepper. *Crop Protection*. 27(3–5): 436–443. doi:10.1016/j.cropro.2007.07.013.
- Kowalski S., Wojnowski L. 2009. Dynamika rozwoju opieńkowej zgnilizny korzeni w uprawie doświadczalnej z sadzonkami sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) niemikoryzowanymi i mikoryzowanymi grzybami *Hebeloma crustuliniforme* i *Laccaria bicolor*. *Sylwan*, 153(1): 31–38.
- Kumar N., Thirumalai V., Gunasekaran P. 2002. Genotyping of antifungal compounds producing plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens*. *Current Science India*, 82: 1463–1466.
- Kozłowska M., Konieczny G. 2003. Biologia odporności roślin na patogeny i szkodniki. Poznań, Akademia Rolnicza. 173 p. ISBN 8371603207.
- Leeman M., den Ouden E.M., van Pelt J. A., Cornelissen C., Matamala-Garros A., Bakker P.A.H.M., Schippers, B. 1996. Suppression of *Fusarium* wilt of radish by co-inoculation of fluorescent *Pseudomonas* spp. and root-colonizing fungi. *European Journal of Plant Pathology*, 102: 21–31.
- Lefort F., Pralon T., Nowakowska J., Oszako T. 2013. Screening of bacteria and fungi antagonist to *Phytophthora* and *Pythium* species pathogenic of forest trees. Biological Control of Fungal and Bacterial Plant Pathogens. *IOBC-WPRS Bulletin*, 86: 185–186.
- Lehr N.A., Schrey S.D., Hampp R., Tarkka M.T. 2008. Root inoculation with a forest soil streptomycete leads to locally and systemically increased resistance against phytopathogens in Norway spruce. *New Phytologist*, 177: 965–976.
- Logeshwaran P., Thangaraju M., Rajasundari K. 2011. In Vitro Suppression of Soil Borne Pathogenic Fungi and Pyoluteorin Production by *Gluconacetobacter Diazotrophicus*. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 1(3): 150–156.
- Lourenco J.V., Maffia L.A., Romeiro R.D., Mizubuti E.S.G. 2006. Biocontrol of tomato late blight with the combination of epiphytic antagonists and rhizobacteria. *Biological Control*, 38: 331–340.
- Ma W., Berkowitz G.A. 2007. The grateful dead: calcium and cell death in plant innate immunity. *Cell Microbiology*, 9: 2571–2585.
- Ma Y., Chang Z., Zhao J., Zhou M. 2008. Antifungal activity of *Penicillium striatisporum* Pst10 and its biocontrol effect on *Phytophthora* root rot of chilli pepper. *Biological Control*, 44(1): 24–31.
- Machón P., Pajares J.A., Diez J.J., Alves-Santos F.M. 2009. Influence of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* on pre-emergence, post-emergence and late damping-off by *Fusarium oxysporum* and *F. verticillioides* on Stone pine seedlings. *Symbiosis*, 49: 101–109.
- Mańka K. 2005. Fitopatologia leśna. Warszawa, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne. ISBN 83-09-01793-6.
- Minchin R.F., Ridgway H.J., Condron L., Jones E.E. 2012. Influence of inoculation with a *Trichoderma* bioinoculant on ectomycorrhizal colonisation of *Pinus radiata* seedlings. *Annals of Applied Biology*, 161(1): 57–67.
- Molina R., Massicotte H., Trappe J.M. 1992. Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. w: Allen M.F. (ed.) Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process. New York, Chapman and Hall, 357–423.
- Mousseaux M.R., Dumroese R.K., James R.L., Wenny D.L., Knudsen G.R. 1998. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biological control (agent) of *Fusarium oxysporum* in container grown Douglas fir seedlings. *New Forests*, 15(1): 11–21.
- Muthukumar A., Easwaran A., Nakkeeran S., Sangeetha G. 2010. Efficacy of plant extracts and biocontrol agents against *Pythium aphanidermatum* inciting chilli damping-off. *Crop Protection*, 29: 1483–1488.
- Nguyen X.-H., Naing K.-W., Lee Y.-S., Tindwa H., Lee G.-H., Jeong B.-K., Kim K.-Y. 2012. Biocontrol potential of *Streptomyces griseus* H7602 against root rot disease (*Phytophthora capsici*) in pepper. *The Plant Pathology Journal*, 28(3): 282–289. doi:10.5423/PPJ.OA.03.2012.0040.
- Okamoto H., Sato M., Sato Z., Isaka M., 1998. Biocontrol of *Phytophthora capsici* by *Serratia marcescens* F-1-1 and analysis of biocontrol mechanisms using transposon insertion mutants. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 64: 287–293.
- Oostendorp M., Kunz W., Dietrich B., Staub T. 2001. Induced disease resistance by chemicals. *European Journal of Plant Pathology*, 107: 19–28.

- Okorski A. 2007. Biologiczna ochrona roślin przed chorobami-mechanizmy perspektywy rozwoju. *Postępy Nauk Rolniczych*, 5: 21–36.
- Ozgonen Y., Yardimci N., Kilic H.C. 2009. Induction of phenolic compounds and pathogenesis related proteins by mycorrhizal fungal inoculations against *Phytophthora capsici* Leonian in pepper. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12(17): 1181–1187.
- Paderes D. E., Hill R. A., Wang W. Y., Ridgeway H. J. Stewart A. 2005. Development of a Bio-Protection System for *Pinus Radiata* with *Trichoderma* (ArborGuard™). In FOA/MAF 5th Annual Forest Biosecurity Workshop. Rotorua. New Zealand.
- Parker I.M., Gilbert G.S. 2004. The Evolutionary Ecology of Novel Plant-Pathogen Interactions. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematic*, 35(1): 675–700. doi:10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132339.
- Paul D., Sarma Y. R. 2006. Antagonistic effects of metabolites of *Pseudomonas fluorescens* strains on the different growth phases of *Phytophthora capsici*, foot rot pathogen of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 39(2): 113–118. doi:10.1080/03235400500301182.
- Paulitz T.C., Belanger R.R. 2001. Biological control in green house system. *Annual Review of Phytopathology*, 39: 103–133.
- Picard K., Ponchet M., Blein J. P., Rey P., Tirilly Y., Benhamou N. 2000a. Oligandrin. A proteinaceous molecule produced by the mycoparasite *Pythium oligandrum* induces resistance to *Phytophthora parasitica* infection in tomato plants. *Plant Physiology*, 124(1): 379–95.
- Picard K., Tirilly Y., Benhamou N. 2000b. Cytological effects of cellulases in the parasitism of *Phytophthora parasitica* by *Pythium oligandrum*. *Applied Environmental Microbiology*, 66(10): 4305–4314.
- Pieterse C.M.J., Pelt J. A.V., Wees S.C.M.V., Ton J., Kloosterziel K.M.L., Keurentjes J. J.B. et al. 2001. Rhizobacteria mediated induced systemic resistance: triggering, signaling and expression. *European Journal of Plant Pathology*, 107: 51–61.
- Pozo J.C.D., Allona I., Rubio V., Leyva A., de la Pena A., Aragoncillo C., Paz-Ares J. 1999. A type 5 acid phosphatase gene from *Arabidopsis thaliana* is induced by phosphate starvation and by some other types of phosphate mobilising/oxidative stress conditions. *Plant Journal*, 19: 579–589.
- Read D.J., Perez-Moreno J. 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems – a journey towards relevance? *New Phytologist*, 157: 475–492.
- Reglinski T., Dick M. 2005. Biocontrol of forest nursery pathogens. *New Zealand Journal of Forestry*, 50: 14–21.
- Reglinski T., Spiers T.M., Taylor J.T., Ah Chee A., Dick M.A. 2008. Management of *Phytophthora* root rot in radiata pine seedlings. Report to New Zealand Forest Health Research collaborative, Project 2007-03.1–23. Auckland, The Horticulture and Food Research Institute of New Zealand.
- Renshaw J.C., Robson G.D., Trinci A.P.J., Wiebe M.G., Livens F.R., Collison D.C., Taylor R.J. 2002. Fungal siderophores: structures, functions and applications. *Mycological Research*, 106: 1123–1142.
- Roberts D.P., Lohrke S.M., Meyer S.L.F., Buyer J. S., Bowers, J.H., Jacyn Baker C., Chung, S. 2005. Biocontrol agents applied individually and in combination for suppression of soilborne diseases of cucumber. *Crop Protection*, 24(2): 141–155. doi:10.1016/j.cropro.2004.07.004.
- Salas-Marina M.A., Silva-Flores M.A., Uresti-Rivera E.E., Castro-Longoria E., Herrera-Estrella A., Casas-Flores S. 2011. Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. *European Journal of Plant Pathology*, 131: 15–26.
- Saxena R.K., Sangeetha L., Vohra A., Gupta R., Gulati R. 2001. Induction and mass sporulation in lignin degrading fungus *Ceriporiopsis subvermispora* for its potential usage in pulp and paper industry. *Current Science*, 81: 591–594.
- Schouten A.O., Maksimova O., Cuesta-Arenas Y., Berg G.V.D., Raaijmakers J.M. 2008. Involvement of the ABC transporter BcAtrB and the laccase BcLCC2 in defence of *Botrytis cinerea* against the broad-spectrum antibiotic 2,4-diacetylphloroglucinol. *Environmental Microbiology*, 10: 1145–1157.
- Serrano M.S., Fernandez-Rebollo P., De Vita P., Sanchez M.E. 2012. Calcium mineral nutrition increases the tolerance of *Quercus ilex* to *Phytophthora* root disease affecting oak rangeland ecosystems in Spain. *Agroforestry Systems*, 87(1): 173–179.
- Shang H., Chen, J., Handelsman J., Goodman R.M. 1999. Behavior of *Pythium torulosum* Zoospores during their Interaction with Tobacco Roots and *Bacillus cereus* 38. *Current Microbiology*, 38: 199–204.
- Shen S., Choi O., Park S., Kim C., Park C. 2005. Root Colonizing and Biocontrol Competency of *Serratia plymuthica* A21-4 against *Phytophthora* Blight of Pepper, 21(1): 64–67.
- Silo-Suh L.A., Lethbridge B.J., Raffel S.J., He H., Clardy J., Handelsman J. 1994. Biological activities of two fungistatic antibiotics produced by *Bacillus cereus* UW85. *Applied Environmental Microbiology*, 60: 2023–2030.
- Silva H.S.A., Romeiro R.S., Carrer-Filho R., Pereira J.L.A., Mizubuti E.S.G., Mounteer A., 2004. Induction of systemic resistance by *Bacillus cereus* against tomato foliar diseases under Weld conditions. *Journal of Phytopathology*, 152: 371–375.
- Singh J.S., Pandey V.C., Singh D.P. 2011. Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 140: 339–353.
- Smith K. P., Havey M. J., Handelsman J. 1993. Suppression of cottony leak of cucumber with *Bacillus cereus* strain UW85. *Plant Disease*, 77: 139–142.
- Spadaro D., Garibaldi A., Gullino M.L. 2004. Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on apple combining a biocontrol agent with hot water dipping and acibenzolar-S-methyl, baking soda, or ethanol application. *Postharvest Biology and Technology*, 33: 141–151.
- Sugimoto T., Watanabe K., Yoshida S., Aino M., Irie K, Matoi T., Biggs A.R. 2008. Select calcium compounds reduce the severity of *Phytophthora* stem rot of soybean. *Plant Disease*, 92: 1559–1565.

- Ślusarski Cz. 2008. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* – a forgotten pathogen of tomato. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 529: 213–218.
- Timmusk S., van West P., Gow N.A.R., Huffstutler R.P. 2009. *Paenibacillus polymyxa* antagonizes oomycete plant pathogens *Phytophthora palmivora* and *Pythium aphanidermatum*. *Journal of Applied Microbiology*, 106: 1473–1481.
- Trotta A., Varese G.C., Gnani E., Fusconi A., Sampó S., Berta G. 1996. Interaction between the soil borne root pathogen *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* in tomato plants. *Plant and Soil*, 185: 199–209.
- Tsantrizos Y.S., Kope H.H., Fortin J.A., Ogilvie K.K. 1991. Antifungal antibiotics from *Pisolithus tinctorius*. *Phytochemistry*, 30: 1113–1118.
- Valois D., Fayad K., Barasubiye T., Garon M., Dery C., Brzezinski C., Beaulieu C. 1996. Glucanolytic actinomycetes antagonistic to *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, the causal agent of raspberry root rot. *Applied Environmental Microbiology*, 62: 1630–1635.
- Van Peer R., Niemann G. N., Schippers B. 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusarium wilt in carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology*, 81: 728–734.
- Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Marra R., Woo S.L., Lorito M. 2008. *Trichoderma* plant-pathogen interactions. *Soil Biology & Biochemistry*, 40: 1–10.
- Von Broembsen S.L., Deacon J.W. 1997. Calcium interference with zoospore biology and infectivity of *Phytophthora parasitica* in nutrient irrigation solutions. *Phytopathology*, 87: 522–528.
- Whipps J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52: 487–511.
- Wuyep P.A., Khan A.U., Nok A.J. 2003. Production and regulation of lignin degrading enzymes from *Lentinus squarrosulus* (mont.) Singer and *Psathyrella atroumbonata* Pegler. *African Journal of Biotechnology*, 2 (44): 444–447.
- Xiao K., Kinkel L. L., Samac D. A. 2002. Biological Control of Phytophthora Root Rots on Alfalfa and Soybean with Streptomyces. *Biological Control*, 23(3): 285–295. doi:10.1006/bcon.2001.1015.
- Xu X.-M., Robinson J. D., Jeger M., Jeffries P. 2010. Using combinations of biocontrol agents to control *Botrytis cinerea* on strawberry leaves under fluctuating temperatures. *Biocontrol Science and Technology*, 20: 359–373.
- Xu X.M., Jeffries P., Pautasso M. Jeger, M.J. 2011. Combined use of biocontrol agents to manage plant diseases in theory and practice. *Phytopathology*, 101: 1024–1031.
- Xu X.-M., Jeger M.J. 2013. Theoretical Modeling Suggests that Synergy May Result from Combined Use of Two Biocontrol Agents for Controlling Foliar Pathogens Under Spatial Heterogeneous Conditions. *Phytopathology*, 103(8): 768–775.
- Yan Z., Reddy M.S., Ryu C-M., McInroy J.A., Wilson M., Kloepper J.W. 2002. Induced systemic protection against tomato late blight elicited by plant growth-promoting bacteria. *Phytopathology*, 92: 1329–1333.
- Yuan W.M., Crawford D.L. 1995. Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. *Applied Environmental Microbiology*, 61(8): 3119–28.
- Zeng W., Kirk W., Hao J. 2012. Field management of Sclerotinia stem rot of soybean using biological control agents. *Biological Control*, 60: 141–147.

Wkład autorów

A.O., T.O., A.P., J.A.N. – koncepcja pracy, A.O. – przygotowanie maszynopisu, T.O., J.A.N. – korekta tekstu pod kątem redakcyjnym i merytorycznym, A.P. – przygotowanie tabel oraz zbieranie materiałów.