

**MOŻLIWOŚĆ WYKORZYSTANIA ŚRODKÓW
ZAWIERAJĄCYCH AMINOKWASY W OCHRONIE FASOLI
PRZED *SCLEROTINIA SCLEROTIURUM***

THE POSSIBILITY OF USING PRODUCTS CONTAINING
AMINO ACIDS IN THE PROTECTION OF BEAN
AGAINST *SCLEROTINIA SCLEROTIURUM*

Adam T. Wojdyła, Jan Sobolewski

Instytut Ogrodnictwa
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice
Adam.Wojdyla@inhort.pl

Abstract

Agro-Sorb Folium plant growth stimulator as well as Agro-Sorb L-Amino and Agro-Sorb Radiculum fertilizers, containing as a main component various amino acids at the concentrations from 1000 to 10000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, were added *in vitro* into a potato-glucose medium (PDA). Next, the rings of the medium overgrown with the mycelium of *Sclerotinia sclerotiorum* isolate derived from bean were applied. The tested products inhibited the growth of pathogen at the concentration of 10000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, respectively, Agro-Sorb Folium (66.3%), Agro-Sorb L-Amino 71.7% and Agro-Sorb Radiculum (40.4%). Reduction of the concentration of the tested compounds in the medium caused significant decrease in their effectiveness. The study assessed the influence of Agro-Sorb Folium, Agro-Sorb L-Amino and Agro-Sorb Radiculum, used four times at seven day intervals to spray bean grown in a field, on the development of white mold symptoms. Agro-Sorb Folium and Agro-Sorb L-Amino were applied at the concentrations of 0.25%, 0.5% and 1%. Their efficacy ranged from 57.9% to 81.3%. An increase in the concentration of the tested products caused an increase in their effectiveness. Agro-Sorb Radiculum used at the concentration of 0.5% showed the effectiveness of 52.2%. None of the tested products caused changes in the appearance of plants (phytotoxicity).

Key words: *Sclerotinia sclerotiorum*, snap bean, white mold, amino acids, effectiveness, spraying

WSTĘP

Zgnilizna twardzikowa powodowana przez grzyb *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary jest jedną z najczęściej występujących i najgroźniejszych chorób fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.) w okresie uprawy oraz w czasie przechowywania fasoli szparagowej. Grzyb, jako patogen jest notowany na

361 gatunkach roślin należących do 225 rodzajów i 64 rodzin (Purdy 1979). Nasilenie objawów chorobowych występuje na zachwaszczonych plantacjach fasoli w latach z częstymi opadami deszczu, które zwiększają wilgotność powietrza wokół roślin i tym samym sprzyjają rozwojowi patogena. Szkody związane z występowaniem zgnilizny twardzikowej w uprawie fasoli mogą sięgać 50% (Meyer i Campos 2009). Podstawową metodą ograniczenia występowania choroby jest stosowanie fungicydów (McCreary i in. 2016). Jednak ograniczona liczba substancji aktywnych dopuszczonych do stosowania w ochronie fasoli przed zgnilizną twardzikową niesie ryzyko powstawania odporności patogenów, stąd celowe jest poszukiwanie innych metod ochrony.

Już w drugiej połowie XX wieku zwrócono uwagę, że odmiany jabłoni podatne na *Venturia inaequalis* po wstrzyknięciu do ogonków liściowych aminokwasu – fenyloalaniny wykazały odporność na tego patogena (Kuc i in. 1959). Van Andel (1966) na podstawie badań różnych autorów wskazuje na możliwość użycia aminokwasów w ochronie roślin przed *Aphanomyces euteiches*, *Botrytis fabae*, *Cladosporium cucumerinum*, *Colletotrichum lagenarium*, *Erysiphe cichoracearum*, *Phytophthora infestans*, *P. cinnamomi*, *Puccinia recognita* f. sp. *tritici* i *P. graminis* f. sp. *tritici*. Także późniejsze badania wskazują na możliwość wykorzystania aminokwasów w ochronie przed *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Pyricularia oryzae* (Woltz i Jones 1970; Homma i in. 1973; Aly i in. 2010). Zastosowane w formie opryskiwania aminokwasy są łatwo absorbowane przez komórki stanowiąc gotowy produkt dla różnych procesów metabolicznych (El-Ghamry i in. 2009). Van Andel (1966) wyjaśnia mechanizm oddziaływania aminokwasów na czynniki chorobotwórcze i wskazuje na ich działanie grzybobójcze, obniżenie agresywności (wirulencji) patogenów, produkcję innych związków w glebie lub roślinie, zaburzenia metabolizmu azotu, ingerencję w ekspresję objawów, zwiększenie odporności rośliny na patogena. Jones i Woltz (1969) wykazali, że aminokwas – etionina obniżał wirulencję, ale nie wzrost grzyba *Fusarium oxysporum* (Schlecht) f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hans. rasy 2 hodowanego na pożywce bez obecności siarki. Hasabi i in. (2014) na podstawie dostępnej literatury wskazują, że badania nad indukcją odporności roślin na patogeny przy użyciu aminokwasów są bardzo ograniczone. W badaniach nad rakiem bakteryjnym występującym na cytrynie (*Xanthomonas citri* subsp. *citri*) oceniali wpływ niektórych aminokwasów (L-argininy, L-ornityny i L-metioniny) na ograniczanie rozwoju nekrozy powodowanej przez bakterię oraz zawartość

w tkankach roślinnych niektórych enzymów (katalazy, peroksydazy, amoniakolizy fenyloalaniny, 1,3- β -glukanazy). Wykazali, że z badanych aminokwasów stosowanych do opryskiwania istotnie najwyższą skuteczność w ograniczaniu nekrozy liści powodowanej przez *X. citri* subsp. *citri* wykazywała L-metionina. Również po aplikacji tego aminokwasu stwierdzono najwyższy wzrost enzymów katalazy, peroksydazy, amoniakolizy fenyloalaniny i 1,3- β -glukanazy. Rola amoniakolizy fenyloalaniny w indukcji mechanizmów obronnych rośliny związana jest z biosyntezą fitoaleksyn, z przemianami związków fenolowych do substancji ligninopodobnych, z indukcją kwasu salicylowego – substancji związanej z przekazywaniem sygnałów indukujących miejscową i systemową odporność rośliny. Poziom aktywności tego enzymu jest skorelowany ze stopniem odporności roślin na infekcję oraz z agresywnością patogena (Gałązka 2013).

Pundir i in. (1991) wykazali, że wydzieliny korzeniowe z odpornej odmiany soczewicy hamowały wzrost kolonii, formowanie i kiełkowanie chlamydospor *F. oxysporum* f. sp. *lentis*, ale zależności tej nie stwierdzono w przypadku odmian podatnych. W analizie spektrofotometrycznej wycięgów korzeniowych odpornej na fuzariozę odmiany soczewicy stwierdzono pewne aminokwasy, których nie stwierdzono w przypadku odmiany podatnej. Bakry i Rizk (1967) wykazali, że aminokwasy w sposób bezpośredni oddziałują na kiełkowanie zarodników, wydłużanie strzępki kiełkowej oraz syntezę i aktywność niektórych enzymów odpowiedzialnych za patogenezę *Fusarium* spp.

Celem badań było określenie skuteczności środków zawierających naturalne aminokwasy w ograniczaniu rozwoju zgnilizny twardzikowej fasoli (*Sclerotinia sclerotiorum*), a także ich wpływu na wzrost grzybni na pożywce.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach nad ochroną fasoli przed zgnilizną twardzikową uwzględniono środki, których głównym składnikiem są wolne, naturalne (L- α) aminokwasy (histrydina, seryna, arginina, glicyna, kwas asparaginowy, kwas glutaminowy, treonina, alanina, prolina, cysteina, lizyna, tyrozyna, metionina, walina, izoleucyna, leucyna, fenyloalanina, tryptofan):
– stymulator wzrostu roślin **Agro-Sorb Folium** (aminokwasy ogółem 12%, w tym wolne aminokwasy 9,3% + azot całkowity (N) 2,1% + bor (B) 0,02% + mangan (Mn) 0,05% + cynk (Zn) 0,07%),
– nawóz organiczny: **Agro-Sorb L-Amino+** (aminokwasy ogółem 10%, w tym wolne aminokwasy 5% + azot całkowity (N) 2% + azot organiczny

(N_{org}) 2% + węgiel organiczny (C_{org}) 4% + substancje organiczne w suchej masie 65%)

– nawóz organiczno-mineralny: **Agro-Sorb Radiculum** (aminokwasy ogółem 7%, w tym wolne aminokwasy 6% + azot całkowity (N) 2,9% + fosfor (P₂O₅) 1% + substancje organiczne w suchej masie 70% + sucha masa 20%).

W warunkach *in vitro* oceniano wpływ badanych środków zawierających aminokwasy, dodanych do pożywki ziemniaczano-glukozowej (PDA) w dawce 0, 1000, 2500, 5000, 7500 oraz 10000 µg·ml⁻¹, na wzrost grzyba *Sclerotinia sclerotiorum* pochodzącego z fasoli. Po 3–17 dniach inkubacji w temperaturze 22 °C mierzono średnicę i wyliczono pole powierzchni kolonii.

Badania polowe prowadzono na fasoli odm. ‘Paulista’, na której co-rocennie występowała zgnilizna twardzikowa. Nasiona fasoli wysiano w 3 rzędach co 40 cm z międzyrzędziem szerokości 80 cm. W miarę potrzeby rośliny podlewano za pomocą deszczowni. W celu zabezpieczenia plantacji przed chwastami bezpośrednio po siewie (faza BBCH 00-03) podłoże opryskano herbicydem Dual Gold 960 EC w dawce 1,3 dm³·ha⁻¹. W późniejszym okresie w miarę potrzeby mechanicznie usuwano pojawiające się chwasty. Rośliny zaczęto opryskiwać po wystąpieniu objawów chorobowych, a następnie zabieg powtarzano 3-krotnie, co 7 dni. W przeprowadzonym doświadczeniu infekcja roślin wystąpiła w sposób naturalny. Środkiem standardowym był preparat Rovral Aquaflo 500 SC (500 g iprodionu w 1 dm³). Rośliny kontrolne opryskiwano wodą, a pozostałe badanymi środkami w różnych stężeniach, zużywając 100 ml cieczy na 1 m². Opryskiwanie roślin wykonywano w godzinach rannych (8⁰⁰–9⁰⁰) za pomocą opryskiwacza pneumatycznego o pojemności zbiornika 5 dm³ i ciśnieniu cieczy 0,2 MPa. Podczas opryskiwania końcówkę rozpylającą prowadzono na wysokości 30 cm nad roślinami. Bardzo dokładnie pokrywano cieczą górną i dolną stronę blaszek liściowych. Przed rozpoczęciem doświadczenia oraz po 3 dniach od wykonania 2 i 4 opryskiwania wykonano obserwacje nasilenia objawów chorobowych w skali 0–7 (tab. 3). Obserwacje dotyczące ewentualnej fitotoksyczności badanych środków prowadzono po 3 dniach od wykonania każdego opryskiwania. Podczas obserwacji zwracano uwagę, czy nie wystąpiły objawy w postaci żółknięcia, zbrązowienia tkanek roślinnych lub zahamowania wzrostu.

Doświadczenia prowadzono na poletkach w układzie bloków losowanych w 4 powtórzeniach (6 m² powierzchni każde powtórzenie), na których obserwowano 25 roślin. Doświadczenia laboratoryjne zakładano

w 5 powtórzeniach, traktując szalkę jako 1 powtórzenie. Uzyskane dane opracowano statystycznie za pomocą analizy wariancji, a istotność różnic między średnimi oceniono testem Duncana przy poziomie istotności $p = 0,05$. Następnie obliczono procentową skuteczność danego preparatu na podstawie porażonej powierzchni liści w stosunku do obiektu kontrolnego (niechronionego), posługując się uproszczonym wzorem Abbotta (Abbott 1925).

WYNIKI I DYSKUSJA

W warunkach *in vitro* wykazano, że Agro-Sorb Folium, Agro-Sorb L-Amino i Agro-Sorb Radiculum dodane do pożywki ziemniaczano-glukozowej ograniczały wzrost *Sclerotinia sclerotiorum* (tab. 1). W zależności od badanego związku oraz jego stężenia w pożywce skuteczność wynosiła od 28,8% do 66,3% w przypadku Agro-Sorb Folium, od 4,8% do 71,7% dla Agro-Sorb L-Amino oraz od 1,5% do 40,4% dla Agro-Sorb Radiculum (tab. 2). Nawóz Agro-Sorb Radiculum w najniższym stężeniu (1000 $\mu\text{g/ml}$) nawet stymulował wzrost grzybni. Badania wykazały, że w miarę obniżania stężenia środków w pożywce notowano spadek ich skuteczności w ograniczaniu wzrostu grzybni. Fungicyd Rovral Aquaflo 500 SC w każdym z badanych stężeń całkowicie ograniczał wzrost grzybni *S. sclerotiorum* (tab. 2).

W warunkach *in vivo* po 2 tygodniach trwania doświadczenia na roślinach kontrolnych stwierdzono porażenia roślin w stopniu 5,46 (tab. 3). Agro-Sorb Folium w stężeniu 0,25%, 0,5% oraz 1% wykazywał skuteczność od 73,8% do 78,9% w ograniczaniu rozwoju objawów chorobowych, a Agro-Sorb L-Amino od 48% do 57,1%. Wzrost stężenia badanego stymulatora wzrostu oraz nawozu użytych do opryskiwania fasoli powodował wzrost skuteczności. Nawóz Agro-Sorb Radiculum w stężeniu 0,5% wykazywał skuteczność 39,7% w ograniczaniu rozwoju objawów chorobowych.

Po 4 tygodniach trwania doświadczenia na roślinach kontrolnych stwierdzono stopień porażenia roślin wynoszący 6,68 (tab. 3). Agro-Sorb Folium w stężeniu 0,25%, 0,5% oraz 1%, wykazywał skuteczność od 77,1% do 81,3% w ograniczaniu rozwoju objawów chorobowych.

Tabela 1. Wpływ różnych stężeń Agro-Sorb Folium oraz Agro-Sorb L-Amino i Agro-Sorb Radiculum na wzrost grzyba *Sclerotinia sclerotiorum* (powierzchnia grzybni w mm²)

Table 1. The influence of different concentrations of Agro-Sorb Folium and Agro-Sorb L-Amino and Agro-Sorb Radiculum on *Sclerotinia sclerotiorum* growth (surface area in mm²)

Środki Treatments	Stężenie; Concentration (µg·ml ⁻¹)					
	1000	2500	5000	7500	10000	0
Agro-Sorb Folium	3217,8 c	2656,3 b	2433,9 b	1575,0 a	1521,3 a	4517,1 d
Agro-Sorb L-Amino	5069,6 cd	5055,9 cd	4746,8 c	2685,9 b	1509,1 a	5326,0 d
Agro-Sorb Radiculum	5583,3 c	5295,4 c	5294,3 c	4446,7 b	3202,1 a	5376,3 c
	Stężenie; Concentration (µg·ml ⁻¹)					
	100	250	500	1000	2000	0
Rovral Aquaflo 500 SC	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	4318,8 b

Średnie w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie według testu Dun-cana przy p = 0,05.

Means followed by the same letter within lines are not significantly different (p = 0.05) according to Duncan's test.

Tabela 2. Skuteczność różnych stężeń stymulatora wzrostu roślin Agro-Sorb Fo-lium oraz nawozów Agro-Sorb L-Amino i Agro-Sorb Radiculum w hamowaniu wzrostu kultury grzyba *Sclerotinia sclerotiorum* (w %)

Table 2. The percentage effectiveness of different concentrations of Agro-Sorb Folium stimulator and Agro-Sorb L-Amino and Agro-Sorb Radiculum fertilizers in *Sclerotinia sclerotiorum* growth inhibition

Środki Treatments	Stężenie; Concentration (µg·ml ⁻¹)				
	1000	2500	5000	7500	10000
Agro-Sorb Folium	28,8	41,2	46,1	65,1	66,3
Agro-Sorb L-Amino	4,81	5,1	10,9	49,5	71,7
Agro-Sorb Radiculum	+3,85	1,5	1,53	17,3	40,4
	Stężenie; Concentration (µg·ml ⁻¹)				
	100	250	500	1000	2000
Rovral Aquaflo 500 SC	100	100	100	100	100

Tabela 3. Skuteczność stymulatora wzrostu roślin Agro-Sorb Folium oraz nawozów Agro-Sorb L-Amino i Agro-Sorb Radiculum w ograniczaniu rozwoju zgnilizny twardzikowej fasoli odm. 'Paulista' uprawianej w polu (skala 1-7). Początek doświadczenia 24.06.2016, porażenie wstępne 0,25

Table 3. The effectiveness of Agro-Sorb Folium, Agro-Sorb L-Amino and Agro-Sorb Radiculum in limiting the development of white mold on snap bean cv. 'Paulista' grown in a field (scale 1-7). Experiment start date 24 June 2016, initial degree of infection 0.25

Środki Treatments	Stężenie Concentration (%)	Stopień porażenia roślin Degree of rose shrubs infection		Skuteczność Effectiveness (%)	
		2	4	2	4
		Kontrola; Control	-	5,46 g	6,68 f
Agro-Sorb Folium	0,25	1,43 b	1,53 b	73,8	77,1
Agro-Sorb Folium	0,5	1,25 a	1,31 a	77,1	80,4
Agro-Sorb Folium	1	1,15 a	1,25 a	78,9	81,3
Agro-Sorb L-Amino	0,25	2,84 e	2,81 d	48,0	57,9
Agro-Sorb L-Amino	0,5	2,47 cd	2,56 c	54,8	61,7
Agro-Sorb L-Amino	1,0	2,34 c	2,45 c	57,1	63,3
Agro-Sorb Radiculum	0,5	3,29 f	3,19 e	39,7	52,2
Rovral Aquaflo 500 SC	0,2	2,61 d	2,45 c	52,1	63,3

Średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie według testu Duncan'a przy $p = 0,05$.

Means followed by the same letter within columns are not significantly different ($p = 0.05$) according to Duncan's test.

Skala porażenia: 0 – brak objawów, 1 – od 0,1 do 1% powierzchni liści pokrytej plamami, 2 – od 1,1 do 6%, 3 – od 6,1 do 15%, 4 – od 15,1 do 30%, 5 – od 30,1 do 50%, 6 – od 50,1 do 80%, 7 – od 80,1 do 100% powierzchni liści pokrytej plamami.

Disease index: 0 – no symptoms, 1 – from 0,1 to 1% leaf surface covered with spots, 2 – from 1,1 to 6%, 3 – from 6,1 to 15%, 4 – from 15,1 to 30%, 5 – from 30,1 to 50%, 6 – from 50,1 to 80%, 7 – from 80,1 to 100% leaf surface covered with spots.

Agro-Sorb L-Amino w stężeniu 0,25%, 0,5% oraz 1% wykazywał skuteczność od 57,9% do 63,3% w ograniczaniu rozwoju objawów chorobowych. Wzrost stężenia badanego nawozu użytego do opryskiwania fasoli wiązał się ze wzrostem jego skuteczności. Agro-Sorb Radiculum w stężeniu 0,5%, wykazywał skuteczność 52,2% w ograniczaniu rozwoju objawów chorobowych.

Badania wykazały możliwość bezpośredniego działania badanych związków zawierających aminokwasy na grzyb *S. sclerotiorum*. Otrzymane wyniki są potwierdzeniem wcześniej przeprowadzonych badań na *Fusarium* (Bakry i Rizk 1967). W badaniach polowych wykazano stosunkowo wysoką skuteczność badanych związków w ograniczaniu zgnilizny twardzikowej na fasoli. Wyniki sugerują nie tylko możliwość bezpośredniego działania na patogena (testy *in vitro*), ale również na indukcję odporności w chronionych roślinach fasoli. Możliwość powstania nabytej odporności w chronionych roślinach po zastosowaniu aminokwasów obserwowali we wcześniejszych badaniach różni autorzy (Kuć i in. 1959; Mehta i in. 1991; Hasabi i in. 2014). Dane literaturowe wskazują również, że aminokwasy użyte do ochrony dyni, grochu, melona, truskawki indukowały odporność na sprawców mączniaka prawdziwego lub rzekomego (Tzeng i in. 1996; Sarosh i in. 2005).

PODSUMOWANIE

W warunkach *in vitro* Agro-Sorb Folium, Agro-Sorb L-Amino i Agro-Sorb Radiculum dodane do pożywki ziemniaczano-glukozowej tylko w najwyższym z badanych stężeń hamowały od 40,4% (Agro-Sorb Radiculum) do 71,7% (Agro-Sorb L-Amino) wzrost *Sclerotinia sclerotiorum*. W niższych stężeniach ich skuteczność obniżała się nawet do kilku procent.

Agro-Sorb Folium i Agro-Sorb L-Amino w stężeniu 0,25%, 0,5% i 1% oraz Agro-Sorb Radiculum w stężeniu 0,5% zastosowane 4-krotnie w odstępach 7 dni do opryskiwania roślin istotnie ograniczały rozwój zgnilizny twardzikowej na fasoli. Wzrost stężenia badanych środków użytych do opryskiwania wiązał się ze wzrostem ich skuteczności. Badane środki stosowane do opryskiwania nie były fitotoksyczne dla fasoli odm. 'Paulista'.

Literatura

- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265–267. DOI: 10.1093/jee/18.2.265a.
- Aly A.A., Hussein E.M., Omar M.R., Abd-Elsalam K.A. 2010. Effects of amino acids in cotton seeds against the resistance to *Fusarium* wilt diseases. *Allelopathy Journal* 26(1): 83–90.
- Bakry M.A., Rizk R.H. 1967. Seed transmission of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, the causal agent of cotton wilt in the United Arab Republic. *Agricultural Research Review* 45: 1–4.

- El-Ghamry A.M., Abd El-Hai K.M., Ghoneem K.M. 2009. Amino and humic acids promote growth, yield and disease resistance of faba bean cultivated in clayey soil. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 3 (2): 731–739.
- Gałązka A. 2013. Przemiany związków fenolowych a rola amoniakolizy L-fenyloalaninowej (PAL) w indukcji mechanizmów obronnych rośliny. *Polish Journal of Agronomy* 15: 83–88.
- Hasabi V., Askari H., Alavi S.M., Zamanizadeh H. 2014. Effect of amino acid application on induced resistance against citrus canker disease in lime plants. *Journal of Plant Protection Research* 54(2): 144–149. DOI: 10.2478/jppr-2014-0023.
- Homma Y., Shida T., Misato T. 1973. Studies on the control of plant diseases by amino acid derivatives. (1) Effect of N-lauroyl-L-valine on rice blast. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 39: 90–98. DOI: 10.3186/jjphytopath.39.90.
- Jones J.P., Woltz S.S. 1969. Effect of ethionine and methionine on the growth, sporulation, and virulence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2. *Phytopathology* 59: 1464–1467.
- Kuč J., Barnes E., Daftsios A., Williams E.B. 1959. The effect of amino acids on susceptibility of apple varieties to scab. *Phytopathology* 49: 313–315.
- McCreary C.M., Depuydt D., Vyn R.J., Gillard C.L. 2016. Fungicide efficacy of dry bean white mold [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, causal organism] and economic analysis at moderate to high disease pressure. *Crop Protection* 82: 75–81. DOI: 10.1016/j.cropro.2015.12.020.
- Mehta A., Mehta P., Chopra S. 1991. Effect of various nitrogenous sources on the production of pectolytic and cellulolytic enzymes by *Fusarium oxysporum* and *F. moniliforme*. *Zentralblatt für Mikrobiologie* 146: 393–398. DOI: 10.1016/S0232-4393(11)80264-7.
- Meyer M.C., Campos H.D. 2009. Guerra ao mofo. *Cultivar Grandes Culturas* 120(11): 16–18.
- Pundir C.S., Singh O.M., Verma H.C. 1991. Effects of *Fusarium* wilt on free amino acids in the progeny of healthy and infected lentil. *Indian Phytopathology* 43: 580–582.
- Purdy L.H. 1979. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomology, host range, geographic distribution, and impact. *Phytopathology* 69(8): 875–880. DOI: 10.1094/Phyto-69-875.
- Sarosh B.R., Sivaramakrishnan S., Shetty H.S. 2005. Elicitation of defense related enzymes and resistance by L-methionine in pearl millet against downy mildew disease caused by *Sclerospora graminicola*. *Plant Physiology and Biochemistry* 43(8): 808–815. DOI: 10.1016/j.pla-phy.2005.06.009.

-
- Tzeng D.D-S., Tzeng H.C., Chen R-S., Cheng A-H., Tsai C.C., Chen C-W. i in. 1996. The use of MR formulation as a novel and environmentally safe photodynamic fungicide for the control of powdery mildews. *Crop Protection* 15(4): 341–347. DOI: 10.1016/0261-2194(95)00106-9.
- van Andel O.M. 1966. Amino acids and plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 4: 349–368. DOI: 10.1146/annurev.py.04.090166.002025.
- Woltz S.S., Jones J.P. 1970. Effects of twenty natural amino acids on pathogenesis of Homestead 24 tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races 1 and 2. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 83: 175–179.