

Received: 22.04.2024 / Accepted: 20.05.2024

ARTYKUŁ PRZEGLĄDOWY

Fungistatyczne właściwości siarki i miedzi – nowe perspektywy w ochronie roślin przed chorobami grzybowymi

Fungistatic properties of sulfur and copper – new perspectives in plant protection against fungal diseases

Zuzanna Sawinska , Martyna Kotecka*

Streszczenie

Aktualnie prowadzone badania przynoszą obiecujące uzupełnienie już znanych fungistatycznych właściwości siarki i miedzi, otwierając nowe perspektywy w ochronie roślin przed chorobami powodowanymi przez grzyby. Siarka i miedź, znane ze swoich właściwości stymulujących wzrost i rozwój roślin, wykazują również silne działanie przeciwko grzybom chorobotwórczym. Ich skuteczność w zwalczaniu chorób sprawia, że są one coraz częściej stosowane w praktyce rolniczej właśnie jako fungicydy, a nie tylko nawozy. Jednak, aby maksymalnie wykorzystać potencjał tych substancji, konieczne jest dalsze badanie ich mechanizmów działania oraz optymalizacja metod aplikacji, a przede wszystkim dostosowanie dawek zwłaszcza miedzi. Ponadto, naukowcy poszukują nowych, bardziej efektywnych związków fungistatycznych, które mogłyby być alternatywą dla tradycyjnych pestycydów. Dalsze badania w tej dziedzinie mogą prowadzić do opracowania innowacyjnych strategii ochrony roślin, które będą skuteczniejsze, bezpieczniejsze dla środowiska, a ich stosowanie będzie bardziej zrównoważone dla produkcji rolnej.

Słowa kluczowe: ochrona roślin, siarka, miedź, właściwości fungistatyczne

Abstract

New research brings promising findings on the fungistatic properties of sulfur and copper, opening up new perspectives in plant protection against fungal diseases. Sulfur and copper, known for their properties that stimulate plant growth and development, also show intense activity against fungal pathogens. Their efficiency in diseases control makes them increasingly used in agricultural practice. However, to maximize the potential of these substances, further on study their mechanisms of action and optimized application methods are required. In addition, scientists are looking for new, more effective fungistatic compounds that could be an alternative to traditional pesticides. Further research in this area could lead to the development of innovative crop protection strategies that are more effective, safer for the environment and more sustainable for agricultural production.

Key words: crop protection, sulfur, copper, fungicides properties

Wstęp / Introduction

W obliczu rosnącej liczby ludności na świecie i obserwowanych zmian klimatu zapewnienie bezpieczeństwa żywnościowego stało się ważnym priorytetem. Konwencjonalne praktyki rolnicze mogą nie wystarczyć, aby sprostać rosnącym wymaganiom. Prowadzonych jest wiele badań mających na celu wdrożenie nowatorskich strategii dążących do zwiększenia produkcji żywności przy jednoczesnym łagodzeniu negatywnych skutków zmiany klimatu (Steven i wsp. 2024).

Grzyby chorobotwórcze stanowią poważne zagrożenie dla produkcji żywności na całym świecie. Rolnictwo komercyjne opiera się głównie na stosowaniu chemicznych środków grzybobójczych w celu ochrony roślin uprawnych przed patogenami grzybowymi. Wiele z nich zostało ostatnio poddanych wnikliwej analizie ze względu na ich negatywny wpływ na zdrowie ludzi, zwierząt oraz środowisko. Ponadto stosowanie chemicznych środków grzybobójczych może skutkować rozwojem odporności w populacjach grzybów fitopatogennych. Potrzebne są nowe, przyjazne dla środowiska alternatywy, które zapewnią odpowiedni poziom zwalczania sprawców chorób, tak aby zastąpić chemiczne środki grzybobójcze całkowicie lub przynajmniej częściowo (El-Baky i Amara 2021; McLaughlin i wsp. 2023).

Biorąc pod uwagę obiecujący potencjał pierwiastków, takich jak siarka czy miedź jako środków o działaniu fungicydowym, w niniejszym opracowaniu dokonano przeglądu dostępnej literatury na temat interakcji wspomnianych pierwiastków z grzybami chorobotwórczymi, zarówno w przypadku upraw rolniczych, jak i ogrodniczych. Oceniłono możliwość zastosowania tych pierwiastków w zapobieganiu wystąpieniu chorób powodowanych przez grzyby w celu zidentyfikowania substancji zastępczych dla nieskutecznych lub wycofywanych produktów, a tym samym zmniejszenia obciążenia środowiska powodowanego przez konwencjonalne fungicydy.

Potrzeba poznania alternatywnych metod ochrony roślin / The need to learn alternative methods of plant protection

Dzisiejsze rolnictwo stoi przed wyzwaniem polegającym na konieczności produkcji żywności dla rosnącej populacji ludzkiej, podczas gdy szkodniki i patogeny stale ograniczają plony. Globalne szacunki strat w plonach powodowane przez szkodniki i patogeny w pięciu głównych uprawach roślin rolniczych przeznaczonych do produkcji żywności (tj. pszenicy, ryżu, kukurydzy, ziemniaka i soi) wahają się od 17,2 do 30,0% (Gullino i wsp. 2000; Savary i wsp. 2019; Korbecka-Glinka i wsp. 2022). Wśród agrofagów za najbardziej niszczycielskie uważa się grzyby. Stanowią one rosnące zagrożenie dla światowego bezpieczeństwa żywnościowego, ponieważ rozprzestrzeniają się na nowe obszary

poprzez handel, transport oraz zasiedlanie nowych, przyjaznych dla nich terenów w wyniku zmian klimatycznych. Co więcej, powszechne praktyki rolnicze nie pomagają w walce z chorobami, gdyż na dużych obszarach w monokulturach uprawiane są uprawy jednorodnie genetycznie, a ich ochrona opiera się na pojedynczych genach odporności roślin lub chemicznych środkach ochrony roślin. W agrosystemach tego rodzaju, presja selekcyjna sprzyja rozwinięciu się różnorodnych wariantów patogenów, które wykazują odporność na fungicydy oraz zdolne są do przekraczania naturalnej odporności roślin (Fisher i wsp. 2012; Bebber i Gurr 2015).

Wprowadzenie w latach czterdziestych XX wieku pierwszych syntetycznych i organicznych fungicydów zapoczątkowało szybki rozwój przemysłu związanego z ochroną roślin. W ciągu następných trzech dekad wyprodukowano wiele nowych substancji czynnych reprezentujących główne klasy fungicydów, które stosowano w ochronie roślin, najpierw w uprawach ogrodniczych, a następnie w rolniczych, głównie w zbożach (Russell 2005). Wkrótce zabiegi fungicydowe stały się powszechną praktyką w rolnictwie i wiązały się ze znacznym wzrostem plonów, wahającym się od 14 do 100% w zależności od uprawy (Korbecka-Glinka i wsp. 2022).

Jednak powszechne stosowanie pestycydów wiązało się także ze skażeniem ekosystemów lądowych i wodnych, toksycznym działaniem na organizmy niebędące przedmiotem zwalczania oraz negatywnym wpływem na zdrowie człowieka (Carvalho 2017; Zubrod i wsp. 2019). Obawy dotyczące potencjalnych konsekwencji dla środowiska niekontrolowanego stosowania substancji czynnych doprowadziły do wprowadzenia przepisów dotyczących bezpiecznego i efektywnego stosowania tych agrochemikaliów w oparciu o ocenę ryzyka dla środowiska, a ograniczenia te mogą obejmować zmniejszenie liczby zastosowań w sezonie upraw aż po całkowite usunięcie określonych substancji czynnych z rynku (McLaughlin i wsp. 2023). Przyjęta przez Komisję Europejską „Strategia od pola do stołu” ma na celu ograniczenie stosowania chemicznych pestycydów o 50% do roku 2030. Komisja Europejska zdecydowała się niedawno na tymczasowe zawieszenie prac nad Europejskim Zielonym Ładem (Communication from the commission to the European parliament, the council, the european economic and social committee and the committee of the regions. A Farm to Fork Strategy for a Fair, Healthy and Environmentally-Friendly Food System 2020). Ponadto grzyby chorobotwórcze dla roślin mogą rozwinąć oporność na chemiczne środki grzybobójcze, w szczególności na środki grzybobójcze działające w jednym miejscu, które z większym prawdopodobieństwem prowadzą do rozwoju oporności w populacjach patogenów grzybowych (McLaughlin i wsp. 2023).

Zaproponowano niewiele alternatywnych podejść, aby sprostać wyzwaniu znacznego ograniczenia stosowania pestycydów. Redukcję stosowania fungicydów można próbować osiągnąć poprzez zastosowanie systemów wspomagających

nia decyzji, które pomogą rolnikom zaplanować zastosowanie środków grzybobójczych w oparciu o zaobserwowane lub przewidywane ryzyko wystąpienia choroby grzybowej (Lázaro i wsp. 2021). Niemniej jednak, przemysł agrochemiczny reaguje inaczej na wyzwania związane z ochroną roślin, badając inne alternatywne podejścia: opracowując zaawansowane typy środków ochrony roślin o nowatorskich sposobach działania (Tleuova i wsp. 2020) lub poszukując bezpieczniejszych składników powszechnie stosowanych preparatów wśród nanocząstek metali/tlenków metali, ekstraktów roślinnych, olejków eterycznych, antagonistycznych mikroorganizmów lub dodatków do żywności (Palou i wsp. 2016; Tleuova i wsp. 2020).

Rola siarki w uprawach rolniczych / The role of sulfur in agricultural crops

Siarka (S) jest często określana jako czwarty główny składnik odżywczy roślin, ponieważ jest niezbędnym składnikiem ważnych związków metabolicznych i strukturalnych (Thomas i wsp. 2003). Niezbędność siarki w środowisku wzrostu roślin wynika z jej funkcji w regulowaniu parametrów fizjologicznych, które bezpośrednio wpływają na wzrost i rozwój roślin. Dodatkowo, siarka odgrywa specyficzną rolę w metabolizmie roślinnym (Podleśna 2005). Związki tego pierwiastka odgrywają istotną rolę w wielu procesach komórkowych, takich jak reakcje redoks, detoksykacja metali ciężkich oraz substancji obcych (ksenobiotyków) (Dubuis i wsp. 2005). Siarka jest również zaangażowana w procesy produkcji węglowodanów i tłuszczów, uczestniczy w fotosyntezie oraz syntezie chlorofilu i ligniny. Dodatkowo, stanowi istotny składnik wielu związków strukturalnych (Marska i Wróbel 2000; Kaczor i Zuzanska 2009).

Do najważniejszych połączeń organicznych tego pierwiastka należą aminokwasy: cysteina i metionina, które decydują o zawartości i wartości biologicznej białka. Cysteina zawiera grupę tiolową –SH, która łatwo oddaje wodór. W wyniku odwodorowania dwóch molekuł cysteiny powstaje jedna molekula cystyny, a procesowi temu towarzyszy powstanie mostka disiarczkowego. Wiązanie to ma ogromne znaczenie dla utrzymania struktury przestrzennej białka. Zapewnienie stabilności białka przez mostki dwusiarczkowe jest szczególnie ważne w odniesieniu do białek enzymatycznych (Marska i Wróbel 2000; Kaczor i Zuzanska 2009). Metionina jako drugi główny aminokwas zawierający siarkę, jest donorem grup metylowych (Hawkesford i De Kok 2006). Metionina jest także podstawowym metabolitem w komórkach roślinnych. Reguluje podstawowe procesy komórkowe, takie jak podział komórkowy, synteza ścian komórkowych, chlorofilu i membran (Roje 2006). Dodatkowo oba te aminokwasy siarkowe są prekursorami innych ważnych związków, takich jak: glutation, tiamina, biotyna, koenzym A, kwas liponowy, tioredoksyny oraz sulfolipidy (Kaczor i Zuzanska 2009).

Zapotrzebowanie roślin na siarkę jest uzależnione od rodzaju, gatunku i fazy rozwojowej (Narayan i wsp. 2023). Z punktu widzenia metabolizmu siarki w całej roślinie wymagane jest dostarczenie odpowiedniej ilości siarki w celu optymalizacji wegetatywnego wzrostu roślin, a co za tym idzie potencjału generatywnego (Hawkesford i De Kok 2006). Jej nieznaczny niedobór często pozostaje niezauważalny. Niska zawartość w glebach prowadzi do wielorakich zmian w metabolizmie roślin uprawnych. Uwidaczniają się one zmianami w zabarwieniu roślin oraz deformacjami w rozwoju ich organów wegetatywnych i generatywnych. W konsekwencji oznacza to spadek plonowania (Podleśna 2020). Łagodny niedobór siarki może mieć znikomy wpływ na plony, ale ma znaczący wpływ na ich jakość (Narayan i wsp. 2023). Dostarczenie roślinom odpowiedniej ilości siarki ma także znacznie ekologiczne. Niedobór siarki ogranicza wykorzystywanie azotu stosowanego w nawozach. W konsekwencji słabej wydajności azotu dochodzi do strat tego pierwiastka (Kaczor i Zuzanska 2009). Rośliny odpowiednio zaopatrzone w siarkę odznaczają się również większą odpornością na stresy biotyczne, tj. występowanie chorób i szkodników oraz abiotyczne, czyli na suszę, wysoką temperaturę czy chłód. Siarka ma istotny wpływ na tworzenie naturalnej odporności roślin przeciwko patogenom, a przede wszystkim na ograniczanie rozwoju niektórych chorób grzybowych (Barczak 2010). Grzyby chorobotwórcze wywołują różne reakcje obrony biochemicznej w roślinie, w których uczestniczy siarka (Gullner i Kömives 2001; Podleśna 2020).

Interakcje siarki z grzybami chorobotwórczymi / Sulfur interactions with fungal pathogens

W warunkach dobrego odżywienia siarką roślina w odpowiedzi na działanie patogenu aktywuje mechanizm tzw. odporności indukowanej siarką (SIR) (Dłużniewska i Kulig 2017). Mechanizm ten polega na zwiększeniu naturalnej odporności roślin na infekcję patogenami poprzez mobilizację procesów metabolicznych z udziałem siarki. Pierwiastek ten odgrywa ważną rolę w biochemicznych reakcjach obronnych, które aktywują się w roślinie po kontakcie z grzybami chorobotwórczymi. Siarka wchodzi w skład szeregu związków, takich jak: H_2S , glutation, sulfolipidy, glukozynolany i fitoaleksyny. Związki te odgrywają ważną rolę w zwiększaniu odporności roślin na patogeny i stresy środowiskowe. Zawartość cysteiny i metioniny zwiększa odporność tkanek roślinnych. Z kolei porażone biorą udział w syntezie fitoaleksyn i ligniny wzmacniającej ściany komórkowe. Fitoaleksyny prawie nie występują w normalnych tkankach. Jednakże są one syntetyzowane w komórkach znajdujących się w pobliżu miejsca porażenia (Khan 1998). Również glukozynolany odgrywają ważną rolę w zapewnieniu roślinom odporności na choroby. Produkty rozkładu tych związków charakteryzują się dużą aktywnością biologiczną. Gluko-

zynolany wpływają na zmniejszenie smakowości i wzrost toksyczności rośliny. Ogranicza to drogi porażenia i ryzyko szerzenia się chorób (Kaczor i Zuzńska 2009; Dłużniewska i Kulig 2017). W tabeli 1. podano przykłady gatunków grzybów chorobotwórczych ograniczanych przy użyciu siarki.

Stosowanie dolistne i zaprawianie nasion SNP, nanocząsteczkami siarki elementarnej (30–100 mg/l, 30 i 100 nm) hamowało infekcję *Fusarium oxysporum* w uprawie pomidorów w eksperymencie szklarniowym. Dolistne stosowanie 1 mg/roślinę 30 nm SNP (30-SNP) wykazało najlepsze rezultaty w ograniczaniu choroby, znacząco zmniejszając częstotliwość jej występowania o 47,6% jednocześnie zwiększając biomasa pędów pomidora o 55,6% po 10 tygodniach stosowania (Cao i wsp. 2021). Podobny grzybobójczy wpływ w uprawie pomidora zaobserwowano w stosunku do patogenu *Verticillium dahliae* (Bollig i wsp. 2013). Liście ogórka traktowane biosiarką wykazały mniejszą podatność na typowe objawy chorobowe powodowane przez grzyba *Colletotrichum orbiculare* w porównaniu do liści na obiektach kontrolnych. Liczba zmian była znacząco zmniejszona (o 53%) w porównaniu z nietraktowanymi liśćmi po 7 dniach od zaszczepienia grzybem (Ko i wsp. 2019).

W badaniach polowych przeprowadzonych w ziemniaku zaobserwowano znaczny spadek częstotliwości infekcji *Rhizoctonia solani* wraz ze wzrostem dawki siarki zarówno w przypadku zastosowań S, jak i K_2SO_4 (Klikocka i wsp. 2005). Podobne wyniki otrzymano stosując siarkę elementarną na patogeny *R. solani* oraz *Fusarium solani* (Şanlı i Özkaya 2022). Nawożenie S zmniejszyło częstotliwość infekcji o 47% i maksymalnie 67%, gdy zastosowano 50 i 100 mg S w porównaniu z kontrolą (Dubuis i wsp. 2005).

Wpływ siarki zbadano na roślinach modelowych z rodziny kapustowatych – *Arabidopsis thaliana*, które były

uprawiane w różnych warunkach stosowania siarki i infekowane przez *Alternaria brassicicola*. Rośliny hodowane z 500 μ M siarczanu były znacznie mniej porażone w porównaniu do roślin uprawianych z 50 μ M siarczanu (Kruse i wsp. 2012). Stwierdzono, że poletka nawożone 40 kg siarki + 5 kg cynku charakteryzowały się niższym wskaźnikiem choroby powodowanej przez *Erysiphe trifolii* (5,5%). Istotnie większy wskaźnik porażenia (15,5%) udokumentowano na polach, na których nie stosowano obu nawozów (Singh i wsp. 2014).

Wiele publikacji donosi o badaniach nad stosowaniem preparatów na bazie siarki w roślinach innego klimatu. Zaobserwowano, że biosyntezywane nanocząstki siarki wykazały działanie hamujące na izolaty *F. oxysporum*. Zaobserwowano, że największą aktywność wykazały nanocząstki siarki w stężeniu 4 mg/ml (Athawale i wsp. 2018). W badaniu potwierdzono, że siarka skutecznie zmniejsza ryzyko porażenia *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. Po zastosowaniu siarki w ilości 2 kg/m² odnotowano wysoką skuteczność ochrony na poziomie 76,67% w 2018 r. i 77,00% w 2019 r. w porównaniu z roślinami nietraktowanymi (Gu i wsp. 2021). Choroby pozbiornicze ograniczają okres przechowywania i żywotność świeżych fig. Fumigacja owoców przy użyciu 25 (μ l/l) h SO dwukrotnie zmniejszyła populacje *Alternaria* i *Rhizopus* spp. rosnące na powierzchni fig. Zanieczyszczenie owoców przez *Botrytis* spp. i *Penicillium* spp. zostało również zmniejszone przez SO₂ (Cantín i wsp. 2011).

W badaniach *in vitro* na pożywkach PDA (potato dextrose agar) obserwowano także działanie grzybobójcze przeciwko patogenom. Biosiarka wykazała znaczące hamowanie wzrostu grzybni *C. orbiculare* na pożywce PDA, redukując wielkość kolonii grzybni o prawie 90% w porównaniu z nietraktowaną kontrolą (Ko i wsp. 2019).

Tabela 1. Redukcja infekcji za pomocą siarki

Table 1. Reducing infection with sulfur

Roślina uprawna Cultivated plant	Patogen grzybowy Fungal pathogen	Odniesienie do badań Research reference
Pomidor – Tomato	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Verticillium dahliae</i>	(Bollig i wsp. 2013; Cao i wsp. 2021)
Ogórek – Cucumber	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	(Ko i wsp. 2019)
Ziemniak – Potato	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium solani</i>	(Klikocka i wsp. 2005)
Pszenvica ozima – Winter wheat	<i>Blumeria graminis</i>	(Dubuis i wsp. 2005)
Rzodkiewnik pospolity – Thale cress	<i>Alternaria brassicicola</i>	(Kruse i wsp. 2012)
Soczewica – Lentil	<i>Erysiphe trifolii</i>	(Singh i wsp. 2014)
Imbir – Ginger	<i>Fusarium oxysporum</i>	(Athawale i wsp. 2018)
Kiwi – Kiwi	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>actinidiae</i>	(Gu i wsp. 2021)
Figa – Fig	<i>Alternaria</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Penicillium</i>	(Cantín i wsp. 2011)

Źródło: opracowanie własne na podstawie ogólnościowych publikacji naukowych

Source: own study based on global scientific publications

Rola miedzi w uprawach rolniczych / The role of copper in agricultural crops

Miedź (Cu) jest niezbędnym mikroelementem dla wszystkich żywych organizmów, w tym roślin (Lamichhane i wsp. 2018). Jest związana z licznymi procesami fizjologicznymi i biochemicznymi, jest składnikiem strukturalnym wielu białek regulatorowych i odgrywa kluczową rolę uczestnicząc w oddychaniu mitochondrialnym, metabolizmie ściany komórkowej, fotosyntetycznym transporcie elektronów, odpowiedziach na stres oksydacyjny, syntezie białek, sygnalizacji hormonalnej i wykrywaniu etylenu. Odgrywa także ważną rolę w syntezie chlorofilu i innych barwników roślinnych oraz odpowiada za metabolizm białek i węglowodanów (Burkhead i wsp. 2009; Rai i wsp. 2018; Shabbir i wsp. 2020). Miedź jest doskonałym katalizatorem reakcji redoks. Pierwiastek ten jest niezbędnym składnikiem wielu nośników elektronów biorących udział w fosforylacji oksydacyjnej i fotosyntezie. Ponadto bierze udział w detoksykacji rodników tlenowych powstających w procesie metabolizmu (Himelblau i Amasino 2000). Najwyższe stężenia miedzi występują zwykle w tkankach korzeni (Quartacci i wsp. 2003; Pradubsuk i Davenport 2011), a około 70% całkowitej zawartości miedzi w liściach znajduje się w chloroplastach (Rai i wsp. 2018).

Jednakże nadmiar Cu indukuje stres oksydacyjny wewnątrz roślin poprzez zwiększoną produkcję reaktywnych form tlenu (ROS). Posiada on podwójną naturę: podstawową i potencjalną toksyczną (Ameh i Sayes 2019; Shabbir i wsp. 2020). Nadmiar Cu może znacznie zakłócać wzrost i rozwój roślin, pobieranie niezbędnych składników odżywczych, fotosyntezę poprzez zmniejszenie zawartości pigmentu, rozwój korzeni i ekspansję liści (Shabbir i wsp. 2020).

Objawy niedoboru miedzi są różne dla każdego gatunku rośliny i często zależą od poziomu niedoboru. Większość roślin przestaje rosnąć, pojawiają się nekrotyczne plamy oraz zakrzywione liście, które ostatecznie obumierają (Brennan 2003). Jej niedobór może powodować wiele zaburzeń, do których zalicza się przede wszystkim martwicę merystemu wierzchołkowego, zahamowanie wzrostu, blaknięcie i zniekształcanie młodych liści. Ogólnie rzecz biorąc, niedobór Cu wpływa na wzrost wegetatywny, tworzenie się ziaren, nasion i owoców. Ponadto zmniejszenie zdrewnienia ścian komórkowych u roślin wyższych jest częstą zmianą anatomiczną wynikającą z niedoboru Cu. Zmniejszone zdrewnienie ścian komórkowych odpowiada głównie za zniekształcanie młodych liści, zaginanie i skręcanie łodyg i gałązek (Rai i wsp. 2018).

Interakcje miedzi z grzybami chorobotwórczymi / Copper interactions with fungal pathogens

Miedź jest powszechnie stosowanym środkiem grzybobójczym od ponad stu lat w celu zapobiegania chorobom ro-

ślin (Farahmand i wsp. 2023). Jej zastosowanie sięga lat 80. XIX wieku, kiedy Millardet odkrył ciecz Bordoską (pentahydrat siarczanu miedzi i wapno) do zwalczania mączniaka rzekomego winorośli wywoływanego przez *Plasmopara viticola* (Ayres 2004). W rezultacie ciecz Bordoska stała się pierwszym środkiem grzybobójczym stosowanym na szeroką skalę na całym świecie (Mondello i wsp. 2022).

Jony miedzi (Cu^{2+}) wykazują działanie wielomiejscowe, co oznacza, że w komórkach grzybów blokują enzymy biorące udział w procesie oddychania, hamują syntezę białek, zmniejszają aktywność błony komórkowej i organelli komórkowych oraz wpływają na wymianę pierwiastków. W organizmach docelowych miedź działa jako inhibitor enzymów, ponieważ rozpuszczalne w wodzie wolne jony miedzi (Cu^{2+}) przedostają się do szkodliwych komórek, gdzie wiążą się z enzymami, powodując ich detoksykację (Rodríguez-Ramos i wsp. 2023). Tlenki i tlenochlorki miedzi są wysoce nierozpuszczalnymi związkami, które działają na ściany i błony komórkowe grzybów i bakterii, nie wnikać głęboko do wnętrza komórek. W tym procesie patogeny uwalniają metabolity wtórne, które reagują ze związkami miedzi, powodując zatrucie i śmierć komórek (Torre i wsp. 2018).

Miedź jest zatem substancją stosowaną od lat w ochronie roślin. Obecnie rośnie potrzeba ograniczania jej ilości trafiającej do środowiska naturalnego. Jednocześnie konieczne jest częściowe zastąpienie syntetycznych środków grzybobójczych preparatami alternatywnymi. Warto zatem szukać takich form miedzi, które będą zawierały mniejszą ilość wspomnianego składnika, a jednocześnie były skuteczne (Grzanka i wsp. 2024). W tabeli 2. podano związki nieorganiczne miedzi stosowane do ograniczania grzybów chorobotwórczych.

Miedź występuje w formach tlenochlorku miedzi i wodorotlenku miedzi, powszechnie znanych z ich właściwości kontaktowych, jednak podatnych na działanie warunków atmosferycznych. Kompleks miedzi z kwasem heptaglukonowym wzmacnia mechanizmy odpornościowe roślin, ułatwia ich pobieranie i przemieszczanie, co czyni ją bardziej przyjazną dla środowiska. Dostępne są ograniczone informacje na temat działania lignosulfonianu miedzi, który cechuje się powolnym uwalnianiem składników odżywczych i dobrze spełnia rolę nośnika (Grzanka i wsp. 2024). W tabeli 3. podano przykłady gatunków grzybów chorobotwórczych ograniczanych przy użyciu miedzi.

Badania nad patogennością grzyba *F. oxysporum* wykazały, że nanocząstki Cu-Zn-FeMNP w stężeniu 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ wykazują silną aktywność przeciwgrzybiczą (Bouqellah 2023). Zarówno nanocząstki $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, jak i nanocząstki CuO, wykazują podobny efekt w działaniu na grzyby *F. oxysporum*, istotnie zmniejszając występowanie chorób, średnio o 31%, wynika to z badań przeprowadzonych na pomidorze szklarniowym (Ma i wsp. 2019). Nanocząstki miedzi Cu-NPs w stężeniu 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ znacząco zahamowały wzrost *Botrytis cinerea* oraz *Sclerotinia scl-*

Tabela 2. Charakterystyka miedzi i jej związków nieorganicznych
Table 2. Characteristics of copper and its inorganic compounds

Nazwa substancji czynnej Name of the active substance	Wzór chemiczny Chemical formula
Zasadowy siarczan miedzi Basic copper sulfate	$\text{CuSO}_4 \cdot 3\text{Cu}(\text{OH})_2$
Zasadowy węglan miedzi Basic copper carbonate	$\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$
Chlorek miedzi Copper chloride	CuCl_2
Wodorotlenek miedzi Copper hydroxide	$\text{Cu}(\text{OH})_2$
Tlenek miedzi Copper oxide	Cu_2O
Tlenochlorek miedzi Copper oxychloride	$3\text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot \text{CuCl}_2$
Siarczan tlenochloru miedzi Copper oxychloride sulfate	$(\text{Cu}_4(\text{OH})_6(\text{SO}_4))$
Pentahydrat siarczanu miedzi Copper sulfate pentahydrate	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Miedź skompleksowana z kwasem heptaglukonowym Copper complexed with heptagluconic acid	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{CuO}_{14}$
Miedź skompleksowana z kwasem lignosulfonowym Copper complexed with lignosulfonic acid	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{Na}_2\text{O}_{10}\text{S}_2$

Źródło: opracowanie własne
 Source: own study

rotiorum w uprawie ogórka, odpowiednio o 94,12 i 92,48% (Sadek i wsp. 2022). Ekspozycja na nanocząsteczki CuO w stężeniu 50 i 200 mg/l znacząco zmniejszyła względną powierzchnię *Podosphaera pannosa*, odpowiednio o 72,9 i 99,4%, ponownie podkreślając większy potencjał tego materiału w zwalczaniu chorób grzybowych w różach (Hao i wsp. 2019).

Nanocząstki tlenku miedzi wykazały największą redukcję (56,42%) wzrostu grzybni *R. solani* w przypadku bulw ziemniaka przy stężeniu 250 µl/l (El-Shewy 2019). Podobne wyniki otrzymano w badaniu *in vitro*. Zsyntetyzowane nanocząstki tlenku miedzi wykazały znaczące działanie hamujące na kultury *F. solani*. Stężenie 80 µg/ml zapobiegło w około 90% wzrostowi grzybni grzyba (Khatami i wsp. 2019). Wykorzystanie miedzi jako fungicydu ma również zastosowanie w uprawach rolniczych. Wyniki wykazują, że zastosowanie 1 litra lignosulfonianu miedzi do zaprawiania 100 kilogramów ziarna pszenicy ozimej skutecznie ogranicza rozwój patogenów *Fusarium*, jednocześnie nie zagrażając prawidłowemu rozwojowi siewek pszenicy ozimej (Grzanka i wsp. 2024). Działanie grzybobójcze udowodniono również wobec patogenu *Drechslera sorokiniana* (Giczi i wsp. 2021). Znaczące zwalczanie choroby odnotowano przy zastosowaniu 0,04 do 0,16% zabiegów nanocząsteczkami Cu-chitozanu w doniczkach i 0,12 do 0,16% zabiegów

Tabela 3. Redukcja infekcji za pomocą miedzi
Table 3. Reducing infection with copper

Roślina uprawna Cultivated plant	Patogen grzybowy Fungal pathogen	Odniesienie do badań Research reference
Pomidor Tomato	<i>Fusarium oxysporum</i>	(Ma i wsp. 2019; Bouqellah 2023)
Ogórek Cucumber	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	(Sadek i wsp. 2022)
Róża Rose	<i>Podosphaera pannosa</i>	(Hao i wsp. 2019)
Ziemniak Potato	<i>Rhizoctonia solani</i>	(El-Shewy 2019)
Pszenica ozima Winter wheat	<i>Fusarium</i> spp., <i>Drechslera sorokiniana</i>	(Giczi i wsp. 2021; Grzanka i wsp. 2024)
Kukurydza Corn	<i>Curvularia lunata</i>	(Choudhary i wsp. 2017)
Rośliny cytrusowe Citrus	<i>Alternaria citri</i>	(Sardar i wsp. 2022)
Mango Mango	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	(Oziengbe i Osazee 2012)
Tytoń Tobacco	<i>Phytophthora nicotianae</i>	(Chen i wsp. 2022)
Kopia indyjska Cannabis	<i>Penicillium olsonii</i>	(Farahmand i wsp. 2023)

Źródło: opracowanie własne na podstawie ogólnosiwiatowych publikacji naukowych
 Source: own study based on global scientific publications

nanocząsteczkami w warunkach polowych w uprawie kukurydzy (Choudhary i wsp. 2017).

Wiele publikacji donosi o badaniach nad stosowaniem preparatów na bazie miedzi w roślinach innego klimatu. Badania wykazały wzmocnienie działania grzybobójczego przeciwko *Alternaria citri*, przy różnych stężeniach nanocząsteczek CuO w zakresie od 10 do 100 mg/ml, natomiast powyżej określonych stężeń (100 mg/ml), nanocząsteczki całkowicie hamowały wzrost grzybów (Sardar i wsp. 2022). W związku z doniesieniami literaturowymi mówiącymi o tym, że w ostatniej dekadzie *A. citri*, będąca głównym sprawcą chorób w uprawach cytrusów, rozwinęła oporność na fungicydy (Yang i wsp. 2019), informacja o skutecznym działaniu nanocząsteczek CuO jest szczególnie cenna. Siarczan miedzi w stężeniu 0,8 mg/l powodował znaczne ograniczenie wzrostu i kiełkowania konidiów *Colletotrichum gloeosporioides* w uprawie mango odpowiednio o 78,2 i 66,3%, podczas gdy siarczan miedzi w stężeniu 0,6 mg/l spowodował odpowiednio 51,6 i 46,7% redukcji wzrostu i kiełkowania (Oziengbe i Osazee 2012). Zastosowanie siarczanu miedzi w dawce (100 mg/l) w postaci opryskiwania na liście konopi indyjskiej zmniejszyło presję *Penicillium olsonii* o 77% (Farahmand i wsp. 2023). Aplikowanie nanocząsteczek CuO w dawce 100 mg/l znacząco hamowało rozwój *Phytophthora nicotianae* w uprawie

tytoniu w porównaniu z wpływem na rośliny kontrolne, a skuteczność zwalczania osiągnęła 33,69% bez wywołania fitotoksyczności (Chen i wsp. 2022).

W badaniach na pożywkach PDA stwierdzono działanie grzybobójcze różnych form miedzi przeciwko wielu patogenom. Testy z użyciem nanocząsteczek CuO w pożywce PDA wykazały, że okazała się ona skuteczna przeciwko *A. brassicicola*, szkodliwemu patogenowi upraw gorczycy, kapusty i kalafiora. We wszystkich badanych stężeniach (0,025–0,15 mg/ml) obserwowano zmniejszenie wielkości kolonii *A. brassicicola*, a przy stężeniu 0,15 mg/ml było ono największe (Gaba i wsp. 2022b). Zaobserwowano znaczący potencjał grzybobójczy nanocząstek M-CuO, gdyż hamowały one wzrost *Alternaria brassicae* do 92,9 i 80,3% w pożywkach wzbogaconych nanocząsteczkami C-CuO (Gaba i wsp. 2022a). Najwyższą strefę hamowania przeciwko *Fusarium culmorum* i *Aspergillus niger* zaobserwowano przy zastosowaniu 100 µg/ml nanocząstki tlenku miedzi (Vanathi i wsp. 2016). Wyniki wykazały, że CuNC i CuNS wykazywały działanie fungicydowe przeciwko wzrostowi *Penicillium italicum*, przy stężeniu wynoszącym odpowiednio 100 i 200 µg/ml (Osonga i wsp. 2022). Wzrost grzybni, produkcja zarodników i kiełkowanie zoospor u wszystkich badanych gatunków *Phytophthora*, w tym *P. capsici*, *P. citrofora*, *P. palmivora*, *P. cinnamomi*, *P. nicotianae*, *P. cactorum*, *P. plurivora*, *P. inundata* i *P. megasperma* został całkowicie zahamowany przy stężeniu 250 µg/ml Cu-B (Yiğit i wsp. 2023). Połączenie nanocząstek miedzi (CuNP) z chlorkiem miedzi o innym niż nano składzie, w stężeniu 50 mg/l, spowodowało 76% zahamowanie wzrostu *Phytophthora cinnamomi* *in vitro* w porównaniu z kontrolą. Dodatkowo, za-

obserwowano synergistyczny efekt hamujący CuNP z CoC na wzrost grzybni i sporulację *Alternaria alternata* (Banik i Pérez-de-Luque 2017). Nanocząstki miedzi wykazały również znaczącą aktywność fungistatyczną wobec grzybów chorobotwórczych *Phoma destructiva* oraz *Curvularia lunata* (Kanhed i wsp. 2014). Cu-NP są skuteczne zarówno wobec wrażliwych, jak i odpornych na środki grzybobójcze izolatów *B. cinerea* (Malandrakis i wsp. 2020).

Podsumowanie / Summary

Chociaż chemiczne środki grzybobójcze są od dziesięcioleci jedną z najskuteczniejszych metod zwalczania chorób, ograniczenia w ich stosowaniu zwiększają się ze względu na uwarunkowania środowiskowe, w których mogą być one stosowane. W związku z coraz większymi ograniczeniami, które wprowadzane są w stosowaniu chemicznych zabiegów fungicydowych poszukuje się skutecznych i przyjaznych dla środowiska metod zwalczania patogenów. Badania nad alternatywnymi rozwiązaniami w ochronie roślin są istotne ze względu na wycofywanie substancji czynnych oraz problem uodparniania się patogenów. Analizując ogólnościowe publikacje naukowe można pokusić się o stwierdzenie, że siarka i miedź mają kluczowe znaczenie w ochronie roślin przed chorobami grzybowymi. Ich fungistatyczne właściwości, w połączeniu z nowymi formułami i technologiami, otwierają nowe perspektywy w zrównoważonej ochronie roślin, co jest szczególnie ważne w obliczu aktualnie stawianych wyzwań.

Literatura / References

- Ameh T., Sayes C.M. 2019. The potential exposure and hazards of copper nanoparticles: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 71: 103220. DOI: 10.1016/j.etap.2019.103220
- Athawale V., Paralikar P., Ingle A.P., Rai M. 2018. Biogenically engineered nanoparticles inhibit *Fusarium oxysporum* causing soft-rot of ginger. *IET Nanobiotechnology* 12 (8): 1084–1089. DOI: 10.1049/iet-nbt.2018.5086
- Ayres P.G. 2004. Alexis Millardet: France's forgotten mycologist. *Mycologist* 18 (1): 23–26. DOI: 10.1017/S0269915X04001090
- Banik S., Pérez-de-Luque A. 2017. In vitro effects of copper nanoparticles on plant pathogens, beneficial microbes and crop plants. *Spanish Journal of Agricultural Research* 15 (2): e1005. DOI: 10.5424/sjar/2017152-10305
- Barczak B. 2010. Siarka jako składnik pokarmowy kształtujący wielkość i jakość plonów wybranych roślin uprawnych. Rozprawy nr 144. Wydawnictwa Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego, Bydgoszcz, 131 ss.
- Bebber D.P., Gurr S.J. 2015. Crop-destroying fungal and oomycete pathogens challenge food security. *Fungal Genetics and Biology* 74: 62–64. DOI: 10.1016/j.fgb.2014.10.012
- Bollig K., Specht A., Myint S.S., Zahn M., Horst W.J. 2013. Sulphur supply impairs spread of *Verticillium dahliae* in tomato. *European Journal of Plant Pathology* 135 (1): 81–96. DOI: 10.1007/s10658-012-0067-5
- Bouqellah N.A. 2023. *In silico* and *in vitro* investigation of the antifungal activity of trimetallic Cu–Zn-magnetic nanoparticles against *Fusarium oxysporum* with stimulation of the tomato plant's drought stress tolerance response. *Microbial Pathogenesis* 178: 106060. DOI: 10.1016/j.micpath.2023.106060
- Brennan R. 2003. Comparing copper requirements of faba bean, chickpea, and lentil with spring wheat. *Journal of Plant Nutrition* 26 (4): 883–899. DOI: 10.1081/PLN-120018572
- Burkhead J.L., Gogolin Reynolds K.A., Abdel-Ghany S.E., Cohe C.M., Pilon M. 2009. Copper homeostasis. *New Phytologist* 182 (4): 799–816. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2009.02846.x
- Cantín C.M., Palou L., Bremer V., Michailides T.J., Crisosto C.H. 2011. Evaluation of the use of sulfur dioxide to reduce postharvest losses on dark and green figs. *Postharvest Biology and Technology* 59 (2): 150–158. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2010.09.016
- Cao X., Wang C., Luo X., Yue L., White J.C., Elmer W., Dhankher O.P., Wang Z., Xing B. 2021. Elemental sulfur nanoparticles enhance disease resistance in tomatoes. *ACS Nano* 15 (7): 11817–11827. DOI: 10.1021/acsnano.1c02917

- Carvalho F.P. 2017. Pesticides, environment, and food safety. *Food and Energy Security* 6 (2): 48–60. DOI: 10.1002/fes3.108
- Chen J., Wu L., Song K., Zhu Y., Ding W. 2022. Nonphytotoxic copper oxide nanoparticles are powerful “nanoweapons” that trigger resistance in tobacco against the soil-borne fungal pathogen *Phytophthora nicotianae*. *Journal of Integrative Agriculture* 21 (11): 3245–3262. DOI: 10.1016/j.jia.2022.08.086
- Choudhary R.C., Kumaraswamy R.V., Kumari S., Sharma S.S., Pal A., Raliya R., Biswas P., Saharan V. 2017. Cu-chitosan nanoparticle boost defense responses and plant growth in maize (*Zea mays* L.). *Scientific Reports* 7 (1): 9754. DOI: 10.1038/s41598-017-08571-0
- Communication from the Commission to the European parliament, the council, the european economic and social committee and the committee of the regions. A Farm to Fork Strategy for a Fair, Healthy and Environmentally-Friendly Food System 2020. Brussels, 20.05.2020. COM(2020) 381.
- Dłużniewska J., Kulig B. 2017. Wpływ nawożenia azotem i siarką na występowanie chorób rzepaku ozimego. [Influence of nitrogen and sulphur fertilization on diseases of winter oilseed rape]. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering* 62 (3): 80–83.
- Dubuis P.-H., Marazzi C., Städler E., Mauch F. 2005. Sulphur deficiency causes a reduction in antimicrobial potential and leads to increased disease susceptibility of oilseed rape. *Journal of Phytopathology* 153 (1): 27–36. DOI: 10.1111/j.1439-0434.2004.00923.x
- El-Baky N.A., Amara A.A.A.F. 2021. Recent approaches towards control of fungal diseases in plants: an updated review. *Journal of Fungi* 7 (11): 900. DOI: 10.3390/jof7110900
- El-Shewy E. 2019. The efficacy of copper oxide, tri-calcium phosphate and silicon dioxide nanoparticles in controlling black scurf disease of potato. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor* 57 (1): 129–138. DOI: 10.21608/assjm.2019.42223
- Farahmand H., Robinson G.I., Gerasymchuk M., Kovalchuk I. 2023. Copper sulphate inhibits *Penicillium olsonii* growth and conidiogenesis on *Cannabis sativa*. *Journal of Plant Pathology* 105 (4): 1645–1650. DOI: 10.1007/s42161-023-01374-5
- Fisher M.C., Henk D.A., Briggs C.J., Brownstein J.S., Madoff L.C., McCraw S.L., Gurr S.J. 2012. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature* 484 (7393): 186–194. DOI: 10.1038/nature10947
- Gaba S., Rai A.K., Varma A., Prasad R., Goel A. 2022a. Biocontrol potential of mycogenic copper oxide nanoparticles against *Alternaria brassicae*. *Frontiers in Chemistry* 10: 966396. DOI: 10.3389/fchem.2022.966396
- Gaba S., Varma A., Prasad R., Goel A. 2022b. Exploring the impact of bioformulated copper oxide nanoparticles on cytomorphology of *Alternaria brassicicola*. *Current Microbiology* 79 (8): 244. DOI: 10.1007/s00284-022-02927-0
- Giczi Z., Kalocsai R., Vona V., Szakál T., Lakatos E., Ásványi B. 2021. Study of the antifungal effect of a copper-containing foliar fertilizer. *Cereal Research Communications* 49 (2): 337–341. DOI: 10.1007/s42976-020-00108-y
- Grzanka M., Sobiech Ł., Filipczak A., Danielewicz J., Jajor E., Horoszkiewicz J., Korbas M. 2024. The efficacy of plant pathogens control by complexed forms of copper. *Agriculture* 14 (1): 139. DOI: 10.3390/agriculture14010139
- Gu G., Yang S., Yin X., Long Y., Ma Y., Li R., Wang G. 2021. Sulfur induces resistance against canker caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* via phenolic components increase and morphological structure modification in the kiwifruit stems. *International Journal of Molecular Sciences* 22 (22): 12185. DOI: 10.3390/ijms222212185
- Gullino M.L., Leroux P., Smith C.M. 2000. Uses and challenges of novel compounds for plant disease control. *Crop Protection* 19 (1): 1–11. DOI: 10.1016/S0261-2194(99)00095-2
- Gullner G., Kömives T. 2001. The role of glutathione and glutathione-related enzymes in plant-pathogen interactions. Chapter 9. s. 207–239. DOI: 10.1007/0-306-47644-4_9. W: Significance of Glutathione to Plant Adaptation to the Environment (D. Grill, M. Tausz, L.J. De Kok, red.). Kluwer Academic Publishers. DOI: 10.1007/0-306-47644-4
- Hao Y., Fang P., Ma C., White J.C., Xiang Z., Wang H., Zhang Z., Rui Y., Xing B. 2019. Engineered nanomaterials inhibit *Podospaera pannosa* infection on rose leaves by regulating phytohormones. *Environmental Research* 170: 1–6. DOI: 10.1016/j.envres.2018.12.008
- Hawkesford M.J., De Kok L.J. 2006. Managing sulphur metabolism in plants. *Plant, Cell & Environment* 29 (3): 382–395. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2005.01470.x
- Himmelblau E., Amasino R.M. 2000. Delivering copper within plant cells. *Current Opinion in Plant Biology* 3 (3): 205–210. DOI: 10.1016/S1369-5266(00)80066-7
- Kaczor A., Zuzanska J. 2009. Znaczenie siarki w rolnictwie. [Importance of sulphur in agriculture]. *Chemistry-Didactics-Ecology-Metrology* 14 (1–2): 69–78.
- Kanhd P., Birla S., Gaikwad S., Gade A., Seabra A.B., Rubilar O., Duran N., Rai M. 2014. *In vitro* antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected crop pathogenic fungi. *Materials Letters* 115: 13–17. DOI: 10.1016/j.matlet.2013.10.011
- Khan A. 1998. The phytoalexin camalexin is not metabolized by *Phoma lingam*, *Alternaria brassicae*, or phytopathogenic bacteria. *Plant Science* 139 (1): 1–8. DOI: 10.1016/S0168-9452(98)00172-1
- Khatami M., Varma R.S., Heydari M., Peydayesh M., Sedighi A., Askari H.A., Rohani M. 2019. Copper oxide nanoparticles greener synthesis using tea and its antifungal efficiency on *Fusarium solani*. *Geomicrobiology Journal* 36 (9): 777–781. DOI: 10.1080/01490451.2019.1621963
- Klikocka H., Haneklaus S., Bloem E., Schnug E. 2005. Influence of sulfur fertilization on infection of potato tubers with *Rhizoctonia solani* and *Streptomyces scabies*. *Journal of Plant Nutrition* 28 (5): 819–833. DOI: 10.1081/PLN-200055547
- Ko E.J., Shin Y.H., Hyun H.N., Song H.S., Hong J.K., Jeun Y.C. 2019. Bio-sulfur pre-treatment suppresses anthracnose on cucumber leaves inoculated with *Colletotrichum orbiculare*. *Mycobiology* 47 (3): 308–318. DOI: 10.1080/12298093.2019.1628522
- Korbecka-Glinka G., Piekarska K., Wiśniewska-Wrona M. 2022. The use of carbohydrate biopolymers in plant protection against pathogenic fungi. *Polymers* 14 (14): 2854. DOI: 10.3390/polym14142854
- Kruse C., Haas F.H., Jost R., Reiser B., Reichelt M., Wirtz M., Gershenzon J., Schnug E., Hell R. 2012. Improved sulfur nutrition provides the basis for enhanced production of sulfur-containing defense compounds in *Arabidopsis thaliana* upon inoculation with *Alternaria brassicicola*. *Journal of Plant Physiology* 169 (7): 740–743. DOI: 10.1016/j.jplph.2011.12.017
- Lamichhane J.R., Osdaghi E., Behlau F., Köhl J., Jones J.B., Aubertot J.N. 2018. Thirteen decades of antimicrobial copper compounds applied in agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 38 (3): 28. DOI: 10.1007/s13593-018-0503-9

- Lázaro E., Makowski D., Vicent A. 2021. Decision support systems halve fungicide use compared to calendar-based strategies without increasing disease risk. *Communications Earth & Environment* 2 (1): 1–10. DOI: 10.1038/s43247-021-00291-8
- Ma C., Borgatta J., La Torre-Roche R., Zuverza-Mena N., White J.C., Hamers R.J., Elmer W.H. 2019. Time-dependent transcriptional response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to Cu nanoparticle exposure upon infection with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 7 (11): 10064–10074. DOI: 10.1021/acssuschemeng.9b01433
- Malandrakis A.A., Kavroulakis N., Chrysikopoulos C.V. 2020. Synergy between Cu-NPs and fungicides against *Botrytis cinerea*. *Science of The Total Environment* 703: 135557. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.135557
- Marska E., Wróbel J. 2000. Znaczenie siarki dla roślin uprawnych. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis, Agricultura* 81: 69–76.
- McLaughlin M.S., Roy M., Abbasi P.A., Carisse O., Yurgel S.N., Ali S. 2023. Why do we need alternative methods for fungal disease management in plants? *Plants* 12 (22): 3822. DOI: 10.3390/plants12223822
- Mondello V., Lemaître-Guillier C., Trotel-Aziz P., Gougeon R., Acedo A., Schmitt-Kopplin P., Adrian M., Pinto C., Fernandez O., Fontaine F. 2022. Assessment of a new copper-based formulation to control esca disease in field and study of its impact on the vine microbiome, vine physiology and enological parameters of the juice. *Journal of Fungi* 8 (2): 151. DOI: 10.3390/jof8020151
- Narayan O.P., Kumar P., Yadav B., Dua M., Johri A.K. 2023. Sulfur nutrition and its role in plant growth and development. *Plant Signaling & Behavior* 18 (1): 2030082. DOI: 10.1080/15592324.2022.2030082
- Osonga F.J., Eshun G., Kalra S., Yazgan I., Sakhaee L., Ontman R., Jiang S., Sadik O.A. 2022. Influence of particle size and shapes on the antifungal activities of greener nanostructured copper against *Penicillium italicum*. *ACS Agricultural Science & Technology* 2 (1): 42–56. DOI: 10.1021/acsaagst.1c00102
- Oziengbe E.O., Osazee J.O. 2012. Antifungal activity of copper sulphate against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Journal of Asian Scientific Research* 2 (12): 835–839.
- Palou L., Ali A., Fallik E., Romanazzi G. 2016. GRAS, plant- and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. *Postharvest Biology and Technology* 122: 41–52. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2016.04.017
- Podleśna A. 2005. Wpływ nawożenia siarką na plonowanie i jakość roślin pastewnych. *Więś Jutra* 04: 48–49.
- Podleśna A. 2020. Siarka – ważny makroskładnik pokarmowy. *Studia i Raporty IUNG-PIB* 63 (17): 85–102. DOI: 10.26114/SIR.IUNG.2020.63.06
- Pradubsuk S., Davenport J.R. 2011. Seasonal distribution of micronutrients in mature “concord” grape: boron, iron, manganese, copper, and zinc. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 136 (1): 69–77. DOI: 10.21273/JASHS.136.1.69
- Quartacci M.F., Cosi E., Meneguzzo S., Sgheri C., Navari-Izzo F. 2003. Uptake and translocation of copper in Brassicaceae. *Journal of Plant Nutrition* 26 (5): 1065–1083. DOI: 10.1081/PLN-120020076
- Rai M., Ingle A.P., Pandit R., Paralikar P., Shende S., Gupta I., Biswas J.K., da Silva S.S. 2018. Copper and copper nanoparticles: role in management of insect-pests and pathogenic microbes. *Nanotechnology Reviews* 7 (4): 303–315. DOI: 10.1515/ntrev-2018-0031
- Rodríguez-Ramos F., Briones-Labarca V., Plaza V., Castillo L. 2023. Iron and copper on *Botrytis cinerea*: new inputs in the cellular characterization of their inhibitory effect. *PeerJ* 11: e15994. DOI: 10.7717/peerj.15994
- Roje S. 2006. S-adenosyl-L-methionine: beyond the universal methyl group donor. *Phytochemistry* 67 (15): 1686–1698. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.04.019
- Russell P.E. 2005. A century of fungicide evolution. *The Journal of Agricultural Science* 143 (1): 11–25. DOI: 10.1017/S0021859605004971
- Sadek M.E., Shabana Y.M., Sayed-Ahmed K., Abou A.H. 2022. Antifungal activities of sulfur and copper nanoparticles against cucumber postharvest diseases caused by *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Fungi* 8 (4): 412. DOI: 10.3390/jof8040412
- Şanlı A., Özkaya H.Ö. 2022. Determination effects of sulfur applications on some fungal diseases of potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology* 10 (sp1): 2656–2661. DOI: 10.24925/turjaf.v10i1sp1.2656-2661.5624
- Sardar M., Ahmed W., Ayoubi S.A., Nisa S., Bibi Y., Sabir M., Khan M.M., Ahmed W., Qayyum A. 2022. Fungicidal synergistic effect of biogenically synthesized zinc oxide and copper oxide nanoparticles against *Alternaria citri* causing citrus black rot disease. *Saudi Journal of Biological Sciences* 29 (1): 88–95. DOI: 10.1016/j.sjbs.2021.08.067
- Savary S., Willocquet L., Pethybridge S.J., Esker P., McRoberts N., Nelson A. 2019. The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution* 3 (3): 430–439. DOI: 10.1038/s41559-018-0793-y
- Shabbir Z., Sardar A., Shabbir A., Abbas G., Shamshad S., Khalid S., Murtaza N.G., Dumat C., Shahid M. 2020. Copper uptake, essentiality, toxicity, detoxification and risk assessment in soil-plant environment. *Chemosphere* 259: 127436. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.127436
- Singh A.K., Singh K.M., Bharati R.C., Chandra N., Bhatt B.P., Pedapati A. 2014. Potential of residual sulfur and zinc nutrition in improving powdery mildew (*Erysiphe trifolii*) disease tolerance of lentil (*Lens culunaris* L.). *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 45 (21): 2807–2818. DOI: 10.1080/00103624.2014.954287
- Steven B., Hassani M.A., LaReau J.C., Wang Y., White J.C. 2024. Nanoscale sulfur alters the bacterial and eukaryotic communities of the tomato rhizosphere and their interactions with a fungal pathogen. *NanoImpact* 33: 100495. DOI: 10.1016/j.impact.2024.100495
- Thomas S.G., Hocking T.J., Bilsborrow P.E. 2003. Effect of sulphur fertilisation on the growth and metabolism of sugar beet grown on soils of differing sulphur status. *Field Crops Research* 83 (3): 223–235. DOI: 10.1016/S0378-4290(03)00075-3
- Tleuova A.B., Wielogorska E., Talluri P., Štěpánek F., Elliott C.T., Grigoriev D.O. 2020. Recent advances and remaining barriers to producing novel formulations of fungicides for safe and sustainable agriculture. *Journal of Controlled Release* 326: 468–481. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.07.035
- Torre A., Iovino V., Caradonia F. 2018. Copper in plant protection: current situation and prospects. *Phytopathologia Mediterranea* 57 (2): 201–236. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-23407

- Vanathi P., Rajiv P., Sivaraj R. 2016. Synthesis and characterization of eichhornia-mediated copper oxide nanoparticles and assessing their antifungal activity against plant pathogens. *Bulletin of Materials Science* 39 (5): 1165–1170. DOI: 10.1007/s12034-016-1276-x
- Yang L., He M., Ouyang H., Zhu W., Pan Z., Sui Q., Shang L., Zhan J. 2019. Cross-resistance of the pathogenic fungus *Alternaria alternata* to fungicides with different modes of action. *BMC Microbiology* 19 (1): 205. DOI: 10.1186/s12866-019-1574-8
- Yiğit U., Türkan M., İlhan H., Şimşek T., Güler Ö., Derviş S. 2023. Activity of nanosized copper-boron alloys against *Phytophthora* species. *Journal of Plant Pathology* 106 (1): 175–190. DOI: 10.1007/s42161-023-01538-3
- Zubrod J.P., Bundschuh M., Arts G., Brühl C.A., Imfeld G., Knäbel A., Payraudeau S., Rasmussen J.J., Rohr J., Scharmüller A., Smalling K., Stehle S., Schulz R., Schäfer R.B. 2019. Fungicides: an overlooked pesticide class? *Environmental Science & Technology* 53 (7): 3347–3365. DOI: 10.1021/acs.est.8b04392