

Wykorzystanie endofitów i drożdży w ochronie roślin

Mykozy roślin, czyli choroby powodowane przez grzyby, stanowią najliczniejszą i najistotniejszą z gospodarczego punktu widzenia grupę chorób. Choroby roślin wywołane przez grzyby chorobotwórcze są przyczyną dużych strat w plonach na całym świecie. Metody stosowane w celu zwalczania patogenów opierają się głównie na chemicznych środkach ochrony roślin, czyli dostępnych fungicydach. Środki te nie zawsze są jednak skuteczne, a ich częste stosowanie prowadzi do nabywania odporności przez organizmy chorobotwórcze. Rosnąca wśród konsumentów świadomość dotycząca zarówno zdrowia, jak i ekologii, obawy społeczne dotyczące występowania pozostałości środków ochrony roślin w żywności oraz rosnąca liczba patogenów odpornych na pestycydy są motorem dla naukowców do poszukiwania nowych rozwiązań w ochronie roślin, zwłaszcza metod alternatywnych dla chemicznej ochrony.

Co to są endofity?

Endofity to organizmy, które kolonizują tkanki gospodarza, nie wywołując przy tym objawów chorobowych. Naukowcy dostrzegli ogromny potencjał roślin jako źródła licznych organizmów endofitycznych. Twierdzą oni, że wszystkie rośliny wyższe są gospodarzami dla jednego lub większej liczby drobnoustrojów endofitycznych. Do tych drobnoustrojów zalicza się: grzyby, bakterie i promieniowce.

Wiele roślin uprawnych jest zdolnych do łączenia się z endofitami, dzięki czemu poprawia się ich wzrost, zwiększa plonowanie, a także odporność na różnego rodzaju czynniki stresowe. Ponadto endofity mają wpływ na ochronę roślin przed szkodnikami, patogenami chorobotwórczymi czy nicieniami. Większość grzybów endofitycznych rozprzestrzenia się na sąsiednie rośliny za pomocą zarodników, natomiast inne przenoszą się na kolejne pokolenia roślin wraz z nasionami.

Gdzie występują endofity?

Endofity izolowano z roślin występujących w różnorodnych siedliskach, począwszy od arktycznych, górskich czy pustynnych, a skończywszy na tropikalnych lasach.

Grzyby endofityczne zostały wyodrębnione z mchów i wątrobowców, paproci, a także roślin okrytonasiennych i nagonasiennych. Większość grzybów endofitycznych uważa się za gatunkowo specyficzne, czyli kolonizujące określony gatunek rośliny. Jednakże istnieją również gatunki polifagiczne, które posiadają szeroki zakres roślin gospodarzy.

Jak endofity wpływają na roślinę?

Endofity mogą wpływać na zasiedlaną przez siebie roślinę w sposób pośredni lub bezpośredni. Pośredni wpływ endofita na odporność rośliny polega na indukcji w roślinie mechanizmów obronnych, takich jak indukcja odporności lub synteza metabolitów wtórnych. Wpływ ten może być również związany z konkurencją między endofitem a patogenem o niszę ekologiczną.

Bezpośrednie oddziaływanie grzybów endofitycznych na roślinę gospodarza polega natomiast na syntezie przez endofita związków o działaniu owadobójczym, fungicydowym lub nicieniobójczym. Są to między innymi terpenoidy, alkaloidy, związki aromatyczne, a także enzymy lityczne, zdolne do rozkładu chityny, białek, celulozy, hemicelulozy lub DNA.

Badania chemiczne potwierdziły, że grzyby endofityczne są źródłem metabolitów wtórnych. Niektóre z nich wpływają na wzrost i rozwój rośliny żywicielskiej, a jeszcze inne wykazują właściwości owadobójcze, przeciwgrzybicze oraz przeciwbakteryjne. Endofity z rodzaju *Neotyphodium*, zasiedlające kostrzewy i życicę trwałą syntetyzują peraminę, która jest toksyczna dla szkodników, a jednocześnie nie wykazuje negatywnego działania na zwierzęta gospodarcze.



Przykład podwyższonej tolerancji trawy na suszę dzięki symbiozie z grzybami endofitycznymi

Grzyby endofityczne znane są również ze swoich właściwości antygrzybowych. Grzyby endofityczne, takie jak: *Dothideomycetes sp.*, *Alternaria tenuissima*, *Thielavia subthermophila*, *Alternaria sp.*, *Nigrospora oryzae*, *Colletotrichum truncatum* i *Chaetomium sp.*, wyizolowane z pnącza *Tylophora indica*, wykazują właściwości antygrzybowe, działając hamująco na wzrost i rozwój grzybów patogennych w stosunku do *Sclerotinia sclerotiorum* i *Fusarium oxysporum*.

Endofity kolonizujące tkanki roślinne produkują enzymy hydrolizujące ściany komórkowe, dzięki którym dostają się do wnętrza tkanek gospodarza. Jednocześnie enzymy te oddziałują na fitopatogeny, degradując ich ściany komórkowe.

Do wtórnych produktów metabolizmu mikroorganizmów endofitycznych zalicza się antybiotyki, które w niskich stężeniach wpływają na struktury komórkowe lub procesy metaboliczne innych mikroorganizmów, hamując ich wzrost i podziały. Na przykład antybiotyki, pestalachloride A i B, pozyskane z endofitycznego grzyba *Pestalotiopsis adusta*, wykazały bioaktywność wobec trzech fitopatogenów *Fusarium culmorum*, *Gibberella zeae* i *Verticillium albo-atrum*. Z kolei antybiotyki: pyrrocidine A i B wytwarzane przez endofit kukurydzy *Acremonium zeae* wykazały aktywność przeciwko patogenom kukurydzy *Aspergillus flavus* i *Fusarium verticillioides*.

Hypoxylon sp. to endofit wyizolowany ze smaczliwki indyjskiej, który wytwarza liczne lotne związki organiczne wykazujące wysoką bioaktywność wobec grzybów chorobotwórczych: *Botrytis cinerea*, *Phytophthora cinnamomi*, *Cercospora beticola* i *Sclerotinia*. Innym przykładem może być *Phomopsis sp.* szczep (EC-4) wyizolowany jako endofit z *Odontoglossum sp.* Grzyb ten tworzy mieszanę lotnych związków organicznych, które posiadają właściwości antygrzybowe wobec szerokiego zakresu fitopatogenów, m.in.: *Pythium*, *Phytophthora*, *Sclerotinia*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Verticillium* oraz *Colletotrichum*.

Oprócz patogenów i szkodników atakujących uprawy rolnicze, dużym problemem są nicienie. Grzyby endofityczne mogą stanowić również alternatywę w ochronie roślin przed tymi organizmami. Niektóre pozyskane izolaty grzybów endofitycznych z sadzonek ogórka wykazywały hamujące działanie w stosunku do nicienia *Meloidogyne incognita* (guzak południowy) w warunkach szklarniowych. Do najskuteczniejszych można zaliczyć izolaty z grzybów: *Fusarium*, *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Acremonium*, *Paecilomyces* i *Phyllosticta*.

Grzyby endofityczne cieszą się dużym zainteresowaniem w aspekcie integrowanej ochrony roślin ze względu na korzyści, jakie płyną z symbiozy tych grzybów z roślinami oraz z faktu, że są one źródłem różnorodnych metabolitów wykazujących aktywność biologiczną wobec różnych fitofagów. Badania wykazały, że większość produktów naturalnych wydzielanych przez grzyby endofityczne posiada aktywność przeciwbakteryjną, a w wielu przypadkach biorą one również udział w ochronie roślin przed grzybami.

Drożdże w biologicznej ochronie roślin

Wiele badań prowadzonych przez naukowców wskazuje, że również niektóre gatunki drożdży mogą być stosowane jako środki kontroli biologicznej. Drożdże wykazują przewagę nad innymi grzybami, gdyż ich wymagania żywieniowe są proste, szybko zużywają składniki odżywcze, obficie się rozmnażają, mają zdolność kolonizacji powierzchni gospodarza, wykazują dość długi czas przeżycia, nawet w warunkach niedoboru wody, wytwarzają pozakomórkowe polisacharydy zwiększające ich przeżycie, jednocześnie ograniczając patogeny, wykazują tolerancję na powszechnie stosowane pestycydy, takie jak: imazalil, tiabendazol, pirymetanal czy fludioksonil, a przede wszystkim są nieszkodliwe dla ludzi i środowiska.

Mechanizmy pośredniego oddziaływania drożdży polegają na ich wysokiej aktywności przeciwgrzybiczej i przeciwbakteryjnej, ograniczającej rozwój fitopatogenów. Ich działanie opiera się na: konkurencji o przestrzeń życiową oraz składniki pokarmowe, mykoparazytyzmie, produkcji metabolitów o charakterze antygrzybowym oraz indukowaniu mechanizmów odporności u roślin.

Konkurencyjne oddziaływanie drożdży polega na zmniejszeniu niszy życiowej fitopatogenów, co przyczynia się tym samym do hamowania ich rozwoju. Drożdże ze względu na zdolność do szybkiego namnażania, kolonizują powierzchnie roślin, szczególnie w miejscach zranień, uszkodzeń, tworząc na powierzchni ran ochronny biofilm. W obrębie uszkodzonych tkanek roślina jest najbardziej narażona na atak patogenów, które mogą w łatwy sposób korzystać z uwolnionych substancji pokarmowych. Ochronna rola drożdży, w miejscach szczególnie narażonych na atak fitopatogenów, polega na wyczerpaniu przez nie składników pokarmowych do budowania własnej biomasy, co prowadzi do ograniczenia rozwoju patogenów pozbawionych źródła pokarmu.

Jednym z przykładów mogą być drożdże *Cryptococcus albidus* wykazujące konkurencyjne działanie w stosunku do patogena wywołującego szarą pleśń podczas przechowywania owoców truskawki w chłodni. Ponadto w przeprowadzonych badaniach wykazano, że w temperaturze 20 i 26°C drożdże *Candida albicans* wyraźnie hamują wzrost wielu grzybów z rodzaju *Fusarium*.

Innym gatunkiem drożdży o konkurencyjnym działaniu antagonistycznym jest *P. fermentans*, którego obecność hamuje rozwój brunatnej zgnilizny na jabłkach.

Kolejnym mechanizmem biorącym udział w biokontroli jest mykoparazytyzm, który polega na rozkładzie ścian komórkowych mikroorganizmu wrażliwego przez antagonistę, co w konsekwencji prowadzi do rozkładu i zahamowania rozwoju patogena. Zjawisko to jest efektem działania enzymów hydrolitycznych, takich jak: glukanazy, chitynazy i proteinyazy, które prowadzą do rozkładu ściany komórkowej grzybów strzępkowych. Skuteczność tego mechanizmu związana jest ze zdolnością drożdży do adhezji do ścian komórkowych patogennych

grzybów. Atehezja umożliwia wystąpienie zjawiska mykoparazytyzmu wobec patogena i skutkuje zmniejszeniem jego powierzchni wchłaniania składników pokarmowych.

Przyszłością w biologicznej ochronie roślin są szczepy drożdży killerowych, które wytwarzają toksyny o charakterze białkowym. Proces produkcji toksyn killerowych został po raz pierwszy opisany u *Saccharomyces cerevisiae*, a obecnie zjawisko to odkryto u prawie 100 gatunków drożdży. Każda toksyna killerowa ma indywidualne właściwości, które różnią się w zależności od produkującego ją szczepu drożdży. Niektóre szczepy drożdży killerowych charakteryzują się szerokim zakresem aktywności antagonistycznej, hamują rozwój szeregu szczepów drożdży, a także grzybów strzępkowych.

Działanie toksyn killerowych przebiega w dwóch etapach. W pierwszym następuje wiązanie toksyny do receptorów znajdujących się w ścianach komórek wrażliwych. Toksyny killerowe powodują perforacje ściany komórkowej grzybów wrażliwych poprzez rozkład β -1,3-D-glukanów, β -1,6-D-glukanów, mannoproteiny i chityny, związków wchodzących w skład budowy ściany komórkowej grzybów patogenicznych. W wyniku perforacji ściany komórkowej dochodzi do wycieku cytoplazmy komórkowej i ostatecznie do śmierci komórki fitopatogenu. Drugi etap, wymagający nakładu energii, przebiega różnie, w zależności od rodzaju i stężenia toksyny.

Drożdże mogą być stosowane jako stymulatory wzrostu, które wpływają pozytywnie na kondycję zdrowotną roślin żywicielskich, dzięki czemu rośliny stają się bardziej odporne na działanie fitopatogenów. Drożdże mogą działać również jako elicytory, czyli naturalne substancje, stymulujące odporność roślin, poprzez pobudzanie ich do syntezy związków biologicznie czynnych.

Kolejną możliwością wykorzystania drożdży w ochronie roślin jest ich udział w strategii mikrobiologicznej eliminacji związków toksycznych, nagromadzonych w środowisku. Poznano możliwości degradacji fosforoorganicznego chloropiryfosu przez *Rhodotorula glutinis* i *Rhodotorula rubra* oraz insektycydów neonikotynoidowych i tiachloprydu przez *Rhodotorula mucilaginosa*.

Wielu ogrodników stosuje drożdże piekarskie w ochronie upraw (pomidorów, ziemniaków, truskawki, ogórków, dyni, cukinii i innych dyniowatych) przed niektórymi chorobami. Udowodniono w badaniach naukowych, że drożdże mogą ograniczać występowanie szarej pleśni, alternariozy, rizoktoniozy oraz moniliozy. Niektórzy wskazują na pozytywny wpływ drożdży na ograniczenie wystąpienia mączniaka, ale także i zarazy ziemniaka na pomidorze i ziemniaku. Drożdże piekarskie zastosowane na powierzchnię roślin stanowią konkurencję dla grzybów patogenicznych. Tworzą one barierę, która nie pozwala na rozwój patogenów (zarodniki grzybów chorobotwórczych nie kiełkują albo po wykiełkowaniu nie wrastają w tkankę rośliny).

Efekt ograniczania wnikania patogenów do komórek nie jest trwały, dlatego drożdże należy aplikować systematycznie na rośliny. Drożdże można aplikować na dwa sposoby – doglebowo i nalistnie.

Zastosowanie drożdży opiera się przede wszystkim na zabiegach nalistnych. Zabieg należy wykonać w dniu przygotowania roztworu z drożdży. Zaleca się, zastosowanie 100 gramowej kostki żywych drożdży na 10 litrów przegotowanej (bez chloru), letniej wody. Tak przygotowaną cieczą należy opryskiwać rośliny lub też je podlewać.



Drożdże piekarskie można wykorzystać w ochronie przed niektórymi chorobami grzybowymi

W celu ograniczenia oddziaływania patogenów odglebowych można korzonki roślin namać w roztworze drożdży, a następnie wsadzać je do gleby. Drożdże można aplikować również w postaci stałej poprzez ich pokruszenie i umieszczenie w glebie, w pobliżu roślin. Zabieg drożdżami to zabieg zapobiegawczy, dlatego należy go wykonywać regularnie, jeszcze przed pojawem się patogenów. Jeśli patogen zaatakuje tkanki roślin, wówczas drożdże nie powstrzymają rozwoju choroby.

*Monika Mostowska
Pomorski Ośrodek Doradztwa Rolniczego w Lubaniu*