

ANTAGONIZMI MED TALNIMI SAPROFITSKIMI IN PARAZITSKIMI GLIVAMI - MEHANIZMI IN MOŽNOST UPORABE V BIOTIČNEM VARSTVU RASTLIN

Franci CELAR

Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

IZVLEČEK

Večji pojav bolezni je predvsem posledica porušena naravnega ravnovesja v nekem ekosistemu. Človek s svojim načinom pridelovanja živeža povzroča stalne motnje v tem ravnovesju. Namen biotičnega varstva je, da kolikor je le mogoče izrabimo sebi v prid naravne mehanizme, ki vzdržujejo to ravnovesje. Eden izmed teh mehanizmov so tudi različni antagonizmi med posameznimi talnimi glivami. V "naravnih tleh" obstajajo posamezne vrste gliv, ki nekako "držijo v šahu" patogene glive, da se le-te preveč ne razširijo. Najbolj znane med temi glivami so vrste iz rodu *Trichoderma*. V referatu so predstavljene različne vrste antagonizmov med talnimi glivami (antibioza in lizija, kompeticija, parazitizem) ter stimulativen vpliv antagonističnih gliv na rast zelenih rastlin. Prikazani so različni načini aplikacije antagonističnih gliv v tla in možnost uporabe le-teh v biotičnem varstvu rastlin.

ABSTRACT

ANTAGONISMS BETWEEN SAPROPHYTIC AND PARASITIC SOIL FUNGI - MECHANISMS AND POSSIBLE USE IN BIOLOGICAL CONTROL OF PLANT PATHOGENS

Any outbreak of disease is a consequence of disturbed natural equilibrium in a given ecosystem. Crop production means a constant disturbance of this equilibrium. Biological control of plant pathogens tries to use as much as possible natural mechanisms that maintain this equilibrium. Antagonisms between various soil fungi belong to these useful phenomena. "Natural soil" contains fungi which compete with pathogens and prevent their excessive spreading. The best known among them are those of the *Trichoderma* genus. This contribution presents various ways of antagonism between soil fungi (antibiosis and lysis, competition, parasitism) and stimulative effect of antagonistic fungi on the growth of higher plants. Various ways of application of the antagonistic fungi to the soil are described and some possibilities of their use in biological control of plant pathogens are indicated.

1 UVOD

Že od samega začetka kmetovanja pred nekako 10.000 leti so glivične bolezni glavna grožnja kmetijskim rastlinam oz. pridelkom in s tem povezani oskrbi s hrano. Ena od pomembnejših skupin povzročiteljev rastlinskih bolezni so patogene talne glive. V ZDA pripada 90% od 2000 povzročiteljev bolezni na 31 kmetijskih rastlinah skupini talnih patogenov.

V preteklosti se je človek zatekal k direktnim (kemičnim) načinom varstva rastlin pred boleznimi. Zdelo se je, da je to izredno racionalna metoda, ker se je v večini primerov lahko tretiralo šele po pojavu bolezni in tudi rezultati so bili izredno dobri. Posebno pri tretiranju tal se je razvil t. i. sistem popolne odstranitve raznih organizmov. Še ne tako daleč nazaj so se uporabljali predvsem pesticidi s širokim spektrom delovanja. Z njihovo uporabo se je zmanjšala kompleksnost biotične skupnosti in je postajala zaradi tega vedno bolj nestabilna. V šestdesetih letih se je pod pritiskom javnosti in zaradi izsledkov številnih raziskav, oblikovalo mnenje, da če bomo tako pospešeno uničevali naravno ravnovesje, bomo tudi sami postali žrtve le-tega. Poleg kemičnega varstva se je začelo z upeljevanjem biotičnega varstva v kmetijsko pridelavo oz. z združitvijo obeh v t. i. integrirano varstvo rastlin. Vzpodbudo biotičnemu trendu daje tudi dejstvo, da je proizvodnja in registracija aktivnih snovi za fitofarmacevtska sredstva izredno draga in je njihova dobičkonosnost zaradi tega zelo vprašljiva.

Pri biotičnem zatiranju rastlinskih bolezni gre za vsako zmanjšanje možnosti za okužbo ali za zmanjšanje stopnje okužbe, če pri tem izrabimo možnosti, ki jih daje okolje, povzročitelj bolezni, njegov gostitelj in antagonisti tega povzročitelja.

Znano je, da je večji pojav bolezni predvsem posledica porušnja naravnega ravnovesja, se pravi zaradi povzročene disharmonije v nekem ekosistemu. In prav človek s svojim načinom pridelovanja živeža povzroča stalne motnje v tem ravnovesju. Namen biotičnega varstva je, da kolikor je le mogoče izrabimo sebi v prid naravne mehanizme, ki vzdržujejo to ravnovesje. Eden izmed teh mehanizmov so tudi različni antagonizmi, ki obstajajo med posameznimi talnimi glivami. Drugače povedano, v "naravnih" tleh obstajajo posamezne

vrste gliv, ki nekako "držijo v šahu" patogene glive, da se le-te preveč ne razmnožijo. Najbolj znane med temi glivami so vrste iz rodu *Trichoderma*.

2 VRSTE ANTAGONIZMOV, MEHANIZMI DELOVANJA IN NJIHOVO PROUČEVANJE

2.1 Vrste antagonizmov

Antagonistične aktivnosti med mikroorganizmi lahko razdelimo v tri velike skupine:

1. *Antibioza in lizija*: Antibioza je oviranje enega organizma z metaboličnimi produkti (hlapnimi, nehlapnimi) drugega. Ponavadi gre za zaviranje rasti patogenih gliv, mogoči pa so tudi letalni učinki. Metaboliti lahko prodrejo v celico in zaradi kemične toksičnosti zavrejo njeno aktivnost. Lizija je skupni izraz za propad in razkroj biotične snovi (endo- in eksolizija).
2. *Kompeticija (tekmovanje)*: Največkrat gre za tekmovanje za hrano, prostor, kisik in še nekatere rastne dejavnike, če le-teh ni v izobilju.
3. *Parazitizem*: Antagonisti parazitirajo hife in druge strukture patogenov.

2.2 Mehanizmi delovanja antagonističnih gliv v tleh in njihovo proučevanje

Antagonistično dejavnost gliv *Trichoderma* spp. se v laboratoriju preizkuša s pomočjo "dvojnih kultur" (dual culture). Ta tehnika je uporabna za hitro testiranje antagonističnih značilnosti posameznih gliv, ni pa povsem zanesljiva. Gojišče, ki ga uporabljamo za proučevanje antagonističnega delovanja, lahko vpliva na rast in morfologijo proučevanih gliv, na oblikovanje (ne)hlapnih metabolitov in celo na tekmovanje med patogenom in antagonistom, ter na interakcije med micelijem. Poleg gojišča vplivajo na antagonistične aktivnosti tudi dejavniki okolja (vlaga, toplota, sestava atmosfere, itn.). Pomemben je tudi vpliv časa na proučevane antagonizme.

Nekoliko boljša je metoda testnih rastlin, vendar pa moramo dejavnike okolja še vedno nadzorovati. Zaradi zgoraj navedenih

razlogov so številne primerjave poskusov *in vitro* in dogajanj *in vivo* neuspešne.

Trichoderma spp. oblikujejo številne strupene metabolite (hlapne, nehlapne). Sposobnost sinteze snovi, ki delujejo proti parazitskim glivam, se spreminja od vrste do vrste in celo znotraj vrste med posameznimi izolati. Zaenkrat pa še ni dokazov, da prav ti metaboliti uravnavajo zatiranje parazitskih gliv v tleh.

In vitro so našli številne primere, ko so *Trichoderma* spp. parazitirale patogene glive. To pa še ni dokaz, da se parazitizem dogaja tudi v naravnih tleh. Parazitizem je kompleksen proces, sestavljen iz kemotropične rasti antagonistične glive proti patogeni, ovijanja in pripenjanja na to in prodiranja v hifo patogena. V tem procesu antagonistične glive izločajo mikolitične encime (glukanaze, hitinaze, celulaze). Stopnja antagonistične aktivnosti *Trichoderma* spp. je najbrž odvisna od teh encimov.

Glede na rezultate naših poskusov je precej verjetno, da je pri proučevanih antagonizmih tekmovanje za prostor in hrano prvotnega pomena. Do kasnejših stopenj antagonističnega procesa (npr. hiperparazitizem, lizija) pride šele po določenem času. Te oblike antagonizmov se najbrž aktivirajo šele, ko začne v substratu primanjkovati hrane in prostora.

Glive *Trichoderma* spp. lahko neposredno vplivajo na talne patogene in (ali) vplivajo na rastline tako, da izločajo "rastne substance", ki pospešujejo kalitev, rast in sposobnost sprejema hranil.

V nadaljevanju prispevka ja na kratko prikazan klasičen lončni poskus v katerem smo *in vitro* proučevali antagonistično delovanje glive *Trichoderma* sp. proti *Fusarium* sp.

3 ANTAGONISTIČNO DELOVANJE *Trichoderma longibrachiatum* PROTI *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* NA KORUZI; NEPOSREDEN VPLIV NA RAST ZELENE IN KORENINSKE GMOTE KORUZE

3.1 Material in metode

ANTAGONIST: 2 izolata *Trichoderma longibrachiatum* (TL-9A, TL-9B)

PATOGEN: *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* (FUS)

KONTROLA: dodano samo gojišče brez gliv

APLIKACIJA ANTAGONISTA:

A) skupaj z gojiščem (mešanica pšeničnih otrobov in šote v razmerju 1:1)

B) oblaganje semen s konidiji

TESTNA RASTLINA: Koruza - hibrid LJ-3/83

MERJENI PARAMETRI:

A) teža suhe zelene gmote

B) teža suhe koreninske gmote

C) infekcijski indeks (McKinney)

STATISTIČNO IZVREDNOTENJE REZULTATOV Z ANOVO (p=0.05)

3.2 Rezultati

Razpredelnica 1: Povprečen infekcijski indeks (po McKinneyu) za okuženost mlade koruze; aplikacija *T. longibrachiatum* skupaj z gojiščem.

Obravnavanje	Infekcijski indeks (%)
FUS	68,52
FUS/TL-9A	23,15
FUS/TL-9B	24,07
KONTROLA	11,11

Razpredelnica 2: Povprečen infekcijski indeks (po McKinneyu) za okuženost mlade koruze; oblaganje semen koruze s konidiji *T. longibrachiatum*.

Obravnavanje	Infekcijski indeks (%)
FUS	70,37
FUS/TL-9A	21,30
FUS/TL-9B	22,22
KONTROLA	7,41

Med obema načinoma aplikacije izolatov *T. longibrachiatum* ni večjih razlik. V obeh primerih dodatek glive *T. longibrachiatum* vidno zmanjša okuženost mlade koruze z glivo *F. moniliforme* var. *subglutinans* (za približno 3 krat). Vzrok, da je infekcijski indeks pri kontroli v obeh primerih približno 10% pa je v tem, da se po obstoječi metodi nevnikle rastline štejejo enako kot propadle. Med izolatom *T. longibrachiatum* skoraj ni razlik.

Aplikacija *T. longibrachiatum* skupaj z gojiščem:

Razpredelnica 3: Statistično (ne)značilne razlike med posameznimi obravnavanji - teža suhe zelene gmote; aplikacija *T. longibrachiatum* skupaj z gojiščem ($p=0.05$).

	KONTROLA	FUS	FUS/TL-9A	FUS/TL-9B	TL-9A	TL-9B
KONTROLA						
FUS	Z					
FUS/TL-9A	N	Z				
FUS/TL-9B	N	Z	N			
TL-9A	Z	Z	Z	Z		
TL-9B	Z	Z	Z	Z	N	

Opomba: N- statistično neznačilna razlika, Z- statistično značilna razlika

Razpredelnica 4: Statistično (ne)značilne razlike med posameznimi obravnavanji - teža suhe koreninske gmote; aplikacija *T. longibrachiatum* skupaj z gojiščem ($p=0.05$).

	KONTROLA	FUS	FUS/TL-9A	FUS/TL-9B	TL-9A	TL-9B
KONTROLA						
FUS	Z					
FUS/TL-9A	N	Z				
FUS/TL-9B	N	Z	N			
TL-9A	Z	Z	Z	Z		
TL-9B	Z	Z	Z	Z	N	

F. moniliforme var. *subglutinans* statistično značilno zmanjšuje prirast zelene gmote mlade koruze. Če tlom dodamo poleg *F. moniliforme* var. *subglutinans* še katerega od izolatov antagonistične vrste *T. longibrachiatum* se prirast zelene gmote statistično ne razlikuje od

kontrole (sterilen substrat). Če dodamo samo glivo *T. longibrachiatum* tlom (brez *Fusarium* sp.) se prirast zelene gmote v primerjavi s kontrolo statistično značilno poveča. Med izolatoma *T. longibrachiatum* ni statistično značilnih razlik.

Podobno kot pri teži zelene gmote je tudi pri teži korenin. *Fusarium* sp. statistično značilno ovira rast korenin, izolata *T. longibrachiatum* pa izničila te negativne učinke. V primerjavi s kontrolo izolata *T. longibrachiatum* statistično značilno vplivata na večji prirast koreninske gmote. Med izolatoma *T. longibrachiatum* ni statistično značilnih razlik.

Oblaganje semen koruze s konidiji *T. longibrachiatum*

Razpredelnica 5: Statistično (ne)značilne razlike med posameznimi obravnavanji - teža suhe zelene gmote; oblaganje semen s konidiji *T. longibrachiatum* ($p=0.05$).

	KONTROLA	FUS	FUS/TL-9A	FUS/TL-9B	TL-9A	TL-9B
KONTROLA						
FUS	Z					
FUS/TL-9A	N	Z				
FUS/TL-9B	N	Z	N			
TL-9A	N	Z	N	N		
TL-9B	N	Z	N	N	N	

Razpredelnica 6: Statistično (ne)značilne razlike med posameznimi obravnavanji - teža suhe koreninske gmote; oblaganje semen s konidiji *T. longibrachiatum* ($p=0.05$).

	KONTROLA	FUS	FUS/TL-9A	FUS/TL-9B	TL-9A	TL-9B
KONTROLA						
FUS	Z					
FUS/TL-9A	N	Z				
FUS/TL-9B	N	Z	N			
TL-9A	N	Z	N	N		
TL-9B	N	Z	N	N	N	

Tudi v tem poskusu je gliva *F. moniliforme* var. *subglutinans* negativno vplivala na priraščanje zelene gmote mladih koruznih

rastlin (statistično značilna razlika v primerjavi s kontrolo). Uporaba izolatov glive *T. longibrachiatum* pripomore k temu, da se izniči negativen vpliv *Fusarium* sp. Izolata *T. longibrachiatum* v tem poskusu nista imela stimulatívnega vpliva na priraščanje zelene gmote. Med izolatoma *T. longibrachiatum* ni statistično značilnih razlik.

Podobne sklepe lahko potegnemo tudi za priraščanje korenin v istem poskusu. *Fusarium* sp. zavira rast korenin, hkratna uporaba izolatov *T. longibrachiatum* pa izniči ta negativen vpliv. Izolata *T. longibrachiatum* ne vplivata stimulatívno na priraščanje korenin koruze. Razlike v učinkovitosti posameznih izolatov *T. longibrachiatum* niso statistično značilne.

3.3 Namesto sklepa

Možnost uporabe antagonističnih gliv *Trichoderma* spp. bi bila predvsem v rastlinjakih in plastenjaki, kjer lahko nadzorujemo dejavnike okolja. Po termičnem ali kemičnem razkuževanju substrata bi lahko le-tega kolonizirali z glivami *Trichoderma* spp. Te glive bi zasedle takoimenovani "biotični vakuum", ki je nastal z razkuževanjem, in s svojo zastopanostjo preprečevale rekolonizacijo substrata s patogenimi glivami. S tem ukrepom bi lahko vsaj za nekaj časa podaljšali učinek razkuževanja.

V tujini so že izdelali nekaj komercialnih biotičnih fungicidov na podlagi *Trichoderma* spp. Ti so vsekakor dobrodošla novost, vendar pa dosedanje izkušnje kažejo, da z njimi ne moremo nadomestiti klasičnih fungicidov. Zadovoljive rezultate so dali pri aplikaciji skupaj ali izmenično (alternirajoče) z navadnimi fungicidi. S pripravki na podlagi *Trichoderma* spp. torej podaljšujemo učinek delovanja klasičnih fungicidov in na ta način zmanjšujemo količino uporabljenih kemičnih pripravkov. Pri biotičnih pripravkih se tudi ne pojavi rezistenca. Pripravke na osnovi *Trichoderma* spp. bi lahko vključili v program integriranega varstva rastlin.

4 LITERATURA

Baker, K. F., Cook J. R. (1974). Biological control of soil fungi.- W.H. Freeman and Co., San Francisco, 433 s.

- Baker, F. (1988). *Trichoderma* spp. as plant-growth stimulants.- CRC Critical Reviews in Biotechnology 7: 97-106.
- Celar, F. (1992). Antagonistično delovanje treh gliv *Trichoderma* spp. proti desetim patogenim talnim glivam.- Magistrsko delo, BF, Oddelek za agronomijo, Ljubljana, 99 s.
- Chet, I. (1987). Innovative approaches to plant disease control.- John Wiley and Sons, New York, 372 s.
- Dennis, C., Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of nonvolatile antibiotics.- Trans. Br. Mycol. Soc. 57: 25-39.
- Dennis, C., Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. II. Production of volatile antibiotics.- Trans. Br. Mycol. Soc. 57: 41-48.
- Dennis, C., Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interaction.- Trans. Br. Mycol. Soc. 57: 363-369.
- Ghisalberti, E. L., Sivasithamparam, K. (1991). Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp.- Soil Biol. Biochem. 23: 1011-1020.
- Lewis, J. A., Papavizas, G. C. (1991). Biocontrol of plant diseases: the approach for tomorrow.- Crop protection 10: 95-105.
- Watanabe, N., Lewis, J. A., Papavizas, G. C. (1987). Influence of nitrogen fertilizers on growth, spore production and germination, and biocontrol potential of *Trichoderma* and *Gliocladium*.- J. Phytopathology 120: 337-346.