

Úvod do problematiky biologické ochrany rostlin

Bleša, D.,
Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Brno
Agrotest fyto, s.r.o., Kroměříž

Problematika biologické ochrany se významnou měrou zkoumá zhruba od poloviny 20. století. Tento směr ochrany rostlin je limitován znalostmi životních cyklů účastníků se organismů, jejich vzájemnou interakcí, případně etologií, ale také lokálními podmínkami prostředí, proto kromě agrotechnických postupů a místních zvyklostí pěstitelů často spoléhají spíše na aplikaci chemických pesticidů (6). Znečištění přírodních zdrojů a přítomnost rezidujících pesticidů ve vodních zdrojích, v neošetřených porostech, zasahující necílové organismy a možná karcinogenita používaných chemikálií vede ke změnám v postoji lidí k používání pesticidů v agroprůmyslu (14). V dnešní době je přísná legislativa ohledně chemických pesticidů a lze pozorovat společenský i politický tlak na odstranění nejvíce škodlivých látek z prodeje. Navíc, jak se již ukázalo nárůstem rezistence, pomocí chemických přípravků nelze eradikovat závažné choroby z agrosystémů úplně (15). Z těchto důvodů se i firmy vyrábějící chemické přípravky snaží o vývoj a aplikaci alternativních metod a přípravků pro kontrolu škůdců a onemocnění. Biologická ochrana rostlin se ukazuje jako vhodná alternativní metoda pro kontrolu chorob rostlin. Biologickou ochranou se označuje inhibice růstu, snižování množství infekčních částic, omezení rozmnožování a šíření jednoho organismu (patogen) druhým (bioagens), včetně indukce hostitelské rezistence – bude vysvětleno níže (4). Biologická ochrana využívá přirozených nepřátel škůdců a patogenů k jejich úplné eradikaci, zpravidla však ke kontrole jejich populace. Toho se dosahuje podporou přirozeného výskytu těchto prospěšných organismů na stanovišti nebo introdukcí nepůvodních organismů. Biologickou ochranou se rovněž myslí i využití nepatogenních, inkompatibilních nebo avirulentních mikroorganismů (6). Ke studování biologických účinků a vzájemných interakcí lze zvolit různé metody, postupy a logické dedukce, přírodní jevy jsou však natolik obsáhlé, že vytvořit ucelený systém prakticky nelze. Cílem tohoto textu je proto podat základní přehled přístupů k biologické ochraně rostlin v rámci integrované ochrany rostlin s bližším zaměřením na ochranu proti houbovým patogenům.

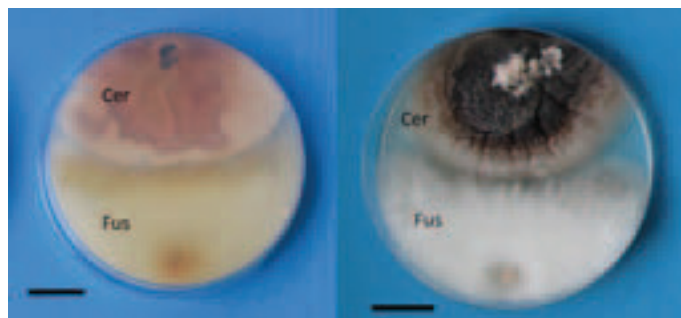
Terminologie

Biologická ochrana (angl. biological control, biocontrol) se dotýká řady vědních oborů, například entomologie, fytopatologie, chemie, rostlinné fyziologie, ekologie a dalších. V rámci fytopatologie se tímto termínem označuje použití mikrobiálních antagonistů k potlačení chorob, ale také použití druhově specifických patogenů na redukci plevele (4). Pro organismus potlačující škůdce nebo patogen se používá termín „Biocontrol agent“, případně „bioagens“. V širším měřítku lze takto označit i jakýkoliv produkt metabolismu zahrnující i jeho fermentovanou podobu (6). Často se lze setkat s akronymem bioagens označující biological warfare agents (prostředek biologického boje), což jsou pro člověka nebezpečné mikroorganismy, které jsou součástí biologických zbraní (bakterie moru, antraxu, pravých neštovic a podobně). V rámci tohoto textu je však takto označován přípravek na bázi živých organismů, který se používá v ochraně rostlin proti jejím škůdcům. Tato definice zahrnuje látky se specifickou aktivitou nebo látky s širokým rozpětím účinků často ovlivňujícím i hostitelskou rostlinu. Nejedná se o živé organismy, bylo by proto vhodnější používat termíny biopesticid,

biofertilizer, příp. biostimulant (4). Biologická ochrana je i součástí integrované ochrany proti škůdcům a lze do ní zahrnout i veškeré agrotechnické postupy typu rotace plodin, setí a výsadba odolných kultivarů, včetně omezení posklizňových zbytků.

Symbiotické interakce mezi rostlinami a mikroorganismy

Symbiózou se myslí jakékoliv soužití dvou a více organismů. Způsob interakce a vzájemný vliv není vždy přesně definován a mění se v čase. Aplikace biologických agens by měla díky specifickým nebo nespecifickým interakcím přinést pro rostliny pozitivní výsledky. K dosažení námi požadovaných výsledků se používají nejrozumnější strategie pozorované v přírodě, ve kterých jsou zastoupeny všechny ekologické interakce. Z praktického hlediska je nejvýhodnější, aby byl použit organismus schopný samostatné reprodukce na stanovišti a vzájemný vztah s hostitelem byl mutualistický (obligátní či fakultativní) a v průběhu času stabilní (4). Často dochází k fyzickému i biochemickému propojení, jak je patrné například u mykorrhizních symbióz nebo u dusík fixujících rhizobií v kořenech rostlin čeledi *Fabaceae*. Velké množství využívaných mikroorganismů se řadí mezi fakultativní mutualisty, protože jejich efekt je proměnlivý v závislosti na podmínkách prostředí (6).



Obrázek 1: *In vitro* kompetice dvou izolátů hub rodu *Ceratobasidium* a rodu *Fusarium*. Vlevo spodní strana misky, vpravo horní strana misky. Úsečka odpovídá 2 cm. Cer – *Ceratobasidium*, Fus – *Fusarium*.

Početně velkou skupinou rostlinných kolonizátorů, případně mikroorganismů asociovaných s rostlinami, jsou komenzálové. Komenzalizmus je typ symbiotického vztahu, ve kterém jeden z partnerů těží ze vzájemné interakce a na druhého to nemá pozitivní ani negativní efekt. Symbióza, ve které na sebe organismy nemají vzájemně žádný vliv, se nazývá neutralismus a je zpravidla krátkodobě časově omezená, případně neznáme přesně způsob interakce (8). Dalším typem interakce je antagonismus, což je vztah, který ústí v negativní důsledky u jednoho nebo obou partnerů, například tvorbou antibiotik, kompeticí o zdroje živin, světla, vody a další. Kompetice uvnitř druhu a mezi druhy omezuje růst a celkovou fitness. V rámci biologické ochrany lze použít nepatogenní kmen nebo druh pro kompetici s patogenním o místo a živiny na hostiteli, včetně indukce rezistence hostitele

(4). Parazitismus je symbiotický vztah organismů, kteří spolu koexistují v průběhu delšího časového období a zpravidla fyzicky menší organismus škodí tomu většímu – hostiteli. V ochraně rostlin

se tak využívá hyperparazitů, kteří parazitují na parazitech rostlin a tím omezují jejich rozvoj a vývoj, případně o výše zmíněnou inokulaci avirulentním nebo méně patogenním parazitem a s tím spojenou indukci rezistence. Rovněž lze zmínit predaci, čímž se označuje lovení a zabíjení jednoho organismu druhým. Tento vztah lze nalézt napříč všemi skupinami, od obratlovců, přes hmyz až k mikroorganismům (8). Aplikací bioagens tak dochází k nastolení rovnováhy mezi populacemi patogenů (škůdců) a jejich predátorů, což má za následek omezení epidemií a výrazných ztrát po přemnožení (4).

Mechanismy působení preparátů:

Mykoparazitismus

V rámci hyperparazitismu je patogen přímo atakován specifickým bioagens, který poškozují přímo jeho nebo jeho infekční částice. Mezi hyperparazity lze zařadit tzv. hypoviry, fakultativní parazity, obligátní bakteriální patogeny a částečně i predátory. V porovnání s hyperparazitismem je mikrobiální predace mnohem obecnějším, nespecifickým typem interakce, a tedy lze mnohem hůře predikovat její vliv na rostliny (12). Často také dochází vlivem okolních podmínek k úpravě životních strategií (2).

Antibióza

Existuje četné množství mikroorganismů produkujících látky s antibiotickou aktivitou. Efekt antibiotického působení nemusí být vždy specifický, avšak okolní organismy jsou různě citlivé vůči tomuto působení. Důležitou podmínkou je také dostatečná produkce – dávka a vzdálenost od cílového organismu (5).

Produkce metabolitů

Tato kategorie se prolíná s předchozí, ale ta je specifikována pouze tvorbou látek sekundárního metabolismu. V této kategorii jsou zahrnuty látky, které rovněž omezují výskyt a růst patogenu, jedná se o látky typu lytických enzymů, které štěpí polymery jako chitin, proteiny, celulózu, hemicelulózu a nukleové kyseliny nebo látky jako je kyanovodík (HCN), který efektivně blokuje enzym cytochromoxidázu v respiračním cyklu aerobních organismů i ve velmi malých koncentracích (19). Bylo prokázáno, že některé produkty enzymatického štěpení mají nepřímou účinnost proti rostlinným patogenům. Například oligosacharidy štěpené z buněk hyf jsou signálními molekulami v rostlinných pletivech a indukují obrannou reakci rostlin (17).

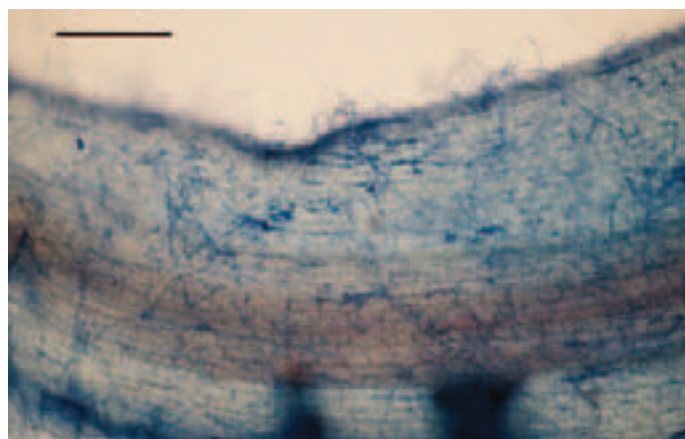
Kompetice

Bylo pozorováno, že nepatogenní mikroorganismy asociované s rostlinami (epifyté, endofyty) obecně chrání před náhlým napadením rostliny kolonizací substrátu, případně zabráním stanoviště. Také kompetice o mikroelementy a hůře dostupné prvky v závislosti na pH substrátu má vliv na složení edafonu a výskyt patogenů. V aerované půdě je například železo imobilizované a jeho využitelná forma tvoří limitní faktor, proto velká část organismů je schopna sekrece sideroforů s vysokou schopností vázat železo, včetně schopnosti vázat železo i z jiných mikroorganismů (19).

Elicitace obranné reakce rostlin

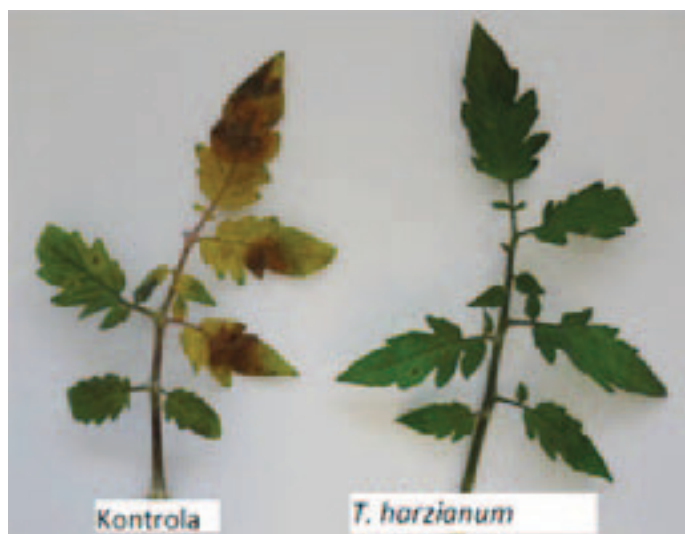
V současnosti fytopatologové zkoumají cesty indukované rezistence stimulované pomocí biocontrol agents a dalších nepatogenních mikroorganismů. První cesta je získaná systemická odolnost (angl. systemic acquired resistance) mediovaná kyselinou salicylovou, která vede k syntéze tzv. pathogen – related proteinů schopných přímo lyzovat invadující buňky, zesílit buněčnou stěnu nebo lokálně indukovat apoptózu. Další cesta – indukovaná systemická odolnost (angl. induced systemic resistance) je spojena s kyselinou

jasmonovou a ethylenem. Jasmonová kyselina slouží jako induktor tvorby sekundárních metabolitů, alkaloidů, případně je pozorován vliv na zvýšení atraktivity pro hyperparazity (16). Jasmonátová a salicylová cesta obrany jsou přirozené antagonistické a toho



Obrázek 2: Snímek kolonizace kořenů kukuřice nepatogenní houbou ze skupiny rhizoktonií. Barveno trypanovou modří v laktoglycerolu. Úsečka představuje 100 µm.

využívají některé mikroorganismy. Například *Pseudomonas syringae* produkuje látku coronatin, podobnou jasmonové kyselině na překonání kyselinou salicylovou mediovanou obranou cestu (18). Některé kmeny kořeny kolonizujících mikroorganismů mají potenciál elicitovat rostlinnou obranu například *Pseudomonas* sp. a druhu rodu *Trichoderma* (5). Velký vliv má rovněž přítomnost PGPR (angl. „plant growth promoting rhizobacteria“ – rhizobakterie podporující růst rostlin), které kontrolují výskyt mnohých patogenů (3, 13).



Obrázek 3: Listy rostlin rajčete, vlevo kontrolní varianta napadená patogenem *Botrytis cinerea*, vpravo rostliny ošetřené bioagens *Trichoderma harzianum*. Upraveno (1).

Aplikace

Úspěšné aplikace biologických přípravků vyžadují spoustu znalostí o jejich použití v terénu k vhodným genotypům šlechtěných rostlin, případně pro ošetření osiva. Introdukované organismy mají za cíl podpořit přirozené populace benefičních organismů nebo přímo redukovat škody způsobené patogeny. Důležitou součástí tohoto procesu by

mělo být i zjištění příčiny snížené přirozené populace (fumigace, nevhodná plodina, chemické a fyzikální vlastnosti půdy). Mikroorganismy přirozeně přítomné v rostlinném ekosystému pomáhají omezit choroby, pokud je jim umožněn zdravý rozvoj. Rovněž je vhodnější použití biologické ochrany jako prevence před možným vypuknutím nebo rozvojem choroby, zatímco léčení již probíhající infekce je zpravidla méně účinné (9).

Aplikace na stanoviště probíhá formou přímé aplikace na patogen, obalování semen nebo umístěním do půdního profilu. Také, v závislosti na druhu organismu aplikujeme na stanoviště jednou, příležitostně dle potřeby nebo opakovaně – sezónně (7). Také použití kompostovaného materiálu jako biologického hnojiva může také přispět k redukci a kontrole množství patogenních organismů. K efektivitě kompostu při redukci populací půdních patogenů dochází díky teplotnímu nárůstu, rozkladu organické hmoty a nové kolonizaci vhodnými typy mikroorganismů (11).

Rostlinné patogeny jsou širokou skupinou organismů využívající značnou škálu účinků na různé rostlinné orgány a pletiva nebo působí systemicky, stejnou mírou fungují i biologická agens, je proto často obtížné tyto životní strategie sjednotit. Většina výzkumu biologické ochrany se provádí na chorobách přenosných půdou (angl. „soil-borne diseases“) oproti chorobám nadzemních částí a patogenům uskladněných produktů. Aplikace biologického přípravku do půdy může ovlivňovat rozvoj patogenu nadzemních částí pouze nepřímo (6).

Do přípravků s biologickým agens se často přidávána nejrůznější aditiva, pro vytvoření optimálních podmínek k rozvoji symbiózy a také k posílení stavu hostitele. V případě specifických povrchově aktivních látek (surfaktantů) může docházet ke zpomalení růstu patogenu. U preparátů s živými organismy musí být průkazné, že organismy jsou stále infektivní, živé a schopné reprodukce, to se liší i na typu aplikace – forma granulí (vyšší životaschopnost, nízké množství infekčních částí) – forma spreje, prášku (nižší životaschopnost, velké množství propagulí) (4). Při aplikaci biologické ochrany na nadzemní části rostlin se snaží zabránit infekcím padlí, případně infekcím způsobených patogenem *Botrytis cinerea* (1).

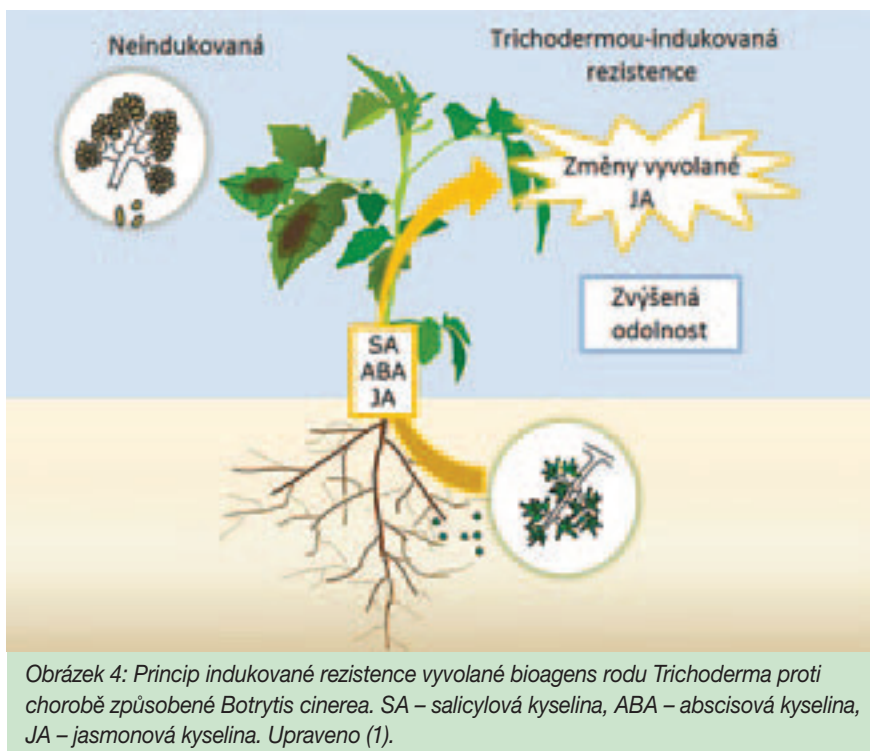
Komericializace

Možnost využití nových druhů organismů a jejich biotechnologická produkce je limitována z důvodu rozdílných projevů v závislosti na okolních podmínkách. S tím je spojeno studium vnějších i vnitřních faktorů, které efektivitu výsledného produktu ovlivňují. V současnosti je na trhu několik přípravků, převážně proti houbovým chorobám, které jsou produkovány především menšími firmami. Trend vývoje a používání biopřípravků vzrůstá, na což reagují i větší firmy a rozšiřují tak svůj sortiment. Větší firmy jsou navíc schopné v kratší době zajistit vše potřebné k registraci produktu. Kvůli komplikované registrační a testovací proceduře se mnohé přípravky s „biocontrol agents“ prodávají pod označeními typu růstový stimulant, posilovač růstu rostlin, bez zmínky o jejich protektivní schopnosti. Všechny biologické preparáty používané v České republice jsou zařazeny v registru přípravků na ochranu

rostlin vydávaném Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským.

V biologickém boji proti houbovým chorobám v průběhu vegetační sezóny nebo v rámci ochrany uskladněných produktů se využívá velkého množství druhů bakterií, resp. kmenů rodu *Lactobacillus* a to převážně u procesovaných produktů, dále rody *Lactococcus*, *Acetobacter*, a kmeny *Bacillus cereus* a *Bacillus subtilis*. Dále se mohou používat i některé druhy kvasinek a hub z rodů *Pichia*, *Hanseniaspora*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Yarrowia*, *Penicillium*, *Clonostachys* a další (10).

Organismy nejčastěji využívané v aplikaci do půdy jsou například *Pseudomonas putida*, *Trichoderma* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus cereus*, *Pythium oligandrum* (5).



Závěr:

Biologická ochrana jako multidisciplinární vědní obor se zformovala v 70. letech a dnes představuje rozvinuté odvětví s podporou soukromého a jako jedna z mála agrotechnických věd i s podporou veřejného sektoru. Přes bohatou historii tohoto vědního oboru zůstávají řady otázek nezodpovězeny. Namátkou distribuce patogenu a jeho přirození antagonisté v prostředí, optimální podmínky pro účinnost bioagens, odezva přirozených nebo introdukovaných benefičních organismů na agrotechnické postupy, určující faktor kolonizace a reprodukce na stanovišti a mechanismy indukce rezistence hostitelských rostlin. Komplikované jsou rovněž způsoby aplikace na stanoviště, zvláště u nových druhů mikroorganismů, zvolení optimálního typu produkce pro integrovanou ochranu proti škůdcům, hloubka orby, závlhka, vhodné stanoviště, rotace plodin, hnojení. Využití biologické ochrany se postupně dostává do popředí, ovšem náklady spojené s tímto typem produkce mnohem přesahují náklady konvenčního zemědělství (6). Otázky vztahu k půdě, měnících se klimatických podmínkách a otázka zdraví veřejnosti, mohou být hybatelé dalších procesů. Také specifické

aplikace na ceněné komodity se dnes již neobejdou, bez pomoci biologické ochrany jako i ekologická produkce. Další aplikační výzkum biotechnologií přinese zvýšení efektivity a snížení nákladů používané biologické ochrany, jakož i snížení množství používaných chemických pesticidů.

Použitá literatura:

[1] Ashraf, S., & Zuhaib, M. (2013). Fungal biodiversity: a potential tool in plant disease management. In *Management of Microbial Resources in the Environment* (pp. 69–90). Springer, Dordrecht.

[2] Benhamou, N., & Chet, I. (1997). Cellular and Molecular Mechanisms Involved in the Interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(5), 2095–2099.

[3] Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327–1350.

[4] Cook, R. J. (1993). Making greater use of microbial inoculants in agriculture. *Annual Review of Phytopathology*, 31, 53–80.

[5] Haas, D., & D'fago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature reviews microbiology*, 3(4), 307.

[6] Heydari, A., & Pessarakli, M. (2010). A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. *Journal of Biological Sciences*, 10(4), 273–290.

[7] Heydari, A., Fatahi, H., Zamanizadeh, H., Hasan, Z. N., & Naraghi, L. (2004). Investigation on the possibility of using bacterial antagonists for biological control of cotton seedling damping-off in green house. *Applied entomology and phytopathology* 72(1), 51–68.

[8] Chisholm, S. T., Coaker, G., Day, B., & Staskawicz, B. J. (2006). Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell*, 124(4), 803–814.

[9] Irtwange, S. V. (2006). Application of biological control agents in pre-and postharvest operations. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*.

[10] Leyva Salas, M., Mounier, J., Valence, F., Coton, M., Thierry, A., & Coton, E. (2017). Antifungal microbial agents for food biopreservation—a review. *Microorganisms*, 5(3), 37.

[11] Mehta, C. M., Palni, U., Franke-Whittle, I. H., & Sharma, A. K. (2014). Compost: its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. *Waste management*, 34(3), 607–622.

[12] Milgroom, M. G., & Cortesi, P. (2004). Biological control of chestnut blight with hypovirulence: a critical analysis. *Annual Review of Phytopathology*, 42, 311–338.

[13] Nadeem, S. M., Ahmad, M., Zahir, Z. A., Javaid, A., & Ashraf, M. (2014). The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology advances*, 32(2), 429–448.

[14] Pereira, J. L., Antunes, S. C., Castro, B. B., Marques, C. R., Gonçalves, A. M., Gonçalves, F., & Pereira, R. (2009). Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. *Ecotoxicology*, 18(4), 455–463.

[15] Pimentel, D., Acquay, H., Biltonen, M., Rice, P., Silva, M., Nelson, J., Lipner, V., Giordano, S., Horowitz, A & D'amore, M. (1992). Environmental and economic costs of pesticide use. *BioScience*, 42(10), 750–760.

[16] Pozo, M. J., Van Loon, L. C., & Pieterse, C. M. (2004). Jasmonates-signals in plant-microbe interactions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 23(3), 211–222.

[17] Radman, R., Saez, T., Bucke, C., & Keshavarz, T. (2003). Elicitation of plants and microbial cell systems. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 37(1), 91–102.

[18] Robatzek, S., & Saijo, Y. (2008). Plant immunity from A to Z.

[19] Shahraki M., Heydari A., Hassanzadeh N. (2009). Investigation of antibiotic, siderophore and volatile metabolite production by bacterial antagonists against *Rhizoctonia solani*. *Iranian Journal of Biology* 22 (1): 71–84.

Citace přílohy:

Martínez-Medina, A., Fernández, I., Sánchez-Guzmán, M. J., Jung, S. C., Pascual, J. A., & Pozo, M. J. (2013). Deciphering the hormonal signalling network behind the systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* in tomato. *Frontiers in plant science*, 4, 206.

Poděkování

Článek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZe-RO1118.



V jarních měsících očekávejte příchod silného hurikánu, který zasáhne celou Českou republiku.

Ohrožena je chundelka metlice a všechny dvouděložné plevy, následně se očekává extrémně vysoká úroda obilnin.



Info: 602 275 038