

Primjena endofitnih organizama u zaštiti bilja

Sažetak

Stalna uporaba sistemičnih pesticida može povećati prinos i kvalitetu usjeva, ali dovodi do povećanja rezistentnosti štetnih organizama, ali i do pojavnosti rezidua u hrani i okolišu. Stoga je namjera okolišno šetne načine zaštite bilja zamijeniti alternativnima, koristeći ekološki prihvatljivije komponente. Biološka zaštita bilja suprotnost je korištenju kemijskih pesticida te pozitivno utječe na bioraznolikost i razvoj bioloških ciklusa. Jedan od oblika biološke zaštite je i primjena endofitnih organizama koji u svom životnom ciklusu nastanjuju biljku, ali joj ne čine štetu niti u jednom stadiju svoga rasta i razvoja. Trenutno je poznato kako postoji preko milijun vrsta endofitnih mikroorganizama što u prosjeku govori kako je svaka biljka domaćin tri do četiri vrste. Dobrobiti koje biljka domaćin ima su višestruki, poput poboljšanog rasta i razvoja, zaštite od štetnika, bolje apsorpcije nutrijenata, veće otpornosti na abiotski i biotski stres.

Ključne riječi: endofitni organizmi, biološka zaštita, štetni organizmi

Uvod

U nekoliko posljednjih desetljeća potražnja za hranom i prehrabbenim proizvodima zahvata veću, a ne i maksimalnu produktivnost poljoprivredne proizvodnje. U takvim uvjetima, uz primjenu modernih tehnologija, prisutno je stalno, a često i pretjerano korištenje sredstava za zaštitu bilja (SZB). Lako su u svom djelovanju brza i učinkovita, neka od SZB često su biološki nerazgradiva i kao takva imaju štetan utjecaj na okoliš i na čovjeka (Huffaker, 2012).

Pojavom negativnih utjecaja uzrokovanih masovnom uporabom SZB, poput rezidua u hrani, vodi i općenito okolišu, pojačano je zanimanje za ekološku proizvodnju. Primjetan je trend porasta broja proizvođača, a također i poljoprivrednih površina u ekološkoj poljoprivredi (Gugić i sur., 2017). Integrirana zaštita bilja, kojom se predviđa korištenje svih mogućnosti zaštite biljaka prije upotrebe SZB, podrazumijeva provođenje tzv. nepesticidnih odnosno nekemijskih mjera. U prvom redu to je provođenje propisanog plodoreda i odabir otpornijih genotipova, kao i provođenje svih ostalih agrotehničkih mjera uz mehaničke, fizikalne i biološke oblike zaštite (Bažok i sur., 2014). Biološki načini zaštite neizostavni su u ekološkoj poljoprivredi, a njihovom primjenom učinak na okoliš upravo je suprotan onom koji imaju SZB. Primjernom biološkim pripravaka unaprjeđuju se biološki ciklusi, poboljšava bioraznolikost te ne postoje nikakva bojazan od zagađenja čovjekovog okoliša i prirode u cjelini.

Biljke su stanište raznolikim i mnogobrojnim mikroorganizmima, među njima i endofitima. Endofitni organizmi nastanjuju unutarnje tkivo biljke i ne pokazuju vanjske znakove infekcije, odnosno negativan učinak na domaćina. Govoreći o brojnosti endofita, utvrđeno je da svaka biljka ima jedan ili više endofitnih organizama te najvjerojatnije ne postoji niti jedna koja ih je lišena. Kako je proučavanje endofita intenzivirano u posljednje vrijeme tek je za nekoliko biljaka potpuno proučen odnos s njihovim endofitim. Stoga se nameće zaključak da postoje brojne prilike za pronalaženje novih i korisnih endofitnih mikroorganizama (Prasad i Dagar, 2014).

¹ Slavko Grgić, mag. ing. agr., Helena Ereš, univ. bacc. ing. agr., student, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku,
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, 31000 Osijek, Hrvatska

² prof. dr. sc. Renata Baličević, prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, izv. prof. dr. sc. Jelena Ilić, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku,
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, 31000 Osijek, Hrvatska
Autor za korespondenciju: slavko.1309@gmail.com

Bioška zaštita bilja

Bioška kontrola se do današnjih dana definira na mnoge načine, a jedna od najjednostavnijih definicija je da se u bioškoj kontroli koristi jedan ili više organizama da bi se smanjila brojnost drugog ili drugih organizama koji su štetni, uključujući kontrolu kukaca, korova i uzročnika biljnih bolesti (Bale i sur., 2008). Nadalje, biljna kontrola ili zaštita, podijeljena je na tri osnovne razine djelovanja: klasična, augmentativna (inundativna i inokulativna) i konzervacijska (Ravlić i Baličević, 2014).

Endofitni organizmi

Pojam „endofiti“ prvi je uveo De Bary 1866. godine opisujući ih kao „bilo koji organizam unutar biljnog tkiva“ (Mishra i sur., 2011), dok je prvo istraživanje endofita (Kusari i sur., 2012) provedeno 1904. godine ispitujući debelovlatni ljlj (Lolium temulentum L.).

Endofiti su mikroorganizmi, bakterije i gljive, koje su nastanjene u biljnim tkivima. Svojim prisustvom biljkama ne nanose nikakve neposredne negativne učinke, a također se navodi kako je u više od 300.000 postojećih biljnih vrsta moguće pronaći jedan ili više endofita. Iako je utvrđeno da postoji oko milijun vrsta endofita tek je nekolicina u potpunosti istražena i poznata su njihova svojstva (Sadrati i sur., 2013). Uz navedenu definiciju endofita postoje još mnoge, ali sve imaju jednak zaključak – endofiti su mikroorganizmi koji žive unutar biljnog tkiva (uključujući korijen, stabljiku, list, cvijet i sjeme), biljci ne nanose štetu, dapače, mnoge vrste pomažu biljci i poboljšavaju njene obrambene mehanizme (Bacon i White, 2015).

Endofitni mikroorganizmi uglavnom nastanjuju međustanični prostor, dok određene vrste mogu nastaniti i same stanice. Uz obrambene mehanizme mnogi endofiti pozitivno utječu na brojne čimbenike u poljoprivrednoj proizvodnji, poput veće otpornosti na biotski i abiotički stres, ali i pomažu u boljoj apsorpciji hranjivih tvari iz tla (Kuzniar i sur., 2019).

Hardoim i sur. (2015) navode kako je uz zasebna istraživanja jedne vrste endofita u biljci nužno istražiti i interakcije primjerice dvije ili više vrsta endofita, a zatim i njihov utjecaj na biljku domaćina. Također navode da je potrebno provesti više istraživanja koja će se odvijati u slabije kontroliranim uvjetima kako bi spoznali reakciju biljke na pojavu endofita kada je biljka u okolišno stresnim uvjetima.

Moderna poljoprivreda praćena je brojnom primjenom sredstava koja omogućuju bolji rast biljke u svrhu ostvarivanja boljeg prinosa. Jedan od najpoznatijih primjera je korištenje mikoriznih gljiva roda *Glomus* i krvžičnih bakterija *Bradyrhizobium japonicum* čijom se kombinacijom ostvaruje primarni cilj odnosno bolji prinos i kvaliteta zrna soje. Također se povećava apsorpcijska moć korijena, lakše je upijanje vode, minerala i nutrijenata kao i veća otpornost na parazitne gljive, nematode, abiotički stres i teške metale (Pušić i sur., 2008, Santos i sur., 2018, Krimi i sur., 2016). Nadalje, Santos i sur. (2018) navode brojne endofitne bakterije koje uporabom u poljoprivredi rezultiraju većim prinosom ili poboljšanim uvjetima koje doprinose biljci. Mnoge vrste gljiva potiču rast biljaka i smatraju se protektantima biljaka u okolišno stresnim uvjetima. Odnos između biljaka i mikroorganizama rezultirao je i proizvodnjom velikog broja sekundarnih metabolita i bioaktivnih komponenti koje svoju primjenu imaju u poljoprivredi, ali i drugim granama gospodarstva.

Tako primjerice bakterije iz roda *Enterobacter* i *Herbaspirillum* pomažu boljem rastu kupusa, dok kod kukuruza *Azospirillum brasilense*, *A. lipoferum*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus subtilis*, *B. lenthimorbus* i *Sptreptomyces* vrste omogućavaju bolju fiksaciju dušika, sintezu, bolji rast i prinos, zaštitu od patogenih gljiva. Bolji rast i veći prinos kod pšenice zabilježen je u međusobnom odnosu s bakterijama *B. subtilis*, *Arthrobacter sp.*, *B. cepacia*, *Azospirillum sp.*.

Većina istraživanja usmjerena je prema endofitima kao stimulatorima rasta i razvoja. (Pavithra i sur., 2020). Kako je većina navedenih istraživanja podijeljena na bakterijske i gljivične

endofite, a tek nekolicina istraživača obrađuje i međusobni utjecaj, dodatno je usmjereno na djelovanje sekundarnih metabolita.

Najbolji oblik uporabe endofita u poljoprivredi još uvijek nije utvrđen te se kao oblici dodavanja inokulanata ističe tretiranje sjemena ili tla prije sjetve. Ovakva primjena inokulanata još uvijek nije razvijena u dovoljnoj mjeri te postoje mnogi problemi kada je riječ o primjeni u polju. Postoji velika ovisnost o okolišnim uvjetima, vremenu sjetve ili sadnje pa i samim biljkama (Le Cocq i sur., 2016).

Rana i sur. (2019) proveli su opsežno istraživanje o pojavi i vrstama endofita koje se javljaju na šest kultiviranih biljaka: ječam, kukuruz, riža, soja, šećerna trska i pšenica. Utvrđili su da većina endofita pripada pododjelu Ascomycota dok je ostatak raspoređen na 14 drugih pododjela i to kako slijedi: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Cryptococcus*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Metarhizium*, *Mucor*, *Ophiognomonia*, *Penicillium*, *Phomopsis*, *Trichoderma* i *Xylaria*. Također navode da je istraživanjima utvrđeno kako su u većini promatranih usjeva najzastupljeniji rodovi endofitskih gljiva iz rodova *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* i *Phomopsis*.

Forić i sur. (2018) utvrđili su insekticidno djelovanje *Metarhizium spp.* na ekonomski važne vrste štetnih kukaca te navode kako je učinkovitost bila na razini kemijskih insekticida. Uz navedeno svojstvo bioinsekticida također je utvrđeno i biostimulativno te svojstvo biofertilizatora. Navode autora potvrđuju i druga istraživanja s jednakim tvrdnjama, tj. potvrđuju postojanje snažnih, selektivnih i sigurnih alternativnih metoda zaštite od štetnih insekata (Lugtenberg i sur., 2016, Brandl i sur. 2016, George, 2017).

Suryanarayanan (2019.) navodi da endofitni organizmi i njihovi sekundarni metaboliti štetno utječu i na rast korova uzrokujući klorozu, a zatim i propadanje odnosno nekrozu tkiva korova. Singh i sur. (2018.) proveli su istraživanje kojim je utvrđeno kako endofiti mogu biti izvor metabolita s herbicidnim djelovanjem.

Zaključak

Novi trendovi, ali i podizanje svijesti o važnosti zaštite okoliša pa i zdravlja čovjeka imaju za cilj smanjenje upotrebe pesticida, posebice onih koji su ekološki neprihvatljivi.

Važno je istaknuti kako se primjenom biopesticida doprinosi smanjenju zagađenosti tla, povećanju bioraznolikosti uz izbjegavanje štetnih rezidua i pojavu rezistentnosti.

Endofitni organizmi su pokazali iznimnu mogućnost adaptacije u biljci domaćinu te svojim boravkom unutar biljaka ne nanose štetu. Dugoročno gledano endofiti doprinose rastu i razvoju biljke povećavajući njenu otpornost na štetne organizme, ali i uvjete abiotskog i biotskog stresa. S obzirom na brojnost vrsta endofita, pa i samih biljaka, otvorene su velike mogućnosti za dodatna istraživanja i utvrđivanje benefita koje endofiti imaju za biljke, a u konačnici i za čovjeka.

Literatura

- Bacon, C. W., White, J. F. (2015) Functions, mechanisms and regulation of endophytic and epiphytic microbial communities of plants. *Symbiosis*, 68, 87-98.
- Bale, J. S., van Lenteren, J. C., Bigler, F. (2008) Biological control and sustainable food production. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 363, 761–776; doi:10.1098/rstb.2007.2182.
- Bažok, R., Gotlin Čuljak, T., Grubišić, D. (2014) Integrirana zaštita bilja od štetnika na primjerima dobre prakse. Glasilo biljne zaštite, 14(5), 357-390.
- Brandl, M. A., Schumann, M., Przyklenk M., Patel A., Vidal S. (2016) Wireworm damage reduction in potatoes with an attract-and-kill strategy using *Metarhizium brunneum*. *Journal of pest science*, 90(2), 479-493.
- Forić, N., Sarajlić, A., Vrandečić, K., Majić, I. (2018) Potencijal entomopatogenih gljiva *Metarhizium spp.* u suzbijanju štetnih kukaca. *Glasnik zaštite bilja*, 41(4), 22-30.
- George, A. (2017) Role of endophytes in Insect Control. *Acta Scientific Agriculture*, 1(4), 1-3.
- Gugić, J., Grgić, I., Dobrić, B., Šustec, M., Đzepina M., Zrakić, M. (2017) Pregled stanja i perspektiva razvoja ekološke poljoprivrede u Republici Hrvatskoj. *Glasnik zaštite bilja*, 40(3), 20-30.

- Hardoim, P. R., Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., Sessitsche, A. (2015) The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293-320.
- Huffaker, C. B. (1977) Theory and Practice of Biological Control. Academic Press.
- Kuzniar, A., Włodarczyk, K., Wolinska, A. (2019) Agricultural and Other Biotechnological Applications Resulting from Trophic Plant-Endophyte Interactions. *Agronomy*, 9(12), 779.
- Krimi, Z., Alim, D., Taffifet, L., Mohamed-Mohmoud, F., Raio, A. (2016) Bacterial endophytes of weeds are effective biocontrol agents of *Agrobacterium* spp., *Pectobacterium* spp., and promote growth of tomato plants. *Phytopathologia Mediterranea*, 55(2), 184-196.
- Le Cocq, K., Guri S. J., Hirsch P. R., Mauchline, T. H. (2016) Exploitation of Endophytes for sustainable agricultural intensification. *Molecular Plant Pathology*, 18(3), 469-473.
- Lugtenberg, B. J. J., Caradus, J. R., Johnson, L. J. (2016) Fungal endophytes for sustainable crop production. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(12), fiw 194.
- Mishra, A., Gond, S. K., Kumar, A., Sharma, V. K., Verma, S. K., Kharwar, R. N. (2012) Sourcing the Fungal Endophytes: A Beneficial Transaction of Biodiversity, Bioactive Natural Products, Plant Protection and Nanotechnology. U: T. Satyanarayana, B.N. Johri, A. Prakash, ur. *Microorganisms in Sustainable Agriculture and Biotechnology*, Springer.
- Pavithra, G., Bindal, S., Rana, M., Srivastava, S. (2020) Role of Endophytic Microbes Against Plant Pathogens: A Review. *Asian J. Plant Sci.*, 19 (1), 54-62.
- Prasad, M. P., Dagar, S. (2014) Identification and characterization of Endophytic bacteria from fruits like Avocado and Black grapes. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.*, 3(8), 937-947.
- Pušić, D., Kristek, S., Kristek, A., Antunović, M. (2008) Utjecaj krvžičnih bakterija i mikoriznih glijiva na elemente prinosu soje. U: Pospišil, M., ur. *Zbornik radova 43. hrvatskog i 3. međunarodnog simpozija agronomije, Opatija 18-21.2.2008.*, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, 619-623.
- Rana K. L., Kour, D., Sheikh, I., Yadav N., Yadav, A. N., Kumar, V., Singh, B. P., Dhaliwal, H. S., Saxena, A. K. (2019) Biodiversity of Endophytic Fungi from Diverse Niches and Their Biotechnological Applications. U: B.P. Singh, ur. *Advances in Endophytic Fungal Research*, Springer.
- Ravlić, M., Baličević, R. (2014) Biološka kontrola korova bilnjim patogenima. *Poljoprivreda* 20(1), 34-40.
- Sadrati, N., Daoud, H., Zerroug, A., Dahamna, S., Bouharati, S. (2013) Screening Of Antimicrobial And Antioxidant Secondary Metabolites From Endophytic Fungi Isolated From Wheat (*Triticum Durum*). *Journal of plant protection research*, 53(2), 128-136.
- Santos, M. L., Berlitz, D. L., Wiest, S. L. F., Schunemann, R., Knaak, N., Fiuzza, L. M. (2018) Benefits Associated with the Interaction of Endophytic Bacteria and Plants. *Brazilian archives of biology and technology*, 61.
- Singh, H., Naik, B., Kumar, V., Bisht, G. S. (2018) Screening of endophytic actinomycetes for their herbicidal activity. *Annals of Agrarian Science*, 16(2), 101–107.
- Suryanarayanan, T. S. (2019) Endophytes and weed management: a commentary. *Plant Physiol. Rep.*, 24, 576-579.

Prispjelo/Received: 9.6.2021.

Prihvaćeno/Accepted: 23.6.2021.

Review paper

Use of endophytes in plant protection

Abstract

Constant use of systemic pesticides can increase the yield and quality of crops, but also leads to increased resistance and to appearance of residues in food and the environment. Therefore, the intention is to replace environmentally unfriendly plant protection methods with alternative ones. Biological protection of plants is the opposite of the use of pesticides and has a positive effect on biodiversity and the development of biological cycles. One of the forms of biological protection is the application of endophytic organisms that inhabit the plant in their life cycle, but do not harm it at any stage of their growth and development. It is currently known that there are over a million species of endophytic microorganisms which on average suggests that each plant hosts three to four species. The benefits that the host plant has are multiple, such as improved growth and development, protection from pests, better absorption of nutrients, greater resistance to abiotic and biotic stress.

Keywords: endophytes, biological plant protection, pests