



UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Domen CIGALE

**KORENINSKI EKSUDATI KOT POTENCIALNO
PREVENTIVNO SREDSTVO PROTI ŠKODLJIVIM
ORGANIZMOM V EKOLOŠKI PRIDELAVI**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij – 1. stopnja

Ljubljana, 2019

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Domen CIGALE

**KORENINSKI EKSUDATI KOT POTENCIALNO PREVENTIVNO
SREDSTVO PROTI ŠKODLJIVIM ORGANIZMOM V EKOLOŠKI
PRIDELAVI**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij Agronomije – 1. stopnja

**ROOT EXUDATES AS POTENTIALLY PREVENTIVE AGENT
AGAINST HARMFULL ORGANISMS IN ORGANIC PRODUCTION**

B. SC. THESIS
Academic Study Programmes

Ljubljana, 2019

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študijskega programa prve stopnje Kmetijstvo – agronomija. Delo je bilo opravljeno na Katedri za aplikativno botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in informatiko.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete je za mentorja diplomskega dela imenovala doc. dr. Klemna Elerja.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Metka HUDINA
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Klemen ELER
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: izr. prof. dr. Franci Aco CELAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora: 6 september 2019

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du1
- DK UDK 632.3/.7:632.937:581.135.5(043.2)
- KG ekološka pridelava, varstvo rastlin, koreninski eksudati, škodljivi organizmi
- AV CIGALE, Domen
- SA ELER, Klemen (mentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, univerzitetni študijski program prve stopnje Kmetijstvo – agronomija
- LI 2019
- IN KORENINSKI EKSUDATI KOT POTENCIALNO PREVENTIVNO SREDSTVO PROTI ŠKODLJIVIM ORGANIZMOM V EKOLOŠKI PRIDELAVI
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij – 1. stopnja)
- OP VI, 20 str., 2 pregl., 3 sl., 15 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Koreninski eksudaciji rastline namenjajo dobršen del svojih asimilatov. Njihovo pomembnost za rastline še vedno odkrivamo, kažejo pa se učinki eksudatov na rizosferne organizme (tudi parazitske), na sosednje rastline (alelopatija), na boljši privzem hranil in drugo. Koreninski eksudati se lahko tako delijo v grobem na snovi z majhno in snovi z veliko molekulsko maso, vsaka pa ima različne načine delovanja. Diploma se osredotoči na možnosti uporabe koreninskih eksudatov za omilitev škod na kmetijskih rastlinah, ki jih povzročajo talni škodljivci in bolezni. Poiskati je treba nove, okoljsko sprejemljivejše možnosti zatiranja zaradi naraščanja pridelave ekološke hrane in omejitve uporabe fitofarmaceutskih sredstev, kar je posledica strožje zakonodaje. Potencialnih rastlin za pridobivanje koreninskih eksudatov je precej, podrobneje sem opisal grah, križnice in koruzo. Pridobivanje samih koreninskih eksudatov pa je še v povojih, večina načinov pridobivanja je zaenkrat primerna le za laboratorijske poskuse. Največji potencial za pridobivanje eksudatov v pridelavi ima tehnika z kontinuiranim spiranjem. Sama aplikacija koreninskih eksudatov lahko poteka s kolobarjenjem, medsetvijo, biofumigacijo, škropljenjem ekstraktov in drugače. Potencial uporabe koreninskih eksudatov kot preventivnega sredstva v ekološki pridelavi je na podlagi pregledanih člankov znaten.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du1

DC UDC 632.3/.7:632.937:581.135.5(043.2)

CX ecological production, plant protection, root exudates, pests

AU CIGALE, Domen

AA ELER, Klemen (supervisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy, Academic Study Programme in Agriculture - Agronomy

PY 2019

TI ROOT EXUDATES AS POTENTIALLY PREVENTIVE AGENT AGAINST HARMFUL ORGANISMS IN ORGANIC PRODUCTION.

DT B. Sc. Thesis (Academic Study Programmes)

NO VI, 20 p., 2 tab., 3 fig., 15 ref

LA sl

AL sl/en

AB Plants spend a good portion of their assimilates for root exudation. The importance of this process for plants is still being discovered. The effects on rhizospheric organisms (also parasitic), on adjacent plants (allelopathy), on larger nutrient uptake and more are rather well known. Root exudates can be roughly divided into low molecular weight and high molecular weight substances, each having different modes of action. The diploma thesis focuses on possibilities of using root exudates against soil pests. New, environmentally friendly control options against pests are being investigated in order to increase the production of organic food and restrict the use of synthetic pesticides as a result of stricter legislation. There are many potential plants for root exudate production; here I put the emphasis on pea, Cruciferae and corn. However, the larger-scale extraction of root exudates is still in its infancy, and most of the extraction methods are only suitable for laboratory experiments. The greatest potential for producing exudates in cultivation is the technique of continuous rinsing. The application of root exudates, however, can be executed through crop rotation, interplanting, biofumigation, extract spraying, and more. The potential of using root exudates as a preventive agent in organic production is very promising based on the articles reviewed here.

KAZALO VSEBINE

	Str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO SLIK.....	VI
1 UVOD	1
1.1 PROBLEM OMEJITVE FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV V PRIDELAVI	2
1.1.1 Omejitve fitofarmacevtskih sredstev in naraščanje eko pridelave.....	2
2 VRSTE KORENINSKIH EKSUDATOV IN NAČINI NJIHOVEGA DELOVANJA.....	2
2.1 UČINKI KORENINSKIH EKSUDATOV.....	4
2.1.1 Vpliv na okoliške rastline	6
2.1.2 Delovanje koreninskih eksudatov na mikroorganizme	6
2.1.3 Vpliv na glive	7
2.1.4 Vpliv na škodljive insekte in nematode.....	8
2.1.5 Vpliv koreninskih eksudatov na fizikalne lastnosti tal.....	8
2.2 SPECIFIČNOST EKSUDATOV PRI RASTLINSKIH VRSTAH IN POTENCIALNE RASTLINE ZA PRIDOBIVANJE EKSUDATOV	9
2.2.1 Invazivne rastline	11
2.3 PRIDOBIVANJE IN IDENTIFIKACIJA EKSUDATOV TER POCENITEV POSTOPKOV	12
2.4 APLIKACIJA.....	13
2.4.1 Spodbujanje razvoja rast spodbujajočih bakterij	14
2.4.2 Biofumigacija tal s križnicami	14
2.4.3 Škropljenje koreninskih eksudatov na nadzemni del rastline	14
2.4.4 Aplikacija z bioogljem	15
2.4.5 Inokulacija z glivami lahko izzove sintezo določenih koreninskih eksudatov.....	16
3 ZAKLJUČEK.....	16
4 VIRI.....	16

KAZALO SLIK

	Str.
Slika 1: Primeri pesticidov na rastlinski podlagi, ki se delijo v razrede sekundarnih metabolitov (prirejeno po Marschner, 1995).....	4
Slika 2: Interakcije med koreninami rastlin, ki izločajo koreninske eksudate, in talnimi organizmi (prirejeno po Bais in sod., 2006).....	5
Slika 3: Na levi strani je označen odstotek kaliteve spor glive <i>Fusarium</i> sp.z belimi stolpci, črni stolpci pa kažejo koncentracijo pisatina za vsakega od izvlečkov iz različnih sort. (prirejeno po Bernklau in sod., 2016).	10

1 UVOD

Koreninski eksudati (izločki) bi lahko v prihodnosti postali v pridelavi kmetijskih rastlin ena izmed okoljsko bolj sprejemljivih alternativ fitofarmaceutskim sredstvom. Samo v Ameriki imajo zaradi ličinke koruznega hrošča (*Diabrotica virgifera virgifera*) vsako leto za slabi dve milijardi dolarjev finančnih izgub pri pridelavi koruze (Mueller in sod., 2016). To je eden najbolj razširjenih talnih škodljivcev na svetu, proti kateremu trenutno uporabljajo talne insekticide, ki jih je možno aplicirati v tla le pred setvijo, kar pa včasih ni dovolj v primeru hujšega napada škodljivca. Možna pa je sicer uporaba gensko spremenjene BT koruze, ki v Evropi ni dovoljena, kaže pa se tudi že odpornost škodljivcev proti tej koruzi. Strokovnjaki zato iščejo nove načine zatiranja talnih škodljivcev, eden od njih je lahko tudi uporaba koreninskih eksudatov, ki bi delovali kot preventivno sredstvo. Vplivajo lahko namreč na vedenje žuželk, tako neposredno kot posredno, na različne načine pa tudi na ostale organizme agroekosistema, npr. škodljive glive in bakterije.

Ogljik, fiksiran s fotosintezo, se izloči iz korenin z depozicijo v obliki različnih organskih snovi oziroma koreninskih eksudatov. Ti vplivajo na številne biološke in ekološke procese v tleh. Posledica je interakcija med rastlino, ki jih izloča, in okoliškimi organizmi. Večina teh procesov poteka v rizosferi, ki je le nekaj milimetrov debela plast tal okoli korenin (Bais in sod., 2006). Rastlina v korenine vloži približno polovico vsega fiksiranega ogljika, ta pa se porabi za vzdrževanje talnih razmer in talnih organizmov, kar je nujno za prehrano rastline. Za koreninske eksudate rastline namenjajo 10–44 % vsega ogljika, odvisno od okoljskih dejavnikov. Izločanje (eksudacija) se npr. poveča ob pomanjkanju dušika (Paterson in Sim, 2000). Nekatere snovi se izločajo ves čas, nekatere pa šele po okužbi ali drugem stresu. To omogoča kompleksno uravnavanje, saj si rastlina ne more brez povoda privoščiti stalnega izločanja energetske potratnih snovi. Interakcije lahko potekajo med rastlino, ki izloča eksudate, in okoliškimi rastlinami, škodljivimi herbivori ali mikroorganizmi (Bais in sod., 2006).

Rastline namenjajo eksudaciji korenin znaten delež svojih asimilatov, mlade rastline celo 30–40 % vseh ogljikovih hidratov, tvorjenih s fotosintezo (Lumsden in sod., 1990). Razlog za tako potrošnjo energije pri rastlinah se skriva v tem, da lahko z vplivanjem na koristne organizme v rizosferi preoblikujejo okolico sebi v prid. Za razliko od večine živali, ki se lahko premaknejo in zamenjajo okolico, ko jim ne ustreza več, je rastlini usojeno isto rastišče vse življenje. Zato uporablja koreninske eksudate za spreminjanje (talnega) okolja v najprimernejšega. Rastlina vpliva na okolico z spremembo strukture tal, prisotnosti koristnih rizobakterij, dostopnosti fosforja in mikrohranil, vzpostavitve interakcij z naravnimi sovražniki in ostalimi razmerami v tleh. Tako lahko rastline z eksudacijo zmanjšajo konkurenco z drugimi rastlinami, povečajo dostopnost hranil in odvrčajo škodljive organizme.

V diplomskem delu sem na kratko opredelil koreninske eksudate glede na njihovo kemijsko sestavo in opisal na katere organizme lahko vplivajo. Pregledal sem, katere rastline imajo potencial za pridobivanje koreninskih eksudatov, kako bi potekalo njihovo pridobivanje in kako bi jih aplicirali.

1.1 PROBLEM OMEJITVE FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV V PRIDELAVI

1.1.1 Omejitve fitofarmaceutskih sredstev in naraščanje eko pridelave

Danes je vedno bolj promovirana in prodajana ekološko pridelana hrana. Ocenjujejo, da se bo v prihodnosti pridelava ekološke prehrane lahko še povečevala. V letu 2017 je bilo na svetu skupno 69,8 milijona hektarjev ekoloških kmetijskih površin. Od tega 35,9 milijona hektarjev v Evropi, torej več kot polovica (The World ..., 2019). Zaradi povečevanja površin v ekološki pridelavi se bomo morali spopasti z omejitvami uporabe fitofarmaceutskih sredstev (FFS). Enako je tudi v integrirani pridelavi, kjer je z leti vedno več prepovedanih sredstev, nekatera pa se bodo kmalu prepovedala, npr. neonikotinoide. Pri pridelavi se bomo morali manj zanašati na kurativo (škropljenje s FFS-ji) in bolj na preventivo. Z boljšim poznavanjem naravnih procesov v tleh, razvojnih ciklov škodljivih organizmov in okoljskih dejavnikov lahko vedno bolje predvidevamo pojave bolezni. Posledično se zmanjša uporaba FFS. Lahko pa se FFS uporablja v kombinaciji z okoljsko sprejemljivejšimi sredstvi, kot so koreninski eksudati. Z uporabo preventivnih sredstev bi lahko preprečili nastanek škode na pridelku še pred okužbo. Tako bi bila uporaba FFS minimalna in ustrežnejša novi zakonodaji. Pomembna pa bi lahko bila tudi uporaba koreninskih eksudatov v kombinaciji z drugimi sredstvi, kot je entomopatogena gliva *Beauveria bassiana*, uporaba katere lahko znatno poveča pridelek. (Russo in sod., 2019).

2 VRSTE KORENINSKIH EKSUDATOV IN NAČINI NJIHOVEGA DELOVANJA

Rastline iz korenin izločajo eksudate, ki so raznolika skupina snovi. V grobem se delijo na dve skupini (Marschner, 1995). V prvi skupini so snovi z nizko molekularno maso (hormoni, fitosiderospore, glukoza idr.). Ta skupina je precej raznolika in omogoča signalizacijo in interakcijo rastline z okoliškimi organizmi. V drugo skupino spadajo snovi z veliko molekularno maso (polimeri proteinov, polimeri ogljikovih hidratov idr.). Ta skupina ni tako pestra, sestavljajo pa jo predvsem beljakovine in ogljikovi hidrati. Ti eksudati lahko npr. delujejo kot gosta sluz na koreninskih vršičkih, kar omogoča boljše prodiranje korenin, izboljša strukturo tal in zmanjša izpiranje hranil (Uren, 2000).

Lahko jih delimo tudi glede na kemično sestavo oziroma kemizem na ogljikove hidrate, beljakovine in sekundarne metabolite.

Ogljikovi hidrati lahko opravljajo različne funkcije, večina pa jih spada v skupino snovi z veliko molekulsko maso. Lahko so hrana za rizobakterije, s čimer rastlina spodbuja razvoj rast spodbujajočih bakterij, ali pa se izločajo v obliki goste sluzi, ki omogoča izboljšanje strukture tal in prepreči izpiranje hranil. Primeri eksudiranih ogljikovih hidratov so arabinoza, glukoza, galaktoza, fruktoza, saharoza, pentoza, riboza in manitol (Badri in Vivanco, 2009).

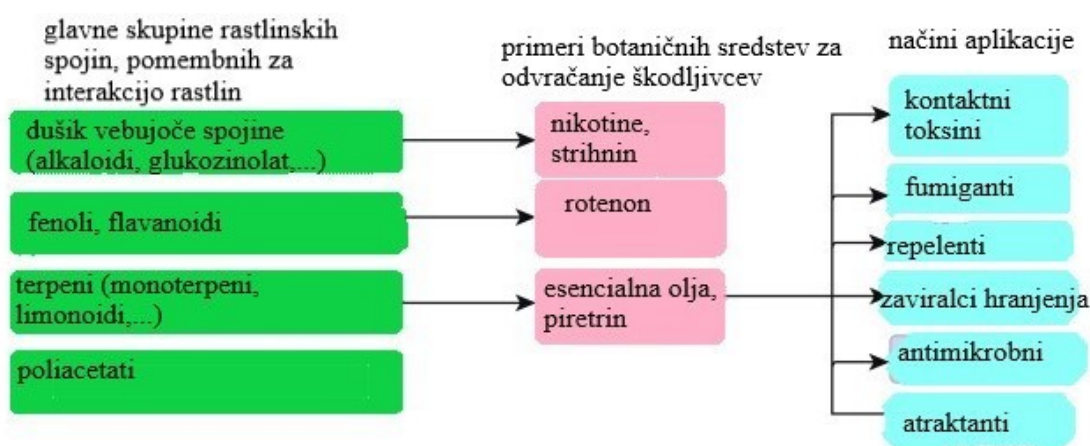
Med eksudati so tudi beljakovine, ki imajo v rizosferi veliko različnih funkcij. Delujejo lahko protimikrobno, neposredno uničujejo celično steno patogenov ali delujejo kot signalne molekule, ki sporočajo ogroženost. Nekatere beljakovine so lektin, proteaze, peroksidaze, hidrolaze in lipaze PR (angl.: pathogenesis related) (Bais in sod., 2006).

Poznamo tri glavne skupine rastlinskih sekundarnih metabolitov: fenole, terpeni in dušik vsebujoče sekundarne metabolite. Sprva so mislili, da so te snovi le stranski produkti metabolizma in brez funkcije. Z iskanjem novih zdravil in snovi za industrijske namene pa so ugotovili, da imajo za rastline pomembno funkcijo. Odvračajo lahko herbivore, privlačijo oprasovalce in delujejo kot signalne molekule z okoliškimi organizmi (Taiz in sod., 2010).

Terpeni predstavljajo največji del sekundarnih metabolitov in so večinoma netopni v vodi. Nekateri imajo vlogo pri rasti in razvoju rastlin. Pomembni so tudi pri obrambi rastlin, saj so toksini in repelenti proti številnim herbivorom, členonožcem in sesalcem. Primer je piretrin iz dalmatinskega bolhača, ki deluje insekticidno. Tu so še različni hlapni monoterpeni oziroma eterična olja, ki delujejo kot repelenti proti insektom. Fitoekdisoni (angl.: phytoecdysone) pa so snovi, ki delujejo larvicidno, saj ovirajo razvojni proces (levitev žuželk), kar pripelje do smrtnih izidov (Kubo in Klocke, 2009). Alfa-ekdison je v rastlini tvorjen nadomestek levitvenega hormona, 20-hidroksiekdisona. Med nehlapnimi terpeni najdemo še limonoide, grenke snovi, ki delujejo kot insekticidni repelenti. Najmočnejši med repelenti je azadiraktin, ki ga najdemo v drevesu neem (*Azadirachta indica*) iz Indije in vpliva na več kot 200 vrst insektov (Taiz in sod., 2010).

Rastlinski fenoli so heterogena skupina približno 10.000 spojin, ki so lahko topne (karboksilne kisline, glikozidi) ali netopne (veliki polimeri). Njihova naloga je med drugim tudi varstvo rastlin pred herbivori in patogeni. Večina rastlinskih fenolov nastane prek poti šikimične kisline iz treh aminokislin, fenilalanina, tirozina in triptofana. Sinteza fenolov je pogojena z encimom PAL (fenilalanin amonij-liaza, katalizira prvi korak v sintezi metabolitov), saj se v primeru stresa poveča ekspresija genov za ta encim. Primer so furanokumarini, ki delujejo insekticidno, potem ko so aktivirani z ultravijolično svetlobo (Berenbaum, 1978). Izločanje fenolnih spojin v tla lahko privede do alelopatije. Tako rastlina zavira rast okoliških rastlin, zmanjša medvrstno kompeticijo in posledično poveča dostopnost hranil in drugih virov. Pomembni fenoli so tudi tanini, ki delujejo kot repelenti (Taiz in sod., 2010)

Dušik vsebujoče snovi so velika skupina sekundarnih metabolitov, večinoma tvorjenih iz aminokislin. Poleg zdravilnosti za človeka so zelo zanimive zaradi protiterbivornih lastnosti. Alkaloidi so prav tako velika skupina sekundarnih metabolitov, ki jo sestavlja več kot 15.000 različnih spojin. Najdemo jih v približno 20 % rastlinskih vrst in imajo pomembno vlogo pri obrambi rastlin pred herbivori iz poddebla vretenčarjev. Večina jih je strupenih za sesalce, pri čemer delujejo na različne načine. Lahko vplivajo na živčni sistem, membranski transport, sintezo beljakovin ali encimsko dejavnost (Macel, 2011). Veliko glivnih simbiotov trav tvori različne alkaloidne, ki pozitivno vplivajo na rast in obrambo rastline. Cianogeni glikozidi in glukozinolati niso toksični, v toksine se razgradijo šele, ko je rastlina poškodovana. Cianogeni glikozidi sproščajo strupen plin, vodikov cianid, ki zavira delovanje ključnega encima za mitohondrijsko dihanje. Tako odvrča škodljive herbivore kot so polži. Glukozinolate pa najdemo v križnicah in se razgradijo v izotiocianat, ki je močen strup in herbivorni repelent. Ta pa ne deluje na vse škodljivce, nekateri so se nanj prilagodili. Na kapusovega belina deluje celo kot stimulant za leženje jajčec (Zukalová in Vašák, 2018).

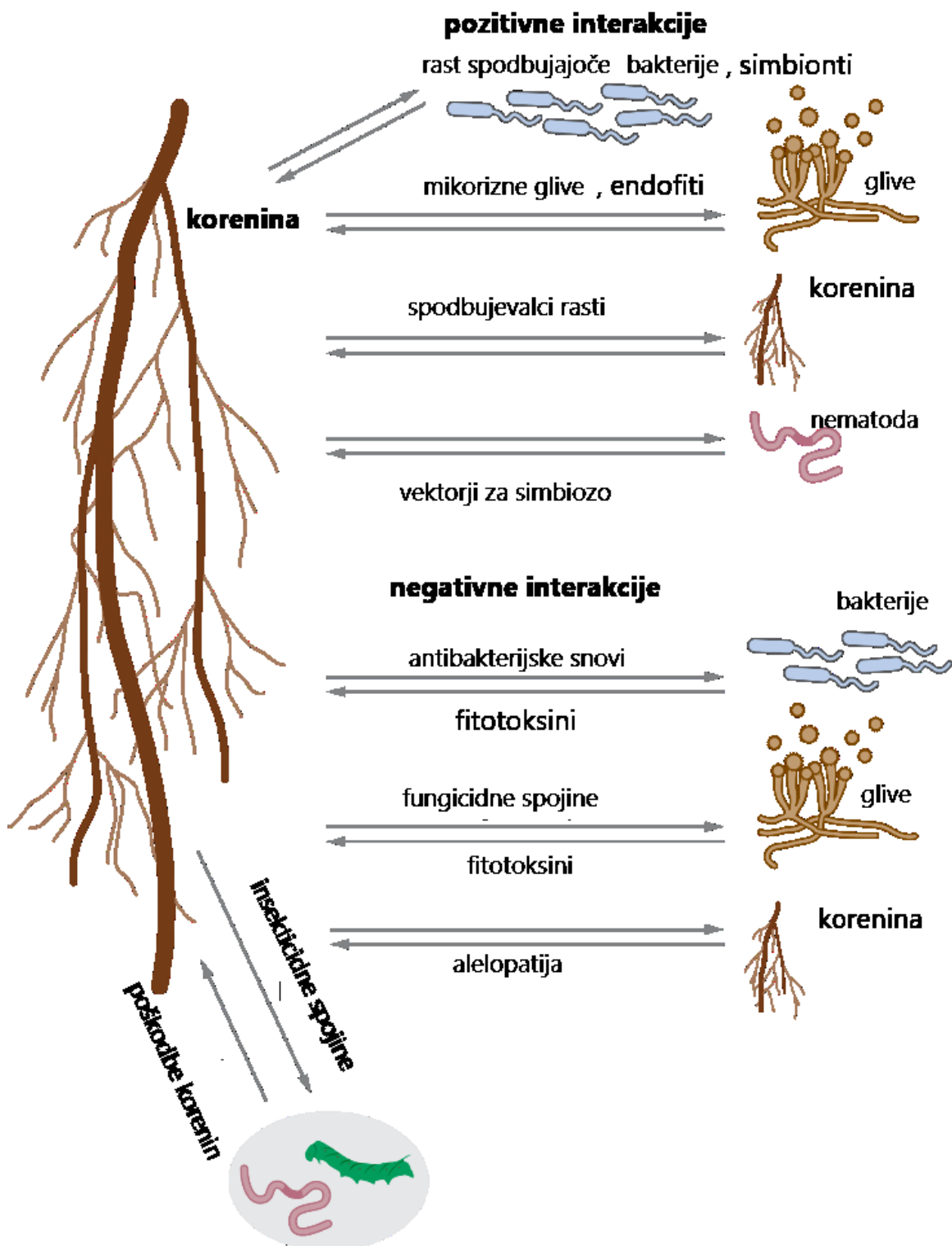


Slika 1: Primeri pesticidov na rastlinski podlagi, ki se delijo v razrede sekundarnih metabolitov (prirejeno po Marschner, 1995).

Trenutno najpomembnejši pesticidi rastlinskega izvora so piretrin, eterična olja in olje iz semen drevesa neem (Miresmaili in Isman, 2014). Od naštetih je najbolj raznolika skupina eteričnih olj. To so mešanice hlapnih sekundarnih metabolitov z nizko molekulsko maso. Glede na njihovo pestrost se uporabljajo kot: toksične snovi (fumiganti) in kot snovi, ki vplivajo na vedenje žuželk (repelenti, atraktanti) (Isman, 2000).

2.1 UČINKI KORENINSKIH EKSUDATOV

Koreninski eksudati lahko na talne organizme vplivajo pozitivno ali negativno. Pozitivno vplivajo na vzpostavljanje interakcij z mikoriznimi glivami, bakterijami (rast spodbujajoče bakterije) in ostalimi organizmi, ki izboljšujejo rast rastlin. Po drugi strani pa delujejo negativno na organizme v okolici rastline in lahko zavirajo njeno rast.



Slika 2: Interakcije med koreninami rastlin, ki izločajo koreninske eksudate, in talnimi organizmi (prirejeno po Bais in sod., 2006).

2.1.1 Vpliv na okoliške rastline

2.1.1.1 Negativne interakcije

Najpomembnejši negativni učinki koreninskih eksudatov na druge rastline se izražajo kot alelopatija. Rastlina izloča fitotoksine iz odmirajočih listov kot hlapne snovi in iz korenin kot koreninske eksudate (Weir in sod., 2004). Ne glede na način sproščanja iz rastline te snovi zavirajo rast okoliških rastlin in zmanjšajo njihovo tekmovalno sposobnost. Posledično povečajo dostopnost hranil in vplivajo na populacijo rizobakterij ter ostale procese v bližini korenin (Bertin in sod., 2003).

Avtoinhibicija je negativna interakcija med rastlinami, ki zmanjša znotrajvrstno kompeticijo, če ima rastlina preveč semen. Temelji na tem, da je razvoj odpornosti okoliških rastlin na te rast zavirajoče koreninske eksudate energetsko predrag. Posledično rastlina ne more živeti v tako stresnem okolju in rastlina propade (Dyer, 2004)

Na molekularni ravni tarče delovanja koreninskih eksudatov še niso povsem znane, vseeno pa poznamo nekaj primerov delovanja alelokemikalij. Lahko zavirajo delitev celic (Anaya in Pelayo-Benavides, 1997), dihanje in posledično pridobivanje energije v obliki ATP-ja (Ronchel in Ramos, 2001) ali drugimi načini.

2.1.1.2 Pozitivne interakcije

Rastlina lahko s koreninskimi eksudati vpliva na okoliške rastline tudi pozitivno, čeprav so ti učinki manj pogosti od negativnih. Koreninski eksudati lahko npr. povečajo odpornost okoliških rastlin proti določenim škodljivcem, ali pa privlačijo naravne sovražnike škodljivcev. To so npr. dokazali v poskusu (Chun in sod., 2019), kjer so uporabili koreninske eksudate pšenice, ki so povečali odpornost lubenice proti okužbam z glivo *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*.

2.1.2 Delovanje koreninskih eksudatov na neglivne mikroorganizme

Koreninski eksudati imajo ključno vlogo pri vzpostavitvi interakcije med rastlino in mikroorganizmi. Ta odnos lahko različno vpliva na izboljšanje vigorja rastline in tudi povečanje odpornosti na biotske in abiotske strese. Vigor rastline lahko poveča npr. odnos rastline z bakterijami iz rodu *Rhizobium*, ki fiksirajo zračni dušik v tla in posredno pozitivno vplivajo na rastlino. Neposredno povečanje vigorja pa je vidno pri rast spodbujajočih bakterijah, ki v rizosfero izločajo hormone, npr. gibereline, ti pa neposredno izboljšujejo vigor rastlin. Določene rizobakterije lahko celo naredijo zaščitne biofilme na koreninah in izločajo antibiotike proti talnim patogenom. Zaenkrat se še ne ve, ali so koreninski eksudati rastline del sporočanja za vzpostavitev odnosa s temi bakterijami (Ray Fall, 2004). V teh kompleksnih odnosih sodelujejo tako kemični signali rastlin kot tudi mikroorganizmov. Sprva so opazili

povečano število mikroorganizmov v okolici korenin, rizosferi. Že leta 1904 so menili, da je to posledica izločenih hranilnih snovi iz korenin, ki nato privlačijo mikroorganizme, kar so poimenovali učinek rizosfere (Fick, 1904, cit. po Badri in Vivanco, 2009). Koreninski eksudati pa ne naredijo le okolja, bogatega s hranili, temveč so tudi kemični signal mikroorganizmom (Bais in sod., 2006).

Primer pozitivne interakcije med rastlino in mikrobom je splošno razširjena nodulacija med metuljnicami in bakterijami iz rodu *Rhizobium*. Te interakcije so zelo specifične, saj vsaka rastlina izloča posebne koreninske eksudate in omogoča kolonizacijo le določenim sevom bakterij. Tako npr. za metuljnice značilni izoflavonoidi iz soje povečajo ekspresijo nodulacijskih genov za bakterije *Bradyrhizobium japonicum*, hkrati pa zavirajo nodulacijo za drug sev bakterij. Ta specifičnost odnosa omogoča bakterijam razlikovanje gostitelja od ostalih metuljnic (Peters in sod., 1986).

V poskusu (Ge in sod., 2018) so opazovali učinke koreninskih eksudatov invazivne rastline, aligatorjove trave (*Alternanthera philoxeroides*) na encime v rizosferi (ureaza) in nativno mikrobno združbo. Mikrobno združbo so preučevali z sekvenciranjem gena za 16S rRNA. Rezultati so pokazali, da je sestava združbe talnih mikrobov po aplikaciji koreninskih eksudatov drugačna od kontrole. V primerjavi s kontrolo je bilo v tleh, tretiranih z eksudati, zaslediti manjšo abundanco mikroorganizmov. Sklepali so, da lahko rastlina s koreninskimi eksudati inhibira rast nativnih vrst rastlin preko toksičnih učinkov na encime v rizosferi in mikrobno združbo. Rezultati kažejo na potencial teh koreninskih eksudatov kot (bio)herbicidno sredstvo za plevel v ekološki pridelavi.

2.1.3 Vpliv na glive

Verjetno najpomembnejši vpliv koreninskih eksudatov na glive je vzpostavljanje arbuskularne mikorize, ki je prisotna pri več kot 90 % vseh kopenskih rastlin. Glavni koreninski eksudati, ki vplivajo na to, so hormoni strigolaktoni. Hife predrejo le celično steno koreninskih celic na površju in ne tudi celične membrane. V celici tvorijo arbuskule, strukture, preko katerih poteka izmenjava hranil. Na membrani rastlinske celice se v bližini arbuskula poveča število transportnih beljakovin, preko katerih poteka izmenjava hranil. Rastlina lahko dovaja celo do 33 % hranil (ogljikovi hidrati) v zameno za fosfor, ostala težko dostopna hranila in vodo (Bais in sod., 2006).

V poskusu (Yusnawan in Inayati, 2018) so iskali biofungicid za zatiranje arašidove rje (*Puccinia arachidis*). Ta je obligatni parazit, ki okužuje liste arašidov. Preverjali so fungicidne učinke ekstraktov treh rastlin: nepostarnika (*Ageratum conyzoides*), trnatega ščira (*Amaranthus spinosus*) in ostrice vrste *Cyperus rotundus*. Največji učinek je imel ekstrakt nepostarnika. Rastline tretirane z 5 % koncentracijo ekstrakta so imele 30 % okuženost listov. Netretirana skupina pa je imela 40 % okužbo listo. Snovi identificirane v korenini

nepostarnika so bile: kariopilen, famesen, 7-metoksi-2,2,dimetil-2H-kromen, metil ester in palmitinska kislina. Rezultati tega poskusa nakazujejo, da so lahko identificirane snovi v korenini nepostarnika potencialno fungicidno sredstvo v pridelavi.

2.1.4 Vpliv na škodljive žuželke in nematode

Koreninski eksudati imajo zmožnost vplivanja na vedenje žuželk kot atraktanti ali repelenti (Miresmailli in Isman, 2014). Te interakcije so zelo specifične. Lahko vplivajo na živčni sistem, membranski transport, sintezo beljakovin ali encimsko dejavnost pri mitohondrijski respiraciji. V rizosferi je zaradi obilice hranil veliko mikroorganizmov, posledično se lahko tu naselijo ogorčice (nematode), ki se hranijo z mikroorganizmi. S presnovo mikrobov povečujejo organsko maso v okolici korenin in povečajo dostopnost hranil rastlini. Koreninski eksudati lahko vplivajo na populacijo nematod v tleh. V poskusu (Yeates, 1999) so inokulirali rastline bele detelje (*Trifolium repens*) s parazitsko nematodo (*Heterodera trifolii*). Nato so sledili radioaktivnemu ogljiku v rastlini. Inokulirane rastline so v tla izločale precej več fiksiranega radioaktivnega ogljika kot neinokulirane rastline. To pomeni, da z namenom obrambe proti nematodam napadene rastline v rizosfero sproščajo več koreninskih eksudatov.

2.1.5 Vpliv koreninskih eksudatov na fizikalne lastnosti tal

Koreninski eksudati lahko izboljšajo dostopnost mikrohranil in fosforja za rastline. Izločki lahko v tleh vplivajo na dostopnost hranil na dva načina: z izločanjem fitosideroforov (sekundarni metaboliti z veliko afiniteto do železa) in izločanjem organskih kislin. Eksudacija fitosideroforov vpliva na dostopnost mikroelementov, saj delujejo kot kelatorji kovinskih ionov. Fitosiderofor v tleh tvori skupek s kovinskim ionom, ki je vezan na talne delce. Tako se povečata mobilnost elementa v tleh in njegova dostopnost (Dakora in Phillips, 2002).

Na dostopnost fosforja lahko vplivajo koreninski eksudati oziroma organske kisline. V tleh je po navadi dovolj fosforja, problem je le, da se nahaja v manj dostopnih oblikah ali je vezan na talne delce. Citronska kislina v tleh lahko deluje tudi kot kelator kovin in tako tvori skupek npr. z aluminijevim ionom iz aluminijevega fosfata, s čimer fosfor postane dostopnejši. Lahko pa se kislina veže na talne delce in s tem zmanjša število izmenjalnih mest za fosfor na talnih delcih. Eksudacija citronske kisline se lahko močno poveča v primeru pomanjkanja fosforja pri rastlinah, ki lahko razvijejo proteoidne korenine (korenine z povečanim izločanjem citronske kisline ob pomanjkanju dušika). Izloča se neposredno iz ciklusa citronske kisline. Pri proteoidni korenini s povečano eksudacijo citronske kisline lahko opazimo do 50 % večjo absorpcijo fosforja kot pri navadni korenini (Neumann in Römheld, 1999).

2.2 POTENCIALNE RASTLINE ZA PRIDOBIVANJE EKSUDATOV IN SPECIFIČNOST EKSUDATOV PRI RASTLINSKIH VRSTAH

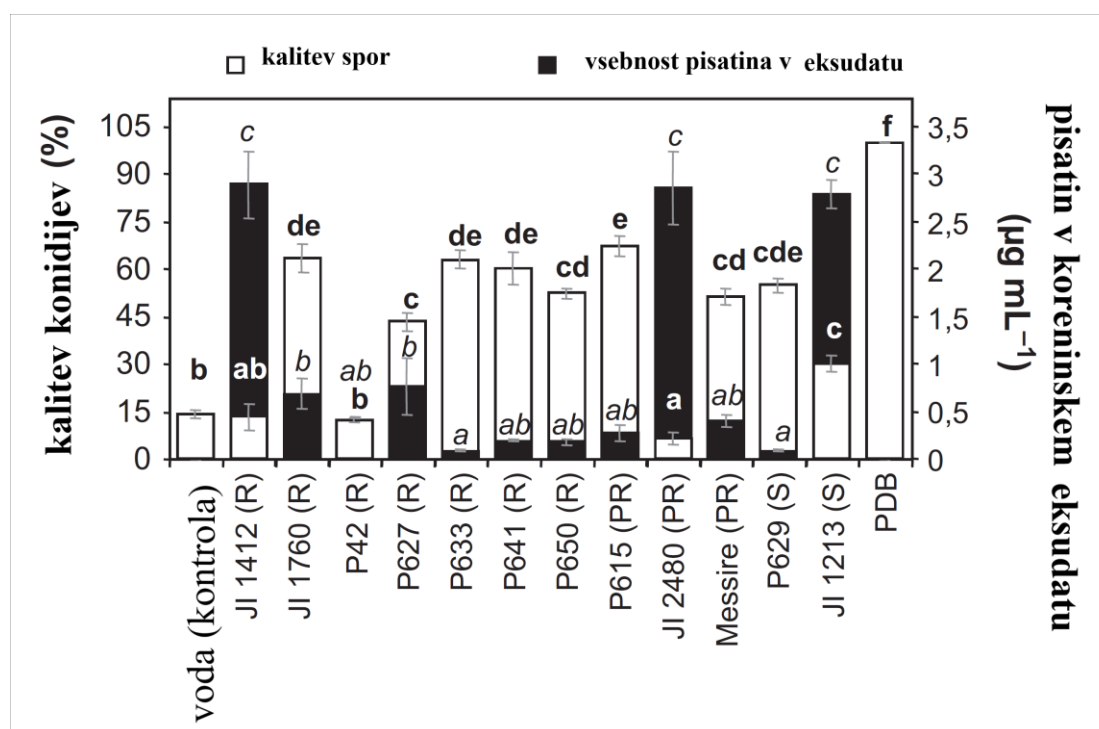
Vsaka rastlina ima specifične eksudate, zato je v tleh mnogo različnih koreninskih eksudatov, ki vplivajo na interakcije v rastlinskem sistemu korenine-tla-mikrobi. Specifične koreninske eksudate lahko najdemo pri določeni skupini rastlin, npr. za križnice so značilni glukozinolati, razlike v sintezi pa lahko najdemo tudi znotraj ene vrste (Bellostas in sod., 2007). Eksudacija je tudi odvisna od fenofaze rastline. Križnice imajo največjo vsebnost glukozinolatov na koncu sezone. Koreninski eksudati se razlikujejo tudi zaradi okoljskih dejavnikov. Izločanje se npr. znatno poveča v tleh, slabo založenih z dušikom (Paterson in Sim, 2000). Problem je, kako v množici eksudatov najti primerne za uporabo v biotičnem varstvu. Za uporabo nekaterih rastlin v pridelavi vrtnin vemo že iz tradicionalne uporabe, npr. dalmatinski bolhač (*Chrysanthemum cinerariifolium*) in uporaba križnic v kolobarju.

2.2.1 Križnice kot vir glukozinolatov

Rastline iz družine križnic (Brassicaceae) vsebujejo sekundarne metabolite iz skupine dušik vsebujočih snovi. Najbolj poznani koreninski eksudati iz te skupine rastlin so glukozinolati in cianogeni glikozidi (Zukalová in Vašák, 2018). Vsebnost glukozinolatov se v delih rastline skozi leto spreminja, koncentracija je odvisna tudi od same vrste križnice, ponavadi pa jih je največ v korenini (Bellostas in sod., 2007).

2.2.2 Grah kot vir koreninskega eksudata pisatina

V raziskavi (Bani in sod., 2018) so uporabili koreninske eksudate dvanajstih sort graha, od odporne vrste do najmanj odpornih vrst na glivo *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. Med koreninskimi eksudati so metabolit pisatin določili kot najpomembnejšega pri zaviranju kalitve spor glive *Fusarium* sp. Pri 12-urni inkubaciji s koreninskimi eksudati so opazili manjšo kalitev konidijev. Pisatin ima torej potencial kot preventivno sredstvo v pridelavi, aplicirali bi ga lahko s vključevanjem graha v kolobar.



Slika 3: Na levi strani je označen odstotek kaliteve spor glive *Fusarium* sp. z belimi stolpci, črni stolpci pa kažejo koncentracijo pisatina za vsakega od izvlečkov iz različnih sort (prirejeno po Bernklau in sod., 2016).

Beli stolpci na sliki 3 kažejo kalitev spor glive *Fusarium* sp. 12 ur po inkubaciji z 1 ml sterilne vode in koreninskih eksudatov. Kalitev je bila ocenjena s pregledom 100 konidijev in izračunom deleža kalečih konidijev. Črni stolpci kažejo vsebnost pisatina v izvlečkih koreninskih eksudatov z metodo HPLC.

2.2.3 Koruza kot vir koreninskih eksudatov z lastnostmi repelentov in atraktantov

Koruza začne po napadu ličink koruznega hrošča izločati koreninske eksudate, ki sporočajo, da je rastlina poškodovana. Te snovi delujejo kot atraktanti za naravne sovražnike ličink, ki napadajo koruzo. Med mnogimi koreninskimi eksudati koruze so odkrili tako atraktante kot repelente. Ličinka koruznega hrošča se mora znajti v temnih tleh z zanašanjem na kemične sledi (Bernklau in sod., 2015). Zadnjih 40 let entomologi poskušajo izolirati in identificirati kemično spojino, ki jo oddaja gostiteljska rastlina, z namenom nadzora napadov ličink na posevek. Za razvoj učinkovitih strategij je potrebno dobro poznavanje mehanizma iskanja hrane (Bernklau in sod., 2015).

Pri poskusu (Bernklau in sod., 2015) so monogalaktozildiacylglicerole (MGDG) identificirali kot atraktante za ličinke koruznega hrošča. Snov se pridobi iz izvlečka korenin kaleče koruze. Izolirana je bila s tankoplastno kromatografijo, za aktivacijo pa je bila potrebna še polarna frakcija v obliki mešanice sladkorjev (glukoza, fruktoza, saharoza idr.). Naredili so vedenjske

poskuse, kjer so iskali tipično premikanje ličink (ostro zavijanje oz. tight-turning), kar pomeni, da so zaznale gostiteljsko rastlino. Disk z aktivno mešanico so izpostavili ličinkam in opazili njihovo značilno premikanje za prepoznavo gostiteljske rastline. To nakazuje, da se ličinke odzivajo na snovi, ki nastanejo z encimatsko razgradnjo MGDG. Lahko bi naredili pasti s to snovjo, ki bi delovala kot atraktant, podobno kakršne so feromonske vabe.

V raziskavi Bernklau in sod. (2016) so ugotavljali, katera spojina koruze ima repelentne lastnosti proti ličinkam koruznega hrošča. V izvlečkih koruze so identificirali aktivno snov metil-aminobenzoat, ki deluje kot repelent na ličinke koruznega hrošča. Snov so izolirali iz korenin kaleče koruze. Analiza s plinsko kromatografijo vezano na masno spektrometrijo je identificirala dve spojini v aktivni frakciji, indol(2,3-benzopirol) in metil-aminobenzoat. Slednji je izzval močan repelentni odziv pri 1, 10 in 100 µg odmerku (Bernklau in sod., 2016). Pri vseh treh odmerkih je bila koncentracija ogljikovega dioksida 10 mmol/mol, ki zelo privlače ličinke, kljub temu je imela snov želen učinek. Spojina 2,3-benzopirola ni vplivala na vedenjske spremembe ličink. Metil-aminobenzoat ima torej potencial kot odvrčalo za ličinke koruznega hrošča.

2.2.4 Invazivne rastline

Trenutno najbolj raziskujejo le koreninske eksudate kmetijsko najpomembnejših rastlin, saj raziskave na tem področju dobijo največ financiranja. Vendar je to le majhen delež celotnega kraljestva rastlin. Med drugim se lahko potencialne rastline skrivajo tudi med invazivnimi vrstami, pleveli in drugimi agronomsko nepomembnimi rastlinami. Sčasoma so se rastline v svojem okolju prilagodile na alelokemikalije in druge škodljive izločke okoliških rastlin. Problem se pojavi, ko rastlina v tleh naleti na nov koreninski eksudat, s katerim se prej še ni srečala (Dalle Fratte in sod., 2019). Zaradi neodpornosti na nove snovi v tleh se lahko zmanjša vigor lokalne rastline, ki ne more konkurirati z novo rastlino, zato ta lahko postane invazivna.

V članku (Laznik in sod., 2018) iščejo okoljsko bolj sprejemljiv način varstva pred škodljivimi organizmi s preučevanjem učinkovitosti rastlinskih izvlečkov iz nekaterih invazivnih rastlin v Sloveniji. Od naštetih invazivnih rastlin so le pri dveh (veliki pajesen (*Ailanthus altissima*) in japonski dresnik (*Reynoutria japonica*)) uporabili koreninske eksudate. Pri obeh so opazili zaželene insekticidne in herbicidne učinke. V poskusu (Fan in sod., 2010) so opazili alelopatske učinke koreninskih izvlečkov japonskega dresnika. Kemične snovi, emodin, resveratrol in epikatehin, so vse vplivale na slabši razvoj korenin redkvice. Tako so koreninski eksudati japonskega dresnika lahko potencialno herbicidno sredstvo v ekološki pridelavi.

Poskus s koreninski eksudati velikega pajesena je pokazal potencial koreninskih eksudatov kot sredstvo za zaviranje rasti korenin okoliških rastlin (De Feo in sod., 2003). Alelopatska

aktivnost koreninskih ekstraktov se je pokazala pri zaviranju kalitve semen in razvoju radikule redkvice (*Raphanus sativus* cv. 'Saxa'), vrtna kreše (*Lepidium sativum*), in navadnega tolščaka (*Portulaca oleracea*). Izolirali so več aktivnih spojin in primerjali njihove učinkovitost. Največjo inhibitorno aktivnost je pokazala spojina ailanton. Rezultati raziskave nakazujejo možnost uporabe koreninskih eksudatov pajesena ali njegovih aktivnih spojin kot naravni herbicid. Pokazala pa se je tudi možnost uporabe koreninskih eksudatov kot insekticidno sredstvo (de Feo in sod., 2009). Opazovali so insekticidno delovanje koreninskih ekstraktov na grahovo uš (*Acyrtosiphon pisum*), katere so pomakali v vodne raztopine ekstrakta. Imeli so raztopine z posameznimi spojinami ekstrakta; določili so, da je bila največja smrtnost uši pri snovi ailanton, ista snov, kot je bila v prejšnji raziskavi določena za herbicidno delujočo snov. Tako je obetavna za insekticidno kot herbicidno sredstvo.

2.3 PRIDOBIVANJE IN IDENTIFIKACIJA KORENINSKIH EKSUDATOV TER POCENITEV POSTOPKOV

Najden koreninski eksudat bi želeli imeti v obliki, ki bi bila praktična za aplikacijo. Za pridobivanje koreninskih eksudatov imamo več načinov, naštel jih bom le nekaj. Za njihovo identifikacijo uporabljajo tankoplastno kromatografijo in druge postopke (Bernklau in sod., 2015).

V poskusu (Vranova in sod., 2013) so koreninske eksudate pridobivali iz tekočega gojišča. Njihova ekstrakcija poteka z destilirano vodo, saj bi lahko soli v vodi motile njihovo delovanje. To je uporabno le v poskusih, kjer so rastline gojene v tekočem mediju. V pridelavi pa je tak postopek precej neuporaben, saj bi bil predrag. Ekonomsko upravičeno bi bilo le gojenje na akvaponiki, kjer so odpadne korenine lahko surovina za ekstrakcijo koreninskih eksudatov.

Zanimiv način pridobivanja koreninskih eksudatov je tudi z uporabo nakaljenih semen. V poskusu (Hibbard in sod., 1995) so pri koruzi iskali koreninske eksudate, ki privlačijo ličinke koruznega hrošča. Seme koruze so nakalili, da se je razvila korenina, in nato so iz korenin naredili ekstrakcijo teh eksudatov s tankoplastno kromatografijo. Pri tem niso omenjali pocenitve postopka za pridobivanje koreninskih eksudatov v večjem obsegu. Problem je, ker so lahko ekstrahirali le koreninske eksudate, ki se stalno izločajo, ne pa tudi tiste, ki se sintetizirajo ob poškodbi rastline.

Tehnika kontinuiranega spiranja ima velik potencial za pridobivanje in določanje koreninskih eksudatov, saj omogoča podobne pogoje kot so v rizosferi. Rastlino bi se tako posadilo v substrat, kateremu bi neprekinjeno dodajali hranila za nadomestitev izpranih. Na dnu substrata pa bi se v izprani vodi kontinuirano pridobivali koreninski eksudati. Zanimiva je, ker bi se lahko uporabljala dolgoročno in pri tem ne bi bilo treba uničiti rastline za ekstrakcijo

zmesi koreninskih eksudatov iz korenin (Vranova in sod., 2013). Razvoj metode bi omogočil pocenitev pridobivanja koreninskih eksudatov.

V poskusu (de Feo in sod., 2009) so nabrali korenine velikega pajesena (*Ailanthus altissima*), te so nato razrezali in posušili na zraku. Pri sobni temperaturi so ekstrahirali snovi s topili, ki povečujejo polarnost (petrolej eter, kloroform, zmes kloroform-metanol (9:1), metanol in voda). Ekstrakt je bil nato frakcioniran s kromatografijo.

2.4 APLIKACIJA

Ko najdemo rastlino z uporabnim koreninskim eksudatom ali več eksudati, poznamo njihove učinke in mehanizme delovanja, združljivost z drugimi sredstvi in ugotovimo način za njihovo pridobivanje, ki je dovolj praktičen in ekonomsko upravičen, pa zgodbe še ni konec. Pomembno je, da pridobljen eksudat ali sredstvo s to učinkovino apliciramo pravilno oziroma učinkovito. Pri aplikaciji je treba upoštevati, da lahko isti eksudat drugače vpliva na različne organizme. To moramo upoštevati pri nanosu snovi in izbrati pravi način aplikacije za dane razmere. Zelo pomemben dejavnik je prisotnost oz. odsotnost dnevne svetlobe, kot so pokazali v poskusu (Glinwood in sod., 2007), kjer je manj uši priletelo na rastline ječmena ponoči. Naštel bom nekaj možnosti aplikacije koreninskih eksudatov.

Zanimiv način aplikacije je vključevanje rastlin, ki tvorijo koreninske eksudate z insekticidnim delovanjem, v kolobar. Kolobarjenje s križnicami se že uporablja v ekološkem vinogradništvu. Na zemljišču, napadenem z nematodami, se uvede petletni kolobar s križnicami, ki izločajo koreninske eksudate, glukozinololate in druge spojine. Ti zmanjšajo populacije nematod v tleh. Delujejo tudi na strune in ostale talne škodljivce (Berlanas in sod., 2018).

V poskusu (Larkin in Lynch, 2018) so opazovali učinke različnih rastlin iz družine križnic na talne bolezni pri pridelavi krompirja. Vedeli so, da jih lahko kolobarjenje s križnicami zmanjša, zanimalo pa jih je, kateri je najboljši način. Poskus je trajal dve leti na treh lokacijah, kjer so bile okužbe s talnima glivama *Rhizoctonia solani* in *Spongospora subterranea* zelo pogoste. Uporabili so šest različnih posevkov križnic (repa, oljna ogrščica, gorčica idr.). Za kontrolo so imeli standardno kolobarjenje s trpežno ljulko in ajdo. Opazili so, da je kolobar z gorčico in trpežno ljulko zmanjšal okužbo s talno glivo *Rhizoctonia solani* za 21–58 %. Na drugem mestu so pri kolobarju z gorčico in trpežno ljulko opazili zmanjšanje prašnate krastavosti krompirja za 31–55 %. Čeprav je kolobarjenje tako s križnicami kot ostalimi rastlinami zmanjšalo okužbe, ni izstopal noben posevek, ki bi ves čas deloval bolje kot ostali.

V poskusu (Chen in sod., 2018) so raziskovali, kako lahko koreninski eksudati šalotke (*Allium cepa* var *aggregatum*) sodelujejo pri zaviranju glive, ki povzroča golšavost kapusnic (*Plasmodiophora brassicae*). Poskus je potekal v lončkih, opazovali so kako koreninski

eksudati šalotke vplivajo na kalitev preživetvenih spor. Opazili so zmanjšanje pojava golšavosti kapusnic pri aplikaciji koreninskih eksudatov šalotke. Koreninski eksudati šalotke so zmanjšali število sekundarnih plazmodijev in ekspresijo gena PRO1, za katerega so eksperimentalno dokazali, da je pomemben za kalitev preživetvenih spor glive golšavosti kapusnic. Ti rezultati nakazujejo, da imajo koreninski eksudati šalotke pomembno vlogo pri zatiranju bolezni golšavosti kapusnic.

Medsetev rastlin s koristnimi eksudati lahko poveča odpornost rastlin proti določenim boleznim, tako posredno z oblikovanjem združbe koristnih talnih mikroorganizmov kot tudi neposredno s kemičnimi signali, ki vzbudijo imunski sistem okoliških rastlin. V poskusu (Chun in sod., 2019) so uporabili koreninske eksudate pšenice, ki so povečali odpornost lubenice proti okužbam z glivo *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. Omenjene eksudate so aplicirali v tla, uporabili pa so tudi setev pšenice med lubenice. V obeh primerih so opazili povečano odpornost lubenic proti glivi *Fusarium* sp. Povečali sta se sinteza lignina in ekspresija genov, povezanih z obrambo rastline. Pravega mehanizma delovanja raziskovalci niso ugotovili, najbrž pa so kritično vlogo pri procesu igrali tako koreninski eksudati kot tudi koristni mikroorganizmi.

2.4.1 Spodbujanje razvoja rast spodbujajočih bakterij

V rizosferi zaradi eksudacije in drugih neposrednih vplivov korenin uspevajo številne bakterije, od katerih nekatere lahko pozitivno vplivajo na gostiteljsko rastlino. Koreninski eksudati vplivajo na vzpostavitev interakcije med rastlino in bakterijami ter celo na gibljivost bičkov nekaterih bakterij (de Weert in sod., 2007). Aplikacija koreninskih eksudatov bi lahko npr. ob sajenju sadik delovala kot signal za čim hitrejšo vzpostavitev povezave med rastlino in rast spodbujajočimi bakterijami. Tako bi se v rizosferi vzpostavila kolonija bakterij, ki sintetizirajo fitostimulante, fiksirajo dušik iz zraka in izločajo fitohormone (avksine, gibereline idr.), zmanjšajo pa okužbe s patogenimi glivami in bakterijami zaradi konkurence za podobne vire hranil in prostor. Če koristne bakterije porabijo več hranilnih snovi, jih manj ostane za patogene mikroorganizme. Izkoriščajo tudi rastlini lasten obrambni odziv z mehanizmi inducirane odpornosti, ki s svojim širokim spektrom varstva izboljšujejo odpornost rastline (Nielsen in sod., 1999).

2.4.2 Biofumigacija tal s križnicami

Biofumigacija je mogoča s križnicami ali drugimi rastlinami, ki izločajo hlapne snovi, ki vplivajo na vedenje insektov. Tako lahko križnice izločajo izotiocianate, ki imajo značilne biofumigacijske učinke predvsem v pridelavi zelenjave (Zukalová in Vašák, 2018). Ob tem lahko samostojno ali sinergijsko delujejo še druge snovi. Na delovanje lahko vplivajo tudi okoljski dejavniki. Tako se v kolobarju križnice na koncu sezone zaorje v tla, kjer imajo biofumigacijske učinke. Polek insekticidnega učinkovanja koreninskih eksudatov med rastno

dobo, imamo lahko tako na koncu sezone še dodatne biofumigacijske učinke z zaoravanjem nadzemnega dela. V tleh s povečanim številom talnih škodljivcev se lahko uvedejo v kolobar križnice (Kirkegaard in sod., 1999).

2.4.3 Škropljenje koreninskih eksudatov po nadzemnih delih rastline

V poskusu (Glinwood in sod., 2003) so škropili ječmen s koreninskimi eksudati plazeče pirnice (*Elytrigia repens*). Dokazali so, da lahko aplikacija koreninskih eksudatov plazeče pirnice na rastline ječmena zmanjša napad uši (*Rhopalosiphum padi*). Škropljenje vpliva na izbiro gostiteljske rastline uši. Že dolgo vedo, da koreninski eksudati (alelokemikalije) plazeče pirnice vplivajo na rast drugih rastlin. V tem poskusu so prvič dokazali, da lahko posredno vplivajo tudi na škodljivce. Sprva so opazovali vedenje pršic z olfaktometrom, ki je cev v obliki Y, kjer ima insekt izbiro v katero smer bo šel (v eni so hlapne snovi obravnavane rastline, v drugi pa kontrola). V tem primeru razlika med obravnavanimi rastlinami ni bila tako opazna kot pri poskusu, kjer so opazovali število uši, ki so priletele na rastlino. Ugotovitev nakazuje, da snov ne deluje neposredno na odvrčanje uši, temveč vpliva na rastline ječmena. Koreninski eksudati tako povečajo odpornost rastlin ječmena, s tem pa imajo potencial kot preventivno sredstvo v ekološki pridelavi.

2.4.4 Aplikacija z bioogljem

Velik problem pri aplikaciji koreninskih eksudatov v tla je, da so lahko tam neobstoječi, saj jih lahko razgradijo talni mikrobi. Obstoječi koreninski eksudati v tleh bi lahko izboljšali z dodatkom biooglja. Snovi absorbirane v mikropore biooglja so nedostopne talnim mikroorganizmom za razgradnjo. Bioogljje ima veliko sposobnost zadrževanja snovi, kar je odvisno od pH, vsebnosti hlapnih spojin, vsebnosti pepela, zadrževanja vode, gostote, volumna por in specifične površine (Ding in sod., 2016). Problem se lahko pojavi, če bioogljje absorbira hranila iz tal in jih tako naredi nedostopne rastlini ali pa vsebuje toksične spojine in nevarne hlapne snovi, kar lahko zmanjša pridelek in njegovo kakovost.

V poskusu (Gu in sod., 2017) so opazovali učinek biooglja na adsorpcijo koreninskih eksudatov in zmanjšanje okužbe z bakterijsko uvelostjo paradižnika. Postavili so hipotezo, da lahko bioogljje vpliva na virulentne dejavnike posredno z adsorpcijo koreninskih eksudatov, saj koreninski eksudati paradižnika privlačijo bakterije uvelosti paradižnika. Tako se v kombinaciji biooglja s koreninskimi eksudati rastline paradižnika poveča direktna adsorpcija bakterij v bioogljje, kjer niso več grožnja paradižniku. Možno je tudi, da bioogljje absorbira koreninske eksudate in tako v rizosferi zmanjša vir hranil za patogene.

2.4.5 Inokulacija z glivami lahko izzove sintezo določenih koreninskih eksudatov

Kot omenjeno, koreninski eksudati lahko vplivajo na modifikacijo rizosfere in spodbujajo oziroma zavirajo rast določenih mikroorganizmov. Podobno lahko tudi mikroorganizmi vplivajo na izločanje koreninskih eksudatov. V poskusu (Fernández in sod., 2017) so opazovali, kako okužba listov z glivo *Botrytis cinerea* vpliva na sintezo koreninskih eksudatov paradižnika, te pa posledično vplivajo na populacijo glive *Trichoderma asperellum* v rizosferi. Ugotovili so, da se po okužbi spremeni sinteza koreninskih eksudatov, poveča se sinteza glukonske kisline ter zmanjša sinteza saharoze in inozitola. Opazili so zmanjšanje okužbe z glivo *Botrytis cinerea* kot posledico inducirane sistemične odpornosti, ki jo je spodbudila gliva *Trichoderma asperellum* (glivo tudi komercialno uporabljajo kot mikofungicid). Opazili so tudi, da so okužene rastline vzdrževale populacijo glive *Trichoderma asperellum*, pri neokuženih rastlinah pa so opazili zmanjšanje populacije. Glivo bi torej lahko inokulirali ob sajenju rastlin ali pa bi po okužbi inokulat vdělali v tla v medvrstni prostor.

3 ZAKLJUČEK

Talni škodljivi organizmi so velik problem v pridelavi kmetijskih rastlin, še posebej v ekološkem kmetijstvu, kjer smo omejeni z uporabo FFS. Posledica je iskanje okoljsko sprejemljivih alternativ za nadomestitev FFS, ki so jih prepovedali ali pa jih še bodo. Alternativa sta lahko uporaba in aplikacija koreninskih eksudatov v kombinaciji z drugimi inovativnimi agrotehnološkimi rešitvami. Verjetno le uporaba eksudatov v pridelavi ne bi bila dovolj, nujne so tudi dodatne raziskave, kako bi ta naravni potencial bolje izrabili in še povečali. Za učinek rizosfere namreč vemo že več kot sto let, a še vedno ne poznamo vseh mehanizmov delovanja koreninskih eksudatov v rizosferi. To predstavlja omejitev za njihovo uporabo v prihodnosti. Sklepam, da je vedenje o koreninskih eksudatih trenutno še dokaj omejeno, kljub temu pa imajo velik potencial v prihodnosti.

4 VIRI

- Anaya A.L., Pelayo-Benavides H.R. 1997. Allelopathic potential of *Mirabilis jalapa* L. (*Nyctaginaceae*): Effects on germination, growth and cell division of some plants. *Allelopathy Journal*, 4: 57-68
- Badri D. V., Vivanco J.M. 2009. Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell and Environment*, 32: 666–681
- Bais H.P., Weir T.L., Perry L.G., Gilroy S., Vivanco J.M. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57: 233-266
- Bani M., Cimmino A., Evidente A., Rubiales D., Risipail N. 2018. Pisatin involvement in the

- variation of inhibition of *Fusarium oxysporum f. sp. pisi* spore germination by root exudates of *Pisum* spp. germplasm. *Plant Pathology*, 67: 1046–1054
- Bellostas N., Sørensen J.C., Sørensen H. 2007. Profiling glucosinolates in vegetative and reproductive tissues of four *Brassica* species of the U-triangle for their biofumigation potential. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 1586–1594
- Berenbaum M. 1978. Toxicity of a furanocoumarin to armyworms: A case of biosynthetic escape from insect herbivores. *Science*, 201: 532–534
- Berlanas C., Andrés-Sodupe M., López-Manzanares B., Maldonado-González M.M., Gramaje D. 2018. Effect of white mustard cover crop residue, soil chemical fumigation and *Trichoderma spp.* root treatment on black-foot disease control in grapevine. *Pest Management Science*, 74: 2864–2873
- Bernklau E.J., Hibbard B.E., Dick D.L., Rithner C.D., Bjostad L.B. 2015. Monogalactosyldiacylglycerols as host recognition cues for western corn rootworm larvae (*Coleoptera: Chrysomelidae*). *Journal of Economic Entomology*, 108: 539–548
- Bernklau E.J., Hibbard B.E., Norton A.P., Bjostad L.B. 2016. Methyl anthranilate as a repellent for western corn rootworm larvae (*Coleoptera: Chrysomelidae*). *Journal of Economic Entomology*, 10: 1683–1690
- Chen S., Zhou X., Yu H., Wu F. 2018. Root exudates of potato onion are involved in the suppression of clubroot in a Chinese cabbage-potato onion-Chinese cabbage crop rotation. *European Journal of Plant Pathology*, 150: 765–777
- Dakora F.D., Phillips D.A. 2002. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant and Soil*, 245: 35–47
- Dyer A. R. 2004. Maternal and sibling factors induce dormancy in dimorphic seed pairs of *aegilops triuncialis*. *Plant Ecology*, 172, 2: 211–218
- De Feo V., De Martino L., Quaranta E., Pizza C. 2003. Isolation of phytotoxic compounds from tree-of-heaven (*Ailanthus altissima swingle*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1177–1180
- de Feo V., Mancini E., Voto E., Curini M., Digilio M.C. 2009. Bioassay-oriented isolation of an insecticide from *Ailanthus altissima*. *Journal of Plant Interactions*, 4: 119–123
- de Weert S., Vermeiren H., Mulders I.H.M., Kuiper I., Hendrickx N., Bloemberg G. V., Vanderleyden J., De Mot R., Lugtenberg B.J.J. 2007. Flagella-driven chemotaxis towards exudate components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 15: 1173–1180
- Ding Y., Liu Y., Liu S., Li Z., Tan X., Huang X., Zeng G., Zhou L., Zheng B., 2016. Biochar to improve soil fertility. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 36, doi:10.1007/s13593-016-0372-z: 18 str.

- Fan P., Hostettmann K., Lou H. 2010. Allelochemicals of the invasive neophyte *Polygonum cuspidatum* Sieb. & Zucc. (*Polygonaceae*). *Chemoecology*, 20: 223-227
- Fernández E., Trillas M.I., Segarra G. 2017. Increased rhizosphere populations of *Trichoderma asperellum* strain T34 caused by secretion pattern of root exudates in tomato plants inoculated with *Botrytis cinerea*. *Plant Pathology*, 66: 1110–1116
- Ge Y., Wang Q., Wang L., Liu W., Liu X., Huang Y., Christie, P. 2018. Response of soil enzymes and microbial communities to root extracts of the alien *Alternanthera philoxeroides*. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64: 708-717
- Glinwood R., Gradin T., Karpinska B., Ahmed E., Jonsson L., Ninkovic V. 2007. Aphid acceptance of barley exposed to volatile phytochemicals differs between plants exposed in daylight and darkness. *Plant Signaling and Behavior*, 2: 321–326
- Glinwood R., Pettersson J., Ahmed E., Ninkovic V., Birkett M., Pickett J. 2003. Change in acceptability of barley plants to aphids after exposure to allelochemicals from couch-grass (*Elytrigia repens*). *Journal of Chemical Ecology*, 29: 261–274
- Gu Y., Hou Y., Huang D., Hao Z., Wang X., Wei Z., Jousset A., Tan S., Xu D., She, Q., Xu, Y., Friman V.P. 2017. Application of biochar reduces *Ralstonia solanacearum* infection via effects on pathogen chemotaxis, swarming motility, and root exudate adsorption. *Plant and Soil*, 415: 269–281
- Hibbard B.E., Peairs F.B., Pilcher S.D., Schroeder M.E., Jewett D.K., Bjostad L.B. 1995. Germinating corn extracts and 6-methoxy-2-benzoxazolinone: Western corn rootworm (*Coleoptera: Chrysomelidae*) larval attractants evaluated with soil insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 88: 716–724
- Isman M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19: 603-608
- Klocke J.A., Balandrin M.F., Barnby M.A., Yamasaki R.B. 2009. Limonoids, phenolics, and furanocoumarins as insect antifeedants, repellents, and growth inhibitory compounds. V: Insecticide of plant origin. Arnason J.T. (ur.). ACS Symposium Series, vol 387. Washington, ACS Publications: 136-149
- Kubo I., Klocke J.A. 2009. Isolation of phytoecdysones as insect ecdysis inhibitors and feeding deterrents. V: Plant resistant to insects. ACS Symposium Series, vol 208. Washington, ACS Publications: 329-346
- Larkin R., Lynch R. 2018. Use and effects of different *Brassica* and other rotation crops on soilborne diseases and yield of potato. *Horticulturae*, 4: 37, doi:10.3390/horticulturae4040037: 16 str.
- Laznik Ž., Bohinc T., Trdan S. 2018. Uporabnost izbranih invazivnih tujerodnih rastlin pri zatiranju škodljivih organizmov gojenih rastlin. *Acta agriculturae Slovenica*, 111: 501-509
- Lumsden R.D., Carter J.P., Whipps J.M., Lynch J.M. 1990. Comparison of biomass and

- viable propagule measurements in the antagonism of *Trichoderma harzianum* against *Pythium ultimum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 22: 187–194
- Macel M. 2011. Attract and deter: A dual role for pyrrolizidine alkaloids in plant-insect interactions. *Phytochemistry Reviews*, 10: 75–82
- Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants, mineral nutrition of higher plants. Dordrecht, Elsevier: 889 str.
- Miresmailli S., Isman M.B. 2014. Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. *Trends in Plant Science*, 19: 29-35
- Mueller D.S., Wise K.A., Sisson A.J., Allen T.W., Bergstrom G.C., Bosley D.B., Bradley C.A., Broders K.D., Byamukama E., Chilvers M.I., Collins A., Faske T.R., Friskop A.J., Heiniger R.W., Hollier C.A., Hooker D.C., Isakeit T., Jackson-Ziems T.A., Jardine D.J., Kelly H.M., Kinzer K., Koenning S.R., Malvick D.K., McMullen M., Meyer R.F., Paul P.A., Robertson A.E., Roth G.W., Smith D.L., Tande C.A., Tenuta A.U., Vincelli P., Warner F. 2016. Corn yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada from 2012 to 2015. *Plant Health Progress*, 17: 211-222
- Neumann G., Römheld V. 1999. Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants. *Plant and Soil*, 211: 121–130
- Nielsen T.H., Christophersen C., Anthoni U., Sørensen J. 1999. Viscosinamide, a new cyclic depsipeptide with surfactant and antifungal properties produced by *Pseudomonas fluorescens* DR54. *Journal of Applied Microbiology*, 87: 80–90
- Paterson E., Sim A. 2000. Effect of nitrogen supply and defoliation on loss of organic compounds from roots of *Festuca rubra*. *Journal of Experimental Botany*, 51: 1449–1457
- Peters N.K., Frost J.W., Long S.R. 1986. A plant flavone, luteolin, induces expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes. *Science*, 233: 977–980
- Ray Fall J.M. 2004. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant Physiology*, 134, 1: 307-319
- Ronchel M.C., Ramos J.L. 2001. Dual system to reinforce biological containment of recombinant bacteria designed for rhizoremediation. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 2649-2656
- Russo M.L., Scorsetti A.C., Vianna M.F., Cabello M., Ferreri N., Pelizza S. 2019. Endophytic effects of *Beauveria bassiana* on corn (*Zea mays*) and its herbivore, *Rachiplusia nu* (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Insects*, 10, 4, doi:10.3390/insect1004011d: 9 str.
- Taiz L., Zeiger E., Lincoln E. 2010. Plant physiology. Fifth Edition. Sunderland, Sinauer Associates: 782 str.
- Uren N.C. 2000. Functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants.

- V: The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil- plant interface..
Pinton R., Varanini Z., Nannipieri P. (ur.). New York, Marcel Dekker: 19–40
- Vranova V., Rejsek K., Skene K.R., Janous D., Formanek P. 2013. Methods of collection of plant root exudates in relation to plant metabolism and purpose: A review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 176: 175-199
- Weir T.L. Park S.-W. Vivanco J.M. 2004. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Current Opinion in Plant Biology*, 7: 472-479
- The world of organic agriculture: statistics and emerging trends 2019. 2019. Willer H., Lernoud J. (ur.). Frick, FiBL & IFOAM: 351 str.
<https://shop.fibl.org/CHde/mwdownloads/download/link/id/1202/?ref=1> (12.8.2019)
- Yeates G.W. 1999. Effects of plants on nematode community structure. *Annual Review of Phytopathology*, 37: 127-149
- Yusnawan E., Inayati A. 2018. Antifungal activity of crude extracts of *ageratum conyzoides*, *cyperus rotundus*, and *amaranthus spinosus* against rust disease. *Agrivita*, 40: 403-414
- Zukalová H., Vašák J. 2018. The role and effects of glucosinolates of *Brassica* species - a review. *Plant, Soil and Environment*, 48: 175–180

ZAHVALA

Zahvaljujem se mojemu mentorju Klemnu Elerju za strokovno pomoč in potrpežljivost pri slovnicih napakah. Zahvalil bi se tudi moji družini, ki mi je stala ob strani do diplomiranja.