

# Primjena benefitne gljive *Trichoderma harzianum* u zaštiti povrća

---

**Puškaric, Martina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /  
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:151:641789>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-29**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical  
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of  
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI U OSIJEKU

Martina Puškarić

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

**Primjena benefitne gljive *Trichoderma harzianum* u zaštiti  
povrća**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2023.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI U OSIJEKU

Martina Puškarić

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

**Primjena benefitne gljive *Trichoderma harzianum* u zaštiti  
povrća**

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu završnog rada:

1. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Suzana Kristek, mentor
3. doc. dr. sc. Jurica Jović, član
4. izv.prof.dr.sc. Drago Bešlo, zamjenski član

**Osijek, 2023.**

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1 Cilj istraživanja .....	3
2. ODRŽIVA PROIZVODNJA POVRĆA .....	4
2.1. Agrotehničke metode .....	6
2.1.1. Plodored .....	6
2.1.2. Gnojidba .....	7
2.1.3. <i>Trichoderma harzianum</i> spp. – biognojivo .....	9
2.2. Biološke metode .....	10
2.2.1. <i>Trichoderma harzianum</i> spp. – biofungicid .....	11
3. BENEFITNA GLJIVA <i>TRICHODERMA HARZIANUM</i> Rifai .....	13
3.1. Interakcija <i>Trichoderma harzianum</i> spp. – patogen .....	17
3.2. Interakcija <i>Trichoderma harzianum</i> spp. – biljka .....	19
4. FITOPATOGENE GLJIVE U PROIZVODNJI POVRĆA .....	22
4.1. <i>Trichoderma harzianum</i> spp. u zaštiti biljnih bolesti povrća .....	23
5. FITOPATOGENI VIRUSI U PROIZVODNJI POVRĆA .....	26
5.1. <i>Trichoderma harzianum</i> spp. u zaštiti virusnih bolesti povrća .....	28
6. ŠTETNI KUKCI U PROIZVODNJI POVRĆA .....	30
6.1. <i>Trichoderma harzianum</i> spp. u zaštiti štetnih kukaca povrća .....	31
7. FITOPARAZITNE NEMATODE U PROIZVODNJI POVRĆA .....	34
7.1. <i>Trichoderma harzianum</i> spp. u zaštiti fitoparazitnih nematoda povrća .....	35
8. VAŽNOST BIOLOŠKE ZAŠTITE U ODNOSU NA KEMIJSKU .....	37
9. ZAKLJUČAK .....	39
10. POPIS LITERATURE .....	41
11. SAŽETAK .....	47
12. SUMMARY .....	48
13. POPIS TABLICA .....	49
14. POPIS SLIKA .....	50
15. POPIS GRAFIKONA .....	51

## 1. UVOD

Opće je poznato i dokazano kako je konvencionalna proizvodnja povrća i ostalog bilja, uz industriju i promet najveći onečišćivač okoliša. Proizvođači najčešće mineralna gnojiva i pesticide koriste po vlastitoj pretpostavci, ne razmišljajući o štetnim posljedicama koje nose poput erozije tla, ispuštanja stakleničkih plinova uzrokujući onečišćenje, zakiseljavanje tla i voda, gubitka genetske raznolikosti dr. (Poveda i Eugui, 2022.). Prema dokazima mnogih znanstvenika, kemijska zaštita dovodi do degradacije i salinizacije tla, gubitka plodnosti, eutrofikacije voda, onečišćenja tla i okoliša pesticidima, njihovim derivatima i teškim metalima, smanjenja humusa, smanjenja biološke raznolikosti, fitotoksičnosti, ostataka rezidua pesticida u biljkama i tlu, promjene strukture tla (Srpak i Zeman, 2018.), dok mineralna gnojiva uzrokuju zakiseljavanje tla, onečišćenja podzemnih i drugih voda ispiranjem nitrata i nitrita (Vinković i sur., 2019.), što sve skupa dovodi do opasnih ekoloških posljedica i iscrpljivanja neobnovljivih prirodnih resursa. Kemijski pesticidi su teško razgradivi, toksični, djeluju štetno na pčele, korisne kukce, mikroorganizme u tlu, dok štetni kukci i patogeni mikroorganizmi razvijaju rezistentnost pa je njihova djelotvornost smanjena (Srpak i Zeman, 2018.).

Kako bi se smanjio negativan utjecaj konvencionalne proizvodnje, poljoprivrednici bi se trebali okrenuti alternativnoj održivoj i okolišno prihvatljivoj proizvodnji koja za cilj ima smanjenje onečišćenja okoliša, čuvanje i poticanje biološke raznolikosti kao i čuvanje i obnavljanje plodnosti tla putem prirodnih mehanizama regulacije, zatim ekonomsku održivost sustava proizvodnje te minimalnu uporabu agrokemikalija (Vinković i sur., 2019.). Na jednom hektaru plodnog tla nalazi se oko 20 tona živih organizama koji su zaslužni za opskrbu biljke hranivim tvarima. Milijarde mikroorganizama razgrađuju organske tvari i spojeve u tlu te tako omogućuju da ih biljka iskoristi (Šakota, 2016.). Jedan od mnoštva tih korisnih mikroorganizama je i benefitna gljiva *Trichoderma harzianum* spp. koja se nalazi u tlu kao slobodno živeći rizosferni organizam koji kolonizira površinu korijena biljke kao oportunistički biljni simbiot. Diljem svijeta se izolira iz tla, umnaža i spravlja za zaštitu patogenih gljiva u vidu biofungicida, zatim kao biognojivo i općenito kao biljni inokulant u vidu biostimulatora i ojačivača bilja. Biljni inokulanti nisu svrstani u kategoriju biofungicida, ali imaju jednak učinak na biljne patogene mikroorganizme. Iako se na deklaraciji biognojiva i biostimulatora na bazi *T.*

*harzianum* spp. ne navode tvrdnje o kontroli mnogih bolesti povrća, njihove dobrobiti i učinkovitost su vrlo dobro istražene i priznate (Topolovec – Pintarić, 2019.).

*T. harzianum* spp. u interakciji sa drugim patogenim mikroorganizmima razvija mehanizme djelovanja (parazitizam, kompeticija, antibioza, inducirana rezistentnost) kojima nadjača i usmrti biljne patogene, dok u interakciji sa biljkom, aktivira obrambeni sustav biljke kako bi se obranila od patogena (Błaszczuk i sur., 2014.). *Trichoderma* vrlo brzo endofitski naseli biljku, gdje živi simbiotski, pružajući dugu učinkovitost, omogućavajući biljci da bude otpornija na bolesti, štetne kukce, fitoparazitne nematode, abiotске i biotске stresove, stvarajući joj povoljne uvijete za zdrav rast i razvoj, što u konačnici proizvođačima osigurava visok prinos (Topolovec – Pintarić, 2019.).

Rezultatima istraživanja potvrđuje se učinkovitost *T. harzianum* u zaštiti najznačajnijih biljnih patogena koji se šire tlom (Parađiković i sur., 2007., Baličević i sur., 2008., Thambugala i sur., 2019., Geng i sur., 2022., El-Zahaby i Belal, 2008., Elad, 2000.). Razvija se i inovativna strategija kontrole virusne bolesti CMV-a (virus mozaika krastavca) u kontroli rajčica primjenom biološkog agensa *T. harzianum* budući da su rezultati istraživanja pokazali smanjenje pojave bolesti (Vitti i sur., 2015., 2016., Al-Jaddawi i sur., 2019.). Nafady i sur. (2022.), Yan i sur. (2021.), Shebani i Havadi (2008.), Gogoi i Mahanta (2013.) potvrđuju djelotvornost i učinkovitost *T. harzianum* u ekološki prihvatljivoj biološkoj kontroli fitonematoda. Zadnjih nekoliko godina, velika pažnja daje se proučavanju mogućnosti suzbijanja i štetnih insekata primjenom biopreparata na bazi *T. harzianum* budući da su rezultati istraživanja pokazali uspješno smanjenje populacije štetnika (Alvarez-Garcia i sur., 2022., Rodríguez-González i sur., 2018., 2019., Jafarbeigi i sur. 2020., Coppola i sur. 2019., Kottb, 2017., Zahran i sur. 2017., Vinković i sur., 2019., Poveda, 2021.).

Biopreparati koji sadrže *T. harzianum* osim zaštite patogenih mikroorganizama obavljaju i mineralizaciju humusa, teško topljive spojeve prevode u biljkama pristupačne oblike te tako mogu reducirati gnojidbu (Vinković i sur., 2019.). *Trichoderma* stimulira rast i razvoj biljaka, povećava otpornost biljke na stres, ubrzava kompostiranje, popravljajući strukturu tla, povećava plodnost, održava pH tla, pa izravno i neizravno sudjeluje u boljoj apsorpciji mineralnih hraniva biljke (Błaszczuk i sur., 2014.). Primjena benefitne gljive *T. harzianum* kao alternativna zamjena kemijskim pesticidima i mineralnim gnojivima u proizvodnji povrća je moguća i sigurna za okoliš. Primjenom *T. harzianum* čuva se i poboljšava bonitet tla, eutrofikacija podzemnih voda ili će se reducirati ili će potpuno

izostati, pčele kao važni oprašivači i korisna mikrofauna ostat će neoštećeni, uzročnici bolesti i štetnici reducirat će se prirodnim putem (Vinković i sur., 2019.) jer se uspostavlja prirodna ravnoteža bez koje nije moguć život na zemlji. Povrće koje se proizvede uz ovakvog bio agensa biti će zdravije, nutritivno bogatije, što znači da će ujedno i ljudska populacija biti zdravija konzumirajući takvu „živu“ hranu.

## 1.1 Cilj istraživanja

Ovaj rad prikazati će učinkovitost, značaj i korist benefitne gljive *Trichoderma harzianum* kao biološkog agensa u održivoj proizvodnji povrća. Naglasak će biti na zaštitu fitopatogenih gljiva, virusa, štetnih kukaca, fitoparazitnih nematoda koji u proizvodnji povrća nanose velike gubitke kako kvantitativne tako i kvalitativne. Cilj istraživanja je prikazati moguću zamjenu kemijskih preparata alternativnim biološkim metodama kontrole štetnih mikroorganizama uporabom mikrobioloških pripravaka na bazi spora gljive *Trichoderma harzianum* spp.

## 2. ODRŽIVA PROIZVODNJA POVRĆA

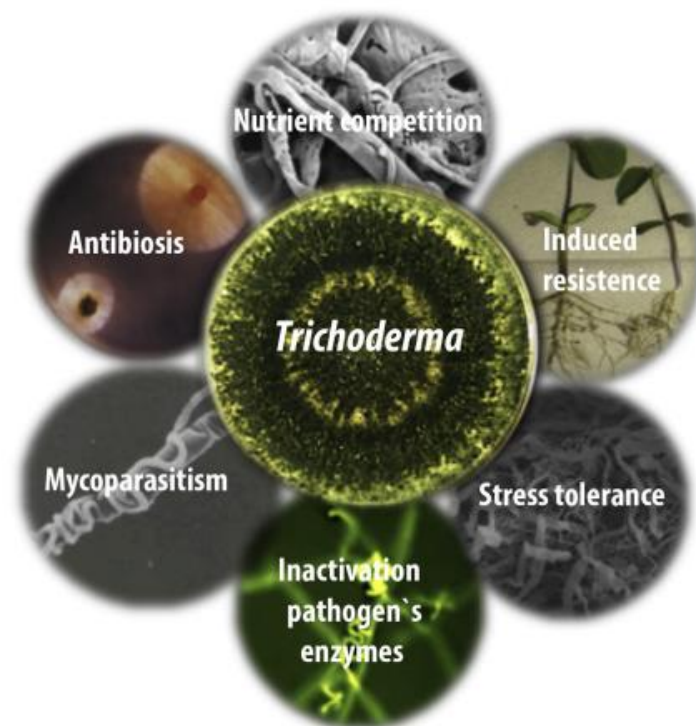
Pod pojmom održiv krije se podizanje standarda i kvalitete proizvodnje uz uvjet da se ne narušava globalni ekološki sustav. Održivom proizvodnjom, kako bi se prehranila svjetska populacija i povećala produktivnost usjeva, mora se riješiti problem opskrbe biljaka hranivim tvarima, povećati tolerancija biljaka na abiotičke stresove i moraju se smanjiti gubici uzrokovanih štetnicima i patogenima (Poveda i Eugui, 2022.). Prvi korak koji proizvođač mora napraviti kako bi započeo očuvanje ekosustava jest postupni prelazak sa konvencionalnog načina uzgoja na održiv tj. integrirani ili ekološki sustav proizvodnje. Sveopće je poznato da je zelena revolucija značajno utjecala na promjenu načina proizvodnje iz razloga kako bi se zadovoljila potražnja hrane za sve veću populaciju ljudi na zemlji. Povećala se potrošnja sintetskih kemijskih pesticida i gnojiva što je dovelo do negativnih i vrlo opasnih posljedica na tlo i okoliš (Pani i sur., 2021.). Upravo su sredstva za zaštitu bilja i gnojiva najčešći čimbenici zagađenja tla i voda (Barić i Pajač Živković, 2020.). Površinski sloj tla je sve više iscrpljen, dolazi do kontaminacije podzemnih voda, povećan je trošak proizvodnje, smanjen broj malih obiteljskih gospodarstava. Zakonom o održivoj uporabi pesticida (NN 14/14) u Članku 4. određen je Nacionalni akcijski plan za postizanje održive uporabe pesticida sa ciljem smanjenja rizika od štetnog učinka pesticida na okoliš, biološku raznolikost, zdravlje ljudi. Njime se potiče integrirana zaštita bilja u praksi, što je temelj suvremene zaštite bilja. Kako bi se održivi sustav uspostavio, proizvođači će se morati koristiti metodama (agrotehničkim, mehaničkim, fizikalnim, biološkim, biotehničkim) koje su prvenstveno ekonomski opravdane, koje potiču obnavljanje i čuvanje plodnosti tla, smanjuju onečišćenje tla, vode i zraka, koje potiču očuvanje biološke raznolikosti uz minimalnu uporabu agrokemikalija (Vinković i sur., 2019.). Mikroorganizmi koji se koriste u poljoprivredi, poput benefitne gljive *T. harzianum*, dijele se na biopesticide i biostimulatore (Poveda i Eugui, 2022.).

Sve više znanstvenika potvrđuje kako se negativan utjecaj kemijske gnojidbe i uporaba pesticida može znatno smanjiti i izbjeći primjenom bio-agenasa poput biognojiva, biofungicida, bioinsekticida, bioherbicida i biostimulatora. To su neke od mogućnosti uspostavljanja održivog sustava u proizvodnji povrća koje utječu pozitivno na tlo, okoliš, biološku raznolikost i dr. Benefitna gljiva *Trichoderma harzianum* pridonosi održivom načinu proizvodnje povrća jer se može koristiti kao sredstvo za biološku kontrolu biljnih bolesti, kao sredstvo za poticanje rasta biljaka, kao prirodni agens razgradnje organskih



tvori pospješujući brzinu procesa razgradnje, kao biološko sredstvo remedijacije (Zin i sur., 2020.), a po novijim znanstvenim istraživanjima učinkovita je u borbi protiv virusnih oboljenja biljaka te zbog svojstva parazitizma i repelentnosti, mogla bi se koristiti i u biološkoj kontroli štetnih kukaca i fitonematoda. U svijetu se već doprinosi kvalitetnim načinom biološkog suzbijanju patogena koji izazivaju bolesti povrća. Vrlo je pogodno za korištenje u kontroliranim uvjetima biljne proizvodnje koja uključuje proizvodnju povrća u zaštićenim prostorima te hidroponski uzgoj (Miličević i Kaliterna, 2014.).

Upravo Pani i sur. (2021.) kao i mnogi drugi znanstvenici potvrđuju kako je benefitna gljiva *Trichoderma harzianum* najkorišteniji bio agens u kontroli biljnih bolesti jer se većina poljoprivrednika koristi biološkim fungicidima pripremljenih od ove gljive zbog pozitivnih strategija antagonističkih mehanizama (Slika 1.) mikoparazitizma, antibioze, kompeticije za hranive tvari i prostor, induciranog otpora biljke i tolerancije na stres (Silva i sur., 2019.). Upravo zbog svih navedenih benefita gljive *T. harzianum*, održiva proizvodnja bila bi 100% održiva primjenom komercijaliziranih preparata u vidu mikofungicida, biognojiva i biostimulatora kojima proizvođači trebaju dati priliku.



Slika 1. Strategije biokontrole *Trichoderme harzianum*

Izvor: <https://www.fampfaculdade.com.br/wp-content/uploads/2019/08/Silva-et-al-2019-Trichoderma-pathogen-plant-interaction.pdf>

## 2.1. Agrotehničke metode

Uporaba certificiranog sjemena i presadnica, sjetva i uzgoj otpornih sorata i hibrida, vrijeme sjetve, sadnje, obrada tla, plodored i uravnotežena gnojidba predstavljaju najvažnije agrotehničke metode u proizvodnji povrća koje utječu na pojavu većine štetnih organizama (Vinković i sur., 2019.). Pravilnim agrotehničkim metodama omogućuje se sinergizam i bolja interakcija mikroorganizam – tlo – biljka, čineći međudnos uravnoteženim i simbiotskim.

### 2.1.1. Plodored

Plodored je jedna od metoda održive proizvodnje povrća koja uključuje izmjenu (prostornu – poljosmjena i vremensku – plodosmjena) kultura prema botaničkim porodicama, prekrivanje tla međusjevima kojima se sprječava erozija i ispiranje nitrata, sprječava širenje štetnih patogenih mikroorganizama, štetnih kukaca i fitonematoda. Pretkulture iznošenjem velikih količina biogenih elemenata iz tla utječu na bilancu hraniva, stoga se u plodored uvode djetelinsko-travne smjese, leguminozne, drvenaste i zeljaste biljke kojima se povećava sadržaj hraniva u tlu. U proizvodnji povrća, ovisno da li je na otvorenome polju ili u zaštićenom prostoru, izmjena usjeva može biti ista ili različita, ovisno o tipu proizvodnje, tj. o opremi kojom se raspolaže.

Kao primjer plodoreda na otvorenome polju u intenzivnoj ekološkoj proizvodnji povrća se u prvoj fazi povećava plodnost tla koja traje jednu do dvije godine te se tada uzgaja grahorica, lucerna ili djetelina jer usvajaju dušik iz atmosfere. U drugoj fazi se uzgaja povrće koje ima velike potrebe za dušikom i to u prvoj godini (kupusnjače, salata, krumpir), u drugoj godini (luk, mrkva, celer, poriluk), a u trećoj godini (grah, kukuruz šećerac). U plodored se može nadodati i sjetva jedne ili više ratarskih kultura, najčešće žitarica, sa ciljem odmora usjeva iliti prekida proizvodnje. Pravilna izmjena usjeva u jednoj ili tijekom više godina, ovisno o modelu proizvodnje, treba ići određenim redoslijedom i to, korjenasto povrće, zatim lisnato, plodovito te na kraju zrnato povrće (Vinković i sur., 2019.).

Metoda izmjene usjeva uključuje i sjetvu alelopatskih usjeva koji poboljšavaju prinose, kvalitetu tla te ispuštaju kemikalije zvane alelokemikalije kojima se reducira brojnosti napada biljnih patogena i brojnosti korova, a primjenjuje se u obliku zelene

gnojidbe, malča, pokrivača tla, pokrovnih usjeva (Vinković i sur., 2019.). Biljke s alelopatskim djelovanjem u vidu bioherbicide, insekticide, regulatora rasta i antimikrobne zaštite usjeva obećavaju održivu proizvodnju povrća i ostalih kultura budući da pokazuju učinkovitost (Aci i sur., 2022.).

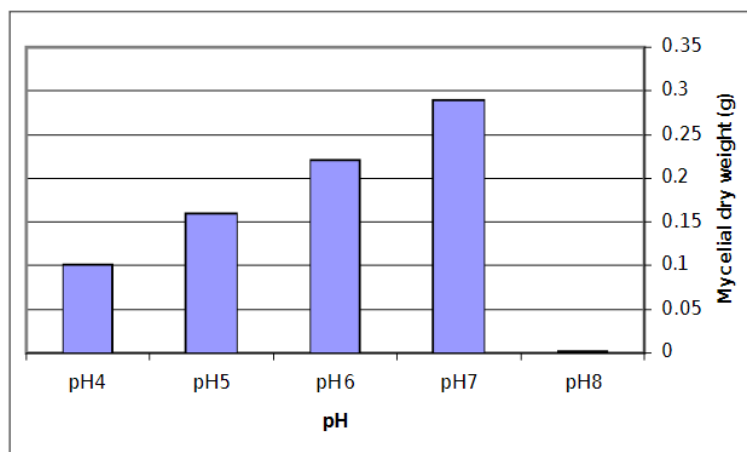
Zimzelena ili vazdazelena poljoprivreda u rotaciju usjeva uključuje pojedine drvenaste vrste koje opskrbljuju tlo hranivim tvarima, pozitivno utječu na biološku fiksaciju dušika, osiguravaju trajni zeleni pokrivač, povećavaju količinu organske tvari u tlu, povećavaju udio humusa te se njihovom primjenom ostvaruju viši prinosi uz minimalna ulaganja. Upravo biljke i stabla koja usvajaju dušik iz atmosfere postaju izvrstan model kojim se povećava plodnost tla. Vrste stabala poput *Gliricidia*, *Sesbania*, *Tephrosia* i *Faidherbia albida* mogu usvojiti i više od 600 kg N/ha godišnje te se zbog tako visokog usvajanja dušika mogu upotrijebiti u *intercropping* modelu koji uključuje međuredno usijavanje drvenastih i zeljastih biljaka. Tim modelom mogu se smanjiti potrebe za gnojidbom dušika i do 75% što je od velike važnosti u održivoj proizvodnji povrća koja zahtjeva velike količine dušika u tlu jer su to kulture koje crpe najviše hraniva i daju najveće prinose po jedinici površine (Vinković i sur., 2019.).

### 2.1.2. Gnojidba

Jedan od bitnijih modela održive proizvodnje povrća jest gnojidba kojom ne samo da se postižu stabilni i visoki prinosi, već je njena glavna važnost kvaliteta proizvoda, veća plodnost tla, očuvan okoliš. Cilj gnojidbe je planski i sustavno postići optimalnu raspoloživost hraniva u tlu koja je izravna ili posredna posljedica svojstava tla. Najveći utjecaj na raspoloživost hraniva u tlu imaju tekstura i struktura tla, vlažnost, humoznost i pH-reakcija tla (Vinković i sur., 2019.).

Dobra struktura tla važan je element za prevenciju uzročnika biljnih bolesti iz tla poput *Pythium* spp. ili *Sclerotinia* spp. (Barić i Pajač Živković, 2020.). Kako bi se raspoloživost hraniva očuvala, nužno je održavati plodnost mjerama popravaka ili kondicioniranja tala te gnojidbom. Njima se postižu efikasni učinci veće plodnosti a samim time i veće elastičnosti tla što osigurava sposobnost neutralizacije stresnih uvjeta okoliša kao na primjer bolje podnošenje sezonskih sušnih razdoblja i nepovoljnih učinaka suviše ili nedovoljne gnojidbe. Uslijed prekomjerne raspoloživosti hraniva u tlu gnojidbom se negativno utječe na kvalitetu proizvoda i smanjenje prinosa zbog bujnosti biljaka,

intenzivnog napada uzročnika bolesti, a pojavom kloroze i nekroze mogući je toksičan učinak na biljku (Vinković i sur., 2019.). Održavanje optimalne neutralne pH-reakcije tla smatra se vrlo važnim okolišnim čimbenikom u rizosferi budući da pH-reakcija tla utječe na učinkovitost bio agensa *T. harzianum* kojem za optimalan rasti i razvoj micelija odgovara pH7 (Grafikon 1.) (El-Zahaby i Belal, 2008.).



Grafikon 1. Utjecaj pH-reakcije tla na rast micelija *T. harzianum*

Izvor: [https://www.researchgate.net/publication/267029639\\_biocontrol\\_of\\_cantaloupe\\_white\\_mould\\_disease\\_sclerotinia\\_sclerotiorum\\_lib\\_de\\_bary\\_by\\_trichoderma\\_harzianum\\_el-zahaby\\_1](https://www.researchgate.net/publication/267029639_biocontrol_of_cantaloupe_white_mould_disease_sclerotinia_sclerotiorum_lib_de_bary_by_trichoderma_harzianum_el-zahaby_1)

Model primjene zelene gnojidbe ili sideracije jest unošenje nadzemne mase pojedinih kultura u tlo uzgojenih isključivo za tu namjenu sa ciljem očuvanja optimalnih fizikalnih svojstava tla i povećanja plodnosti tla. Djeluje povoljno na tlo tako što poboljšava biološku aktivnost tla, obogaćuje ga organskom tvari, omogućuje bolje korištenje teže pristupačnih hraniva, a na težim tlima utječe na biološku drenažu. Na lakšim tlima sideracijom se povećava kapacitet tla za vodu, utječe na pedohigijenu tla, te se osigurava opskrba tla organskom tvari i bolja pristupačnost hranivih elemenata. Također se smanjuje ispiranje hraniva, ispiranje nitrata, isparavanje vode iz tla i negativan utjecaj suše koja je sve više izraženija. Uz sve navedeno, sideracijom se neizravno smanjuje potreba za dodavanjem gnojiva, smanjuje se korovna populacija, zasjenjuje se tlo u ljetnome razdoblju i time se zadržava vlagu u tlu i štiti od erozije. Za sjetvu siderata mogu se koristiti leguminoze i to crvena (*Trifolium pratense*) i bijela djetelina (*Trifolium repens*), lupina (*Lupinus albus* – bijela, *L. luteus* – žuta, *L. angustifolius* – plava), grahorica (*Vicia villosa* – maljava, *Vicia sativa* – obična grahori), grahor (*Lathyrus pratensis*), kokotac (*Melilotus albus*), bob konjski (*Vicia faba*) itd. ili neleguminozne vrste (repice *Brassica*

napus, ogrštica *Brassica rapa oleifera*, gorušica *Sinapis alba*, uljna rotkva *Raphanus sativus*, facelija *Phacelia tanacetifolia*, heljda *Fagopyrum esculentum*) (Bogović, 2012.).

### 2.1.3. *Trichoderma harzianum* spp. – biognojivo

*Trichoderma harzianum* može se primjenjivati i kao biognojivo. Budući da *T. harzianum* sudjeluje u transformaciji i razgradnji organskih tvari u tlu, smanjuje se potreba za konvencionalnim NPK gnojivima. *T. harzianum* pomaže u topivosti fosfata u tlu čineći ih dostupnim biljkama, a poboljšava i apsorpciju mikro i makro elemenata bitnih za ostvarenje maksimalnog prinosa. Može detoksicirati toksične spojeve u tlu. Pretvara nepokretni oblik željeza u pokretni oblik otpuštanjem siderofora, pa sav pokretni oblik željeza biljke mogu apsorbirati. *Trichoderma* povećava dostupnost vlage u tlu, pa se upotrebom proizvoda na bazi *Trichoderme* povećava masa korijena bilo u navodnjavanjem ili u suhim uvjetima budući da uspostavlja dobre uvjete za zdrav razvoj biljaka (Pani i sur., 2021.). *Trichoderma* ubrzava klijanje sjemena proizvodeći spojeve zeaksantin i gibberelin. Povećava topljivost hranivih tvari u tlu koji inače nisu dostupni biljkama uz pomoć enzima. Proizvodi kiseline poput limunske, kumarinske i glukonske, uzrokujući oslobađanje iona fosfora i mikroelemenata koji kasnije postaju dostupni biljkama. Povoljni učinci vidljivi su i u proizvodnji vitamina, mobilizaciji organskih i hranivih tvari iz tla, povećanoj dostupnosti biogenih elemenata dušika i fosfora, te pojačanog intenziteta unosa i transporta minerala. *Trichoderma* stimulira i pospješuje rast i razvoj biljaka, povećava njihovu otpornost na stres, ubrzava kompostiranje (Błaszcyk i sur., 2014.). *Trichoderma* stimulira dublje ukorjenjivanje te tako povećava volumen tla koje je koloniziralo korijenje biljaka što dovodi do povećane učinkovitosti korištenja dušika u biljkama. Od ukupne količine primijenjenog dušičnog gnojiva biljke otprilike uzimaju samo 33%. U nekoliko različitih usjeva, podaci iz terenskih ispitivanja tretmana s *Trichodermom* ukazuju na mogućnost smanjenja količine primijenjenog dušika za 30 – 50 % bez smanjenja prinosa. Ušteda u primjeni dušika iznosila bi više od milijardu kilograma dušika godišnje kada bi se ovo smanjenje primijenilo na 30 milijuna hektara pšenice u SAD-u (Topolovec – Pintarić, 2019.). *T. harzianum* kao mikrobnii biostimulator može izravno opskrbiti biljku hranivim tvarima, poboljšati im pristup i povećati toleranciju biljke na abiotičke stresove (Poveda i Eugui, 2022.).

## 2.2. Biološke metode

Korištenje prirodnih agenasa za suzbijanje i smanjivanje gustoće populacije štetnih organizama i uzročnika biljnih bolesti putem parazitizma, kompeticije za prostor i hranive tvari, antibioze i dr. predstavlja biološku zaštitu bilja (Pandit i sur., 2022.). Makrobiološki agensi uključuju korisne kukce (predatore i parazitoide), grinje rodova *Amblyseius*, *Phytoseiulus*, *Typhlodromus* i dr., entomopatogene nematode (vrste iz porodica *Heterorhabditidae*, *Rhabditidae*, *Mermithidae* i *Steinernematidae*), ptice, pauke i sisavce, dok mikrobiološki agensi uključuju mikroorganizme koji su uzročnici bolesti štetnih organizama, a to su bakterije rodova *Bacillus*, *Agrobacterium*, *Pantoea*, *Burkholderia*, *Pasteuria*, *Streptomyces* i *Pseudomonas*, gljive rodova *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Ampelomyces*, *Coniothyrium*, *Pythium*, zatim pseudogljive, virusi (citoplazmatske poliedrije CPV, granuloze GV, entomopox virusi EPV), mikosporidije i mikoplazme. Također, u agense biološkog suzbijanja štetnih organizama ubrajaju se derivati (metaboliti) nekih organizama (derivat abamektina dobiven iz mikroorganizma tla *Streptomyces avermitilis* i derivat aktinomiceta *Saccharopolyspora spinosa*) te prirodni pesticidi dobiveni iz raznih biljaka. Poznati prirodni spojevi od kojih se pripremaju prirodni pesticidi su azadirachtin sintetiziran iz indijske biljke neem (*Azadirachta indica*), piretrin sintetiziran iz biljke dalmatiskog buhača (*Tanacetum cinerariifolium*) i nikotin sintetiziran iz biljke duhana (*Nicotiana tabacum*) (Barić i Pajač Živković, 2020.).

Štetni organizmi kulturnog bilja u prirodi imaju svoje antagoniste. Upravo su to prirodni neprijatelji, a nazivaju se i korisna fauna. Njihova uloga vrlo je bitna i od velike važnosti. Održavaju ravnotežu i stabilnost agroekosustava, te reguliraju populaciju svih štetnih organizama ispod kritičnog praga. Prirodnu ravnotežu uspostavljaju tako što napadaju, vrše zarazu ili se hrane štetnim organizmima ne dopuštajući im pojačano razmnožavanje i ujedno ih održavaju na prihvatljivoj pojavnj razini (Franin i Barić, 2011.). U svijetu se aktivno primjenjuju i komercijalno proizvode prirodni neprijatelji (Barić i Pajač Živković, 2020.) te razni biološki pripravci tzv. biopreparati na bazi korisnih mikroorganizama (gljiva, virusa, bakterija, nekih algi i nematoda) za biološko suzbijanje štetnih kukaca, biljnih parazita (uzročnika bolesti) i korova pokazujući odlične rezultate učinkovitosti (Igrc Barčić i Maceljski, 2001.). Prema marketinškim izvješćima, Sjeverna Amerika zauzima najveće tržište biopesticida, nakon čega slijedi Europa. Rast sintetskih pesticida na tržištu očekuje se između 5 % i 6 %, dok se za biološku zaštitu pokazalo više,

čak i od 15 % više po godini. Većina poljoprivrednika izvješćuje kako korištenjem biološke zaštite dobivaju bolje prinose i imaju zdravije usjeve (Lenteren i sur., 2017.).

Na djelovanje bioloških agenasa utječe niz faktora poput klimatskih okolnosti, fiziološko i genetsko stanje domaćina, te razni drugi čimbenici koji povećavaju promjenjivost željenih utjecaja bioloških agenasa. Iz tih razloga, biološka zaštita je najčešće ograničena na primjenu u kontroliranim stakleničkim i plasteničkim uvjetima proizvodnje povrća (Pandit i sur., 2022.). Biološke metode sigurne su za okoliš i uvelike pridonose održivoj proizvodnji povrća i ostalog bilja.

### 2.2.1. *Trichoderma harzianum* spp. – biofungicid

Biopreparati koji sadrže žive organizme gljive *Trichoderme harzianum* spp. tzv. biofungicidi, komercijalizirani su biološki preparati koji se koriste u biološkim metodama zaštite povrća od patogenih gljiva. Registrirani su kao mikrobnii fungicidi koji u sastavu sadrže jednu ili kombinaciju više antagonističkih gljiva vidljivih u tablici (Tablica 1.) kao i koje patogene suzbijaju (Miličević i Kaliterna, 2014.).

Tablica 1. Antagonističke gljive i patogeni koje suzbijaju

Vrste antagonističkih gljiva	Biljni patogeni koje suzbijaju
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> spp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Botrytis cinerea</i> i dr.
<i>Trichoderma harzianum</i> i <i>Trichoderma viride</i>	<i>Armillaria</i> spp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Phytophthora</i> spp., <i>Pythium</i> spp, <i>Rhizoctonia</i> spp., i dr.
<i>Trichoderma harzianum</i> i <i>Gliocladium virens</i>	<i>Rhizoctonia</i> spp., <i>Pythium</i> spp. i dr.
<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Pythium</i> spp., <i>Fusarium</i> spp.

U mnogim zemljama proizvodi za biološku zaštitu temelje se na gljivama iz roda *Trichoderma*. Oko 60 % svih registriranih proizvoda međunarodnog tržišta biofungicida proizvode se na bazi *Trichoderma* spp., a do danas ih je predstavljeno više od 250 dostupnih diljem svijeta. U većini proizvoda na bazi *Trichoderma* spp., *T. harzianum* je prevladavajuća vrsta 83 %, od čega je 55 % njih u kombinaciji s *T. viride*, a 28 % u kombinaciji s *T. koningii*. Indija je vodeća zemlja u smislu enormne upotrebe *Trichoderma* proizvoda i obuhvaća 90 % azijskog tržišta. Slijedi Brazil s najvećom proizvodnjom u Južnoj i Srednjoj Americi gdje u Venezueli i Kubi vlada podržava i službeno preporučuje razvoj i korištenje proizvoda na bazi gljive *Trichoderma* spp. (Topolovec – Pintarić, 2019.).

Procjenjuje se da 90 % svih antagonističkih gljiva koje se koriste u zaštiti bilja pripadaju rodu *Trichoderma* (Błaszczyk i sur., 2014.), a da se najviše pripravaka proizvodi na bazi spora *Trichoderme harzianum* (Harman, 2000.). Biljni inokulanti kao biostimulatori i ojačivači bilja, nisu svrstani u kategoriju biofungicida, ali imaju jednak učinak na biljne patogene mikroorganizme. Iako se na deklaraciji biognojiva i biostimulatora na bazi *T. harzianum* ne navode tvrdnje o kontroli mnogih bolesti povrća, njihove dobrobiti i učinkovitost su vrlo dobro istražene i priznate. To daje prednost tržištu proizvodnje jer su izbjegnuta toksikološka ispitivanja, ispitivanja učinkovitosti za gotovo svaku kombinaciju usjeva i patogena, usto je i finansijski neisplativo što sve skupa ograničava i onemogućuje registraciju biofungicida (Topolovec – Pintarić, 2019.).

Mikofungicidi se mogu aplicirati na više načina i ovisno o potrebi. Moguća je primjena prije sadnje na sjeme ili materijal za razmnožavanje, zatim tokom sjetve ili presađivanja u tlo te zalijevanjem prilikom navodnjavanja ili primjenu kao potapanje ili umakanje korijena. Izravnom primjenom na sjeme i korijenje osigurava najveći uspjeh kolonizacije (Topolovec – Pintarić, 2019.). Širom svijeta prodaje se niz bioloških proizvoda za kontrolu gljivičnih biljnih patogena i općenito se proizvode u obliku granula, vlaživih praškova, prašine i tekućih proizvoda na bazi vode ili ulja koristeći različite mineralne i organske nosače. Kako bi proizvodnja bila okrenuta prema održivom sustavu, primjena biopreparata na bazi spora *T. harzianum* igra ključnu ulogu u zaštiti povrća. Može se koristiti kao mikoparazit na velikom broju biljnih patogena i u svim granama proizvodnje.



### 3. BENEFITNA GLJIVA *TRICHODERMA HARZIANUM* Rifai

Benefitna gljiva *Trichoderma harzianum* Rifai je anamorfni stadij roda *Trichoderma* koji prema statističkoj klasifikaciji pripada koljenu Ascomycota, razredu Sordariomycetes, redu Hypocreales i porodici Hypocreaceae (Błaszcyk i sur., 2014.). Teleomorfni stadij gljive je *Hypocrea lixii* Pat. Morfološka vrsta *Trichoderma harzianum*, izvedena je iz askospora *Hypocrea lixii* i to *H. nigricans*, *H. lentiformis* u čistoj kulturi (Chaverri i Samuels, 2002.). Karakterizira je brz rast micelija, obilna proizvodnja kuglastih konidija raznolike pigmentacije i to od bezbojnih do različitih nijansi zelenih pa sve do sivih ili ponekad smečkastih nijansi (Slika 2.) (Pani i sur., 2021.).

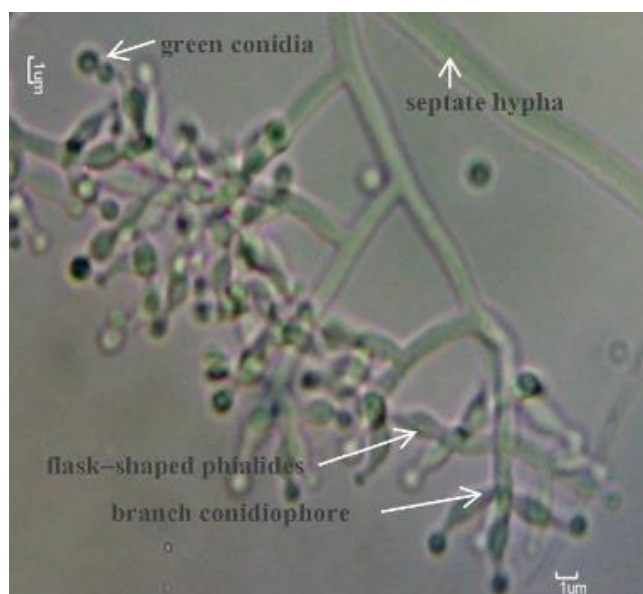


Slika 2. Proizvodnja konidija *T. harzianum* razne pigmentacije

Izvor: <https://hr.thpanorama.com/articles/biologa/trichoderma-harzianum-caractersticas-morfologa-reproduccion.html>

Gledajući mikroskopski, *T. harzianum* se sastoji od septiranih hifa, granastih konidiofora, fialida u obliku tikvice i loptastih zelenih konidija (Slika 3.) (Suriyagamon i sur., 2018.). Prisutna je u gotovo svim tipovima tala kao slobodno živeći avirulentni rizosferni organizam. Kolonizira površinu zdravog korijenja biljaka (Topolovec – Pintarić, 2019.). Važna je u poljoprivrednoj proizvodnji zbog svojih korisnih učinaka na rast i razvoj biljaka, mikoparazitskih svojstava, mogućnosti opskrbe biljaka hranivim tvarima, sposobnosti induciranja obrambenih reakcija biljaka protiv patogena, sprječavanja oštećenja izazvanih kukcima (Vitti i sur., 2015.), povećanja otpornosti na stres (Alfiky i Weisskopf, 2021.). Tretiranjem tla, *T. harzianum* i *T. viride* se uglavnom primjenjuju u oko

87 različitih usjeva protiv 70 patogena koji se prenose tlo i 18 folijarno prenosivih patogena, uglavnom gljiva (Topolovec – Pintarić, 2019.).



Slika 3. Septirane hife, granasti konidiofori, fialide u obliku tikvice i loptaste zelene konidije *T. harzianum*

Izvor: <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/enrj/article/view/117514/98166>

Utvrđeno je da je *T. harzianum* povezana s povećanjem učinkovitosti fotosintetskih i respiratornih aktivnosti koje neizravno pomažu biljci u rastu i razvoju. Kada se unese u tlo, kolonizirajući korijenje biljke, *T. harzianum* se natječe sa mikrobima rizosfere. Kolonizira površinu korijena, prodire u epidermu korijenskog tkiva i nekoliko slojeva stanica te tako uspostavlja pseudomikorizni odnos s biljkom domaćinom uz dobrobit zdravlja i kondicije biljke, smatrajući se oportunističkim biljnim simbiotom. Lokaliziranu i sustavnu otpornost biljaka na napad patogena aktivira upravo taj intiman odnos između benefitarne gljive i biljke (Topolovec – Pintarić, 2019.). *T. harzianum* oslobađa molekule elicitora koje potiču rast biljaka, korijenja, povećavaju dostupnost hranivih tvari, te induciraju obrambene mehanizme biljke i time značajno povećavaju otpornost biljaka na nepovoljne abiotske i biotske čimbenike koji ograničavaju rast i razvoj biljaka (Pani i sur., 2021.).

U konkurenciji s biljnim nametnicima za ostatke korijena biljaka *T. harzianum* djeluje obrambeno. Proizvodi hidrolitičke enzime zaslužne za otapanje hitina koji je uključen u strukturu stanične stijenke mnogih gljiva. *T. harzianum* može se uspješno

razvijati u raznim tipovima tala pod optimalnim uvjetima pH 4 – 8 i temperature u rasponu od 15 – 32°C što pojednostavljuje razvoj komercijalnih biofungicida i sposobnost zaštite korijenskog sustava mnogih povrtnih (krumpir, rajčica, paprika, grah, krastavci i dr.), ratarskih (kukuruz, soja i dr.), ukrasnih i drugih kultura od fitopatogenih gljiva tla (Baličević i sur., 2007.).

Rod *Trichoderma* je nazvao i po prvi put opisao mikolog C. H. Persoon 1794. godine prema pojavljivanju micelija, poput dlakavog (grč. *thrix*, genitiv *trikhos*) koji se skuplja na raspadajućoj truloj površini drveća (grč. *derma*). Znanstvenik Weindling izdao je članake nakon kojih je rod *Trichoderma* došao u fokus. Članak o *Trichodermi lingorum* kao parazitu gljiva tla, zatim 1934. članak o parazitizmu na *Rhizoctonia solani* potpomognutom nekom vrstom toksičnog spoja, objasnivši ga kroz proces antibioze kao mehanizmu koji se temelji na proizvodnji sekundarnih metabolita s antimikrobnim učinkom, nazvavši ga gliotoksin. Daljnji Weindlingovi radovi definirali su biokontrolu biljnih patogena kroz sojeve *Trichoderma* definirajući mehanizme djelovanja (Topolovec – Pintarić, 2019.). Rod *Trichoderma* sastoji se od anamorfnih gljiva, uglavnom izoliranih iz tla koje razgrađuju organske tvari (Barman i sur., 2021.). Znanstvenici su se uključili u istraživanje antifungalne sposobnosti raznih vrsta *Trichoderma* kada je od ranih 1930-ih znanstvenik R. Weindling izvijestio da *Trichoderma lignorum* proizvodi i izlučuje tzv. smrtonosni princip u okolinu, a *T. harzianum* je izdvojena kao najistaknutija vrsta (Topolovec – Pintarić, 2019.).

Yedidija i sur. (2001.) su nakon nanošenja *T. harzianum* u uzgoju krastavca izvijestili o povećanju mase korijena i nadzemne mase biljaka kao i viši sadržaj mikroelementa. Također, u ovom radu zaključeno je da biljka koja je inokulirana s *Trichoderma* spp. sadrži visoku razinu željeza u izdancima i korijenu. Ovi nalazi su pokazali da su također poboljšani mehanizmi transporta ovog elementa od korijena do izdanaka. Rezultatima istraživanja potvrđen je pozitivan utjecaj *T. harzianum* na pojačani rast budući da dobiveni rezultati ukazuju na povećanje nicanja klijanaca za 30% do 8 dana nakon sjetve, povećanje površine korijena od 95%, značajno povećanje suhe težine od 80 %, duljine izboja od 45 %, površine lista od 80 %, povećanje koncentracije P od 90%, Fe od 30%, povećane koncentracije Zn od 25%, P od 30% i Mn od 70%.

Özbay i sur. (2004.) izvijestili su da primjena *T. harzianum* u stakleničkim uvjetima ima pozitivan učinak na rast presadnica rajčice, kao i svojstvo održavanja u novoj okolini te koloniziranje korijena biljaka za kontrolu biljnih patogena.

Vinalea i sur. (2013.) otkrili su harcijansku kiselinu koju sintetiziraju *Trichoderma* spp., a pokazuje antifungalne aktivnosti i regulira rast biljaka zahvaljujući svojoj aktivnosti vezanja esencijalnih metala kao što je  $Fe^{3+}$ . Dostupnost hranivih tvari u tlu za druge mikroorganizme i biljku domaćina značajno mijenja ova tetraminska kiselina koja predstavlja mehanizam topivosti željeza.

Yedidia i sur. (1999.) izjavili su da je inokulacija korijena krastavaca sporama *T. harzianum* inducirala reakcije rezistencije biljaka, što je bilo povezano s povećanom aktivnošću peroksidaze i hitinaze.

Thambugala i sur. (2019.) iz dobivenih rezultata istraživanja, u usporedbi sa istraživanjima drugih znanstvenika koji navode da sadnice tretirane s *T. harzianum* povećavaju broj pravih listova, svježiu i suhu masu korijena biljaka rajčice, potvrđuju navedene zaključke.

Mastouri i sur. (2010.) su u istraživanju tretirali sjeme rajčice s *T. harzianum* soj T-22 i zaključili kako se ublažio niz abiotičkih i biotičkih stresova.

Tucci i sur. (2011.) su zaključili kako u interakciji *T. harzianum* soj T-22 s biljkama rajčice korisni učinci ovise najviše o genotipu tretirane biljke.

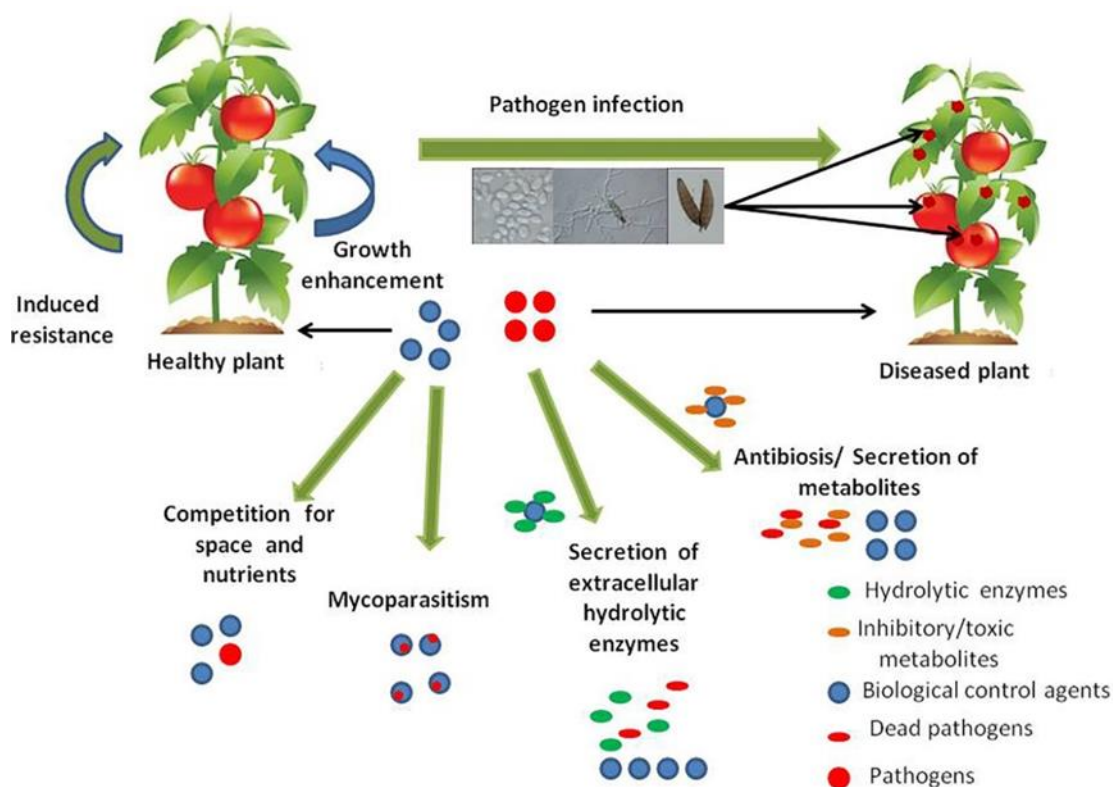
Nafady i sur. (2022.) su korištenjem dvostrukih bio agenasa, i to, u kombinaciji *T. harzianum* i arbuskularnim mikoriznim gljivama, potvrdili kako se poboljšalo usvajanje hranivih tvari i rast biljaka rajčice, da se značajno povećao sadržaj hranivih tvari N, P, K i Ca u izdancima biljaka rajčice, posebice sadržaj K koji je njihovom primjenom zabilježio najveću vrijednost. Poboljšala se duljina izdanaka i suha težina korijena. *T. harzianum* i mikorizne gljive poboljšale su nutritivni status biljke jer učinkovito preuzimaju posjed rizosfere i inhibiraju populacije nematoda unutar fitobioma, čime se povećao svaki aspekt rasta rajčice.

Vitti i sur. (2016.) su potvrdili korisne učinke *T. harzianum* soj T-22 na rast i razvoj biljke te na povećanje stope fotosinteze budući da su u rezultatima istraživanja istaknuli kako je primjenom T-22 poboljšana fotosinteza i ukupan sadržaj klorofila u svim biljkama koje su tretirane s T-22 i inokulirane s CMV bez obzira na starost biljke.

Prema rezultatima istraživanja mnogih znanstvenika, benefitna gljiva *Trichoderma harzianum* Rifai vrlo je važan i koristan bio agens u proizvodnji povrća.

### 3.1. Interakcija *Trichoderma harzianum* spp. – patogen

*Trichoderma harzianum* u interakciji sa drugim patogenim mikroorganizmima razvija izravne mehanizme djelovanja i to kompeticiju (za prostor i/ili hranive tvari), mikoparazitizam, proizvodnju hidrolitičkih enzima i antibiozu (Slika 4.), a neizravnim mehanizmom djelovanja inducira prirodnu obranu biljaka od patogena (Poveda i Eugui, 2022.).



Slika 4. Mehanizmi djelovanja *Trichoderme harzianum*

Izvor: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.604923/full>

Kompeticija predstavlja interakciju nadmetanja antagonističkih mikroorganizama sa biljnim patogenima za ograničene resurse kao što su hrana, voda, prostor i dr. Tijekom kompeticije dominiraju antagonistički mikroorganizmi, nadjačavaju biljne patogene koji ostaju bez resursa te ugibaju. Ovakav način djelovanja prisutan je kod vrsta roda *Trichoderma* i dr.

Antibioza je specifičan mehanizam antagonističke interakcije između *Trichoderma* spp. i drugih patogenih gljiva. Toksični produkti metabolizma antagonističkih mikroorganizama su razni antibiotici (mikrobni toksini) koji djeluju toksično ili inhibitorno na biljne patogene (Miličević i Kaliterna, 2014.). Temelji se na stvaranju sekundarnih

metabolita, koji pokazuju smrtonosni učinak na parazitske gljive. Kod gljivičnih vrsta iz roda *Trichoderma*, ima preko 180 sekundarnih metabolita, predstavljajući različite klase kemijskih spojeva podijeljenih na spojeve topljive u vodi, hlapljive antibiotike i peptaibole (Błaszczuk i sur., 2014.). Sekundarni metaboliti imaju važnu ulogu tijekom biokontrole zbog svojih antimikrobnih aktivnosti (Alfiky i Weisskopf, 2021.) budući da imaju antifungalno, antivirusno, antibakterijsko, herbicidno, nematocidno i insekticidno djelovanje (Al-Ani, 2019.), te potiču rast i izazivaju otpornost biljaka (Alfiky i Weisskopf, 2021.), a *T. harzianum* je izdvojena kao najbolja vrsta po djelotvornosti sekundarnih metabolita protiv neprijatelja od svih *Trichoderma* vrsta (Al-Ani, 2019.).

Mikoparazitizam je jedan je od najvažnijih mehanizama biokontrole *Trichoderma* spp. koji se smatra najsvestranijim među svim biokontrolnim agensima i zbog toga se dugo koristi za suzbijanje biljno patogenih gljiva (Vitti i sur., 2015.). U procesu mikoparazitizma prvi korak je otkrivanje patogenih gljiva domaćina, a kasnije *Trichoderma* spp. oslobađaju niz hidrolitičkih enzima i mikotoksičnih sekundarnih metabolita. *Trichoderma* spp. aktiviraju mehanizme biokontrole (litičke enzime i antimikrobne sekundarne metabolite potaknute prisutnošću neprijatelja) primivši vanjske signale kao što su izlučeni metaboliti patogena, komponente stanične stjenke domaćina ili putem fizičke interakcije s ligandima koji se nalaze na površini patogena. Takvi signali za prepoznavanje patogena na daljinu mogu biti i hlapljivi organski spojevi (VOC) niske molekularne težine koji sadrže aromatske ugljikovoike, ketone, estere, aldehide, alkohole, terpene i dr., a utječu na izlučivanje antifungalnih i antibakterijskih molekula kod *Trichoderma* spp. (Alfiky i Weisskopf, 2021.).

Ključnu ulogu u razgradnji staničnih stjenki drugih biljnih patogenih gljiva sastavljenih od hitina i polisaharida glukana imaju najvažniji litički enzimi tzv. hitinaze. *Trichoderma harzianum* proizvodi ekstracelularne hidrolitičke enzime uključujući  $\beta$ -N-acetilglukozamidazu, endohitinazu,  $\beta$ -1,3-glukanazu, hitobiozidazu (Błaszczuk i sur., 2014.), proteazu, lipazu, glukanazu (Alfiky i Weisskopf, 2021.) ksilanazu, amilazu, celulazu, pektinazu i dr. (Topolovec – Pintarić, 2019.). Izlučivanjem egzocelularnog enzima, *Trichoderma* spp. utječu na enzimsku aktivnost patogenih gljiva kao što su *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium culmorum* i druge. U istraživanju autora dokazano je da antibiotici često djeluju u kombinaciji s litičkim enzimima pa takav međuodnos kod *Trichoderme* osigurava višu razinu antagonizma u usporedbi s aktivnošću samih enzima ili antibiotika (Błaszczuk i sur., 2014.).

### 3.2. Interakcija *Trichoderma harzianum* spp. – biljka

Interakcija se odvija putem kemijske signalizacije gdje *Trichoderma* spp. izlučuju razne efektore koji imaju pozitivan utjecaj na njen rast i bolji imunitet. Dokazano je da različite klase sekundarnih metabolita (SM), male RNA, hlapljivi organski spojevi (VOC) i proteini imaju važnu ulogu u međusobnoj interakciji (Alfiky i Weisskopf, 2021.).

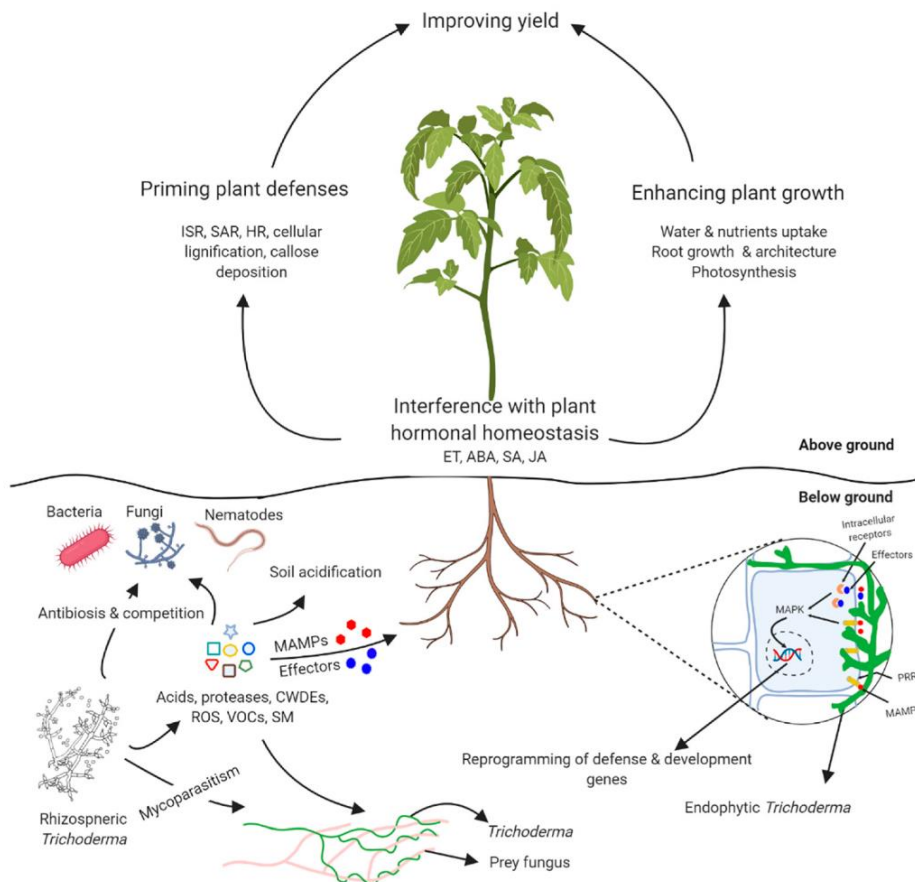
Kao odgovor na infekciju *Trichoderma* spp., biljke proizvode otrovne spojeve fitoaleksine, flavonoide, terpenoide i fenole koji sprječavaju kolonizaciju korijena na koje su *Trichoderma* spp. otporne pa mogu intenzivno kolonizirati biljku u zoni korijena (Błaszczuk i sur., 2014.). Kolonizacijom korijena protok elektrona znatno je povećan, a transport elektrona snažno poboljšan. *Trichoderma* spp. prodiru u korijenski korteks, epidermu i nekoliko slojeva stanice.

Na površini hifa *Trichoderma* spp. proizvodi se mali protein iz skupine hidrofobina koji olakšava pričvršćivanje hifa za korijen. Pomoću apresorija koji se omotaju oko korijenskih dlačica *Trichoderma* spp. prodiru u epidermu korijena. Slične apresorije uočene su kod mikoparazitizma. Uz pomoć malog proteina tzv. „swollenin TasSwo“ koji prepoznaje celulozu i modificira strukturu biljne stanice, *Trichoderma* spp. omogućuje daljnji ulazak u stanice. Ulaskom u stanice, *Trichoderma* spp. imaju pristup biljnim hranivim tvarima, što im omogućuje razmnožavanje. Kemijsku komunikaciju s biljkom i interakciju na molekularnoj razini *Trichoderma* spp. uspostavljaju nakon prodiranja u tkivo korijena. Da bi aktivirale imunološki sustav biljke, *Trichoderma* spp. modificiraju ekspresiju gena unutar stanica korijena. Prvotno se inducira lokalizirani mehanizam otpornosti na *Trichoderma* spp. U području infekcije *Trichoderma* spp., biljka formira zadebljale stanične stijenke i proizvodi fenolne naslage kako bi spriječila daljnju kolonizaciju biljke. Budući da ne dolazi do razvoja bolesti biljke, infekcija *Trichoderma* spp. naziva se asimptomatska. Tada se ujedno aktivira i obrambeni sustav biljke.

Biljke na infekciju *Trichoderma* spp. odgovaraju antipatogenom aktivnosti peroksidaze i povećanjem razine jasmonske (JA od eng. Jasmonic Acid) i salicilne kiseline (SA od eng. Salicylic Acid). Tada se aktivira inducirana sistemska otpornost u biljkama (ISR, od engl. Induced Systemic Resistance), aktivirana receptorima za prepoznavanje uzoraka lokaliziranim u plazma membrani biljne stanice. Biljka prepoznaje *Trichoderma* zbog prisutnosti hitina induciranih jasmonskom kiselinom i etilenom (ET od eng. Ethylene) kroz signale rana, koje prenose iz korijena u druge dijelove biljke (Topolovec –



Pintarić, 2019.). Putovi interakcije *Trichoderma* spp. – biljka – patogen (Slika 5.) teku vrlo kompleksno.



Slika 5. Putovi interakcije *Trichoderma* spp. – biljka – patogen

Izvor: <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/1/61/htm>

*Trichoderma* spp. proizvode molekule za prepoznavanje tzv. molekularne obrasce povezane s mikrobima (MAMP od eng. Microbe-Associated Molecular Patterns) i efektore koji služe za prepoznavanje napada patogena otkrivanjem molekularnih uzoraka povezanih s patogenima (PAMP od eng. Pathogen-Associated Molecular Patterns) nastalih kao odgovor zaražene biljne stanice, a vežu se za receptore za prepoznavanje uzoraka (PRR od eng. Pattern Recognition Receptors) patogena na površini stanice biljaka, što dovodi do nekoliko biljnih putova povezanih s obranom. PAMP-ovi se ne nalaze u biljci, a PAMP-ovi prema kojima biljka može identificirati *Trichoderma* spp. su celulaza, hitinaza, endopoligalakturonaza, peptaiboli i 6-pentil- $\alpha$ -piron (Topolovec – Pintarić, 2019.) Dolazi do ometanja hormonske ravnoteže biljaka i proizvodnje biljnih hormona (etilena (ET), apscizinske kiseline (ABA), salicinske (SA) i jasmonske (JA) kiseline) te se inducira sistemska otpornost biljke (ISR), sustavno stečena otpornost biljke (SAR od eng. Systemic



Acquired Resistance) i preosjetljivi odgovor (HR od eng. Hypersensitive Response) kao temeljna obrana biljke. *Trichoderma* spp. sintetiziraju fitohormone (etilen, apscisinsku kiselinu, citokinine, auksine i gibereline) koji mogu pomoći biljkama da izdrže abiotičke i biotičke stresne uvjete. Ključni mehanizam kojim *Trichoderma* spp. mogu utjecati na fiziologiju biljke i poboljšati njenu otpornost jest upravo ta promjena hormonske ravnoteže biljke proizvodnjom biljnih hormona u međusobnoj interakciji sa *Trichoderma* spp. Interakcije *Trichoderma* spp. i patogena teku kroz nekoliko oblika i to djelovanjem hlapljivih organskih spojeva (VOC), formiranjem reaktivnim oblicima kisika (ROS), enzima koji razgrađuju stanične stjenke (CWDE) i antimikrobnih sekundarnih metabolita (SM) (Alfiky i Weisskopf, 2021.).

Zaražena biljna stanica prepoznaje patogena preko toksina koji se smatraju efektorima, a to pokreće imunitet izazvan efektorom biljke (ETI od eng. *Effector-Triggered Immunity*). *Trichoderma* spp. se mogu suprotstaviti toksinima, tzv. efektorima patogena, na dva načina i to, inhibirajući faktore patogenosti i utječući na širenje i prehranu patogena, pri čemu se inducira ETI. *Trichoderma* spp. mogu poboljšati ETI otpuštanjem spojeva koje će biljni receptori prepoznati kao efektore patogena. *Trichoderma* spp. ispuštaju spojeve biokontrole i to butenolide, ceratoplatanine, proteine, poligalakturonaze, peptaibole, piridine, pirone, proteine domene vezanja celuloze i neaktivna ksilanaza, te sekundarne metabolite koji potiču obranu biljaka i povezani su s korisnim učincima na biljke (Topolovec – Pintarić, 2019.).

Kao odgovor biljaka na stres uzrokovan uglavnom abiotskim uvjetima okoliša, nastaju reaktivni oblici kisika (ROS, od engl. *Reactive Oxygen Species*) kojima se razine mogu drastično povećati u takvim stresnim uvjetima (Topolovec – Pintarić, 2019.). Povećanjem ROS-a dolazi do oštećenja biljnih tkiva, mutacije DNA, poremećaja staničnih organela, propadanja lipida, proteina i fotosintetskog aparata (Nafady i sur., 2022.). Biljke tretirane *Trichoderma* spp. bolje se nose sa stresom uzrokovanim sušom ili slanoćom jer *Trichoderma* spp. uklanjaju ROS (Topolovec – Pintarić, 2019.). Sekundarni metaboliti (SM) zbog svojih antimikrobnih aktivnosti utječu na uspješnu kontrolu biljnih patogena a u isto vrijeme izazivaju otpornost biljaka i potiču njen rast. Na sve navedene interakcije utječu abiotski čimbenici poput temperature, suše, kemijskih ostataka, vlažnosti, plodnost tla i dr. Molekule koje luči *T. harzianum* (trihodien, harcijanolid, celulaza, 6-pentil- $\alpha$ -piron (6PP), harcijasna kiselina i dr.) reguliraju rast, fiziologiju i obranu biljaka. Kao primjer, dokazano je da hlapljivi organski spoj 6PP potiče rast biljaka i regulira strukturu korijena

što potvrđuje da i VOC-ovi koje proizvode *Trichoderma* spp. mogu promijeniti rast i razvoj biljke (Alfiky i Weisskopf, 2021.).

Kemikalije koje ispušta korijenje biljaka jako privlače *T. harzianum* (Pani i sur., 2021.), a saharoza potiče rast micelija i dovodi do interakcije s biljkom (Topolovec – Pintarić, 2019.). *T. harzianum* ima koristi od saharoze iz biljaka, a zauzvrat ima mnoge korisne učinke na biljku povezanih s prodiranjem korijena u dubinu, potičući proizvodnju siderofora i održavanja pH tla, pa izravno i neizravno sudjeluje u boljoj apsorpciji mineralnih hraniva biljke (Błaszczuk i sur., 2014.). *Trichoderma* je razvila brojne mehanizme kako bi stimulirala biljku da osigura više saharoze. Aktivacijom otpornosti u lišću, dolazi do povećane fotosinteze i disanja. Bolja fotosinteza omogućuje da se više saharoze translocira u korijenje i tako *Trichoderma* dobiva saharozu da i dalje može pozitivno djelovati na biljku. Simbiotski odnos *Trichoderma* – biljka izravno utječe na poboljšanu fiziologiju biljke uspostavljajući pseudomikorizni odnos. *Trichoderma* vrlo brzo endofitski naseli biljku, gdje živi simbiotski, pružajući dugu učinkovitost, omogućavajući biljci da bude otpornija na abiotske i biotske stresove, stvarajući joj povoljne uvijete zdrav rast i razvoj, što u konačnici proizvođačima osigurava visok prinos (Topolovec – Pintarić, 2019.).

#### 4. FITOPATOGENE GLJIVE U PROIZVODNJI POVRĆA

Fitopatogene gljive uzrokuju velika oštećenja u proizvodnji povrća. Smanjujući prinose, povećavaju troškove proizvodnje, a ponekad uzrokuju i nemogućnost proizvodnje uopće. *Alternaria*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Lasioidiplodia*, *Penicillium*, *Phytophthora*, *Sclerotinia* i *Verticillium* identificirani su kao uobičajeni i najzastupljeniji biljni patogeni rodovi, a u njihovoj kontroli se primjenjuju biološki agensi (Thambugala i sur., 2020.). Zemljišni patogeni poput *Pythium debarianum* i *Rhizoctonia solani* uzrokuju velike štete u proizvodnji povrća, osobito u proizvodnji presadnica u vidu gljivičnih bolesti koje uzrokuju paleži klijanaca ili polijeganje nasada (Baličević i sur., 2007.). Kod uzgoja paprike, glavni problem predstavlja gljivična bolest koju uzrokuje fitopatogena polifagna gljiva *Pythium debarianum*. Ona izaziva sušenje mladih sadnica. U razvojnem stadiju kotiledona se najčešće pojavljuju simptomi. Presadnice u zoni korijenovog vrata postaju tanje, a zbog gubitka turgora se lome i poliježu (Parađiković i sur. (2007.). Osim paprike, *P. debarianum* napada razno povrće osobito u klijalistu (Ćosić i sur., 2006.). Najčešće

značajne gubitke u proizvodnji rajčice uzrokuju bolesti biljaka, posebice bolesti korijena. Biljni patogeni koji se prenose tлом uzrokuju truljenje sjemena, vlaženje, truljenje korijena, uvenuće i trulež plodova (Özbay i sur., 2004.). Uzgoj rajčice vrlo je izazovan zbog gljivične bolesti tzv. fuzarioznog venuća uzrokovano fitopatogenom gljivom *Fusarium oxysporum* (Thambugala i sur., 2019.). *Botrytis cinerea* kao i *Verticillium dahliae* uzrokuju bolesti na paprici, rajčici, patlidžanu, krumpiru, salati, krastavcima i dr. *Urocystis cepulae* zaražava sve *Allium* vrste. *Phytophthora infestans* uzrokuje plamenjaču krumpira koja je ujedno i najraširenija i najštetnija mikoza krumpira. Uzrokuje značajnu i vrlo destruktivnu bolest na rajčici gdje za kratko vrijeme može uništiti cijelu biljku. Može se pojaviti na patlidžanu, paprici te raznim korovima iz porodice *Slanaceae* (*S. dulcamara*, *S. nigrum*). *Sclerotinia sclerotiorum* uzročnik je bijele truleži na salati, grahu, kupusu, krastavcima, luku, paprici, krumpiru, mrkvi (Ćosić i sur., 2006.). Veliki problem stvaraju sklerociji koji u tlu mogu ostati vitalni dugi niz godina i predstavljati opasnost od pojave bolesti u narednim godinama.

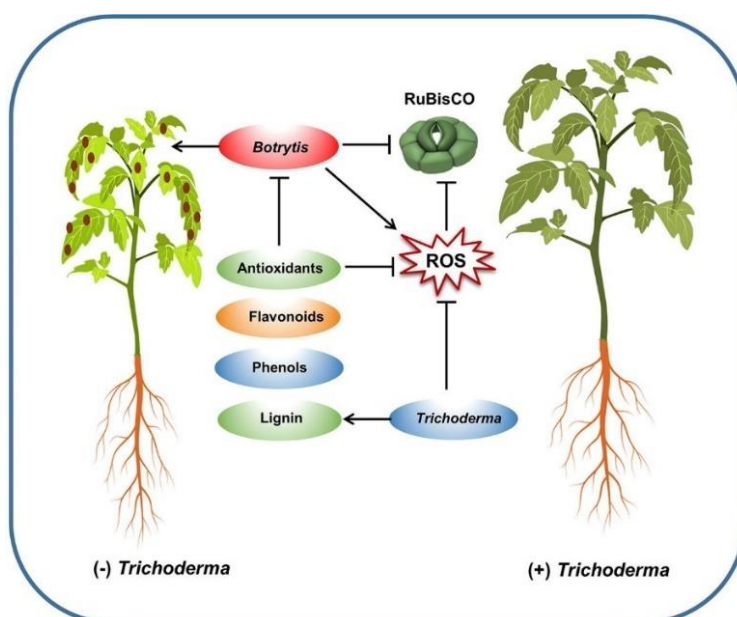
Klimatske promijene, kao posljedica globalnog zagrijavanja, osjete se diljem svijeta u vidu elementarnih nepogoda, a najčešće je proizvodnja ugrožena zbog povećanja temperature zraka i/ili smanjenja količine oborina što dovodi do suša. Klimatske promjene utječu na interakciju između domaćina i patogena kao i na obrambene mehanizme biljaka. Događaju se fiziološke promjene biljke domaćina uslijed čega se povećava rizik od bolesti (Vitti i sur., 2015.).

#### 4.1. *Trichoderma harzianum* spp. u zaštiti biljnih bolesti povrća

*Trichoderma harzianum* može se smatrati najčešćim i komercijalno razvijenim biološkim agensom koji se koristi za širok raspon biljnih gljivičnih bolesti (Thambugala i sur., 2020.). Izravnim (kompeticija, mikoparazitizam, proizvodnja litičkih enzima, antibioza) i neizravnim (indukcija obrane biljke) mehanizmima djelovanja, *T. harzianum* kontrolira patogene – uzročnike bolesti biljaka (Poveda i Eugui, 2022.). *T. harzianum* proizvodi hlapljive metabolite 6PAP (6-pentil- $\alpha$ -piron) koji igraju važnu ulogu u biokontroli patogena poput *B. cinerea*, *R. solani*, *Fusarium oxysporum* i dr. (Błaszczyk i sur., 2014.). Lučeći vrlo jake toksine, inhibira enzime fitopatogenih gljiva (Baličević i sur., 2007.) poput *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. i *Fusarium* spp., koristeći ih za suzbijanje i sprječavanje njihovog razvoja (Parađiković i sur., 2012.).

Parađiković i sur. (2007.) su prilikom istraživanja zaštite gljivičnih bolesti uzročnika polijeganja presadnica rajčice u plasteničkoj proizvodnji koristili biofungicid koji sadrži spore *Trichoderma harzianum* (T-22 izolat)  $1 \times 10^8$  po gramu suhe tvari te su zaključili da se *T.harzianum* može smatrati vrlo dobrim mikoparazitom, antagonisom pa čak i promotorom rasta.

Geng i sur. (2022.) su u stakleničkim uvjetima istražili učinke *T. harzianum* pri zaštiti biljaka rajčice od patogene gljive *Botrytis cinerea* koja uzrokuje sivu plijesan. Primjenom *T. harzianum* putevi obrane u zaštiti biljaka rajčice od patogene gljive *Botrytis cinerea* (Slika 6.) utjecali su na smanjene koncentracije  $H_2O_2$  i malondialdehida (MDA) izazvanih *B. cinereom* u listovima, na poboljšanje fotosinteze, na ublaženo kretanje tj. zatvaranje puči, na povećanu aktivnost enzima RuBisCO (Ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza/oksigenaza) i otpornost na *B. cinereu*, na povećan sadržaj sekundarnih metabolita (fenola, flavonoida, lignina) te na značajno inhibiran rast patogene gljive krutim inokulantima sa kontrolnim učinkom od 69,44 %, a suspenzijom spora od 33,66 %.



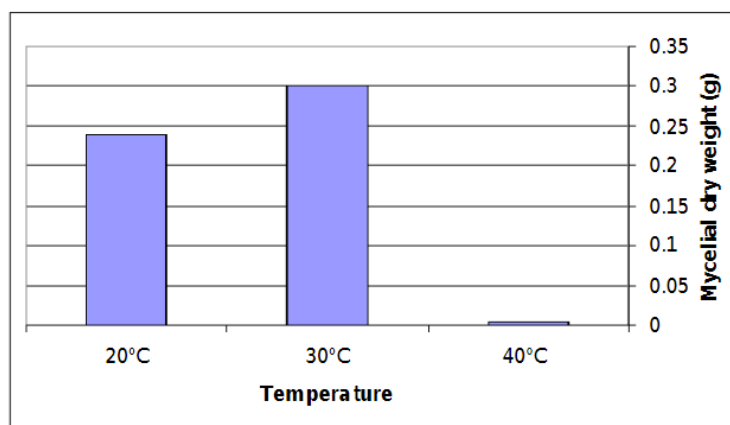
Slika 6. Putevi obrane *T. harzianum* u zaštiti biljaka rajčice od patogene gljive *Botrytis cinerea*

Izvor: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964422001840>

Thambugala i sur. (2019.) su u Nepal u istraživali mogućnost smanjenja fuzariozne bolesti rajčice uzrokovane *Fusarium* spp. primjenom biološkog agensa *Trichoderma harzianum* te su zaključili da se *T. harzianum* može smatrati kao obećavajući agens u kontroli biljnog patogena *Fusarium oxysporum*.

Thambugala i sur. (2019.) navode kako su neki znanstvenici dobili rezultat značajnog smanjenja fuzarioznog venuća rajčice sa 69 % manje biljaka s vaskularnom diskoloracijom uz primjenu dva izolata *Trichoderme*, te kako je objavljeno nekoliko istraživanja u kojem se zaključuje učinkovitost *T. harzianum* pri suzbijanju bolesti rajčice uzrokovane *Fusarium oxysporum* kao i poboljšanje rasta i u konačnici sami prinos.

El-Zahaby i Belal (2008.) su u in vivo i in vitro uvjetima proveli ispitivanja na sjemenkama dinje (*Cucumis melo*) glede učinkovitosti *T. harzianum* i mogućnosti zaraze sklerocija u biološkoj kontroli fitopatogene gljive *Sclerotinia sclerotiorum* koja uzrokuje bijelu trulež na dinji. Rezultati su pokazali kako je sposobnost suzbijanja bijele truleži s *T. harzianum* najveća pri temperaturi od 30°C i pH tla 7 bez uočene razlike između suzbijanja *S. sclerotiorum* na vlažnom pjeskovitom tlu ili na vodenom agaru. Temperatura i pH tla su važni čimbenici koji utječu na razvoj micelija *T. harzianum*. Optimalna temperatura od 30°C utjecala je povoljno na rast micelija, dok pri temperaturama od 40°C micelij *T. harzianum* nije rastao (Grafikon 2.).



Grafikon 2. Utjecaj temperature na rast micelija *T. harzianum*

Izvor: [https://www.researchgate.net/publication/267029639\\_biocontrol\\_of\\_cantaloupe\\_white\\_mould\\_disease\\_sclerotinia\\_sclerotiorum\\_lib\\_de\\_bary\\_by\\_trichoderma\\_harzianum\\_el-zahaby\\_1](https://www.researchgate.net/publication/267029639_biocontrol_of_cantaloupe_white_mould_disease_sclerotinia_sclerotiorum_lib_de_bary_by_trichoderma_harzianum_el-zahaby_1)

Rezultati potvrđuju moguću biološku zaštitu fitopatogene gljive *S. sclerotiorum* primjenom *T. harzianum* u vrijeme sadnje kao tretmana sjemena budući da se tretiranjem sjemenki dinje s *T. harzianum* povećao postotak preživjelih a smanjio postotak bolesnih biljaka uzgojenih u tlu umjetno inficiranom *S. sclerotiorum* te da su dobiveni rezultati slični onima dobivenih primijenjenim fungicidom što ukazuje da se *T. harzianum* može smatrati adekvatnom alternativom kemijskim fungicidima.

Baličević i sur. (2008.) su u znanstvenom radu istražili učinkovitost *T. harzianum* pri suzbijanju zemljišnih parazita *Pythium debaryanum* i *Rhizoctonia solani* na presadnicama rajčice u stakleniku pokazavši vrlo visok i značajan utjecaj na smanjenje pojave bolesti i brojnost presadnica rajčice.

Parađiković i sur. (2007.) proveli su istraživanje u kojem su primijenili nekoliko vrsta biološke zaštite štetnika i bolesti pri hidroponskom uzgoju paprike te su zaključili da se biljni parazit *Pythium debarianum* može uspješno kontrolirati pomoću biološkog pripravka koji sadrži *Trichoderma* spp. Rezultati istraživanja pokazali su da se uz praktične primjene bioloških metoda mogu ostvariti zadovoljavajući prinosi. Parađiković i sur. (2007.) zaključili su da je moguć hidroponski uzgoj paprike bez uporabe kemikalija i da se hidroponski uzgoj uz primjenu bioloških metoda zaštite može smatrati glavnom tehnologijom proizvodnje povrća i cvijeća u zaštićenom prostoru.

Elad (2000.) proveo je istraživanje u stakleničkoj proizvodnji krastavaca (*Cucumis sativus*) koristeći *T. harzianum* soj T-39 za kontrolu patogene gljive *Sclerotinia sclerotiorum* koja uzrokuje bijelu trulež biljaka, te je utvrdio kako su se simptomi na plodu smanjili za 64 %, a na peteljka krastavaca za 30 – 35 %. Elad (2000.) potvrđuje kako je biološka kontrola alternativan način zaštite biljaka od patogena budući da se pokazala uspješno u kontroli patogena poput *Botrytis cinerea*, *Pseuoperonospora cubensis*, *Sclerotinia sclerotiorum* i *Sphaerotheca fusca* (sin. *S. fuliginea*) u stakleničkoj proizvodnji krastavaca.

El-Zahaby i Belal (2008.) navode kako su neki znanstvenici radili istraživanja o mogućnosti korištenja antagonista poput *T. harzianum* pri suzbijanju gljivičnih patogena na grašku (*Pisum sativum*) koji se prenose tlom, te da su rezultati bili uspješni.

## 5. FITOPATOGENI VIRUSI U PROIZVODNJI POVRĆA

Osim patogenih gljivica, virusi također uzrokuju velike ekonomske gubitke uništavajući usjeve i smanjujući agronomsku produktivnost. Virusni su obligatni paraziti koji za razmnožavanje i širenje zahtijevaju živo tkivo. Kako bi to ostvarili, natječu se za resurse biljke domaćina ometajući fiziološke procese biljke. Biljka na prisutnost virusa reagira nizom simptoma poput izobličenja, iskrivljenja tkiva, smanjenog rasta i produktivnosti (Vitti i sur., 2015.). Gljiva *Synchytrium endobioticum* može prenositi X virus krumpira tzv. rak krumpira. Nije prisutan u Hrvatskoj, ali je karantenska bolest pa su

na snazi karantenske mjere zaštite (Ivić i Cvjetković, 2013.) Najčešći prenosioci virusa su štetni kukci (tripsi, cikade, grinje, lisne uši, štitaste uši, stjenice) nematode (rodovi *Longidorus* i *Xiphinema*) a mogu se prenositi i mehaničkim putem (ozljedama na koje dospije npr. sok iz bolesne biljke itd.), sjemenom, tlom, cvjetnicama. Preko rana virusi prodiru u domaćina, umnažaju se i izazivaju bolest. Biljka kada se zarazi ostaje bolesna cijeli život. Simptomi se očituju kroz slabiji rast, slabiji urod lošije kvalitete proizvoda. (Ćosić i sur., 2006.). U borbi protiv virusnih oboljenja još nema adekvatne zaštite. Znanstvena dostignuća ukazuju na pozitivne rezultate primjene *Trichoderma harzianum* u zaštiti od viroza biljaka što bi moglo biti od velike važnosti u proizvodnji povrća.

Virus mozaika krastavca (CMV od eng. Cucumber Mosaic Virus) ima najveći raspon domaćina od svih RNA virusa. Inficira više od 1200 biljnih vrsta u 100 porodica. Vrlo je opasan u uzgoju povrća jer značajno smanjuje rast i produktivnost biljaka ometajući fiziološke procese u vidu izobličenja i zaostajanja biljaka u rastu, žute pjegavosti i dr. dovodeći do ozbiljnih ekonomskih gubitaka (Vitti i sur., 2016.). U mediteranskom području i u južnoj Italiji od 1970.-ih je prekinuta sadnja rajčica uzrokovana ozbiljnim epidemijama CMV-a i drugih virusa (Vitti i sur., 2015.).

Vitti i sur. (2015.) opisuju kako brojni znanstvenici svjedoče posljedicama virusnih bolesti. Virus žutog uvijanja lišća rajčice (TYLCV od eng. *Tomato Yellow Leaf Curl Virus*) je na Mediteranu Italije 1970.-ih izazvao ozbiljne ekonomske probleme i još uvijek je velika prijetnja usjevima. U istočnom obalnom području Španjolske se kasnih 1980.-ih i ranih 1990.-ih pojavila epidemija nekroze rajčice. Tijekom tog razdoblja, u južnoj Italiji (regije Puglia, Basilicata i Campania), neke visokokvalitetne sorte rajčice, npr. San Marzano, bile su ozbiljno pogođene snažnom epidemijom CMV-a. Više od 30 ha rajčica u Grčkim staklenicima bilo je zaraženo TYLCV-om u kasno ljeto 2000., a u 2001. godini učestalost bolesti TYLCV-om većinom je bila 80-90% ili čak 100%. Zbog infekcije virusom pjegavosti venuća rajčice (TSWV od eng. *Tomato Spotted Wilt Virus*), usjevi u Grčkoj, Španjolskoj, Italiji i Portugalu su u velikoj opasnosti.

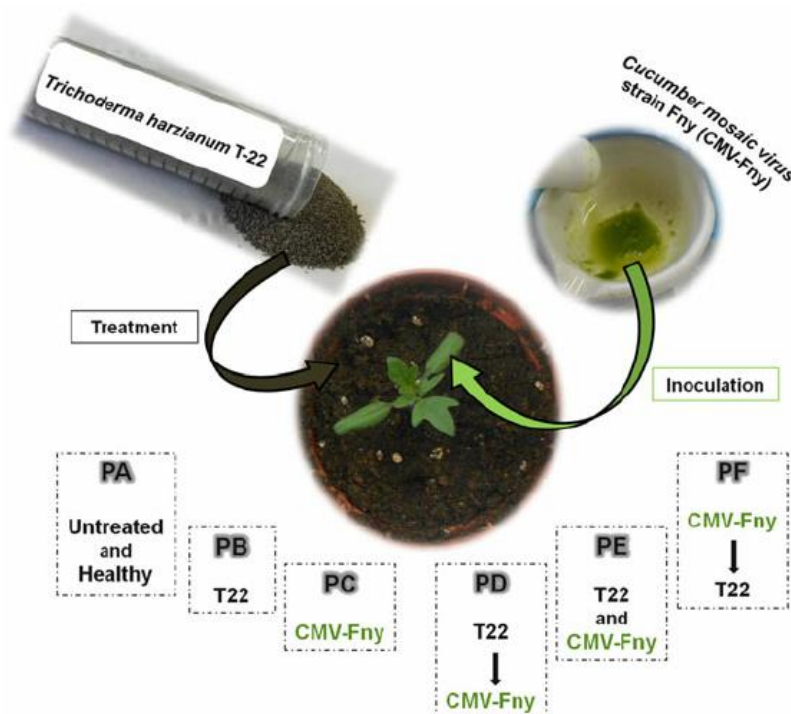
Upravo zbog takvih scenarija, znanstvenici su potaknuti istraživati mogućnost upotrebe rizosfernog mikroorganizma *Trichoderma harzianum* kao antagonističkog biološkog agensa u kontroli biljnih patogena i parazita kako bi osigurali i omogućili održivu proizvodnju.

### 5.1. *Trichoderma harzianum* spp. u zaštiti virusnih bolesti povrća

U borbi protiv fitopatogenih virusa glavni neizravni mehanizam djelovanja *T. harzianum* je aktivacija obrambenih snaga biljaka kojom učinkovito djeluje u smanjenju viroza povrća (Poveda i Eugui, 2022.).

Vitti i sur. (2015.) su proveli istraživanje o razvoju strategije protiv infekcije virusa mozaika krastavca (CMV) u biljkama rajčice koristeći biološki agens *T. harzianum* (soj T-22). Biljke rajčice, kao što je shematski prikazano na slici (Slika 7.), Vitti i sur. (2015.) su tretirali s T22 i/ili inokulirali s virusom mozaika krastavca Fny (CMV-Fny) svrstanih u šest tretmana:

1. kontrolne biljke netretirane i zdrave (PA);
2. biljke tretirane samo s T-22 (PB);
3. biljke inokulirane samo s CMV-om (PC);
4. biljke prvo tretirane s T-22 i nakon 7 dana inokulirane s CMV-om (PD);
5. biljke istovremeno tretirane i inokulirane s T-22 i CMV-om (PE);
6. biljke prvo inokulirane s CMV-om i nakon 1 tjedna tretirane s T-22 (PF).

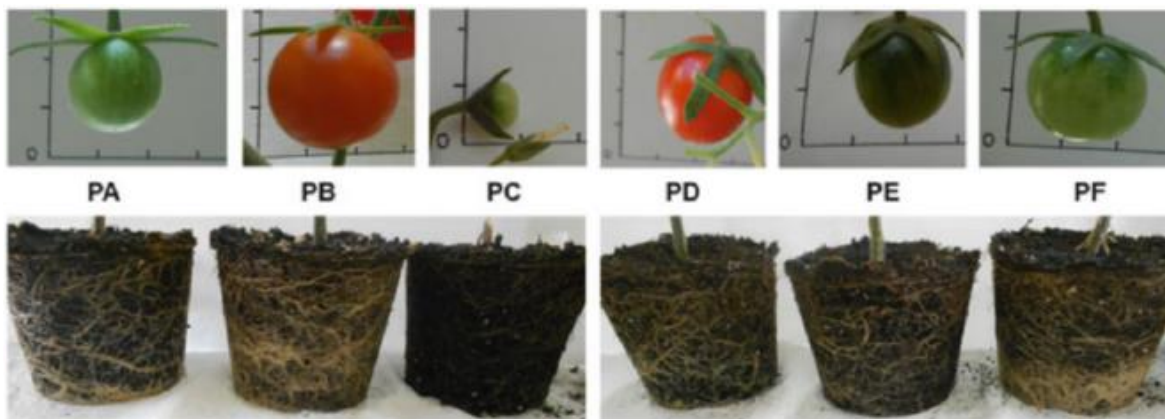


Slika 7. Shema eksperimentalnog pokusa

Izvor: [https://www.researchgate.net/figure/fig1\\_277717853](https://www.researchgate.net/figure/fig1_277717853)



Vitti i sur. (2015.) su ubirali su plodove rajčica sa donjih grana kada su biljke bile tri mjeseca starosti (otkako su počele proizvoditi cvjetove i plodove) te su usporedili razvoj korijenovog sustava i veličinu ploda ovisno o primijenjenim tretmanima (Slika 8.).



Slika 8. Prikaz razvoja korijena i plodova Cherry rajčica ubranih sa biljaka starih tri mjeseca

Izvor: [https://www.researchgate.net/figure/fig2\\_277717853](https://www.researchgate.net/figure/fig2_277717853)

- Biljke rajčice tretirane samo s *T. harzianum* (T-22) imale su najbolje razvijen korijenov sustav i najveći plod (Tretman PB)
- Kontrolne biljke netretirane i zdrave (Tretman PA) imale su podjednake plodove i podjednak razvoj korijena kao biljke tretirane s T-22 i inokulirane s CMV-om (Tretmani PF, PE i PD)
- Biljke inokulirane samo s CMV-om imale su najlošije razvijen korijenov sustav, zakašnjelo sazrijevanje plodova koji su bili najsitniji i popraćeni klorotičnim/nekrotičnim mrljama kada su bili zreli (Tretman PC)

Vitti i sur. (2015.) dokazali su kako u interakciji između CMV-a i biljaka Cherry rajčice dolazi do povećane proizvodnje ROS-a što postaje toksično za biljke. Primjenom *T. harzianum* T-22, interakcija između CMV-a, biljaka Cherry rajčice i *T. harzianum* rezultirala je uključivanjem ROS-a biljke domaćina u obrambenu reakciju protiv virusnog patogena. Da bi se ostvarila najbolja kontrola protiv CMV-a, Vitti i sur. (2015.) su pretpostavili da se biljke prvo trebaju inokulirati CMV-om, a tek onda tretirati s T-22, te su zaključili da je biološki agens *T. harzianum* soj T-22 sposoban inhibirati prisutnost CMV-a u biljkama Cherry rajčice starim pet mjeseci, te da je sposoban modulirati virusne simptome tijekom cijelog razvoj biljaka. Iz rezultata istraživanja vidljivo je da se primjenom *T. harzianum* T-22 može kontrolirati infekcija virusa mozaika krastavca

(CMV-Fny) na biljkama Cherry rajčice (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) uz povećanje korijenovog sustava i u konačnici povećanja prinosa.

Vitti i sur. (2016.) su istražili sustavnu otpornost u rajčicama zaraženim CMV-om, te su došli su do zaključka da *T. harzianum* u interakciji s biljnim hormonima (apscizinska kiselina, jasmonska i salicinska kiselina, etilen) može inducirati sustavno stečenu otpornost biljaka u zaštiti od CMV-a kako bi se razvile niže razine bolesti.

Al-Jaddawi i sur. (2019.) su primjenom *T. harzianum* i *T. viride* pri zaštiti presadnica rajčice zaraženim CMV-om postigli značajno smanjenje bolesti i do 98,20% što upućuje na potencijal *Trichoderme* u zaštiti sadnica rajčice od CMV-a budući da u interakciji s biljkama stimulira biljke da proizvedu proteine povezane s patogenezom i aktiviraju induciranu sistemsku otpornost protiv virusne infekcije nakupljanjem sekundarnih metabolita uključujući fenole, terpenoide i alkaloide.

## 6. ŠTETNI KUKCI U PROIZVODNJI POVRĆA

U poljoprivrednoj proizvodnji štetni kukci mogu uzrokovati gubitke produktivnosti između 18 % i 25 %, a uskladištenih proizvoda i do 70 % (Poveda, 2021.). Štetnici koji žive u tlu poput žičnjaka (*Elateridae*), rovaca (*Gryllotalpidae*), grčica hrušta (*Melolontha melolontha*) čine velike štete povrćarskim kulturama u tlu. Preostali ključni štetni kukci u proizvodnji povrća su lisne uši (*Aphididae*), sovice (*Noctuidae*; sovice pozemljuše – *Agrotis* spp., lisne sovice), crveni pauk (*Tetranychus urticae*), resičari/tripsi (*Thysanoptera*; kalifornijski – *Frankliniella occidentalis*, duhanov – *Thrips tabaci*), muhe (red *Cyclorhapha*; mrkvina, lukova, kupusna, češnjakova, šparogina), muhe - lisni mineri (*Agromyzidae*), stjenice (*Heteroptera*; zelena - *Nezara viridula*), pipe (*Curculionidae*), moljci (*Microfrenatae*; krumpirov, kupusni, kukuruzni), štitasti moljci (*Aleirodina*; duhanski – *Bemisia tabaci*, cvjetni – *Trialeuroes vaporariorum*), a od nematoda cistolike nematode (*Globodera* spp., *Heterodera* spp., *Meloidogyne* spp.) te lezijske nematode (*Pratylenchus* spp.) (Maceljski, 2002.). Lisne uši napadaju gotovo sve povrtne kulture i prenosioci su virusa što predstavlja dodatni problem pri njihovoj pojavi na biljkama. Osim lisnih uši, tripsi također prenose opasne viroze povrća, poput TSWV-a, CMV-a, TYLCV-a i dr. U ljudskoj prehrani mahunarke igraju ključnu ulogu osobito u pogledu unosa proteina. Značajnu prijetnju sigurnosti hrane predstavlja žižak graha *Acanthoscelides obtectus* (*Coleoptera*: *Chrysomelidae*: *Bruchidae*). Jedan je od štetnika s većim svjetskim utjecajem na uskladišteno sjeme mahunarki, raširen po cijelom svijetu. Najveće štete graha nastaju u

skladištu iako žižak oštećuje sjeme već u polju. Odrasle ženke polažu jajašca među sjemenke, a ličinke buše rupe kako bi prodrle u njih, gdje se hrane i razvijaju dok se ne pojavi nova generacija. Oštećenje sjemena smanjuje kvalitetu proizvoda, može čak utjecati na sposobnost klijanja, čime se ugrožava daljnja produktivnost usjeva. Proizvođač kao posljedicu ima značajan gubitak dobiti (Alvarez-Garcia i sur., 2022.).

Kemijska zaštita dovela je do pojave rezistentnosti kod kukaca što uvelike otežava njihovu zaštitu kemijskim pesticidima. Alternativne metode zaštite već postoje i to primjenom benefitarne gljive *Beauveria bassiana* koja ima veoma jako insekticidno djelovanje na većinu štetnih kukaca (Vinković i sur., 2019.). U budućnosti bi se ovoj benefitarnoj gljivi mogle priključiti i vrste roda *Trichoderma* između ostalog i *T. harzianum* budući da znanstvenici već rade na tom polju i dobivaju pozitivne rezultate učinka.

#### 6.1. *Trichoderma harzianum* spp. u zaštiti štetnih kukaca povrća

Mnogi znanstvenici provode znanstvena istraživanja koja se temelje na mogućnostima korištenja *Trichoderma* spp. između ostalog i vrste *T. harzianum* kao potencijalnog agensa u izravnoj i neizravnoj biološkoj kontroli štetnih kukaca. Posljednjih godina razvijeno je nekoliko znanstvenih radova o korištenju *Trichoderma* spp. kao biološkog sredstva za kontrolu štetnih kukaca, izvještavajući o rezultatima do 100 % smrtnosti, kako u laboratoriju tako i na terenu. Dokazano je kako izravnim putem *Trichoderma* spp. mogu kontrolirati štetne kukce parazitiranjem, proizvodnjom sekundarnih insekticidnih metabolita, spojeva koji odbijaju hranjenje kukaca i proizvodnjom repelentnih metabolita. Neizravnim putem *Trichoderma* spp. mogu kontrolirati štetne kukce aktivacijom sustavno stečene otpornosti biljke, privlačenjem prirodnih neprijatelja kao i mogućem parazitizmu kukaca simbiotskim mikroorganizmima. Proizvodnjom metabolita kao što su peptaiboli, *T. harzianum* može uzrokovati stopu smrtnosti i do 100 %. Dokazano je kako kolonizacijom korijena biljke s *Trichoderma* spp. dolazi do aktivacije sustavnih obrambenih odgovora u biljci što uzrokuje nakupljanje sekundarnih obrambenih metabolita u biljnim tkivima (Poveda, 2021.).

Neki od tih metabolita mogu biti hlapljivi organski spojevi (VOC od eng., Volatile Organic Compound) s repelentnim djelovanjem, kao što su terpeni (1-okten-3-ol i 6-pentil- $\alpha$ -piron) koji smanjuju konzumaciju lišća i do 75 % kod nekih kukaca. Kako je održiva proizvodnja povrća neophodna, zahvaljujući brojnim znanstvenim istraživanjima, primjena

*Trichoderma* spp. predstavlja moguću alternativu u zamjeni kemijskih insekticida. Utvrđeno je kako *Trichoderma* spp. uzrokuju proizvodnju VOC-a posredovanu jasmonskom kiselinom koji privlače korisne parazitoidne osice iz porodice *Mymaridae* (Poveda, 2021.).

Biogeni hlapljivi organski spojevi (BVOC od eng. Biogenic Volatile Organic Compounds) su male molekule hlapljive prirode koje proizvode živi organizmi. Sudjeluju u interakcijama između mikroorganizama, biljaka i životinja, uključujući i štetne kukce. Uspostavljaju međusobne odnose između organizama kroz prepoznavanje, kompeticiju, odbijanje ili stimulaciju. Uloga biogenih hlapljivih organskih spojeva i njihove mogućnosti biokontrole proučavaju se desetljećima. Mnogi znanstvenici potvrđuju učinkovitost izoliranih biogenih hlapljivih organskih spojeva gljivica, osobito roda *Trichoderma* u vidu insekticidnih svojstava pri kontroli štetnih kukaca (Alvarez-Garcia i sur., 2022.).

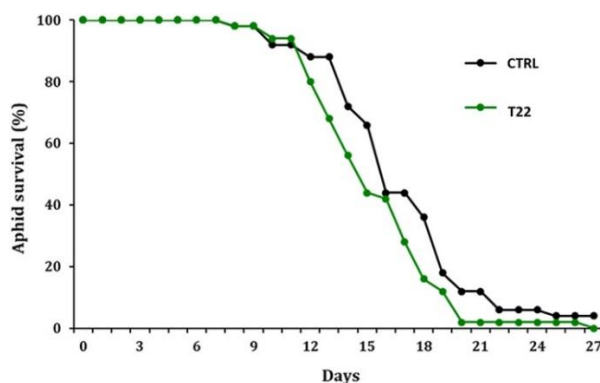
Alvarez-Garcia i sur. (2022.) su u pokusima sa grahom zaključili kako hlapljive tvari *T. harzianum* smanjuju nastanak populacije i povećavaju smrtnost odraslih oblika *Acanthoscelides obtectus*, te da smanjuju oštećenja graha u otvorenim okruženjima iako su učinci bili jači u kontroliranim uvjetima.

Alvarez-Garcia i sur. (2022.) zaključili su kako trihodien nema insekticidna svojstva u ispitivanim uvjetima jer sojevi *Trichoderme* s prekomjernom proizvodnjom trihodiena nisu pokazali povećanu aktivnost zaštite, te predlažu daljnja istraživanja u vezi s učincima biogenih hlapljivih organskih spojeva (BVOC-a) na druge štetne kukce kako bi se odredili pojedinačni BVOC-i ili hlapljive smjese za prikaz boljeg opisa njihovih svojstava i načina djelovanja. To bi moglo dovesti do razvoja novih strategija kontrole zaraze *A. obtectus* u skladištima žitarica.

Rodríguez-González i sur., (2018., 2019.) rezultatima istraživanja zaključili su kako soj *T. harzianum* E-20 koji prekomjerno proizvodi skvalen u interakciji mikrob – insekt, odbija odrasle jedinke *A. obtectus* oba spola i stoga smanjuje štetu koju proizvode na grahu, nadalje, potvrdili su da je trihodien nefitotoksičan hlapivi organski spoj čija prisutnost smanjuje obrambenu reakciju graha protiv *A. obtectus*.

Jafarbeigi i sur. (2020.) ispitivali su induciranu otpornosti rajčice na štetnog duhanovog štitastog moljaca (*Bemisia Tabaci*) izazivanu salicinskom kiselinom,  $\beta$ -aminomaslačnom kiselinom te su zaključili da je aktivacija salicinske kiseline izazvana posrednom obranom u biljkama rajčice uslijed *T. harzianum* kolonizacije korijena rajčice uzrokovala stope smrtnosti do 35 %.

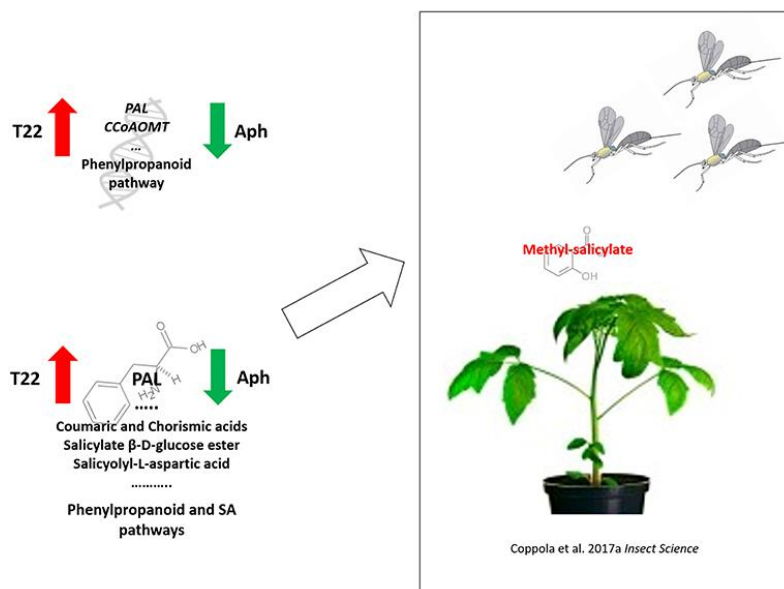
Coppola i sur. (2019.) su u istraživanju proučavali promjene transkriptoma povezanih s metaboličkim procesima u biljkama rajčice izazvane kolonizacijom *T. harzianum* soja T-22 i naknadnom infestacijom krumpirovom lisnom uši *Macrosiphum euphorbiae* te su zaključili da *T. harzianum* T-22 potiče izravne i neizravne obrane rajčice od *M. Euphorbiae* te da negativno utječe na stopu preživljavanja lisnih uši (Slika 9.).



Slika 9. Učinak *T. harzianum* T-22 na preživljavanje lisnih uši

Izvor: <https://www.frontiersin.org/files/>

Coppola i sur. (2019.) su saželi transkriptomičke i metabolomičke promjene na biljkama rajčice tretiranim *T. harzianum* T-22 odgovornim za izravne i neizravne obrambene reakcije u zaštiti lisnih uši (Slika 10.).



Slika 10. Sažetak transkriptomičkih i metabolomičkih promjena na biljkama rajčice tretiranim *T.*

*harzianum* T-22 odgovornim za izravne i neizravne obrambene reakcije u zaštiti lisnih uši

Izvor: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.00745/full>

U induciranoj obrani biljaka izazvane od strane *T. harzianum* T-22, fenilpropanoidni putevi (PAL od eng. phenylpropanoid pathway) i putevi salicinske kiseline imaju središnju ulogu na transkripcijskoj i metaboličkoj razini. PAL i SA putevi su izvor metil-salicilata (MeSA od eng. Methyl Salicylate), hlapljivog spoja odgovornog za povećanu privlačnost parazitske osice *Aphidius ervi*.

*Trichoderma* također može proizvesti sekundarne metabolite hlapljive prirode, kao što je 6-pentil- $\alpha$ -piron, koji može uzrokovati 100 % smrtnost u 48 h kod crvenog pauka *Tetranychus urticae* (Kottb, 2017.).

*T. harzianum* parazitiraju na odraslim jedinkama tropske stjenice (*Cimex hemipterus*) uzrokujući stope smrtnosti od 90 % u 14 dana (Zahran i sur. 2017.).

*T. harzianum* djeluje insekticidno na žičnjake (*Elateridae*) u tlu te je poželjno presadnice ili sjeme tretirati biopreparatom koji sadržava spore *T. harzianum* (Vinković i sur., 2019.).

Velika većina studija provedena s *Trichodermom* kao mikopesticidom nalaze se u kontroliranim stakleničkim ili laboratorijskim uvjetima, što zahtijeva veći broj istraživanja na terenu kako bi se potvrdili dobiveni rezultati (Poveda, 2021.).

## 7. FITOPARAZITNE NEMATODE U PROIZVODNJI POVRĆA

U proizvodnji povrća, fitoparazitne nematode uzrokuju oštećenja biljaka sišući biljne sokove. Takve biljke zaostaju u rastu i razvoju, smanjena im je kakvoća, a ovisno o jačini napada, mogu biti potpuno neupotrebljive ili može doći do propadanja biljaka jasno vidljivom pojavom tzv. plješina (Maceljski, 2002.). Uslijed kretanja kroz biljno tkivo domaćina ili uslijed hranjenja fitoparazitnih nematoda, dolazi do abnormalnog rasta biljke u vidu zaostajanja u rastu, pojave smeđe pjegavosti korijena, kvržica na korijenu, žućenja nadzemnih biljnih dijelova, smanjenja prinosa i dr. Značajne fitonematode koje u proizvodnji povrća nanose štete su korijenove cistolike nematode roda *Globodera* (napadaju krumpir, patliđan, rajčicu i dr.), *Heterodera* (napadaju špinat, brokulu, kupus, karfiol, rotkvicu i dr.) zatim nematode korijenovih kvržica roda *Meloidogyne* (najznačajnije štetne nematode povrća budući da su polifagne), te nematode smeđe pjegavosti korijena roda *Pratylenchus* također polifagne (Ivezić, 2014.). Nematode se zanemaruju od strane proizvođača u pogledu postojanosti, budući da su simptomi

nespecifični i vizualno pripisani drugim utjecajima, pa proizvođači često nisu svjesni prisutnosti nematoda u tlu.

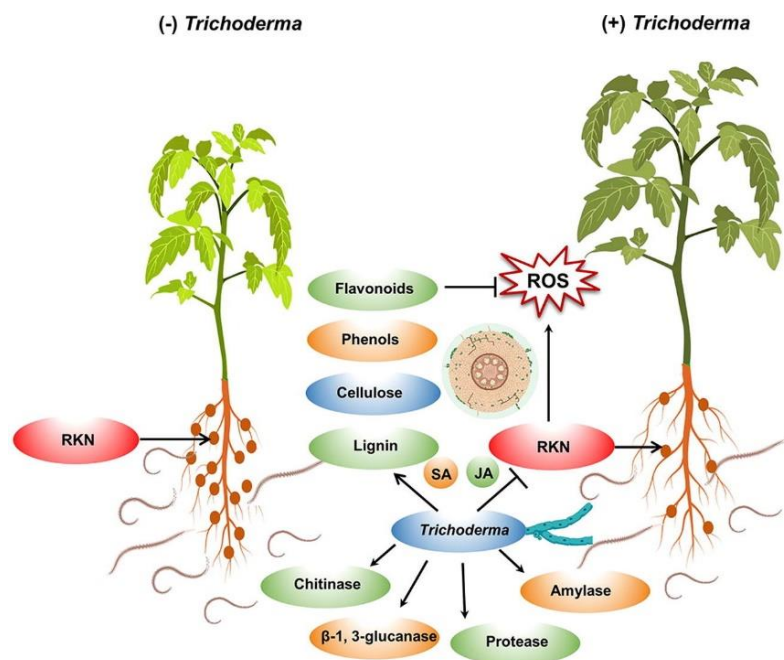
Procjenjuje se da štete na usjevima zasađenim diljem svijeta uzrokuju biljne parazitske nematode sa gubitkom od oko 173 milijarde USD godišnje. Nematode vidljivo smanjuju prinose dok kod mladih biljaka infekcija može biti smrtonosna. Kvaliteta konačnog proizvoda također je smanjena sa najčešće vidljivim morfološkim promjenama povezanih sa simptomima infekcije. Budući da se dosadašnjim načinom suzbijanja zaraze nematoda u poljoprivredi provodilo korištenjem kemijskih nematocida koji imaju izrazito štetne i toksične učinke na biofloru, životinje, zdravlje ljudi, kontaminirajući okoliš, dobrodošle su nove ekološki prihvatljive strategije u koje bi se mogla uključiti i primjena benefitarne gljive *T. harzianum* (Nafady i sur., 2022.).

#### 7.1. *Trichoderma harzianum* spp. u zaštiti fitoparazitnih nematoda povrća

Smanjenje infekcije nematoda i/ili regulacija njihove populacije moguće je ostvariti primjenom antagonističke gljive *T. harzianum* koja u interakciji s nematodama djeluje izravno putem kompeticije, paralize, antibioze, parazitizma, proizvodnje litičkih enzima ili može neizravno inducirati sustavnu otpornost biljke koja se može naslijediti sjemenom (Poveda i Eugui, 2022.). *T. harzianum* ubraja se u gljive koje potiču rast biljaka poput mikoriznih gljiva. Upravo takve gljive mogu djelovati učinkovito i ekološki prihvatljivo u biološkoj kontroli fitonematoda (Nafady i sur., 2022.).

Nafady i sur. (2022.) su u plasteniku proveli pokus s ciljem procjene potencijalne moguće primjene korištenja mikrobiološkog agensa *T. harzianum* kao biološko sredstvo zaštite za suzbijanje nematoda korijenovih guka rajčice (*Meloidogyne javanica*) te kao biognojivo u proizvodnji rajčice (*Solanum lycopersicum* L.). Nafady i sur. (2022.) u rezultatima istraživanja, zaključili su kako je istovremena inokulacija korijena rajčice s *T. harzianum* i mikoriznim gljivama značajno smanjila stope prodora nematoda i populacije, što ukazuje na neizravnu i izravnu biokontrolnu aktivnost protiv nematoda. Moguće je da se migracijom nematoda prema korijenju pojačalo djelovanje bio agenasa jer su oni zauzeli rizosferu i uzrokovali poteškoće nematodama u pronalaženju prostora za hranjenje, pa je došlo do smanjenja razvoja stadija nematoda i stvaranja gala.

Yan i sur. (2021.) su dokazali kako *T. harzianum* može učinkovito smanjiti zarazu nematoda korijenovih guka (*Meloidogyne incognita*) od 61,88 % u biljkama rajčice (*Solanum lycopersicum* L.). Kolonizacijom korijena rajčice s *T. harzianum* značajno su se povećale razine salicinske i jasmonske kiseline (SA i JA) te se inducirala sistemska otpornost (ISR) u bljkama. Povećala se i aktivnost proteina povezanih s patogenezom kao što su  $\beta$ -1,3-glukanaza, kitinaza, proteaza i amilaza. Smanjenje razine reaktivnih oblika kisika (ROS-a), malondialdehida i istjecanja elektrolita bilo je povezano s povećanim nakupljanjem višestrukih sekundarnih metabolita flavonoida, fenola, lignina i celuloze. Putovi obrane *T. harzianum* u zaštiti biljaka rajčice od nematode *Meloidogyne incognita* (Slika 11.) teku kroz povećanu aktivaciju hidrolitičkih enzima (hitinaze,  $\beta$ -1,3-glukanaze, amilaze i proteaze), povećanu koncentraciju sekundarnih metabolita (flavonoida, fenola, lignina i celuloze) te kroz povećanu razinu JA i SA kojima se aktivira ISR biljaka (Yan i sur., 2021.).



Slika 11. Putovi obrane *T. harzianum* u zaštiti biljaka rajčice od nematode *Meloidogyne incognita*

Izvor: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964421000797>

Sehebani i Hadavi (2008.) su u istraživanju biološke kontrole nematode korijenovih kvržica (*Meloidogyne javanica*) uz pomoć gljive *T. harzianum* u stakleničkim i laboratorijskim pokusima ostvarili značajno smanjenje populacije nematoda prodiranjem gljivičnih hifa *T. harzianum* u matricu mase jaja nematoda. Također, rezultati su pokazali



kako *T. harzianum* povećanjem aktivnosti izvanstanične hitinaze vrši izravnu parazitaciju jaja nematoda te inducira obrambeni mehanizam biljaka koji dovodi do sustavne otpornosti.

Gogoi i Mahanta (2013.) su ispitali učinkovitost *T. harzianum* i pesticida djelatne tvari karbofuran i karbendazim u zaštiti graha (*Phaseolus vulgaris*). Svi tretmani pokazali su učinkovitost i značajno smanjili populaciju nematoda (*Meloidogyne incognita* i *Rhizoctonia solani*) u tlu osim tretmana s karbendazimom. Također se pokazalo kako se primjenom *T. harzianum* i karbofuranom povećao rast biljaka i prinos.

Prema pozitivnim rezultatima mnogih znanstvenih istraživanja, *T. harzianum* se pokazala kao veliki potencijalni bio agens u zaštiti fitonematoda.

## 8. VAŽNOST BIOLOŠKE ZAŠTITE U ODNOSU NA KEMIJSKU

Biološka zaštita štetnih organizama ima mnoge prednosti u odnosu na kemijsku zaštitu. Primjenom ekoloških metoda biološke zaštite ne onečišćuje se okoliš niti se narušava zdravlje ljudi i životinja što je u konačnici i najvažnija prednosti u usporedbi sa kemijskom zaštitom. Primjenom bioloških metoda zaštićena je biološka raznolikost, obnavlja se prirodni ekosustav te se potencira trajno smanjenje štetnih organizama (Barić i Pajač Živković, 2020.). Izostaje akumulacija kemijskih tvari u tlu, vodi, zraku, nema rezidua u biljnim i životinjskim proizvodima, nema šteta za korisne organizme, životinje, čovjeka, ne uzrokuju fitotoksična oštećenja biljaka, te se isključuje problem rezistentnosti štetnika, može pridonijeti značajnom smanjenju emisije stakleničkih plinova (Igrc Barčić i Maceljki, 2001.). Prema Błaszczuk i sur. (2014.) gljive iz roda *Trichoderma* su mikroorganizmi koji se najčešće ispituju i primjenjuju u biološkoj zaštiti bilja. Mogu uzrokovati znatno ograničenje uporabe kemijskih fungicida u poljoprivredi.

Kod kemijske zaštite postoji opasnost od zagađenja okoliša, podzemnih voda, tla, ugibanja korisnih organizama i smanjenja njihove brojnosti, opasnost od pojave rezistentnosti štetnih vrsta i time neučinkovitost sredstava, fitotoksičnosti, ostataka pesticida u biljkama. Smanjuje se biološka raznolikost flore i faune tla a samim time narušava se struktura i plodnost. Postoji opasnost od trovanja oprašivača, divljači, riba, ptica, domaćih životinja, čovjeka jer su sva kemijska sredstva za zaštitu bilja svrstana u otrove (Igrc Barčić i Maceljki, 2001.).

Sve veća upotreba pesticida rezultirala je ozbiljnim gubitkom biološke raznolikosti. Vrlo bitan problem kod kemijske zaštite jest u tome što ostaci sredstva u tlu mogu oštetiti idući usjev zbog nedopuštenih ostataka u njemu te što pri svakoj zaštiti dio sredstva dolazi u atmosferu i tako postaje dionik uzrokovanja globalnog onečišćenja (Igrc Barčić i Maceljki, 2001.) dok biološka kontrola može pridonijeti značajnom smanjenju emisije stakleničkih plinova (Lenteren i sur., 2017.). Također, primjena pesticida ima izraženo štetno djelovanje na mnoge korisne organizme u tlu, pa tako i na prirodne gljivične antagoniste štetnih organizama koji se koriste u biološkoj kontroli (El-Zahaby i Belal, 2008.). Tako su El-Zahaby i Belal (2008.) ispitali utjecaj nekih pesticida primijenjenih u preporučenim dozama na rast *T. harzianum* uzgojenih na PDA pločama i dobili rezultate kako je rast *T. harzianum* inhibiran sa većinom testiranih pesticida klasificiranih u snažno, umjereno i slabo inhibitornu kategoriju.

Jedan od najvažnijih problema Zemlje postaje čista voda za piće, a korištenjem sredstava za zaštitu postoji opasnost od onečišćenja nadzemnih i podzemnih voda, što nije slučaj sa biološkim načinima zaštite koja je u globalu jako važna za održivu, kvalitetnu i zdravu poljoprivredu koja hrani cijeli svijet. Zbog sve većeg nedostatka vode raspoložive za navodnjavanje, prema njoj se također treba pristupati održivo, a postoji i popularan termin više prinosa po kapi (engl. *more crop per drop*) (Vinković i sur., 2019.). U pokusu s ječmom izloženim nedostatku vode, *T. harzianum* značajno povećava toleranciju na nedostatak vode i posljedično smanjuje učinke na fotosintetske sustave čak i kada su biljke bile na trajnoj točki venuća ili joj se približavale nakon dva tjedna obustave navodnjavanja. (Topolovec – Pintarić, 2019.).

## 9. ZAKLJUČAK

Na osnovu provedenih istraživanja mnogih znanstvenika koji su dobili pozitivne i uspješne rezultate biološke kontrole biljnih bolesti primjenom biološkog agensa *Trichoderma harzianum*, može se zaključiti kako je benefitna gljiva *T. harzianum* spp. adekvatna alternativna zamjena kemijske zaštite fitopatogenih gljiva uporabom komercijaliziranih biofungicida, biognojiva i prirodnih inokulanata kao biostimulatora i ojačivača bilja, koji, iako nisu svrstani u istu kategoriju, imaju jednak učinak na biljne patogene mikroorganizme. Benefitna gljiva *T. harzianum* ne samo da sprječava mikoze, nego djeluje na cijeli jedan splet molekularnih događanja u tlu počevši od stvaranja simbiotskog odnosa s biljkom (Topolovec – Pintarić, 2019.), ubrzanja razgradnje organske tvari, remedijacije (Zin i sur., 2020.), što sve skupa osigurava biljci plodno, zdravo, strukturno tlo (Błaszczuk i sur., 2014.). U takvim uvjetima tla, znanstvenici su dokazali da sjeme brže proklija, dostupne makro i mikro elemente potrebne za rast i razvoj biljka može maksimalno iskoristiti, da je povećana dostupnost vlage, da je biljka tolerantna na nedostatak vode i ostale abiotičke i biotičke stresove (Błaszczuk i sur., 2014.). Upravo iz svih tih pozitivnih učinaka dobivenih znanstvenim istraživanjima, može se zaključiti kako se *T. harzianum* može koristiti i kao biognojivo budući da osigurava optimalne uvjete i stimulira rast i razvoj biljaka, smanjujući potrebe za konvencionalnim NPK gnojivima te povećavajući prinos (Pani i sur., 2021.). Znanstvenici su dokazali kako *T. harzianum* može inhibirati prisutnost virusa mozaika krastavca, modulirati virusne simptome tijekom cijelog razvoja biljaka i značajno smanjiti pojavu bolesti (Vitti i sur., 2015., 2016., Al-Jaddawi i sur., 2019.) što bi moglo dovesti do inovativne zaštite povrća fitopatogenih virusa primjenom biopreparata na bazi gljive *T. harzianum*. Nafady i sur. (2022.), Yan i sur. (2021.), Shebani i Havadi (2008.), Gogoi i Mahanta (2013.) potvrđuju djelotvornost i učinkovitost *T. harzianum* u ekološki prihvatljivoj biološkoj kontroli fitonematoda što bi moglo dovesti do razvoja novih načina biološke zaštite fitonematoda primjenom gljive *T. harzianum*. Zadnjih nekoliko godina znanstvenici proučavaju mogućnosti suzbijanja i štetnih kukaca primjenom *T. harzianum* budući da djeluje mikrobicidno (Vinković i sur., 2019.), parazitno i repelentno (Miličević i Kaliterna, 2014.) ukazujući na moguću primjenu ovog bio agensa i u zaštiti štetnih kukaca. Proizvodnja povrća primjenom benefitne gljive *T. harzianum* je održiva budući da u međusobnoj interakciji sa patogenom razvija mehanizme djelovanja kojima ih nadjača i usmrti, dok u interakciji sa biljkom inducira njenu sistemsku otpornost kojom se neizravno reduciraju uzročnici bolesti i štetnici

prirodnim putem (Błaszczuk i sur., 2014.). U konačnici, izravna i neizravna učinkovitost benefitne gljive *T. harzianum* samostalno ili u kombinaciji sa drugim bio agensima, predstavlja obećavajuću i uspješnu biološku mjeru zaštite u kontroli patogenih mikroorganizama, štetnih kukaca i fitoparazitnih nematoda povrća. Takva zaštita je dugoročna, ekonomski isplativa i sigurna. Patogeni mikroorganizmi, štetni kukci i fitonematode ne mogu razviti rezistentnost. Ekosustav je osiguran, čist, nezagađen i uravnotežen budući da gljiva *T. harzianum* nema štetne posljedice na okoliš. Povećana je biološka raznolikost, poboljšana su svojstva i plodnost tla, prirodni neprijatelji sigurni, pčele i ptice sigurne. Troškovi proizvodnje smanjeni, prinosi povećani. Okoliš očuvan. Hrana zdrava. Zdrav čovjek!

## 10. POPIS LITERATURE

- Aci, M., M., Sidari, R., Araniti, F., Lupini, A. (2022.): Emerging Trends in Allelopathy: A Genetic Perspective for Sustainable Agriculture. *Agronomy* 2022, 12(9). Str.1-15.
- Alfiky, A., Weisskopf, L. (2021.): Deciphering *Trichoderma*–Plant–Pathogen Interactions for Better Development of Biocontrol Applications. *J. Fungi* 2021, 7(1), 61. Str. 1-18.
- Álvarez-García, S., Rodríguez-González, Á., Zañafano, L., Gutiérrez, S., A.Casquero, P., (2022.): Volatile-mediated interactions between *Trichoderma harzianum* and *Acanthoscelides obtectus*: A novel in vitro methodology to evaluate the impact of microbial volatile compounds on dry grain storage pests. *Biological Control* 169 (2022). Str. 1-10.
- Al-Ani, L. K. T., (2019.): Bioactive secondary metabolites of *Trichoderma* spp for efficient management of phytopathogens. *Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms*, Springer, Singapore (2019), Str. 125-143.
- Al-Jaddawi, A. A., Elbeshehy, E. K. F., Mattar, E. H. M. (2019.): Effects of Different Species from *Trichoderma* spp. on Inducing Systemic Resistance in Tomato Plants Infected by Cucumber Mosaic Virus. *Philippine Agricultural Scientist* 102(3): 230-237.
- Baličević, R., Parađiković, N., Čosić, J., Jurković, D., Šamota, D. (2008.): Influence of substrate in biological control of tomato seedlings against *Rhizoctonia solani* and *Pythium debaryanum*. *Cereal Research Communications* Vol. 36, Str. 1499-1502.
- Baličević, R., Parađiković, N., Šamota, D. (2007.): Control of soil parasites (*Pythium debaryanum*, *Rhizoctonia solani*) on tomato by a biological product. *Cereal Research Communications*. Vol. 35, No. 2. Str.1001-1002.
- Barić, B., Pajač Živković, I. (2020.): Načela integrirane zaštite bilja. Denona d.o.o., Zagreb. Str. 65,73,76,110.
- Barman, S., Shankar Gorai, P., Chandra Mandal, N. (2021.): *Trichoderma* spp.— Application and future prospects in agricultural industry. *Agricultural and Industrial Approach* 2021, Pages 49-70.
- Błaszczyk, L., Siwulski, M., Sobieralski, K., Lisiecka, J., Jędryczka, M. (2014.):

- Trichoderma spp. – application and prospects for use in organic farming and industry. Journal of plant protection research. Vol. 54, No. 4 (2014).
- Bogović, M. (2012.): Važnost i učinak zelene gnojidbe u poljoprivrednoj proizvodnji. Glasnik zaštite bilja, 3/2012.
- Chaverri, P., Samuels, G., J. (2002): *Hypocrea lixii*, the teleomorph of *Trichoderma harzianum*. Mycological Progress. 1(3): 283–286.
- Coppola, M., Diretto, D., Digilio, M., C., Woo, S., L., Giuliano, G., Molisso, D., Pennacchio, F., Lorito, M., Rao, R. (2019.): Transcriptome and Metabolome Reprogramming in Tomato Plants by *Trichoderma harzianum* strain T22 Primes and Enhances Defense Responses Against *Aphids*. Frontiers in Physiology. Volume 10. Article 745. Pages 1-21.
- Ćosić, J., Jurković, D., Vrandečić, K. (2006.): Praktikum iz fitopatologije. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Str. 1-65.
- Elad, Y. (2000.): Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. Crop Protection. Volume 19, Issues 8–10, 12 September 2000, Pages 709-714.
- El-Zahaby, H. M., Belal, E. B. (2008.): Biocontrol of cantaloupe white mould disease (*Sclerotinia sclerotiorum*) (lib) de bary by *Trichoderma harzianum*. J. Agric. Res., Kafrelsheikh Univ. 34(2): 370 – 384.
- Franin, K., Barić, B. (2011.): Uloga ekološke infrastrukture u biološkom suzbijanju poljoprivrednih štetnika. Glasnik zaštite bilja, Vol.34 No.4
- Geng, L., Fu, Y., Peng, X., Yang, Z., Zhang, M., Song, Z., Guo, N., Chen, S., Chen, J., Bai, B., Liu, A., Ahammed, J., G. (2022.): Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea* in tomato plants. Biological Control. Volume 174. November 2022.
- Gogoi, D., Mahanta, B. (2013.): Comparative efficacy of *Glomus fasciculatum*, *Trichoderma harzianum*, carbofuran and carbendazim in management of *Meloidogyne incognita* and *Rhizoctonia solani* disease complex on French bean. Ann Pl Prot Sci 21:172–175.
- Igre Baričić, J., Maceljiski, M. (2001.): Ekološki prihvatljiva zaštita bilja od štetnika. Zrinski d.d., Čakovec.

- Ivezić, M. (2014.): Fitonematologija. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Grafika d.o.o., Osijek. Str. 26-69.
- Ivić, D., Cvjetković, B. (2013.): Rak krumpira *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. Glasilo biljne zaštite. Vol. 13/Br.4. Str. 350-353.
- Jafarbeigi, F., Samih, M., A., Alaei, H., Shirani, H. (2020.): Induced tomato resistance against *Bemisia tabaci* triggered by salicylic acid,  $\beta$ -aminobutyric acid, and *Trichoderma*. Neotrop. Entomol., 49 (2020), pp. 456-467.
- Kottb, M., R. (2017.): Bioactivity of *Trichoderma* (6-Pentyl  $\alpha$ -pyrone) against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) Egypt. Acad. J. Biol. Sci., 10 (2017), pp. 29-34.
- Lenteren, J.,C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W., J., Urbaneja, A. (2017.): Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. BioControl. pp 1 – 21.
- Mastouri, F., Björkman, T., and Harman, G. E. (2010.): Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. Phytopathology 100, 1213–1221.
- Maceljiski, M. (2002.): Poljoprivredna entomologija, II. dopunjeno izdanje, Zrinski d.d., Čakovec. Str. 1-460.
- Pandit, M. A., Kumar, J., Gulati, S., Bhandari, N., Mehta, P., Katyal, R., Rawat, C. D., Mishra, V., Kaur, J. (2022.): Major Biological Control Strategies for Plant Pathogens. Pathogens 2022, 11, 273. Str. 1-21.
- Miličević, T. i Kaliterna, J. (2014.): Biološko suzbijanje bolesti kao dio integrirane zaštite bilja. Glasilo biljne zaštite 5/2014. 410-415.
- Nafady, A., N., Sultan, R., El-Zawahry, M., A., Mostafa, S., Y., Alamri, S., Mostafa, G., R., Hashem, M., Hassan, A., E. (2022.): Effective and Promising Strategy in Management of Tomato Root-Knot Nematodes by *Trichoderma harzianum* and Arbuscular Mycorrhizae. Agronomy 2022, 12(2), 315. Pages 1-20.
- Özbay, N., Newman, E., S., Brown, W., M. (2004.): The Effect of the *Trichoderma harzianum* Strains on the Growth of Tomato Seedlings. Proc. XXVI IHC – Managing Soil-Borne Pathogens Ed. A. Vanachter Acta Hort. 635, ISHS 2004 Publication supported by Can. Int. Dev. Agenc. Str. 131-135.

- Pani, S., Kumar, A., Sharma, A. (2021.): *Trichoderma harzianum*: An Overview. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, Vol. 10 (6) May 2021 : 32-39.
- Parađiković, N., Baličević, R., Vinković, T., Parađiković, D., Karlič, J. (2007.): Biološke mjere zaštite u proizvodnji gerbera i presadnica rajčice. Agronomski glasnik. Str. 355-364.
- Parađiković, N., Ćosić, J., Baličević, R., Vinković, T., Vrandečić, K., Ravlić, M. (2012.): Utjecaj kemijskih i bioloških mjera na rast i razvoj presadnica paprike i suzbijanje fitopatogenih gljiva *Pythium ultimum* i *Rhizoctonia solani*. Glasnik Zaštite Bilja. Vol. 35 No. 3 Str. 50-56.
- Parađiković, N., Vinković, T., Iljkić, D. (2007.): Hidroponsko gajenje i biološka zaštita paprike (*Capsicum annum* L.). Acta Agriculturae Serbica, Vol.XII, 23 (2007). Str. 19-24.
- Poveda, J. (2021.): *Trichoderma* as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. Biological Control. Volume 159, Pages 1-8.
- Poveda, J., Eugui, D. (2022.): Combined use of *Trichoderma* and beneficial bacteria (mainly *Bacillus* and *Pseudomonas*): development of microbial synergistic bioinoculants in sustainable agriculture. Biological Control. November 2022. Str. 1-65.
- Rodríguez-González, A., Casquero, A. P., Cardoza, E. R., Gutiérrez, S. (2019.): Effect of trichodiene synthase encoding gene expression in *Trichoderma* strains on their effectiveness in the control of *Acanthoscelides obtectus*. Journal of Stored Products Research. Volume 83, September 2019, Pages 275-280.
- Rodríguez-González, A., Casquero, A. P., Suárez-Villanueva, V., Carro-Huerga, G., Álvarez-García, S., Mayo-Prieto, S., Lorenzana, A., Cardoza, R., E., Gutiérrez, S. (2018.): Effect of trichodiene production by *Trichoderma harzianum* on *Acanthoscelides obtectus*. Journal of Stored Products Research Volume 77, June 2018, Pages 231-239.
- Sehebani, N. i Hadavi N. (2008.): Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Soil Biology and Biochemistry. Volume 40, Issue 8, August 2008, Pages 2016-2020.
- Shrestha, R., Shrestha, K., B., Shakya, J., Sah, N., S., Khanal, H. (2019.): Evaluation Of



- Trichoderma Harzianum* As A Biocontrol Agent On Fusarium Wilt Of Tomato Grown In Eastern Nepal. IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science. Volume 12, Issue 10 Ser. II (October 2019), PP 39-45.
- Silva, N., R., Monteiro, N., V., Steindorff, S., A., Gomes, V., E., Noronha, F., E., Ulhoa, J., C. (2019.): *Trichoderma*/pathogen/plant interaction in pre-harvest food security. Fungal Biology Volume 123, Issue 8, August 2019, Pages 565-583
- Srpak, M., Zeman, S. (2018.): Održiva ekološka poljoprivreda. Zbornik radova Međimurskog veleučilišta u Čakovcu Vol. 9, No. 2, str. 68-75.
- Suriyagamon, S., Phonkerd, N., Bunyatratchata, W., Riddech, N., Mongkolthanaruk, W. (2018): Compost Seed of *Trichoderma harzianum* UD12-102 in Controlling Collar and Stem Rot of Tomato Caused by *Sclerotium rolfsii*. Environment and Natural Resources Journal, 16(2), 20–28.
- Thambugala, M., K., Daranagama, A., D., Phillips, J., L., A., Kannangara, D., S., Promputtha., I. (2020.): Fungi vs. Fungi in Biocontrol: An Overview of Fungal Antagonists Applied Against Fungal Plant Pathogens. Front. Cell. Infect. Microbiol. Vol.10. Str. 1-19.
- Topolovec-Pintarić S. (2019.): *Trichoderma*: Invisible Partner for Visible Impact in Agriculture. U: *Trichoderma*: The most widely used Fungicide. (ur.Shah M.M. Sharif U., Buhari T.R.). IntechOpen, London. 15-35.
- Tucci, M., Ruocco, M., De Masi, L., De Palma, M., Lorito, M. (2011.): The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. Mol Plant Pathol Vol.12 p.341–354.
- Vinale, F., Nigro, M., Sivasithamparam, K., Flematti, G., Ghisalberti, E.L., Ruocco, M., Varlese, R., Marra, R., Lanzuise, S., Eid, A., Woo, S.L., Lorito, M. (2013.): Harzianic acid: a novel siderophore from *Trichoderma harzianum*. FEMS Microbiol. Letters., 347 (2013), pp. 123-129.
- Vinković, T., Popović, B., Stošić, M., Lončarić, Z., Kristek, S., Ivezić, V., Tkalec Kojić, M., Jović, J., Ravnjak, B. (2019.): Okolišno prihvatljiva proizvodnja povrća. Studio HS internet d.o.o. Osijek. Str. 5-38.
- Vitti, A., La Monaca, E., Sofò, A., Scopa, A., Cuypers, A., Nuzzaci, M. (2015.):

- Beneficial effects of *Trichoderma harzianum* T-22 in tomato seedlings infected by *Cucumber mosaic virus* (CMV). *BioControl* 60, 135–147.
- Vitti, A., Pellegrini, E., Nali, C., Lovelli, S., Sofo, A., Valerio, M., Scopa, A., Nuzzaci, M. (2016.): *Trichoderma harzianum* T-22 Induces Systemic Resistance in Tomato Infected by *Cucumber mosaic virus*. *Sec. Plant Physiology. Frontiers in Plant Science*. Str. 1-11
- Vitti, A., Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M. (2015.): Sustainable Agricultural Practices in Disease Defence of Traditional Crops in Southern Italy: The Case Study of Tomato Cherry Protected by *Trichoderma harzianum* T-22 Against *Cucumber Mosaic Virus* (CMV). In book: Vastola, A. : Editor The Sustainability of Agro-Food and Natural Resource Systems in the Mediterranean Basin. Chapter: 9 Publisher: Springer. Str.133-143.
- Zahran, Z., Nor, N.M.I.M., Dieng, H., Satho, T., Majid A., H. (2017.): Laboratory efficacy of mycoparasitic fungi (*Aspergillus tubingensis* and *Trichoderma harzianum*) against tropical bed bugs (*Cimex hemipterus*) (Hemiptera: Cimicidae) *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 7 (2017), pp. 288-293.
- Zakon o održivoj uporabi pesticida, NN 14/14
- Zin, A. N., Badaluddin, A. N. (2020.): Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*. Volume 65, Issue 2, Pages 168-178.
- Yan, Y., Mao, Q., Wang, Y., Zhao, J., Fu, Y., Yang, Z., Peng, X., Zhang, M., Bai, B., Liu, A., Chen, S., Ahammed, J., G. (2021.): *Trichoderma harzianum* induces resistance to root-knot nematodes by increasing secondary metabolite synthesis and defense-related enzyme activity in *Solanum lycopersicum* L. *Biological Control*. Volume 158. July 2021.
- Yedidia I., Benhamou N., Chet I. (1999.): Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (3): ppt. 1061–1070.
- Yedidia I., Srivastava A., K., Kapulnik Y., Chet I. (2001.): Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant Soil* 235 (2): ppt. 235–242.

## 11. SAŽETAK

Benefitna gljiva *Trichoderma harzianum* spp. učinkovito djeluje u zaštiti fitopatogenih gljiva u proizvodnji povrća, a prema mnogim znanstvenim istraživanjima može se uspješno koristiti i u zaštiti fitopatogenih virusa, štetnih kukaca i fitonematoda kao adekvatna alternativa kemijskim pesticidima. Može se koristiti i kao alternativa mineralnim gnojivima budući da je prirodni agens razgradnje organskih tvari, posrednik izvora hranivih tvari i odličan promotor rasta biljaka. Diljem svijeta, *T. harzianum* izolira se iz tla, umnaža i na njenoj bazi ili u kombinaciji s više antagonističkih bio agenasa proizvode se biofungicidi, biognojiva i biljni inokulanti kao sredstva za jačanje biljaka. Biljni inokulanti nisu svrstani u kategoriju biofungicida, ali imaju jednak učinak na biljne patogene mikroorganizme, štetne kukce i fitonematode. *T. harzianum* u interakciji sa patogenim mikroorganizmima razvija mehanizme djelovanja (parazitizam, kompeticiju, antibiozu i induciranu rezistentnost) kojima nadjačava i izravno suzbija biljne patogene, dok u interakciji sa biljkom uspostavlja simbiotski odnos te inducira i aktivira obrambeni sustav biljke kako bi biljka neizravno reducirala uzročnike bolesti i štetnike prirodnim putem. Štetne kukce, *T. harzianum* kontrolira parazitiranjem, proizvodnjom sekundarnih insekticidnih metabolita, spojeva koji odbijaju hranjenje kukaca i proizvodnjom repelentnih metabolita, dok fitonematode kontrolira izravno putem kompeticije, paralize, antibioze, parazitizma, proizvodnjom litičkih enzima ili može neizravno inducirati sustavno stečenu otpornost biljke koja se može naslijediti sjemenom. Primjena biopreparata na bazi *T. harzianum* ima mnoge prednosti u odnosu na kemijsku zaštitu jer izostaje akumulacija kemijskih tvari u tlu, vodi, zraku, nema rezidua u biljnim i životinjskim proizvodima, nema šteta za korisne organizme, životinje, čovjeka. Ne uzrokuju fitotoksična oštećenja biljaka. Patogeni mikroorganizmi i štetnici ne mogu razviti rezistentnost, a mogu pridonijeti i značajnom smanjenju emisije stakleničkih plinova te uspostaviti održivu proizvodnju povrća.

Ključne riječi: *Trichoderma harzianum*, biofungicidi, biognojiva, biljni inokulanti, mehanizmi djelovanja, sustavno stečena otpornost, održiva proizvodnja

## 12. SUMMARY

The beneficial fungus *Trichoderma harzianum* spp. works effectively in the protection of phytopathogenic fungi in vegetable production, and according to many scientific studies, it can be successfully used in the protection of phytopathogenic viruses, harmful insects and phytonematodes as an adequate alternative to chemical pesticides. It can also be used as an alternative to mineral fertilizers since it is a natural agent for the decomposition of organic substances, an intermediary source of nutrients and an excellent promoter of plant growth. All over the world, *T. harzianum* is isolated from the soil, propagated and on its basis or in combination with several antagonistic bio agents, biofungicides, biofertilizers and plant inoculants are produced as plant strengthening agents. Plant inoculants are not classified as biofungicides, but they have the same effect on plant pathogenic microorganisms, harmful insects and phytonematodes. In interaction with pathogenic microorganisms, *T. harzianum* develops mechanisms of action (parasitism, competition, antibiosis and induced resistance) by which it overcomes and directly suppresses plant pathogens, while in interaction with the plant it establishes a symbiotic relationship and induces and activates the plant's defense system so that the plant indirectly reduces pathogens diseases and pests naturally. Injurious insects, *T. harzianum* controls by parasitism, production of secondary insecticidal metabolites, compounds that repel insect feeding and production of repellent metabolites, while phytonematodes are controlled directly through competition, paralysis, antibiosis, parasitism, production of lytic enzymes or can indirectly induce systemically acquired resistance of the plant that is can inherit by seed. The use of biopreparations based on *T. harzianum* has many advantages compared to chemical protection because there is no accumulation of chemical substances in the soil, water, air, there are no residues in plant and animal products and there is no damage to beneficial organisms, animals, humans. They don't cause phytotoxic damage to plants. Pathogenic microorganisms and pests can't develop resistance, and can contribute to a significant reduction of greenhouse gas emissions and establish sustainable vegetable production.

Key words: *Trichoderma harzianum*, biofungicides, biofertilizers, plant inoculants,

mechanisms of action, systemic acquired resistance, sustainable production

### 13. POPIS TABLICA

Red. br.	Naziv tablice	Str.
Tablica 1.	Antagonističke gljive i patogeni koje suzbijaju	11

## 14. POPIS SLIKA

Red.br.	Naziv slike	Str.
Slika 1.	Strategije biokontrole <i>Trichoderme harzianum</i>	5
Slika 2.	Proizvodnja konidija <i>T. harzianum</i> razne pigmentacije	13
Slika 3.	Septirane hife, granasti konidiofori, fialide u obliku tikvice i loptaste zelene konidije <i>T. harzianum</i>	14
Slika 4.	Mehanizmi djelovanja <i>Trichoderme harzianum</i>	17
Slika 5.	Putovi interakcije <i>Trichoderma</i> spp. – biljka – patogen	20
Slika 6.	Putevi obrane <i>T. harzianum</i> u zaštiti biljaka rajčice od patogene gljive <i>Botrytis cinerea</i>	24
Slika 7.	Shema eksperimentalnog pokusa	28
Slika 8.	Prikaz razvoja korijena i plodova Cherry rajčica ubranih sa biljaka starih tri mjeseca	29
Slika 9.	Učinak <i>T. harzianum</i> T-22 na preživljavanje lisnih uši	33
Slika 10.	Sažetak transkriptomičkih i metabolomičkih promjena na biljkama rajčice tretiranim <i>T. harzianum</i> T-22 odgovornim za izravne i neizravne obrambene reakcije u zaštiti lisnih uši	33
Slika 11.	Putovi obrane <i>T. harzianum</i> u zaštiti biljaka rajčice od nematode <i>Meloidogyne incognita</i>	36

## 15. POPIS GRAFIKONA

Red.br.	Naziv grafikona	Str.
Grafikon 1.	Utjecaj pH-reakcije tla na rast micelija <i>T. harzianum</i>	8
Grafikon 2.	Utjecaj temperature na rast micelija <i>T. harzianum</i>	25

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Fakultet agrobiotehničkih znanosti u Osijeku  
Sveučilišni diplomski studij, Zaštita bilja

Diplomski rad

### Primjena benefitne gljive *Trichoderma harzianum* u zaštiti povrća

Martina Puškarić

#### Sažetak:

Benefitna gljiva *Trichoderma harzianum* spp. učinkovito djeluje u zaštiti fitopatogenih gljiva u proizvodnji povrća, a prema mnogim znanstvenim istraživanjima može se uspješno koristiti i u zaštiti fitopatogenih virusa, štetnih kukaca i fitonematoda kao adekvatna alternativa kemijskim pesticidima. Može se koristiti i kao alternativa mineralnim gnojivima budući da je prirodni agens razgradnje organskih tvari, posrednik izvora hranivih tvari i odličan promotor rasta biljaka. Diljem svijeta, *T. harzianum* izolira se iz tla, umnaža i na njenoj bazi ili u kombinaciji s više antagonističkih bio agenasa proizvode se biofungicidi, biognojiva i biljni inokulanti kao sredstva za jačanje biljaka. Biljni inokulanti nisu svrstani u kategoriju biofungicida, ali imaju jednak učinak na biljne patogene mikroorganizme, štetne kukce i fitonematode. *T. harzianum* u interakciji sa patogenim mikroorganizmima razvija mehanizme djelovanja (parazitizam, kompeticiju, antibiozu i induciranu rezistentnost) kojima nadjačava i izravno suzbija biljne patogene, dok u interakciji sa biljkom uspostavlja simbiotski odnos te inducira i aktivira obrambeni sustav biljke kako bi biljka neizravno reducirala uzročnike bolesti i štetnike prirodnim putem. Štetne kukce, *T. harzianum* kontrolira parazitiranjem, proizvodnjom sekundarnih insekticidnih metabolita, spojeva koji odbijaju hranjenje kukaca i proizvodnjom repelentnih metabolita, dok fitonematode kontrolira izravno putem kompeticije, paralize, antibioze, parazitizma, proizvodnjom litičkih enzima ili može neizravno inducirati sustavno stečenu otpornost biljke koja se može naslijediti sjemenom. Primjena biopreparata na bazi *T. harzianum* ima mnoge prednosti u odnosu na kemijsku zaštitu jer izostaje akumulacija kemijskih tvari u tlu, vodi, zraku, nema rezidua u biljnim i životinjskim proizvodima, nema šteta za korisne organizme, životinje, čovjeka. Ne uzrokuju fitotoksična oštećenja biljaka. Patogeni mikroorganizmi i štetnici ne mogu razviti rezistentnost, a mogu pridonijeti i značajnom smanjenju emisije stakleničkih plinova te uspostaviti održivu proizvodnju povrća.

**Rad je izrađen pri:** Poljoprivredni fakultet u Osijeku

**Mentor:** prof.dr.sc. Suzana Kristek

**Broj stranica:** 51

**Broj grafikona i slika:** 13

**Broj tablica:** 1

**Broj literaturnih navoda:** 58

**Broj priloga:** 0

**Jezik izvornika:** hrvatski



**Ključne riječi:** *Trichoderma harzianum*, biofungicidi, biognojiva, biljni inokulanti, mehanizmi djelovanja, sustavno stečena otpornost, održiva proizvodnja

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

- 1. prof.dr.sc. Karolina Vrandečić, predsjednik**
- 2. prof.dr.sc. Suzana Kristek, mentor**
- 3. doc.dr.sc. Jurica Jović, član**

**Rad je pohranjen u:** Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d.

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

---

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**

**Graduate thesis**

**Faculty of Agriculture**

**University Graduate Studies, Plant production, Plant Protection**

Application of beneficial fungus *Trichoderma harzianum* in  
vegetable protection

Martina Puškarić

### **Abstract:**

The beneficial fungus *Trichoderma harzianum* spp. works effectively in the protection of phytopathogenic fungi in vegetable production, and according to many scientific studies, it can be successfully used in the protection of phytopathogenic viruses, harmful insects and phytonematodes as an adequate alternative to chemical pesticides. It can also be used as an alternative to mineral fertilizers since it is a natural agent for the decomposition of organic substances, an intermediary source of nutrients and an excellent promoter of plant growth. All over the world, *T. harzianum* is isolated from the soil, propagated and on its basis or in combination with several antagonistic bio agents, biofungicides, biofertilizers and plant inoculants are produced as plant strengthening agents. Plant inoculants are not classified as biofungicides, but they have the same effect on plant pathogenic microorganisms, harmful insects and phytonematodes. In interaction with pathogenic microorganisms, *T. harzianum* develops mechanisms of action (parasitism, competition, antibiosis and induced resistance) by which it overcomes and directly suppresses plant pathogens, while in interaction with the plant it establishes a symbiotic relationship and induces and activates the plant's defense system so that the plant indirectly reduces pathogens diseases and pests naturally. Injurious insects, *T. harzianum* controls by parasitism, production of secondary insecticidal metabolites, compounds that repel insect feeding and production of repellent metabolites, while phytonematodes are controlled directly through competition, paralysis, antibiosis, parasitism, production of lytic enzymes or can indirectly induce systemically acquired resistance of the plant that is can inherit by seed. The use of biopreparations based on *T. harzianum* has many advantages compared to chemical protection because there is no accumulation of chemical substances in the soil, water, air, there are no residues in plant and animal products and there is no damage to beneficial organisms, animals, humans. They don't cause phytotoxic damage to plants. Pathogenic microorganisms and pests can't develop resistance, and can contribute to a significant reduction of greenhouse gas emissions and establish sustainable vegetable production.

**Thesis performed at:** Faculty of Agriculture in Osijek

**Mentor:** prof.dr.sc. Suzana Kristek

**Number of pages:** 51

**Number of figures:** 13

**Number of tables:** 1

**Number of references:** 58

**Number of appendices:** 0

**Original in:** croatian

**Key words:** *Trichoderma harzianum*, biofungicides, biofertilizers, plant inoculants,  
mechanisms of action, systemic acquired resistance, sustainable production

**Thesis defended on date:**

**Reviewers:**

**1. prof.dr.sc. Karolina Vrandečić, predsjednik**

**2. prof.dr.sc. Suzana Kristek, mentor**

**3. doc.dr.sc. Jurica Jović, član**

**Thesis deposited at:** Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek,  
Kralja Petra Svačića 1d.