

ANTAGONIZAM IZMEĐU BENEFITNE GLJIVE TRICHODERMA SPP. I UZOČNIKA BOLESTI KULTURNIH BILJAKA U LABORATORIJSKIM UVJETIMA

Lovrić, Monika

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:136566>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-18**



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 U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Monika Lovrić

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer: Biljna proizvodnja

ANTAGONIZAM IZMEĐU BENEFITNE GLJIVE *Trichoderma spp.* I UZOČNIKA
BOLESTI KULTURNIH BILJAKA U LABORATORIJSKIM UVJETIMA

Diplomski rad

Osijek, 2024.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Monika Lovrić

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer: Biljna proizvodnja

ANTAGONIZAM IZMEĐU BENEFITNE GLJIVE *Trichoderma* spp. I
UZOČNIKA BOLESTI KULTURNIH BILJAKA U LABORATORIJSKIM
UVJETIMA
Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. doc.dr.sc. Jurica Jović, predsjednik
2. prof. dr. sc. Suzana Kristek, mentor
3. izv.prof.dr.sc. Dejan Agić, član

Osijek, 2024.

SADRŽAJ

| | |
|---|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. PREGLED LITERATURE | 3 |
| 2.1. Odnos između mikroorganizama..... | 3 |
| 2.1.1. Simbioza..... | 3 |
| 2.1.2. Konkurencija za hranu, vodu i infektivno mjesto..... | 3 |
| 2.1.3. Antagonizam..... | 4 |
| 2.1.4. Mikrobiocidno djelovanje vrste roda <i>Trichoderma</i> | 5 |
| 2.2. Benefiti antagonističkog djelovanja vrsta <i>Trichoderma</i> na biljne patogene..... | 6 |
| 2.3. <i>Trichoderma</i> kao biološko sredstvo u zaštiti bilja..... | 8 |
| 3. MATERIJAL I METODE RADA | 10 |
| 4. REZULTATI RADA | 13 |
| 4.1. ANTAGONISTIČKI ODNOSI <i>Trichoderma</i> spp..... | 13 |
| 4.2. KONKURENTSKO - KOMPETITIVNI ODNOSI između mikroorganizama..... | 21 |
| 5. RASPRAVA | 24 |
| 6. ZAKLJUČAK | 27 |
| 7. POPIS LITERATURE | 28 |
| 8. POPIS SLIKA | 31 |
| 9. SAŽETAK | 33 |
| 10. SUMMARY | 34 |

1. UVOD

Gljive iz roda *Trichoderma* pripadaju redu *Hypocreales* te porodici *Hypocreaceae* koje se obično nalaze u velikom broju različitih ekosustava, a ponajviše u šumskim i poljoprivrednim tlima. Radi se o aseksualnoj saprofitskoj gljivici s termofilnim stadijem. Iako su gljive iz ovog roda opisane 1794. godine kao zelena plijesan koja raste na oštećenim granama i drugim supstratima, njihova sposobnost da djeluju kao biokontrolni agensi protiv biljnih patogena uočena je tek 1920-ih.

Naime, vrlo važni učinci *Trichoderme* spp. na biljke su inducirana sustavna ili lokalizirana otpornost i mehanizmi kontrole koji prvenstveno djeluju na patogene koji uključuju antibiozu, mikroparazitizam te natjecanje za prostor i resurse. Ove gljive dovode do povećanog rasta biljaka i unosa hranjivih tvari kao posljedica koloniziranja epidermisa korijena i vanjskih kortikalnih slojeva, te otpuštanja bioaktivne molekule koje uzrokuju odvajanje zidova biljke od talusa vrsta gljive *Trichoderme*. Uz to dolazi do promijene transkripcije biljnih proteina. Zbog toga *Trichoderma* dobiva sve veću ulogu u poljoprivredi gdje se koristi u relativno velikim količinama radi povećanja prinosa i kontrole bolesti.

Unutar roda *Trichoderma* postoje mnoge vrste, a neke od najznačajnijih u poljoprivredi su *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii* i *Trichoderma viride*. Svaka od ovih vrsta ima karakteristike koje ih čine korisnima u kontroli biljnih patogena i poboljšanju zdravlja biljaka.

U većini tala su vrste *Trichoderma* spp. autohtoni mikroorganizmi, a razne aktivnosti čovjeka kao što su upotreba pesticida, gnojiva i drugih kemikalija te intenzivna obrada zemlje smanjuju mikrofloru tla, uključujući i vrste roda *Trichoderma*. U tim slučajevima, primjena komercijalnih pripravaka koji sadrže vrste roda *Trichoderma* može pomoći u obnovi zdravlja tla i povećanju kvalitete tla te usporiti mobilnost patogenih mikroorganizama.

Trichoderma spp. se može razmnožavati spolno i nesporno. Spolno razmnožavanje se događa kada se formira plodno tijelo koje proizvodi spore. Ovakvo razmnožavanje je vrlo

rijetko kod ove gljive, i nije dobro proučeno. Nesporno razmnožavanje se događa u obliku konidija (aseksualnih spora). Konidije se formiraju u posebnim strukturama poznatim kao konidiogene zone. Konidije se oslobađaju u okoliš i mogu se koristiti za daljnju reprodukciju.

Nasuprot toga, *Trichoderma* spp. se može isto tako razmnožavati i vegetativno, što se događa kada se hife (vlakna) podijele i razviju u nove hife. Ovaj proces se odvija kontinuirano u prirodnom okolišu, jer se hife šire po tlu. U uzgojnim uvjetima, vrste roda *Trichoderma* se mogu razmnožavati pomoću agitacije tekuće kulture s korisnim hifama i konidijama, što se koristi u proizvodnji komercijalnih pripravaka za primjenu u poljoprivredi.

Trichoderma spp. je sposobna inhibirati rast i razvoj drugih mikroorganizama, uključujući i druge gljivice. Njeno djelovanje se zasniva na nekoliko mehanizama:

1. Konkurencija za nutrijente: Kada je riječ o iskorištavanju hranjivih tvari *Trichoderma* spp. je dobar konkurent drugim mikroorganizmima, te oduzima hranjive tvari koje su drugima potrebne za rast i razvoj.
2. Produkcija enzima: *Trichoderma* spp. proizvodi različite enzime koji mogu razgraditi stanične zidove drugih mikroorganizama te im otežavati rast i razvoj.
3. Proizvodnja antimikrobnih tvari: *Trichoderma* spp. proizvodi različite tvari koje mogu inhibirati rast drugih mikroorganizama.

Sposobnost *Trichoderme* spp. da inhibira rast drugih mikroorganizama čini ju korisnom u kontroli patogenih gljivica i bakterija u tlu te u zaštiti biljaka od bolesti. Osim toga, može se koristiti za poboljšanje kvalitete tla i stimuliranje rasta biljaka.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Odnos između mikroorganizama

2.1.1. Simbioza

Vrste roda *Trichoderma* pripadaju gljivama koje su sposobne uspostavljati simbiozu s različitim vrstama biljaka. Ova simbioza može biti u obliku endofitne kolonizacije, kada gljiva uspostavlja stabilan život unutar biljke, a može biti i u obliku vanjske kolonizacije kada se kolonizira i razvija na površini korijena biljaka (Shoresh i sur., 2010.).

Simbioza s biljkama omogućuje vrstama roda *Trichoderma* da aktiviraju rast i poboljšavaju otpornost biljaka na različite stresne uvjete, uključujući one uzrokovane gljivičnim ili bakterijskim infekcijama, sušom, bolestima, te drugim nepovoljnim uvjetima (Harman i sur., 2004.).

Trichoderma spp. interakciju s biljkom ostvaruje kroz mnogobrojne mehanizme, uključujući povećanje dostupnosti hranjivih tvari, poboljšanu apsorpciju vode, razgradnju organskih tvari u tlu, proizvodnju enzima za razgradnju patogenih organizama te stvaranje korisnih mikroorganizama u tlu (Singh i Sirohi, 2019.).

Simbioza gljive *Trichoderma* spp. s biljkama također može imati pozitivan učinak na okoliš jer smanjuje potrebu za upotrebom pesticida i umjetnih gnojiva, povećavajući tako plodnost tla i očuvanje biološke raznolikosti u tlu (Lobato i sur., 2018.).

2.1.2. Konkurencija za hranu, vodu i infektivno mjesto

Trichoderma spp. je u stanju konkurirati drugim mikroorganizmima za hranu, vodu i infektivno mjesto u tlu. Kada se ona naseli na mjestu rasta biljke, ona oslobađa različite enzime i sekundarne metabolite koji joj omogućuju da razgradi organske tvari u tlu i dobije hranjive tvari. Uz to, ima sposobnost da iskoristi neiskorištene resurse u tlu, što joj omogućuje da konkurira drugim mikroorganizmima za hranu (Harman i sur., 2004.).

Uz konkurenciju za hranu, vrste roda *Trichoderma* također konkuriraju za vodu s drugim mikroorganizmima u tlu. Međutim, zbog njene sposobnosti da se probija kroz guste slojeve tla i sposobnosti da raste na niskoj vlažnosti, *Trichoderma* spp. je u mogućnosti osigurati sebi dovoljno vode za svoj rast i razvoj (Shores i sur., 2010.).

Što se tiče infektivnog mjesta, ova gljiva se oslanja na sposobnost bržeg koloniziranja biljke od patogenih mikroorganizama. Ona stvara prepreke za rast i širenje patogenih mikroorganizama što smanjuje konkurenciju za infektivna mjesta i učinkovito sprječava njihovu infekciju.

Kao općenito pravilo, *Trichoderma* spp. lako se kolonizira u okruženjima u kojima nema mnogo konkurenata za hranu, vodu ili infektivno mjesto. Stoga, kada se koristi u biljnoj proizvodnji, važno je stvoriti uvjete koji će omogućiti ovoj gljivi da se lakše naseli i ostvari svoje prednosti u borbi protiv patogenih gljivica te poboljša rast i razvoj biljaka (Inglis i sur., 1991.).

2.1.3. Antagonizam

Trichoderma spp., kao antagonistički mikroorganizam, koristi se u biološkoj kontroli biljnih bolesti, posebice onih koje uzrokuju gljive i neke bakterije. Antagonizam vrsta roda *Trichoderma* je posljedica različitih mehanizama djelovanja, koji uključuju fizičke, kemijske i biološke interakcije (Harman i sur., 2004.).

Jedan od ključnih mehanizama antagonizma *Trichoderme* je proizvodnja antibiotika i antifungalnih spojeva koji se odupiru rastu i razvoju patogene mikroflore. Ti spojevi koji *Trichoderma* spp. proizvodi uključuju eniatine, gliotoxin, trichotetronines, trichokonine i druge (Benítez i sur., 2004.).

Pored toga, *Trichoderma* spp. proizvodi enzime koji imaju sposobnost probijanja ili uništavanja staničnih zidova patogena, što omogućuje lakši pristup biljnim stanicama. Postoje tri glavne grupe ovih enzima koje uključuju glukanaze, hemicelulaze i proteaze.

Drugi mehanizam djelovanja ove gljive uključuje stimulaciju biljnih obrambenih mehanizama, kao što je proizvodnja fitoaleksina, inhibitora patogene aktivnosti i upalnih odgovora. *Trichoderma* spp., što također inducira otpornost biljaka na patogene i stresne uvjete, aktivirajući nekoliko važnih signalnih puteva u biljnim stanicama (Chet, 1987.).

U konačnici, ona se također bori protiv patogenih mikroorganizama za prostor i hranjive tvari, što potiče razvoj održivih populacija korisnih mikroba u tlu (Shoresh i sur., 2010.).

Dakle, antagonizam vrsta *Trichoderma* predstavlja učinkovitu strategiju u biološkoj kontroli biljnih patogena, a brojna istraživanja pokazuju da se ona može uspješno koristiti u kombinaciji s drugim metodama za održavanje zdravog biljnog stanja (Shoresh i sur., 2010.).

2.1.4. Mikrobiocidno djelovanje vrste roda *Trichoderma*

Trichoderma spp. je gljivica koja se koristi u biološkoj kontroli biljnih bolesti zbog svog mikrobiocidnog djelovanja. Njezini metaboliti i enzimi djeluju na patogene mikroorganizme na nekoliko različitih načina (Chet, 1990.).

Jedan od načina djelovanja je proizvodnja antibiotika i antifungalnih spojeva koji spriječavaju rast i razvoj patogene mikroflore. Ti spojevi uključuju, između ostalog, gliotoxin, trihotetronine, trihokonine, eniatini. Ovi spojevi mogu inhibirati različite metaboličke procese u patogenim stanicama, kao što su sinteza proteina, nukleinskih kiselina ili razaranje staničnih stjenki. Drugim riječima, *Trichoderma* spp. proizvodi kemijske spojeve koji ubijaju ili sprečavaju rast patogenih gljiva i bakterija (Chet, 1990.).

Drugi način mikrobiocidnog djelovanja ove gljive je probijanje ili uništavanje staničnih stjenki patogena pomoću enzima, kao što su glukanaze, hemicelulaze i proteaze. Ovi enzimi djeluju poput "škara", kojima *Trichoderma* spp. može izravno probiti kroz stanični zid patogenih mikroorganizama (Vinale i sur., 2008.).

Osim toga, ova gljiva može stimulirati otpornost biljaka na patogene mikroorganizme i stresne uvjete. Na primjer; ona može aktivirati nekoliko važnih signalnih puteva u biljnim

stanicama, kao što su putevi za fitoaleksine, inhibitori patogene aktivnosti i upalni odgovori (Mendes i sur., 2013.).

U konačnici, mikrobiocidno djelovanje vrsti roda *Trichoderme* omogućuje učinkovitu kontrolu biljnih patogena, što ih čini vrlo korisnim u poljoprivrednoj proizvodnji (Contreras-Cornejo i sur., 2009.).

2.2. Benefiti antagonističkog djelovanja vrsta *Trichoderma* na biljne patogene

Trichoderma spp. su cijenjene kao jedne od najboljih biljnih probiotika za kontrolu biljnih bolesti. Glavni način kontrola je antagonističko djelovanje ove gljive na patogene uzročnike bolesti biljaka. Kada *Trichoderma* ulazi u interakciju sa patogenim mikroorganizmima, ova korisna gljivica stvara nekoliko mehanizama koji neutraliziraju njihovo štetno djelovanje. *Trichoderma* spp. proizvodi enzime, to jest proteaze, lipaze, hitinaze i hidrolaze otrovne za patogene, što dovodi do oštećenja njihovih staničnih stijenki (Vinale i sur., 2008.).

Primjena ove gljive kao biološkog agensa za kontrolu štetnika omogućava redukciju upotrebe kemijskih pesticida u poljoprivrednoj proizvodnji. Kemijski pesticidi imaju širok spektar djelovanja, ali njihova dugotrajna uporaba može imati ozbiljne negativne učinke na životnu sredinu i ljudsko zdravlje. Uporaba vrste roda *Trichoderma* kao alternativne metode za kontrolu štetnih organizama omogućava smanjenje ili čak eliminaciju kemijskih pesticida (Harman, 2006.).

Također, *Trichoderma* se natječe s patogenim mikroorganizmima za hranjive tvari i neke specifične metabolite. Ova taktika je posebno korisna u zaštićenim uzgojima. Ona daje biljkama direktne biotičke i abiotičke poticaje, koji pomažu biljci da izdrži štete od patogenih mikroorganizama i stresne uvjete okoliša. Posebno se piše o učincima *Trichoderme* na jačanje biljne imunosti, proliferaciju korijenskog sustava, uporabu hranjiva i vode, stimuliranje rasta i razvoja, itd. (Contreras-Cornejo i sur., 2009.).

Postoji nekoliko razloga zbog kojih *Trichoderma* spp. obično nema negativan utjecaj na tlo:

1. Biološka svojstva *Trichoderma* spp., poput većine biljnih patogena, obično preferira rast na mrtvim biljnim tkivima ili u blizini korijena biljaka. Stoga, umjesto da šteti tlu, ova gljiva može pomoći u razgradnji organske tvari i recikliranju nutrijenata.

2. *Trichoderma* spp. se često smatra mutualističkom gljivom koja ima koristi i od biljke i od tla. Ona može poboljšati rast biljaka tako što potiče rast korijena, povećavajući apsorpciju hranjiva te otpornost biljaka na stresne uvjete.

Iako je ova gljiva sigurna za tlo, važno je imati na umu da mogu postojati određeni čimbenici koji mogu utjecati na njezino ponašanje. Na primjer, neke vrste roda *Trichoderma* mogu biti agresivne prema drugim mikroorganizmima u tlu ili mogu preferirati specifične uvjete rasta. Stoga je važno provesti dodatna istraživanja o specifičnoj vrsti roda *Trichoderma* koja se koristi i njenoj interakciji s tlima u kojima će se primjenjivati (Karigar i sur., 2006).

Trichoderma spp. obično ne stvara rezistenciju kod ciljanih organizama, kao što su biljni patogeni ili štetnici. Neki od razloga su;

1. Vrste roda *Trichoderma* djeluju protiv patogena i štetnika biljaka putem različitih mehanizama. Ovi mehanizmi uključuju kompetitivnu izolaciju, proizvodnju antibiotika i enzima, aktivaciju obrambenih mehanizama biljke te indukciju sistemskog otpora. Raznolikost ovih mehanizama otežava razvoj rezistencije jer patogeni ili štetnici trebaju razviti višestruke promjene u svojim genetskim svojstvima kako bi uspješno izbjegli djelovanje ove gljive.

2. *Trichoderma* spp. ima brzu reprodukciju i životni ciklus, što znači da se populacija ovih gljiva može brzo prilagoditi promjenama u okolišu. Ova sposobnost prilagodbe sprječava razvoj stabilne rezistencije jer se populacija ove gljive može prilagoditi na promjene i nastaviti djelovati učinkovito protiv patogena ili štetnika.

3. Tlo je složeno okruženje u kojem se odvijaju brojne interakcije između mikroorganizama i biljaka. Kompleksnost okoliša može pridonijeti održavanju učinkovitosti ove gljive jer se različiti mikroorganizmi i biljke mogu spriječiti da razviju rezistenciju na vrste roda *Trichoderma*.

Iako je malo vjerojatno da će se razviti rezistencija na ovu gljivu, važno je ipak redovito pratiti i evaluirati učinkovitost ove gljive u biološkoj kontroli štetnika i bolesti biljaka. To omogućava ranu detekciju bilo kakvih znakova smanjene učinkovitosti i potrebu za prilagodbom strategija upravljanja u poljoprivrednoj praksi (Zeilinger i sur., 2016.).

2.3. *Trichoderma* kao biološko sredstvo u zaštiti bilja

Trichoderma spp. korisne su gljive koje se sve češće koriste kao biološko sredstvo u zaštiti biljaka. Ova gljiva je prirodni izolat iz tla i prisutna je u mnogim različitim ekosustavima, gdje se koristi u bio-kontrolama raznih mikroorganizama štetnih za biljke (Vinale i sur., 2008.).

Trichoderma spp. ima niz prednosti kao biološko sredstvo u zaštiti biljaka. Prije svega, ova gljivica je sigurna za okoliš i ne uzrokuje štete na okolišu, za razliku od mnogih kemijskih pesticida koji su štetni za okoliš i krajnje korisnike (Harman i Kubicek, 1998.).

Drugi poticajni faktor u korištenju ove gljive kao biološkog sredstva je to što ona proizvodi prirodne antibiotike i druge sekundarne metabolite koji se mogu koristiti protiv raznih vrsta patogenih mikroorganizama, uključujući viruse, bakterije, gljivice i alge. Neki od antibiotika koje ona proizvodi su trichomozini A i B, trichokonini A i B, harzijelin, gliotoxin, trihoketide i glioviridin (Harman i Kubicek, 1998.).

Trichoderma proizvodi različite sekundarne metabolite, a neki od najvažnijih su:

1. Seskviterpenski laktoni molekule su koje često pokazuju antifungalne i antibakterijske aktivnosti i pomažu vrstama roda *Trichoderma* u borbi protiv drugih organizama.
2. Peptidi, molekule koje se često koriste u kozmetici zbog svojih svojstava zaštite i hidratacije kože.

3. Polisaharid koji se primjenjuju u različitim industrijama, kao što su kozmetika, prehrambena industrija i farmaceutski sektor.
4. Alkaloidi se često koriste u medicini i pokazuju razne biološke aktivnosti.
5. Fenolne kiseline imaju antioksidativna svojstva i često se koriste u kozmetici i prehrambenoj industriji.
6. Glikolipidi se koriste u prehrambenoj industriji zbog svojih stabilizacijskih i emulgacijskih svojstava. (Vinale i sur., 2008.).

Od najznačajnijih bioloških aktivnosti koje *Trichoderma* spp. ima na biljke su značajni faktori: fiksacija dušika, stimulacija rasta korijena, promicanje cvatnje, pojačavanje otpornosti na stresne uvjete okruženja, razvitak i sazrijevanje plodova, pomaže imunitetu biljaka, poboljšava kvalitetu i količinu prinosa biljaka (Vinale i sur., 2008.).

Korištenje ove benefitarne gljive kao biološkog sredstva za zaštitu biljaka ima dobre izgleda za daljnju primjenu zbog sigurnosti za ljudsko zdravlje i okoliš, visok stupanj učinkovitosti i raznovrsnost bioloških aktivnosti koje ima na biljke (Gajera i Golakiya, 2013.).

U mnogim primjerima, na kojima su provedena istraživanja o djelovanju vrsta roda *Trichoderma* na uzročnike bolesti biljaka, utvrđeno je da ova gljivica smanjuje brojnost patogenih uzročnika bolesti, poboljšava kvalitetu biljaka, utječe na razvoj korijenovog sustava te povećava otpornost biljaka na vanjske štetne čimbenike okoliša (Harman i Kubicek, 1998.).

Kao takva, *Trichoderma* je danas univerzalno rješenje sigurne i učinkovite zaštite biljaka u poljoprivredi i različitim ekološkim sustavima.

3. MATERIJAL I METODE RADA

U laboratorijskim uvjetima istraživali smo odnose između mikroorganizama koristeći se metodom izrade antibiograma (Slika 1.).

Cilj je bio dokazati antagonističko djelovanje benefitarne gljive *Trichoderma* spp. na bakteriju *Pseudomonas syringae*, te gljive *Cercospora beticola*, *Alternaria alternata* i *Rhizoctonia solani*.

Da bi se vidjela razlika između antagonističkih i konkurentskih odnosa, koje se često u prirodi mješa, istovremeno smo zasijali mikroorganizme koji su u konkurentskom odnosu s obzirom na konkurenciju za infektivno mjesto *Azospirillum brasilense* – *Beauveria bassiana*, endomikorizne gljive roda *Glomus* - *Beauveria bassiana*, te endomikorizne gljive roda *Glomus* - *Bacillus thuringiensis*.

Za svaki mikroorganizam koristili smo za njih selektivne hranjive podloge.



Slika 1. Izlijevanje selektivne hranjive podloge na polovicu Petrijeve zdjelice

Izvor: Lovrić, M., 2024.



Slika 2. Nacjeppljivanje bakterija na polovicu Petrijeve zdjelice

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Trichoderma spp. i *Beauveria bassiana* zasijane su na Potato dextrose agaru, *Bacillus thuringiensis* na podlozi Nutrient agaru, *Azotobacter chroocoocum*, na podlozi Ashby agar, *Azospirillum* spp. na podlozi Azospirillum podloga (glukoza: 10 g/L, amonijev sulfat: 0,2 g/L, kalij dihidrogen fosfat: 0,1 g/L, magnezijev sulfat: 0,05 g/L, natrijev glutamat: 0,5 g/L, agar: 15 g/L), *Pseudomonas* spp., na podlozi Pseudomonas agar F (kazeinpepton: 10 g/L, bakteriološki agar: 10 g/L, magnezijev heksaklorat: 1 g/L, kalijev fosfat: 1 g/L, natrij dihidrogenfosfat: 1 g/L, glicerin: 10 g/L). *Alternaria alternata* i *Cercospora beticola* na V-8 juice agar, te *Rhizoctonia solani* na Oat flake medium.

Nakon pripravljeni selektivnih hranjivih podloga te njihove sterilizacije u autoklavu, podloge su razliveni u Petrijeve zdjelice sa pregradom u sterilnim uvjetima (Slika 1.). Nakon hlađenja i skrućivanja podloga, zasijani su mikroorganizmi u sterilnoj komori (Slika 2.). Nakon zasijavanja Petrijeve zdjelice stavili smo na inkubaciju u termostatu na optimalnu temperaturu za njihov razvoj (Slika 3.). Petrijeve zdjelice su položene na poklopac da ne bi došlo do kondenzacije vlage na samim podlogama, što bi onemogućilo rast zasijanih mikroorganizama.

Nakon 48 sati inkubacije, provjerili smo porast kultura. Od tada smo provjeravali svakih 24 sata, s obzirom da je porast mikroorganizama različit, posebno zato što se radi o različitim vrstama. Temperatura je prilagođena, koliko se moglo, optimalnom dijapazanu za svaku kulturu. Različite vrste bakterija i gljiva treba različito vrijeme inkubacije i različita im je brzina rasta. Tako ih se većina razvila za 3 – 5 dana. Izuzetak su gljiva *Beauveria bassiana* kojoj je trebalo 6 – 8 dana, te *Cercospora beticola* kojoj je trebalo gotovo tri tjedna da počne razvijati koloniju. Kako bi se taj antagonizam između primjenjenih mikroorganizama dobro uočio i kako bi razlika između antagonističkih i konkurentskih odnosa bila vidljivija, fotografirali smo kulture pred kraj njihove treće faze razvoja, faza mirovanja, kada su morfološki i fiziološki zrele ali su pred ulazak faze opadanja (4. faza).



Slika 3. Petrijeve zdjelice u termostatu

Izvor: Lovrić, M., 2024.

4. REZULTATI RADA

U laboratorijskim pokusima dokazano je antagonističko djelovanje benefitne gljive *Trichoderma* spp. na sve vrste mikroorganizama s kojima je rađen antibiogram: bakterija *Pseudomonas syringae*, te gljiva *Cercospora beticola*, *Alternaria alternata* i *Rhizoctonia solani*.

4.1. ANTAGONISTIČKI ODNOSI *Trichoderma* spp.

Trichoderma spp. → *Pseudomonas syringae*



Slika 4. *Trichoderma* spp. i *P. syringae*
(prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.



Slika 5. *Trichoderma* spp. i *P. syringae*
(zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

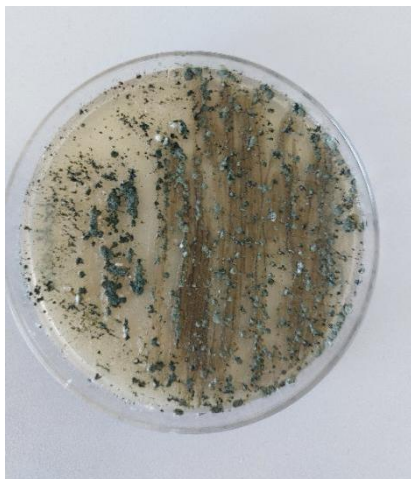
Na slikama 4. i 5., a posebno na prednjoj strani petrijevke, vidi se širenje hifa benefitne gljive *Trichoderma* spp. po selektivnoj podlozi na dijelu gdje je zasijana bakterija *P. syringae*, što nam govori o antagonističkom – baktericidnom djelovanju - na navedenu bakteriju. *Pseudomonas syringae* vidljiva je zadnjoj strani petrijevke. Vidljivo je da je gljiva potpuno prerasla bakteriju.



Slika 6. Simptomi infekcije patogene bakterije *P. syringae* na listu krastavca.

Izvor: www.invasive.org/browse/detail.cfm?imgnum=1578263, 2021.

Trichoderma* spp. → *Cercospora beticola



Slika 7. *Trichoderma* spp. i *C. beticola*
(prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.



Slika 8. *Trichoderma* spp. i *C. beticola*
(zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Na patogenu gljivu *Cercospora beticola*, vrste roda *Trichoderma* djelovale su antagonistički (Slika 6. i 7.). Vrlo brzo su prerasle dio petrijevke na kojoj je cercospora zasijana. Ovdje je *Trichoderma* spp. imala i određenu prednost, jer se počela razvijati 15 – 16 dana prije cercospore. Međutim, cercospora se uspjela djelomično razviti što je vidljivo na prednjoj, iako puno bolje na zadnjoj strani petrijevke, što dokazuje da je vrlo agresivna i patogena. Na slici 9. vidljiv je napad cercospore na lišću šećerne repe.



Slika 9. Simptomi infekcije patogene gljive *C. beticola* na lišću šećerne repe.

Izvor: www.vegetables.cornell.edu/pest-management/disease-factsheets/cercospora-leaf-spot-of-table-beet/, 2017.

Trichoderma* spp. → *Alternaria alternata

U laboratorijskim uvjetima, uočeno je antagonističko djelovanje vrste roda *Trichoderma* na patogenu gljivu *Alternaria alternata*. *Alternaria alternata* je gljivica koja uzrokuje pjegavost lišća i trulež korijena na više od 380 vrsta biljaka domaćina. I kod ove gljive, uzročnika bolesti biljaka, dokazano je da *Trichoderma* spp. djeluje mikrobicidno (Slika 10., 11). Na slici 12. prikazan je napad ovog patogena na lišće jabuke, dok je na slici 13. vidljiva trulež rajčice kao posljedica napada *A. alternata*.



Slika 10. *Trichoderma* spp. i *A. alternata*
(prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.



Slika 11. *Trichoderma* spp. i *A. alternata*
(zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.



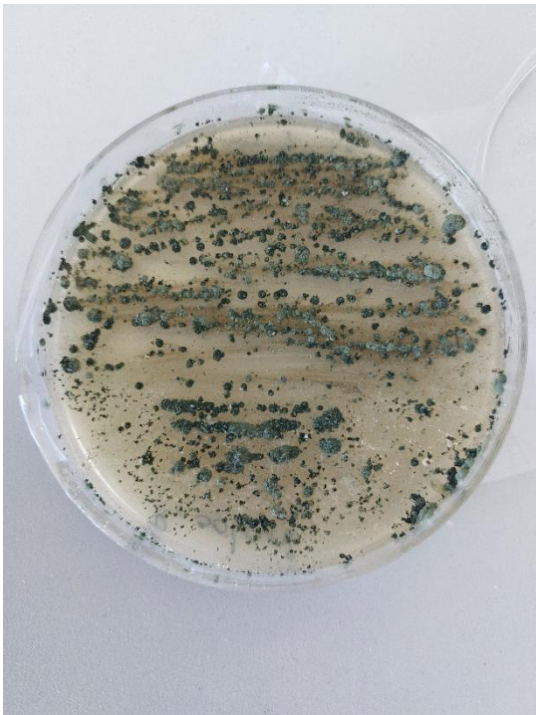
Slika 12. Simptomi napada patogene gljive *A. alternata* na lišće jabuke.

Izvor: <https://agronomija.rs/2014/alternarijska-lisna-pegavost-jabuke-alternaria-mali/>, 2014.



Slika 13. Trulež korijena rajčice uzrokovana patogenom gljivom *A. alternata*.
www.omafra.gov.on.ca/IPM/english/tomatoes/diseases-and-disorders/damping-off.html

Trichoderma spp. → *Rhizoctonia solani*



Slika 14. *Trichoderma* spp. i *R. solani*
(prednja strana petrijevke)
Izvor: Lovrić, M., 2024.



Slika 15. *Trichoderma* spp. i *R. solani*
(zadnja strana petrijevke)
Izvor: Lovrić, M., 2024.

Rhizoctonia solani (Slika 15. i Slika 16.) je vrlo agresivan patogen koji izaziva trulež korijena šećerne repe, gomolja krumpira, te se javlja na brojnim kulturama. Jedan od svojstava ovog patogena je njegovo teško suzbijanje. Uglavnom se koriste otporni hibridi i sorte, međutim otpornost nije dovoljno razvijena, pa svake godine štete na kulturama budu u manjoj ili većoj mjeri.

U laboratorijskim uvjetima dokazan je antagonizam, odnosno fungicidno djelovanje *Trichoderma* spp. na navedenog patogena.

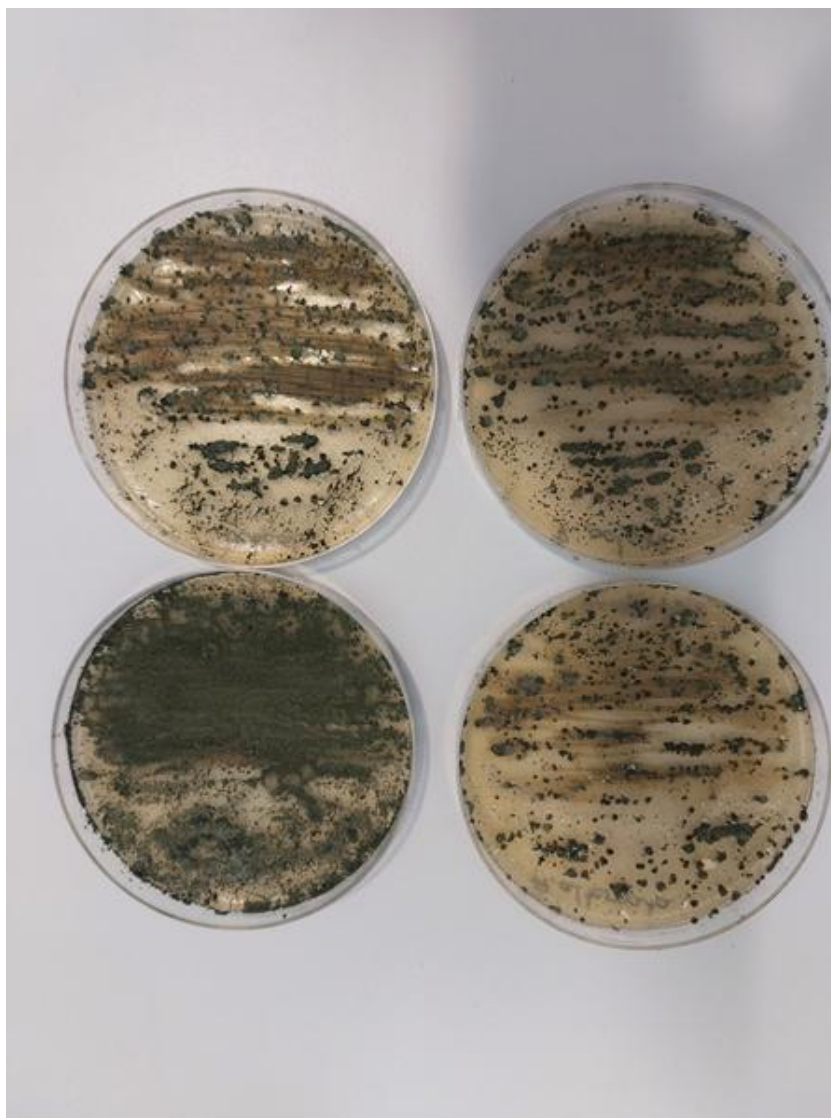
Na slici 17. vidljiva je trulež korijena šećerne repe uzrokovana patogenom gljivom *Rhizoctonia solani*.



Slika 16. Trulež korijena šećerne repe uzrokovana gljivom *R. solani*.

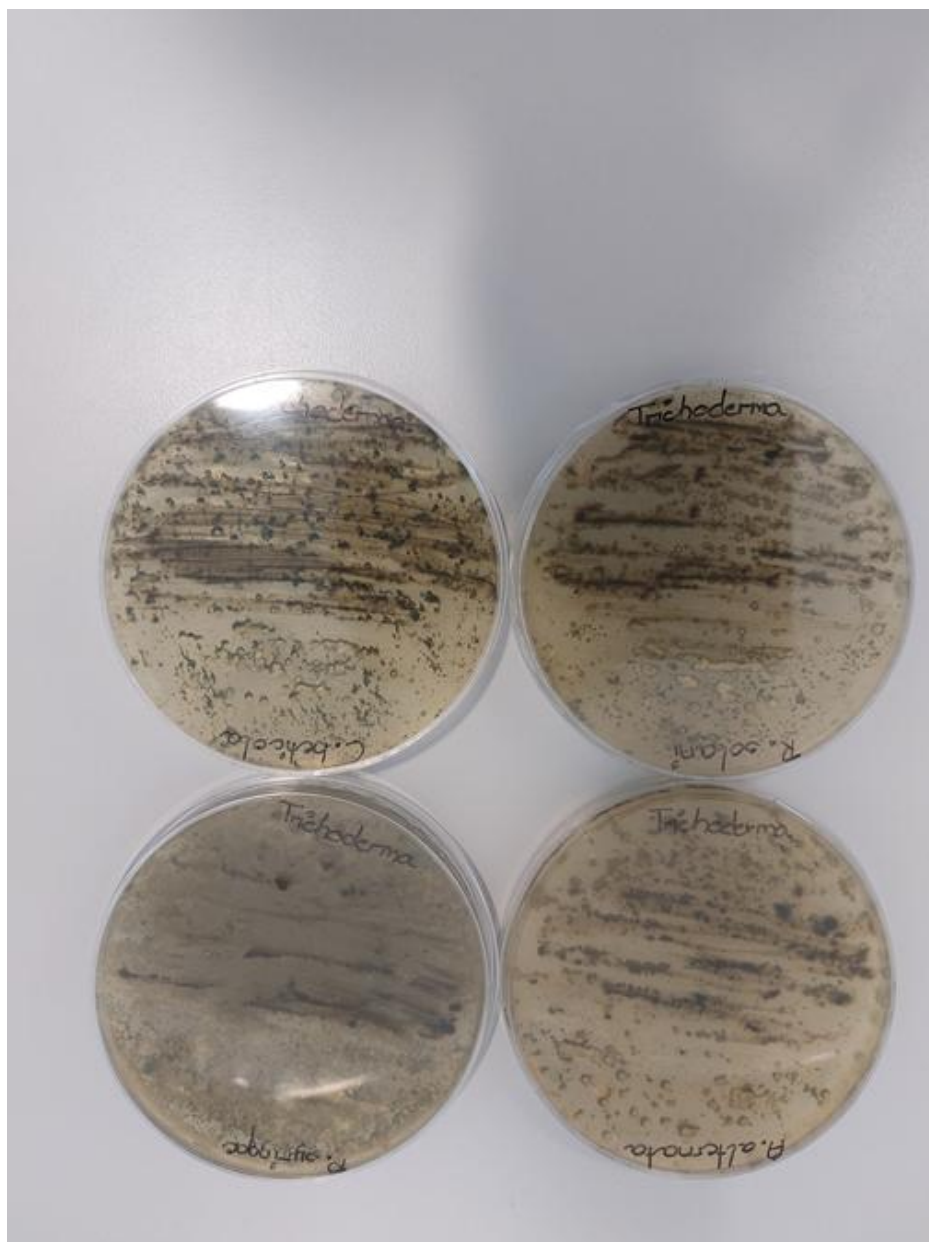
Izvor: <https://blog-crop-news.extension.umn.edu/2018/04/sugarbeet-rhizoctonia-management-plan.html>, 2018.

Na slikama 17. i 18. može se vidjeti intenzitet djelovanja gljive *Trichoderma* spp. na navedenu bakteriju i gljive. *Trichoderma* spp. najviše se razvila u petrijevki gdje je istovremeno zasijana bakterija *Pseudomonas syringae*, dok je slabiji razvoj u petrijevka gdje su zasijane gljive, iako je antagonizam neupitan.



Slika 17. Antagonističko djelovanje benefitne gljive *Trichoderma* spp. prema patogenim mikroorganizmima (prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.



Slika 18. Antagonističko djelovanje benefitne gljive *Trichoderma* spp. prema patogenim mikroorganizmima (zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

4.2. KONKURENTSKO - KOMPETITIVNI ODNOSI između mikroorganizama

Azospirillum brasilense → *Beauveria bassiana*



Slika 19. *A. brasilense* i *B. bassiana*
(prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.



Slika 20. *A. brasilense* i *B. bassiana*
(zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Između asocijativne dušične bakterije *A. brasilense* i benefitne gljive *B. bassiana* koja pokazuje izraziti bioinsekticidni učinak na štetnike kulturnih biljaka, ali je i fakultativni patogen, antibiogramskim testom nije bilo antagonističkog / mikrobicidnog odnosa (Slika 19., 20.). Postoji konkurencija za infektivno mjesto, hranjive tvari i zrak. S obzirom da je benefitna gljiva *B. bassiana* fakultativni patogen, na zadnjoj strani petrijevke možemo vidjeti širenje hifa po dijelu podloge gdje je zasijana bakterija *A. brasilense*.

Endomikorizne gljive → *Beauveria bassiana*



Slika 21. Endomikor. gljive i *B. bassiana*

(prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.



Slika 22. Endomikor. gljive i *B. bassiana*

(zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Endomikorizne gljive su posebne vrste gljiva koje tvore simbiozu sa korijenjem biljaka. Ove gljive pomažu biljkama u apsorpciji hranjivih tvari iz tla u zamjenu za organske spojeve koje biljke proizvode. Endomikorizne gljive su ključni čimbenik za zdrav rast biljaka i poboljšanje njihovog imunološkog sustava. Kada je riječ o interakciji između gljive *Beauveria bassiana* i endomikoriznih gljiva, može doći do potencijalne konkurencije između ove dvije vrste gljiva (Slika 21., 22.). Budući da obje vrste gljiva koloniziraju korijenje biljaka, mogu se međusobno natjecati za resurse koji su dostupni u tlu.

Endomikorizne gljive → *Bacillus thuringiensis*



Slika 23. Endomikorizne gljive i *B. thuringiensis* (prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.



Slika 24. Endomikorizne gljive i *B. thuringiensis* (zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Bacillus thuringiensis se smatra efikasnim biološkim insekticidom koji se koristi za suzbijanje štetnika u poljoprivredi. Endomikorizne gljive, sa druge strane, su simbiotski organizmi koji žive u simbiozi s korijenjem biljaka i mogu poboljšati apsorpciju hranjivih tvari i otpornost biljaka na stres. Između ova dva mikroorganizma nema antagonizma (Slika 23., 24.), ali konkurencija za infektivno mjesto, hranjive tvari, vodu i zrak postoji.

5. RASPRAVA

Gailite i sur. (2005.) navode da su sojevi benefitne gljive *Trichoderma* učinkoviti agensi za biokontrolu protiv širokog spektra biljnih patogena. Sadašnja saznanja pokazuju da, osim mikrobnog antagonizma, povoljan učinak *Trichoderma* spp. odnosi se na aktivaciju obrambenih reakcija biljaka.

Cilj ovog istraživanja bio je proučavanje učinka gljive *Trichoderma harzianum* na aktivnosti oksidativnih enzima i otpornost na *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* biljaka graha (*Phaseolus vulgaris* L.). Tretiranje gljivom *Trichoderma harzianum* rezultiralo je blokiranjem simptoma bolesti koji izaziva patogena bakterija *P. syringae*.

Yao i sur. (2023.) navode značaj benefitne gljive *Trichoderma* spp. u suzbijanju bolesti koje se prenose tлом, kao i nekih bolesti lišća i metlice raznih biljaka. *Trichoderma* spp. ne samo da može spriječiti bolesti, već također potiče rast biljaka, poboljšava učinkovitost iskorištavanja hranjivih tvari, povećava otpornost biljaka i poboljšava okoliš od agrokemijskog onečišćenja. U svojoj studiji predstavili su biološki mehanizam kontrole gljive *Trichoderma* spp. u biljnim gljivičnim i nematodnim bolestima, uključujući kompeticiju, antibiozu, antagonizam i mikoparazitizam, kao i mehanizam poticanja rasta biljaka i induciranja sistemske otpornosti biljaka između *Trichoderma* spp. i biljaka.

Cercospora beticola pripada najvažnijim patogenima šećerne repe. Iako su oplemenjivanjem i selekcijom dobiveni tolerantni hibridi šećerne repe, rijetke su godine kada se folijarna zaštita vrši manje 3 - 4 puta. U rezultatima istraživanja brojnih autora navodi se antagonističko djelovanje gljive *Trichoderma* spp. na navedenog patogena. Međutim, u polju to djelovanje ovisi o agroklimatskim uvjetima i rezultati nekada nisu onakvi kakvi se dobivaju u laboratoriju (Galletti i sur., 2008.). Hamden i sur., (2023.) dobili su vrlo dobre rezultate u poljskim pokusima u kulturi šećerne repe, gdje su koristili gljivu *Trichoderma* spp. u suzbijanju ovog patogena. Ova studija izvještava o nekoliko izolata *Trichoderme* kao sredstava za biokontrolu navedenog patogena. Preliminarni in vitro i in vivo testovi doveli su do odabira dva izolata *Trichoderma* karakteriziranih njihovom sposobnošću da smanje sporulaciju patogena. Ponovljena folijarna primjena tekućeg homogenata kulture kojoj je prethodio jedan tretman difenokonazolom u 2-godišnjim ispitivanjima pod prirodnim inokulumom u polju smanjila je učestalost bolesti i

sporulaciju patogena iz nekrotičnih mrlja. Povećanje prinosa šećera također je postignuto tretmanima na bazi izolata Ba12/86, najvjerojatnije zbog induciranih učinaka otpornosti za koji je zaslužna gljiva *Trichoderma* spp.

S obzirom da *Cercospora beticola* pravi velike štete na kulturi šećerne repe, a konstantno se zabranjuju u Europskoj Uniji aktivne tvari fungicida, brzo se razvija rezistentnost na dozvoljene fungicide. Tako da je primjena benefitne bakterije *Trichoderma* spp. vrlo važna alternativa kemijskim fungicidima.

Arzanlou i sur. (2013.) su u laboratorijskim uvjetima utvrdili inhibitorni učinak benefitne gljive *Trichoderma* spp. na uzročnika bolesti, patogenu gljivu *Alternaria alternata* u kulturi suncokreta.

Shazia and Iftikhar (2004.) izolirali su gljivu *Alternaria alternata* iz korijena, lišća i tla usjeva pšenice i riže, a njihova je agresivnost proučavana pomoću analize agresivnosti. Izolati *Alternaria alternata* genetski su karakterizirani pomoću RAPD-a. Istraživanja su se temeljila na pregledima usjeva pšenice i riže u područjima usjeva riže i pšenice u Pakistanu. Studija je pokazala da je *Alternaria alternata* gljiva koja uzrokuje trulež korijena i tijekom analize agresivnosti truleži korijena izolati su pokazali veću agresivnost na sortama riže nego na pšenici, ali u folijarnoj agresivnosti ukupni broj agresivnih izolata bio je veći na sortama pšenice nego na riži.

Gveroska i Ziberoski (2012.) u rezultatima svojih istraživanja navode da su gljive roda *Trichoderma* najučinkovitiji mikroorganizmi koji se koriste u biološkoj kontroli. In vitro analize su napravljene u nekoliko varijanti kako bi se proučavao učinak difuzibilnih i hlapljivih metabolita. Postojao je snažan redukcijski učinak na razvoj *A. alternata* različitim mehanizmima antagonističkog utjecaja. Hlapljivi metaboliti također su pokazali reducirajući učinak patogena. Uočene su neke abnormalnosti u morfologiji patogena i kod difuznih i hlapljivih metabolita. Snažan redukcijski učinak *T. harzianum* prema *A. alternata* dokazuje da benefitna gljiva *T. harzianum* može biti primijenjena u biološkoj kontroli ovog patogena.

Abbas i sur. (2017.) navode da vrste roda *Trichoderma* spp. u tlu sprječavaju biljku od zaraznih bolesti uzrokovanih od patogena iz tla. Jedan od patogena je i gljiva *Rhizoctonia solani* koja uzrokuje ozbiljne štete na gospodarski značajnim usjevima. Strategije kontrole kao što su uzgoj otpornih kultivara, plodoredi i primjena fungicida nisu dovoljni za suzbijanje bolesti koje uzrokuje *R. solani* jer ostaje u tlu stvarajući sklerocije koji su

izrazito otporne strukture. Nadalje, fungicidi su iz ekoloških razloga sve manje prihvatljivi. *Trichoderma* spp. predstavljaju potencijal kao biokontrolni agensi koji inhibiraju *R. solani* kroz mikrobicidno djelovanje.

Durman i sur. (1999.) koristili su pet izolata gljive *Trichoderma* spp., uspoređujući njihovu sposobnost kontrole napada patogene gljive *Rhizoctonia solani* na biljke rajčice u stakleniku. Četiri od pet izolata pokazala su sposobnost biokontrole i smanjeni rast patogena i preživljavanje njegovih sklerocija u tlu. Navode da rezultati antibiograma i testovi mikoparazitizma protiv sklerocija bakterije *R. solani* mogu biti korisni za otkrivanje izolata koji su učinkoviti kao agensi biološke kontrole protiv ovog patogena.

Brojni autori u svojim radovima dobili su identične rezultate istraživanja. Glick (1995.) o mikroorganizmima koji imaju različitu ulogu u zaštiti biljaka od štetnika uz istovjetnu redukciju mineralnog dušika koristeći nesimbiotske dušične bakterije.

Bhattacharyya and Jha (2011.) u rezultatima svojih istraživanja navode benefite međusobnog djelovanja biopesticida i Plant growth promotion bacteria. Jelić (2021.) u svom diplomskom radu pod naslovom "Insekticidno i antifungalno djelovanje etnomopatogene gljive *Beauveria bassiana* i korisne bakterije *Bacillus subtilis*" detaljno obrađuje kombiniranje ova dva korisna mikroorganizma, te iznosi rezultate istraživanja gdje je očiti benefit kombinacije navedene gljive i bakterije.

Međutim, istraživanja su pokazala da neki sojevi endomikoriznih gljiva mogu povećati djelovanje benefitne gljive *Beauveria bassiana*. (Rababet i sur., 2022.).

Pokazalo se da endomikorizne gljive mogu poboljšati djelovanje *Bacillus thuringiensis* na biljke, povećavajući otpornost biljaka na štetnike. Ovo se može dogoditi zbog stimulacije biljaka koje uzrokuju endomikorizne gljive, što rezultira boljom obrambenom reakcijom biljaka protiv insekata (Amallia i sur., 2023.).

Također se smatra da endomikorizne gljive mogu poboljšati biodostupnost *Bacillus thuringiensis* u tlu, što zauzvrat dovodi do bolje kontrole insekata štetnika. Ova kombinacija endomikoriznih gljiva i *Bacillus thuringiensis* može predstavljati efikasnu strategiju zaštite biljaka od štetnih insekata u poljoprivredi, ali potrebna su daljnja istraživanja kako bi se razumjeli detalji ove interakcije i optimalni načini primjene.

6. ZAKLJUČAK

Trichoderma spp. je antagonistički mikroorganizam koji se koristi u biološkoj kontroli biljnih bolesti zbog svojih različitih mehanizama djelovanja, uključujući proizvodnju antibiotika i antifungalnih spojeva, enzima za probijanje staničnih zidova patogena te stimulaciju biljnih obrambenih mehanizama. Ova gljiva također potiče razvoj održivih populacija korisnih mikroorganizama u tlu. S obzirom na sve navedeno, *Trichoderma* spp. predstavlja učinkovitu strategiju u borbi protiv biljnih patogena te se može uspješno kombinirati s drugim metodama za održavanje zdravlja biljaka.

U ovom istraživanju dokazano je antagonističko djelovanje benefitne gljive *Trichoderma* spp. na mikroorganizme s kojima je rađen antibiogram: *Pseudomonas syringae*, *Cercospora beticola*, *Alternaria alternata* i *Rhizoctonia solani*.

Također, dokazani su i konkurentsko - kompetitivni odnosi između mikroorganizama *Azospirillum brasilense* i *Beauveria bassiana*, te endomikoriznih gljiva i *Beauveria bassiana* i *Bacillus thuringiensis*.

Trichoderma spp. predstavlja važan biopreparat za kontrolu biljnih bolesti i štetnika, čime se smanjuje potreba za kemijskim pesticidima i štiti okoliš i ljudsko zdravlje. Njena sposobnost antagonističkog djelovanja na patogene mikroorganizme, kao i pozitivan utjecaj na biljke i tlo, čini je izuzetno vrijednom u poljoprivrednoj proizvodnji. Daljnja istraživanja i implementacija ove korisne gljive mogu doprinijeti održivom i ekološki prihvatljivom poljoprivrednom sustavu.

7. POPIS LITERATURE:

1. Abbas., A, Jiang, D., Fu, Y. (2017.): *Trichoderma* spp. as Antagonist of *Rhizoctonia solani*. J Plant Pathology & Microbiology, 8(3): 86-94.
1. Amallia, R., Suryanti, S., & Joko, T. (2023.). The potential of *Rhizophagus intraradices*, *Bacillus thuringiensis* Bt BMKP and silica for anthracnose disease control in shallot.
2. Arzanlou, M., Khodaei, S., Narmani, A., Babai-Ahari, A., Azar, A., M. (2013.): Inhibitory effect of *Trichoderma* isolates on growth of *Alternaria alternata*, the causal agent of leaf spot disease on sunflower, under laboratory conditions. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 47(13): 1592-1599.
3. Arzanlou, M., Mousavi, S., Bakhshi, M., Khakvar, R., Bandehagh, A. (2016.): Inhibitory effects of antagonistic bacteria inhabiting the rhizosphere of the sugarbeet plants, on *Cercospora beticola* Sacc., the causal agent of *Cercospora* leaf spot disease on sugarbeet. Journal of plant protection research, 56(1): 38-46.
4. Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004.). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology, 7(4): 249-260.
5. Bhattacharyya, P. N., i Jha, D. K. (2011.): Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28(4):1327–1350.
6. Chet, I. (1987.). *Trichoderma*: application, mode of action, and potential as biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. Innovative approaches to plant disease control, 137-160.
7. Chet, I. (1990.). Biological control of fungal pathogens. Journal of Industrial Microbiology, 6(2):115-126.
8. Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C., & López-Bucio, J. (2009.). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. Plant Physiology, 149(3):1579-1592.
9. Durman, S., Menendez, A., Godeas, A. (1999.). Evaluation of *Trichoderma* spp. as antagonist of *Rhizoctonia solani* in vitro and as biocontrol of greenhouse tomato plants. Rev. Argent.Microbiol., 31(1):13-18.
10. Gailite, A., Samsone, I., Ievinsh, G. (2005.): Ethylene is involved in *Trichoderma*-induced resistance of bean plants against *Pseudomonas syringae*. Biology, 691:59–70.
11. Gajera, H. P., & Golakiya, B. A. (2013.). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* causing root rot of groundnut by *Trichoderma* spp. Journal of Agricultural Technology, 9(3):677-686.

12. Galletti, S., Luigi Burzi, P., Cerato, C., Marinello, S. (2008.): *Trichoderma* as a potential biocontrol agent for *Cercospora* leaf spot of sugar beet. *BioControl* 53(6):917-930.
13. Glick, B. R. (1995.): The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 41(2):109- 117.
14. Gveroska, B., Ziberoski, J. (2012.): *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent against *Alternaria alternata* on tobacco. *ATI - Applied Technologies & Innovations*, 7(2):67-76.
15. Hamden, S., Shalaby, M. E., Elkady, E. M., Elfahar, S. A. (2023.): Potential Impacts of Eminent Fungicide, Certain Bacterial and Fungal Antagonists for Controlling *Cercospora* Leaf pot Disease in Sugar Beet. *J. Sus. Agric. Sci.* Vol. 49(1):1-12.
16. Harman, G. E. (2006.). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2):190-194.
17. Harman, G. E. (2004.). *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1):43-56.
18. Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004.). *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1):43-56.
19. Harman, G. E., & Kubicek, C. P. (1998.). *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, 36(1):595-624.
20. Inglis, D. A., Johnson, D. L., & Viglierchio, D. R. (1991.). Competitive saprophytic colonization of pea tissues by *Trichoderma* and *Fusarium* species. *Canadian Journal of Microbiology*, 37(6):444-448.
21. Jelić, T. (2021.). Insekticidno i antifungalno djelovanje etnomopatogene gljive *Beauveria bassiana* i korisne bakterije *Bacillus subtilis* (Doctoral dissertation, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek. Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek. Department of Phytomedicine).
22. Karigar, C. S., Prasad, B. L., & Uppal, S. (2006.). *Trichoderma* spp. in sustainable agriculture: a review. *Botany Research International*, 3(4):227-247.
23. Lobato, M. C., Olivares, F. L., & de-Bashan, L. E. (2018.). The contribution of nitrogen-fixing bacteria to the growth of non-leguminous plants. *Biology and Fertility of Soils*, 54(4), 375-396.
24. Mendes, R., Garbeva, P., & Raaijmakers, J. M. (2013.). The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5):634-663.
25. Metwally, R. A., Azab, H. S., Al-Shannaf, H. M., Rabie, G. H. (2022.): Prospective of mycorrhiza and *Beauveria bassiana* silica nanoparticles on *Gossypium hirsutum* L. plants as biocontrol agent against cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. *BMC Plant Biol.*, 22:409-416.

26. Morán-Diez, M. A., Tranque, E., Bettiol, W., Monte, E., Hermosa, R. (2020.): Differential Response of Tomato Plants to the Application of Three Trichoderma Species When Evaluating the Control of *Pseudomonas syringae* Populations. *Plants*, 9(5):614-626.
27. Pan S, Jash S. (2011.): Variability in biocontrol potential and microbial interaction of *Trichoderma* spp. with soil inhabiting antagonistic bacteria *Pseudomonas fluorescens*. *Indian Phytopathology*, 63(2):158.
28. Sajjad Hyder, Muhammad Inam-ul-Haq, Shagufta Bibi, Aamir Humayun Malik, Salman Ghuffar and Shomaila Iqbal (2017.): *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(4): 214-222.
29. Seiedy, M., Heydari, S., & Tork, M. (2015.). Orientation of *Hippodamia variegata* (Coleoptera: Coccinellidae) to healthy and *Beauveria bassiana*-infected *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae) in an olfactometer system. *Turkish Journal of Zoology*, 39(1), 53-58.
30. Shazia, I. & Iftikhar, A. (2005.). Analysis of variation in *Alternaria alternata* by pathogenicity and RAPD study. *Polish Journal of Microbiology*, 54(1):13-21.
31. Shores, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010.). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology*, 48:21-43.
32. Singh, U. S., Sirohi, H. (2019.). Plant growth promoting fungi: mechanisms and applications in agriculture. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 6(1):8.
33. Vinale, F., Ghisalberti, E. L., Sivasithamparam, K., & Lorito, M. (2008.). *Trichoderma* secondary metabolites that affect plant metabolism. *Natural Product Reports*, 25(5):450-459.
34. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Ruocco, M., & Lorito, M. (2008.). *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *Open Mycology Journal*, 2(1):107-119.
35. Zeilinger, S. (2016.). *Trichoderma*-Plant-Pathogen Interactions: Advances in Genetics of Biological Control. *Frontiers in Plant Science*, 7(99).
36. Yao, X., Guo, H., Zhang, X., Zhao, M., Ruan, J., Chen, Y. (2023.). *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Front. Microbiol.*, 14(3):1-15.

8. POPIS SLIKA

Slika 1. Nacjepeljivanje bakterija na polovicu Petrijeve zdjelice

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 2. Izlijevanje selektivne hranjive podloge na polovicu Petrijeve zdjelice

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 3. Petrijeve zdjelice u termostatu

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 4. *Trichoderma* spp. i *Pseudomonas syringae* (prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 5. *Trichoderma* spp. i *Pseudomonas syringae* (zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 6. Simptomi infekcije patogene bakterije *P. syringae* na listu krastavca.

Izvor: www.invasive.org/browse/detail.cfm?imgnum=1578263, 2021.

Slika 7. *Trichoderma* spp. i *Cercospora beticola* . (prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 8. *Trichoderma* spp. i *Cercospora beticola* (zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 9. Simptomi infekcije patogene gljive *C. beticola* na lišću šećerne repe.

Izvor: www.vegetables.cornell.edu/pest-management/disease-factsheets/cercospora-leaf-spot-of-table-beet/, 2017.

Slika 10. *Trichoderma* spp. i *Alternaria alternata* (prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 11. *Trichoderma* spp. i *Alternaria alternata* (zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 12. Simptomi napada patogene gljive *A. alternata* na lišće jabuke.

Izvor: <https://agronomija.rs/2014/alternarijska-lisna-pegavost-jabuke-alternaria-mali/>, 2014.

Slika 13. Trulež korijena rajčice uzrokovana patogenom gljivom *A. alternata*.

Izvor: www.omafra.gov.on.ca/IPM/english/tomatoes/diseases-and-sorders/damping-off.html

Slika 14. *Trichoderma* spp. i *Rhizoctonia solani* (prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 15. *Trichoderma* spp. i *Rhizoctonia solani* (zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 16. Slika 16. Trulež korijena šećerne repe uzrokovana gljivom *R. solani*.

Izvor: <https://blog-crop-news.extension.umn.edu/2018/04/sugarbeet-rhizoctonia-management-plan.html>, 2018.

Slika 17. Antagonističko djelovanje benefitne gljive *Trichoderma* spp. prema patogenim mikroorganizmima (prednja strana petrijevke) Izvor: (M. Lovrić, 2024.)

Slika 18. Antagonističko djelovanje benefitne gljive *Trichoderma* spp. prema patogenim mikroorganizmima (zadnje strana petrijevke) Izvor: Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 19. *A. brasilense* i *B. beauveria* (prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 20. *A. brasilense* i *B. beauveria* (zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 21. Endomikorizne gljive i *B. bassiana* (prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 22. Endomikorizne gljive i *B. bassiana* (zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 23. Endomikorizne gljive i *B. thuringensis* (prednja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

Slika 24. Endomikorizne gljive i *B. thuringensis* (zadnja strana petrijevke)

Izvor: Lovrić, M., 2024.

9. SAŽETAK

Cilj diplomskog rada bio je dokazati antagonizam između biopreparata koji sadrži 4 vrste benefitarne bakterije *Trichoderma* spp. i patogenih gljivica i bakterija u laboratorijskim uvjetima. Ispitivano je antagonističko djelovanje benefitarne gljive *Trichoderma* spp. na sljedeće mikroorganizme: *Pseudomonas syringae*, *Cercospora beticola*, *Alternaria alternata* i *Rhizoctonia solani*.

Također, ispitani su i konkurentsko - kompetitivni odnosi između mikroorganizama *Azospirillum brasilense* i *Beauveria bassiana*, te endomikoriznih gljiva između *Beauveria bassiana* i *Bacillus thuringiensis*.

Nakon provedenog istraživanja možemo zaključiti da *Trichoderma* spp. ima antagonističko djelovanje na sve vrste s kojima je rađen antibiogram.

Gljive roda *Trichoderma* imaju značajnu ulogu u poljoprivredi kao biokontrolni agensi protiv biljnih patogena. Njihove sposobnosti inducirane sustavne otpornosti, kontrola patogena i povećanje prinosa biljaka čine ih ključnim za održavanje zdravlja tla i biljaka. Primjena komercijalnih pripravaka koji sadrže vrste *Trichoderma* može pomoći u obnovi zdravlja tla, smanjenju mobilnosti patogenih mikroorganizama te poboljšanju kvalitete tla. Njihova sposobnost inhibicije rasta i razvoja drugih mikroorganizama putem konkurencije za nutrijente, produkciju enzima i proizvodnju antimikrobnih tvari čini ih korisnima za kontrolu bolesti u tlu te za poticanje rasta biljaka.

Ključne riječi: antagonizam, *Trichoderma* spp., bakterije, biokontrolni agensi

10. SUMMARY

The aim of this thesis was to prove the antagonism between a bio-preparation containing 4 subspecies of beneficial bacteria *Trichoderma* spp. and pathogenic fungi and bacteria in laboratory conditions. The antagonistic effect of the beneficial fungus *Trichoderma* spp. was examined on the following microorganisms: *Pseudomonas syringae*, *Cercospora beticola*, *Alternaria alternata* i *Rhizoctonia solani*.

Additionally, the competitive relationships between microorganisms *Azospirillum brasilense* and *Beauveria bassiana*, as well as between endomycorrhizal fungi between *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis* were also investigated. After the research, it can be concluded that *Trichoderma* spp. has an antagonistic effect on all microorganisms species tested in the antibiogram study.

Trichoderma fungi play a significant role in agriculture as biocontrol agents against plant pathogens. Their abilities in inducing systemic resistance, controlling pathogens, and increasing plant yields make them crucial for maintaining soil and plant health. The application of commercial preparations containing *Trichoderma* species can help in restoring soil health, reducing the mobility of pathogenic microorganisms, and improving soil quality. Their ability to inhibit the growth and development of other microorganisms through competition for nutrients, enzyme production, and antimicrobial substance production make them useful for disease control in soil and for promoting plant growth.

Key words: antagonism, *Trichoderma* spp., bacteria, biocontrol agents

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo, smjer Biljna proizvodnja

Diplomski rad

**ANTAGONIZAM IZMEĐU BENEFITNE GLJIVE TRICHODERMA SPP. I UZOČNIKA
BOLESTI KULTURNIH BILJAKA U LABORATORIJSKIM UVJETIMA**

Monika Lovrić

Sažetak: Cilj diplomskog rada bio je dokazati antagonizam između biopreparata koji sadrži 4 podvrste benefitne bakterije *Trichoderma* spp. i patogenih gljivica i bakterija u laboratorijskim uvjetima. Ispitivano je antagonističko djelovanje benefitne gljive *Trichoderma* spp. na sljedeće mikroorganizme: *Pseudomonas syringae*, *Cercospora beticola*, *Alternaria alternata* i *Rhizoctonia solani*.

Također, ispitani su i konkurentsko - kompetitivni odnosi između mikroorganizama *Azospirillum brasilense* i *Beauveria bassiana*, te endomikoriznih gljiva između *Beauveria bassiana* i *Bacillus thuringiensis*.

Nakon provedenog istraživanja možemo zaključiti da *Trichoderma* spp. ima antagonističko djelovanje na sve bakterijske vrste s kojima je rađen antibiogram.

Gljive roda *Trichoderma* imaju značajnu ulogu u poljoprivredi kao biokontrolni agensi protiv biljnih patogena. Njihove sposobnosti inducirane sustavne otpornosti, kontrola patogena i povećanje prinosa biljaka čine ih ključnim za održavanje zdravlja tla i biljaka. Primjena komercijalnih pripravaka koji sadrže vrste *Trichoderma* može pomoći u obnovi zdravlja tla, smanjenju mobilnosti patogenih mikroorganizama te poboljšanju kvalitete tla. Njihova sposobnost inhibicije rasta i razvoja drugih mikroorganizama putem konkurencije za nutrijente, produkciju enzima i proizvodnju antimikrobnih tvari čini ih korisnima za kontrolu bolesti u tlu te za poticanje rasta biljaka.

Rad je izrađen pri: Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: prof. dr. sc. Suzana Kristek

Broj stranica: 39

Broj grafikona i slika: 24

Broj tablica:

Broj literaturnih navoda: 36

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: antagonizam, *Trichoderma* spp., bakterije, biokontrolni agensi

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. doc.dr.sc. Jurica Jović, predsjednik
2. prof. dr. sc. Suzana Kristek, mentor i član
3. izv.prof.dr.sc. Dejan Agić, član
4. izv.prof.dr.sc. Vladimir Zebec, zamjenski član

Rad je pohranjena u: Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Vladimira Preloga 1.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijeku
Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
University Graduate Study in Horticulture, Plant Production

Graduate thesis

ANTAGONISM BETWEEN THE BENEFIT FUNGI *TRICHODERMA* SPP. AND CAUSES OF DISEASE OF CULTURAL PLANTS IN LABORATORY CONDITIONS

Monika Lovrić

Summary: The aim of this thesis was to prove the antagonism between a bio-preparation containing 4 subspecies of beneficial bacteria *Trichoderma* spp. and pathogenic fungi and bacteria in laboratory conditions. The antagonistic effect of the beneficial fungus *Trichoderma* spp. was examined on the following microorganisms: *Pseudomonas syringae*, *Cercospora beticola*, *Alternaria alternata* i *Rhizoctonia solani*. Additionally, the competitive relationships between microorganisms *Azospirillum brasilense* and *Beauveria bassiana*, as well as between endomycorrhizal fungi between *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis* were also investigated. After the research, it can be concluded that *Trichoderma* spp. has an antagonistic effect on all bacterial species tested in the antibiogram study.

Trichoderma fungi play a significant role in agriculture as biocontrol agents against plant pathogens. Their abilities in inducing systemic resistance, controlling pathogens, and increasing plant yields make them crucial for maintaining soil and plant health. The application of commercial preparations containing *Trichoderma* species can help in restoring soil health, reducing the mobility of pathogenic microorganisms, and improving soil quality. Their ability to inhibit the growth and development of other microorganisms through competition for nutrients, enzyme production, and antimicrobial substance production make them useful for disease control in soil and for promoting plant growth.

The work was done at: Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University in Osijek

Mentor: prof. dr. sc. Suzana Kristek

Number of pages: 39

Number of figures: 24

Number of tables:

Number of references: 36

Original in: Croatian

Key words: antagonism, *Trichoderma* spp., bacteria, biocontrol agents

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. doc.dr.sc. Jurica Jović, predsjednik
2. prof. dr. sc. Suzana Kristek, mentor i član
3. izv.prof.dr.sc. Dejan Agić, član
4. izv.prof.dr.sc. Vladimir Zebec, zamjenski član

The work is stored in: Library of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University in Osijek, and in the digital repository of final and graduate papers of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Vladimira Preloga 1.