

Antagonizam *Trichoderma koningiopsis* prema *Fulvia fulva* uzročniku baršunaste plijesni rajčice

Šuto, Tena

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:655299>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-11**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**ANTAGONIZAM TRICHODERMA KONINGIOPSIS
PREMA FULVIA FULVA UZROČNIKU BARŠUNASTE
PLIJESNI RAJČICE**

DIPLOMSKI RAD

Tena Šuto

Zagreb, rujan, 2021.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Fitomedicina

**ANTAGONIZAM TRICHODERMA KONINGIOPSIS
PREMA FULVIA FULVA UZROČNIKU BARŠUNASTE
PLIJESNI RAJČICE**

DIPLOMSKI RAD

Tena Šuto

Mentor:

Izv. prof. dr. dc. Snježana Topolovec-Pintarić

Zagreb, rujan, 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Tena Šuto**, JMBAG 0178108690, rođena 1.5.1997. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

**Antagonizam Trichoderma koningiopsis prema Fulvia fulva uzročniku baršunaste plijesni
rajčice**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice Tene Šuto, JMBAG 0178108690, naslova

**Antagonizam Trichoderma koningiopsis prema Fulvia fulva uzročniku baršunaste plijesni
rajčice**

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. izv. prof. dr. sc. Snježana Topolovec-Pintarić mentor _____
2. prof. dr. sc. Tihomir Miličević član _____
3. izv. prof. dr. sc. Božidar Benko član _____

Zahvala

Zahvaljujem se svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Topolovec-Pintarić na trudu, na svakoj provedenoj sekundi za ovaj diplomski rad, svakoj lijepoj riječi i riječi potpore koje sam od nje dobila. Ona nije samo velika profesorica, već je veliki čovjek u pravom smislu te riječi. Njene osobine i riječi pratile su me kroz studiranje od prvog predmeta koji me imala do danas kad me ispraća s ovog fakulteta kao akademsku građanku, za koju je ona zaslužna.

Veliko hvala mojoj obitelji i dečku koji su sa mnom prošli kroz sve uspone i padove koje je donosilo studiranje, koji su mi bili stalan „vjetar u leđa“. Hvala mama i tata za sve ranojutarnje razgovore prije teških ispita, za svaku riječ ohrabrenja i oprostite na izgubljenim živcima. Hvala sestri koja mi je bila pravi primjer kako studirati, učiti i raditi u jednom. Hvala teti i tetku, jer bez njih sve ovo nebi bilo moguće, ova diploma je i vaša. Hvala Martinu na svakoj neprospavanoj noći, na svakoj obrisanoj suzi zbog koje se sve ipak isplatilo. Hvala baki Mari koja je jedva dočekala dan kad ću obraniti diplomski rad. Hvala i mojim životinjicama koje su me dočekale svaki vikend poslije napornog tjedna na faksu, koje su i najteže dane pretvorile u manje stresne. Danas sam takva osoba i zbog vas, te je svaki moj uspjeh i vaš uspjeh, jer smo kroz sve prolazili skupa. Hvala za svaku riječ potpore, ali i špotanciju, jer sam time naučila cijenit puno više!

Hvala mojoj prijateljici Luciji koja me naučila da nakon svakog lošeg dana, dolazi sunce i da u životu nikad ne treba odustati od stvari do kojih ti je stalo.

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Pregled literature	3
2.1. Biološko suzbijanje bolesti kao dio integrirane zaštite bilja.....	3
2.1.1. Antibioza	3
2.1.2. Kompeticija za supstrat i hranjiva.....	4
2.1.3. Mikoparazitizam	5
2.2. Rod <i>Trichoderma</i>	6
2.3. <i>Trichoderma koningiopsis</i> Samuels, Carm. Suarez & H.C. Evans	9
2.4. <i>Fulvia fulva</i> (Cooke) Ciferri R., 1954.....	11
2.4.1. Morfologija	11
2.4.2. Epidemiologija baršunaste pjegavosti rajčice.....	12
2.4.3. Suzbijanje	13
3. Materijali i metode.....	15
3.1. Testiranje antagonizma	15
3.2. Testiranje antibioze	17
4. Rezultati i rasprava	20
4.1. Testiranje antagonizma	20
4.2. Testiranje antibioze	21
5. Zaključak	25
6. Popis literature.....	26
Životopis	32

Sažetak

Diplomskog rada studentice Tena Šuto, naslova

Antagonizam *Trichoderma koningiopsis* prema *Fulvia fulva* uzročniku baršunaste plijesni rajčice

Posljednjih godina sve je više istraživana problematika gljive *Fulvia fulva* koja uzrokuje baršunastu plijesan rajčice, što je sve češći problem kod naših proizvođača tog povrća. U radu je istraživan antagonistički utjecaj autohtonog izolata *T. koningiopsis* tj. antibiotska supresija i mikoparazitacija micelarne kulture *Fulvia fulva* vrste. Pokus je postavljen u laboratoriju Zavoda za fitopatologiju Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Pokus se provodio *in vitro* metodom dvojnih kultura za utvrđivanje antibioze tj. hlapljivih metabolita i testiranjem mikoparazitacije. Koristile su se četiri dana stare gljivične kulture te je provedeno sučeljavanje *T. koningiopsis* i *F. fulva* kroz testiranje antagonizma i testiranje antibioze. Pokus je postavljen po slučajnom bloknom rasporedu.

U metodi dvojnih kultura i inkubaciji na 25 °C u vremenskom intervalu od sedam dana, izolat *Trichoderma koningiopsis* značajno je inhibirao rast patogena *Fulvia fulva* (I=90,367%). U testu volatila i inkubaciji na 25 °C, izolat *T. koningiopsis* pokazao je dobro inicijalno djelovanje hlapljivih metabolita, suprotstavljenom patogenu *F. fulva* (I=62,4%).

Ključne riječi: mikoparazitacija, antibioza, dvojne kulture

Summary

Of the master's thesis – student Tena Šuto, entitled

Antagonism of *Trichoderma koningiopsis* against *Fulvia fulva* causal agent of tomato leaf mold

The problematics of the fungus *Fulvia fulva*, which causes tomato leaf mold and is an increasingly common problem among our producers of this vegetable, has been increasingly studied in recent years. In this paper, antagonistic influence of the autochthonous isolate *T. koningiopsis*, ie. antibiotic suppression and mycoparasitization of *Fulvia fulva* micellar culture is researched. The experiment was set up in the laboratory of the Department of Phytopathology, Faculty of Agriculture, University of Zagreb. The experiment was performed in vitro by dual culture method to determine antibiosis, ie. by volatile metabolites and mycoparasitic testing. Four-day-old fungal cultures were used and *T. koningiopsis* and *F. fulva* were confronted through antagonism and antibiosis testing. The experimental design was a randomized block design.

In the dual culture method and incubation at 25 °C for a time interval of 7 days, the isolate of *Trichoderma koningiopsis* significantly inhibited the growth of the pathogen *Fulvia fulva* (I = 90.367%). In the volatile testing and incubation at 25 °C, the isolate of *T. koningiopsis* showed a satisfactory initial activity of volatile metabolites, as opposed to the pathogen *F. fulva* (I = 62.4%).

Keywords: mycoparasitism, antibiosis, dual cultures

1. Uvod

U uvjetima visoko proizvodne, tržišno konkurentne poljoprivrede, tehnološki napredne i intenzivne poljoprivrede, velik broj poljoprivrednih proizvođača nastoji održati ili povećati kakvoću i količinu prinosa, težeći pritom smanjenju rizika ili osiguranju od svih rizika koji prate samu poljoprivrednu proizvodnju. Među važne rizike u poljoprivrednoj proizvodnji ubrajaju se gubici i štete uzrokovani biljnim bolestima. Suzbijanje biljnih bolesti je nužno zbog osiguravanja uroda i postizanja kvalitetnih i visokih prinosa (Ivić, 2014).

Povećanju kvalitete i kvantitete uroda i usjeva uvelike je pomogla primjena kemijskih sredstava za zaštitu bilja, fungicida no, prate ju i važni nedostaci. Uporabu sintetičkih fungicida često prati razvoj otpornih (rezistentnih) biotipova organizama (Naher i sur., 2014). Problematika primjene kemijskih sredstava je također u vidu štetnih tvari (rezidua) koje ostaju na poljima u tlu i ulaze u biljku iz različitih izvora poput: apsorpcije rezidua iz vode i tla, iz atmosferskog taloženja i direktnom aplikacijom. Zbog štetnog djelovanja rezidua na okoliš, ali i zdravlje ljudi, sve se više primjenjuje biološko suzbijanje biljnih bolesti. Biofungicidi su biološki pripravci na bazi antagonističkih mikroorganizama (gljiva, bakterija i dr.) čiji se antagonizam s biljnim patogenima temelji na interakcijama kompeticije, parazitizma (mikoparazitizma i hiperparazitizma), antibioze i inducirane biljne rezistentnosti (Topolovec-Pintarić i sur. 2004; Miličević i Kaliterna, 2014).

U 90 % slučajeva različiti sojevi gljiva iz roda *Trichoderma* koriste se u biološkom suzbijanju biljnih bolesti u različitim formulacijama u vidu biofungicida (Benitez i sur., 2004). Ključ uspjeha roda *Trichoderma* u suzbijanju biljnih bolesti leži u njihovom brzom rastu, visokoj reproduktivnoj sposobnosti, učinkovitosti u uzimanju hranjivih tvari, no najviše u mikoparazitaciji i antibiozi prema gljivama (Topolovec-Pintarić, 2019; Benitez i sur., 2004). Rod *Trichoderma* je prisutan širom svijeta s velikim utjecajem na sadašnju poljoprivredu i očuvanje zdravlja ljudi i okoliša. Vrste roda *Trichoderma* karakteristični su stanovnici rizosfere, a u modernoj poljoprivredi koriste se kao antagonisti zemljišnih uzročnika biljnih bolesti (biofungicidi), ali i kao promotori biljnog rasta (biognojiva) (Topolovec-Pintarić i sur., 2012). Primjenom *Trichoderma*-pripravaka smanjuje se negativan utjecaj kemijskih preparata na okoliš i održavanje bioraznolikosti u agroekosustavima (Miličević i Kaliterna, 2014).

Gljiva *Fulvia fulva* je uzročnik baršunaste plijesni lista rajčice, sve više problema s navedenom gljivom pojavljuje se prilikom uzgoja rajčice na otvorenom i u zaštićenim prostorima. U Hrvatskoj je prvi puta potvrđena prije nešto više od 35 godina, ali tada nije predstavljala problem prilikom same proizvodnje rajčice. Povoljni uvjeti za pojavu bolesti su u vrijeme kišnih razdoblja proljeća i zime. Simptomi na biljkama pojavljuju se prvotno na donjim, najstarijim listovima, a zatim se širi prema vrhu biljke. Listovi se najčešće osuše i počnu

otpadati, kod rane zaraze prilikom zahvaćene velike lisne površine može doći i do sušenja samog ploda (Cvjetković, 2004).

Suzbijanje *F. fulva* najpraktičnije je sadnjom hibrida rajčice koji su otporni na patotipove gljive u kombinaciji s preventivnim agrotehničkim mjerama, dezinfekcijom zaštićenih prostora prije sadnje rajčice i uporabom fungicida koji su dopušteni u Hrvatskoj (Novak i Miličević, 2010). Od sredine 1990-tih godina detektirani su rezistentni biotipovi *F. fulva* na najčešće primjenjivane fungicidne tvari: flusilazol, klortalonil, azoksistrobin, fenheksamid, itd. U RH je nedovoljna učinkovitost navedenih djelatnih tvari u zaštiti rajčice dokazana još 2001. (Novak, 2012). Biofungicidi na osnovu *Trichoderma* vrsta u svijetu se primjenjuju i u bio-suzbijanju *F. fulva*, no u Hrvatskoj je trenutno registriran samo *Trichoderma*-pripravak Vintec (BI-PA NV, Belgija) (Ivić, 2021).

Obzirom na navedeno, provedeno laboratorijsko istraživanje imalo je za cilj vrednovati mogućnost inhibiranja patogene vrste *F. fulva* pomoću autohtonog izolata STP1 vrste *T. koningiopsis*, temeljem istraživanja antagonizma (kompeticija za hranjiva, mikoparazitizam) i antibioze. U istraživanje se ušlo uz pretpostavke:

1. Izolat *T. koningiopsis* STP1 će inhibirati rast i razvoj *F. fulva*.
2. Izolat *T. koningiopsis* STP1 će djelovati antibiotski na *F. fulva*.

2. Pregled literature

2.1. Biološko suzbijanje bolesti kao dio integrirane zaštite bilja

Integrirana zaštita bilja kao dio integrirane biljne proizvodnje obuhvaća primjenu svih raspoloživih metoda zaštite bilja kojima se sprječava razvoj populacije štetnih organizama. Suzbijanje mora biti ekološki i ekonomski opravdano, na način da se rizik za zdravlje ljudi i za okoliš svode na najmanju moguću mjeru. (Miličević i Kaliterna, 2014).

Biološko suzbijanje bolesti obuhvaća primjenu komercijaliziranih biološki pripravaka (biofungicidi) na bazi antagonističkih mikroorganizama (bakterija, gljiva i dr.). Biofungicidi su pripravci na osnovi gljiva bakterija i *Actinomyceta* koji su antagonisti fitopatogenih gljiva. To su korisni organizmi koji su sastavni dio prirode, dio mikro svijeta (microbiota) rizosfere i filiosfere u kojem vlada kompeticija za stanište i hranjive tvari s njima konkurentnim štetnim mikroorganizmima (Cvjetković i Topolovec-Pintarić, 2004). Biljni patogeni i uzročnici biljnih bolesti temelje se na interakcijama antibioze, kompeticije, parazitizma (hiperparazitizam i mikoparazitizam) te inducirane biljne rezistentnosti (Miličević i Kaliterna, 2014.)

2.1.1. Antibioza

Antibioza je štetno djelovanje antagonističkih mikroorganizama na biljne patogene putem toksičnih produkata njihovog metabolizma, gdje spadaju i razni antibiotici, koji su toksični za biljne patogene. Ona je jedan od najvažnijih mehanizama preživljavanja mikroorganizama kroz eliminaciju konkurencije za izvor hrane koja je često limitirana na zemljištu (Ellis i sur., 2000). Antibioza se zbiva tijekom interakcije dva organizama pri čemu nastaju metaboliti niske molekularne mase, koji se mogu podijeliti na više kategorija: isparljive/nepolarne, neisparljive/polarne i antibiotike topljive u vodi (Junaid i sur., 2013). Prvi opis antibioze kao sposobnosti roda *Trichoderma* dao je Weindling (1934), a njegova definicija glasi da je to supresivni mehanizam biološke borbe koji se očituje u proizvodnji sekundarnih metabolita s antimikrobnim učinkom (Howell, 1998). Nakon istraživanja mikoparazitizma u biološkoj borbi, Weindling je 1934. godine istražio da je vrsta *T. lingorum* proizvela smrtonosne metabolite te ih je izlučila u okolni medij. Otkrivenu supstancu nazvao je „glitoksin“ za koju navodi da je toksična za oba testirana patogena *Rhizoctonia solani* i *Sclerotinia americana*. Novi antibiotik „gliovirin“ izolirali su Howell i Stipanović 1983. godine od vrste *Gliocladium* (ex.sistematika roda *Trichoderma*) *virens* koji snažno inhibira patogenu vrstu *Pythium ultimum* i *Phytophthora spp.* (Kumar i Pundhir, 2009) Navedeni toksini zbog

jakog sinergističkog efekta u kombinaciji s kompleksom hidrolitičkih enzima mogu izazvati snažnu inhibiciju velikog broja fitopatogenih gljiva iz rodova: *Alternaria*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Diaporthae*, *Monilia* i *Fusarium*, (Živković, 2016). Predstavnici roda *Trichoderma* produciraju i viridin, triholin, glizoprenine, heptelidinsku kiselinu, pirone, terpene i peptaibole koji imaju mogućnost inhibicije rasta fitopatogenih gljiva (Hjeljord i Tronsmo, 1998; Sharma, 2012).

Rod *Trichoderma* pripada odjelu *Ascomycota* gdje pripadaju vrste gljiva koje imaju mogućnost proizvodnje sekundarnih metabolita. Većina sekundarnih metabolita su volatilne supstance koje su bioaktivne te uključuju antibiotike kao što su: penicilin, cephalosporin, imunosupresant, ciklosporin i kontaminante hrane kao što su mikotoksini (Mukherjee i sur., 2012).

2.1.2. Kompeticija za supstrat i hranjiva

Kompeticija je vrlo značajan mehanizam kod antagonista, kojim antagonisti mogu su inhibirati razvoj organizama u svojoj okolini time što se nasele prije i prije počnu usvajati hranjiva (Kaliterna i Miličević, 2014). Tako *Trichoderma* vrste mogu u rizosferi uz korijen biljaka istisnuti patogene gljive (Howell, 2003; Hoitink i Changa, 2004). Jedan je od najvažnijih mehanizama preživljavanja u svim ekosustavima te je stoga kompeticija važan antagonistički mehanizam protiv patogena koji se razvijaju u tlu, poput predstavnika rodova *Fusarium* i *Phythium*. (Stone i sur., 2004).

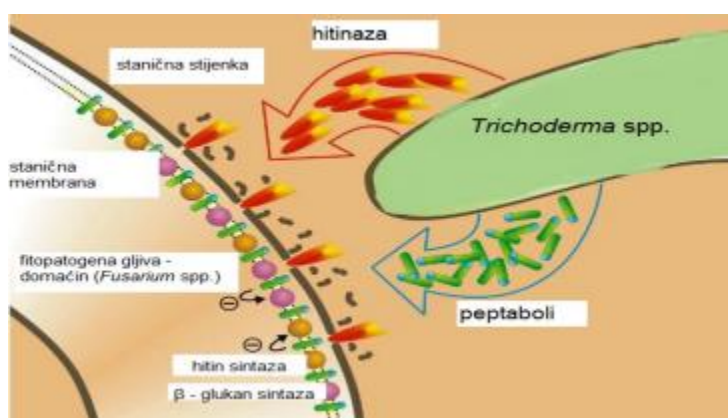
Najpoznatiji agensi, *Trichoderma* vrste kompeticijom se služe u suzbijanju patogena *Botrytis cinerea*, uzročnika sive plijesni, na način da su osjetljivi na nedostatak hranjiva (Jovičić-Petrović, 2014; Latorre i sur, 2001). Posebnost je da imaju sposobnost naseliti neku biljnu površinu brže od fitopatogenih konkurenata čiji je rast i razvoj tada onemogućen zbog nedostatka prostora i hranjiva koji su im potrebni za život, na taj način se ne suzbija potpuno fitopatogena vrsta, već postane malobrojnija te ne čini više probleme. U agrikulturnim i prirodnim tlima svijeta sveprisutne su vrste roda *Trichoderma*, time su dobile obilježja vrlo dobrog kompetitora. Konidije *B. cinerea* zahtijevaju hranjiva za klijanje i infekciju, a kada su konidije vrste *T. harzianum* T-39 aplicirane na listove biljke, klijanje patogena je usporeno, a uspješnost ovisi o kompeticiji antagonista (Elad i Kapat, 1999; Elad, 2000; Mukherjee i sur., 2012).

Važnost mehanizma kompeticije *Trichoderma* vrsta potvrdio je Howell (2003). U svom istraživanju je izložio koloniju vrste *T. virens* ultraljubičastim zrakama, kako bi dobio mutanti

izolat smanjene sposobnosti za antibiozu i mikoparazitizam. Usprkos tome izolat je antagonistički djelovao protiv patogenih vrsta, *P. ultimum* i *R. solani*. Time je potvrđena dominantna uloga kompeticija za prostor i hranjiva (Mukherjee i sur., 2012). Mehanizam kompeticije najčešće je sinergistički udružen s produkcijom toksičnih metabolita i djelovanjem hidrolitičkih enzima (Howell, 2003).

2.1.3. Mikoparazitizam

Mikoparazit je organizam koji parazitira gljive. Premda su *Trichoderma* vrste također gljive, sposobne su parazitirati svoje srodnike slično kao što fitopatogene gljive parazitiraju biljno tkivo. Dakle, svojim hifama prodiru u hife patogene gljive te apsorbiraju hranjiva. U procesu apsorpcije proizvode i izlučuju enzime hidrolitičke enzime hitinaze i beta-1,3 glukanaze, koji uzrokuju degradaciju stanične stijenke patogena (Harman i sur., 2004). Biološki čimbenik mora biti prisutan prije napada patogena (Grahovac i sur., 2009). Na slici 2.1.3.1. prikazan je shematski prikaz mikoparazitizma *Trichoderma sp.*



Slika 2.1.3.1. Shematski prikaz mikoparazitizma *Trichoderma sp.*

Najviše istraživani antifungalni proteini su hitinaze i beta-1,3- glukanaze, a geni koji ih kodiraju daju mogućnost proizvodnje transgenih biljaka otpornih na gljive uzročnike bolesti (Sharma, 2012). Do sada je potvrđen mikoparazitizam *Trichoderma* vrsta u zaštiti poljoprivrednih kultura protiv uzročnika bolesti iz rodova. *Rhizoctonia*, *Phytium*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, itd. (Sharma, 2012).

Mikoparazitizam ima veliku važnost u antagonističkom djelovanju roda *Trichoderma* u borbi protiv širokog raspona fitopatogenih vrsta gljiva, zbog toga se vrste navedenog antagonističkog roda smatraju iznimno učinkovitim

2.2. Rod *Trichoderma*

Godine 1794. znanstvenik Persoon uvodi rod *Trichoderma* za filamentozne gljive koje je uočio kao zelenu plijesan na oštećenim granama (Persoon, 1794; Schuster i Schmoll, 2010; Kubicek i Penttilä, 1998). Prvotno je rod brojio samo jednu vrstu, *T. viride* Pers.. U predmolekularnoj eri, Persoon je determinirao 11 *Trichoderma* vrsta. Prva opsežnija istraživanja raznolikosti roda *Trichoderma* s ciljem uređenja taksonomije roda provodio je Rifai (1969). Godine 1969. je Rifai opisao šest agregatnih vrsta roda *Trichoderma* s obzirom na sistem grananja konidiofora, karakteristike fijaspora, raspored fijaspora i morfologiju (Druzhinina i sur., 2006). Odredivši 6 vrsta, Rifai je zbog problema identifikacije vrste prema morfološkim karakteristikama, uveo koncept "agregatna vrsta", istaknuvši da 9 takvih *Trichoderma* agregata, koje je opisao, mogu uključivati više vrsta teško morfološki razlučivih. Problem u identifikaciji vrste u ovom rodu je morfologija jer je gotovo nemoguće morfološki razlikovati i točno identificirati zbog neizmjerne sličnosti morfoloških obilježja. U kasnijim taksonomskim revizijama od strane Bissett-a brojnost roda vrstama se povećala, i nadalje se temeljila na morfološkim razlikama (Bissett, 1984; Bissett, 1991a,b,c). Na početku molekularne ere i DNA barkodiranja Bissett je determinacijom 24 vrste dao izniman doprinos uređenju *Trichoderma* roda (Bissett, 1992; Gams i Bissett, 1998; Bissett i sur. 2015). Zahvaljujući razvoju molekularnih filogenetskih markera specifičnih za *Trichoderma spp.*, od prvog opsežnijeg kronološkog pregleda 83 vrste od strane Samuela (2006), taksonomija i filogenija roda *Trichoderma* je pregledana i pročišćena. Do lipnja 2020. rod *Trichoderma* broji 375 vrsta točno identificiranih DNA barkodiranjem, a od toga je 361 vrsta i kultivirana *in vitro* (Cai i Druzhinina, 2021).

Najčešće zauzimaju svoje mjesto u primjeni u različitim biotehnološkim procesima, zbog čega su najčešće uzgajane kao mikromicete. Jako im je razvijen antagonistički efekt prema velikom broju fitopatogenih organizama, mikoparazitizmu, antibiozi, stimulativnom efektu na klijanje sjemena i rast biljaka te indukciji obrambenih mehanizama (Papavizas, 1985; Sivasthamparam i Gisalberty, 1998).

Vrste roda *Trichoderma* su kozmopoliti najviše izolirani iz rizosfere tla i listinca, a rjeđe iz filofere biljke. Zahvaljujući metaboličkoj sposobnosti i agresivnoj kompetitivnosti, najčešće su dominantni dio mikrobionta tla u raznim staništima, ali su veoma rijetko vrste patogene za samu biljku (Bissett, 1991; Kredics i sur., 2010). Imaju pozitivno djelovanje na ukorjenjivanje, rast i razvoj biljke obzirom da makro- i mikroelemente u tlu iz nepristupačnog provode u pristupačan oblik za biljku te stimuliraju apsorpciju od strane biljke, što se u konačnici ogleda i u povećanju prinosa. također se primjenjuje i kao direktna sistemična obrana biljke, kao antagonisti u biološkom suzbijanju biljnih bolesti i razgradnji ksenobiotskih pesticida (Harman, 2006).

Vrste roda *Trichoderma* okarakterizirane su brzorastućim micelarnim kolonijama na hranjivoj podlozi. Kolonije su karakteristične smaragdno zelene boje zbog čega ih je vizualno može jako brzo prepoznati. U početnom stadiju razvoja na hranjivoj podlozi kolonije su glatke i prozirne ili vodenasto bijele, a s vremenom poprimaju smaragdno zelene boje s izraženim koncentričnim prstenovima, koji se proširuju od središta. Koncentrični prstenovi su mjesta sporulacije i nastanka konidiofora s nespolnim sporama, konidijama tipa fialospora, koje daju kolonijama zelenu boju (Kumar i Pundhir, 2009). Pogledom kroz mikroskop mogu se vidjeti fialide koje imaju oblik boce i izdižu se od konidiofora, zračnih ogranaka hifa, koji su u kompaktnim ili rastresitim i jako razgranatim snopovima, pa je poprilično teško izdvojiti ili izmjeriti pojedinačni konidiofor (Bissett, 1991). Karakterističan tip grananja konidiofora je tzv. „dendritik“ jer su najdulje grane položene uz osnovu centralne osi konidiofora, a prema vrhu se skraćuju te su nalik piramidi odnosno drvetu. Vršne konidiogene stanice konidiofora, fialide, često dolaze u pršljenovima i kruškolikog su oblika s vršnim suženjem u subcilindrični vrat te produciraju konidije (Kumar i Pundhir, 2009).

Ovisno o vrsti veličina konidija se razlikuje ali većinom su to dimenzije 3 – 5 x 2 – 4 μ m te oblika elipse. Njihova membrana može biti različita, od glatkih stijenki do lagano ornamentiranih, a boja im varira od bijele, smeđe, sive, a najčešće su u zelenim nijansama. Proizvodnja konidija inducirana je brojnim faktorima povezanim sa stresom uzrokovanim visokom temperaturom, trošenjem hranjiva u supstratu, nedostatkom vlage ili dodatkom glutamata u mediju (Mukherjee i sur., 2012). One daju koloniji pigmentaciju te sadrže antibiotske tvari (Anderson i Smith, 1971; Yin i sur., 1996; Lapaire i Dunkle, 2003).

Mogu se formirati i hlamidospore, koje premda su nespolne spore funkcioniraju kao trajne spore i služe za održavanje u nepovoljnim uvjetima. Hlamidospore su jednostanične okrugle ili elipsoidnog oblika, bezbojne i imaju glatke stijenke i prisutne su na krajevima kratkih hifa (Kumar i Pundhir, 2009; Samson, 1989). Filamentozne *Trichoderma* vrste razvile su sposobnost da proizvedu hlamidospore. Hlamidospore su pronađene u tlu, a također se formiraju i u umjetnom uzgoju u sterilnom tlu i ekstraktima tla (Lewis i Papavizas, 1983). Njihov nastanak ovisi o okolinskim uvjetima rasta, pH reakciji i sastavu supstrata na kojoj se kolonija razvija. U laboratorijskom uzgoju je primijećeno da se veći se broj hlamidospora proizvede u tekućem nego u krutom mediju (Mukherjee i sur., 2012).

Teleomorfni ili spolni stadij kod nekih vrsta roda *Trichoderma* je determiniran i većinom se svrstava u rod *Hypocrea*, a kod ostalih vrsta još uvijek nije determiniran ili se vjeruje da čak ne postoji (Samuels i sur., 2006). Sukladno općem mikološkom nastojanju „Jedna gljiva—jedno ime“ (Taylor, 2011) sva prijašnja imena teleomorfa *Hypocrea* su prebačena u rod *Trichoderma* te se ime *Hypocrea* više ne koristi (Cai i Druzhinina, 2021).

Vrste roda *Trichoderma* su antagonisti, rizosferni kolonizatori, indikatori obrambenih mehanizama u biljkama, neutralizatori enzima koje izlučuju patogeni organizmi te promotori biljnog rasta (Kumar i Pundhir, 2009).

Vrste roda *Trichoderma* se primjenjuje u mnogim sferama industrije, poput izbjeljivanja traper tkanina tzv. „stone wash“ stil. Primjenjuje se i u farmaceutskoj i kemijskoj industriji (Harman, 2006). Najveći značaj imaju u poljoprivredi gdje se koriste kao biofungicidi i bio-gnojivo za razvoj, rast i otpornost biljaka na bolesti (Kumar i Pundhir, 2009). Najpoznatija industrijski eksploatirana vrsta je *T. reesei* jer je jako dobar proizvođač enzima za razgradnju celuloze te se zbog tog razloga koristi u biotehnološkoj industriji (Kubicek i Panttila, 1998).

Promocija rasta i razvoja biljaka

Predstavnici roda *Trichoderma* mogu biti korisni i kao promotori biljnog rasta (biognojiva) (Topolovec-Pintarić i sur., 2012). Vrste roda *Trichoderma* su sposobne penetrirati u epidermu i stanice ispod nje, na način da se ni na koji način ne narušava rast i razvoj biljke, već ta sposobnost djeluje povoljno na biljku uzrokujući pojačani rast i razvoj korijena, pojačanu apsorpciju hranjiva, više prinose i rezistentnost na razne abiotičke stresove (Saba i sur., 2014). Gljive roda *Trichoderma* kao kolonizatori korijena ubrzanom sintezom proteina svolenina dovode do ubrzane proliferacije korijena, intenzivnijeg rasta i veće zaštite korijena biljke od toksičnih supstanci koje dospijevaju u zemljište (Racić, 2017). Različiti mehanizmi vrsta ovog roda su rezultati promocija biljnog rasta koji se dijele na indirektnu i direktnu. Direktni uključuju izlučivanje supstanci koje su regulatori biljnog rasta, zatim mogućnost otapanja fosfata, mikrohraniva i minerala koji imaju važne uloge u biljnom rastu kao i sekrecija molekula poput siderota, ekstrastaničnih enzima i vitamina. Indirektni faktori podrazumijevaju indukciju otpornosti prema patogenima, čime se utječe na promociju biljnog rasta. Također imaju i mogućnost induciranja otpornosti biljaka koje su izložene abiotičkom ili biotičkom stresu). Primjena gljiva roda *Trichoderma* u rizosferi povećava vigor korijena i poboljšava otpornost prema suši, jednom od najznačajnijih abiotičkih stresova. Primjenjuju se i u zaštiti biljaka i koje su izložene i drugim abiotičkim stresovima uzrokovani: vlagom, salinitetom, ekstremnim temperaturama i/ili povećanom koncentracijom hranjivih tvari (Racić, 2017).

2.3. *Trichoderma koningiopsis* Samuels, Carm. Suarez & H.C. Evans

Kozmopolitska vrsta *Trichoderma koningiopsis* je česta vrsta, uobičajenija u tropskim područjima (Samuels i sur., 2006). Chen i sur. (2016) u istraživanju izolata *T. koningiopsis* YIMPH3002 zaključili su da je mogao rasti na supstratima različitih koncentracija zasoljenosti, od 0 do 30 % koncentracije NaCl u supstratu. Izolati vrste *T. koningiopsis* imaju potencijal za biološko suzbijanje patogene vrste. U tablici 2.3.1. nalazi se klasifikacija vrste *Trichoderma koningiopsis*.

Tablica 2.3.1. Klasifikacija vrste *Trichoderma koningiopsis*

CARSTVO	FUNGI
Razdjel	<i>Ascomycota</i>
Podrazdjel	<i>Pezizomycotina</i>
Razred	<i>Sordariomycetes</i>
Podrazred	<i>Hypocreomycetidae</i>
Red	<i>Hypocreales</i>
Porodica	<i>Hypocreaceae</i>
Rod	<i>Trichoderma</i>
Vrsta	<i>Trichoderma koningiopsis</i>
Stadij	Anamorf

○ Izgled micelarne kolonije

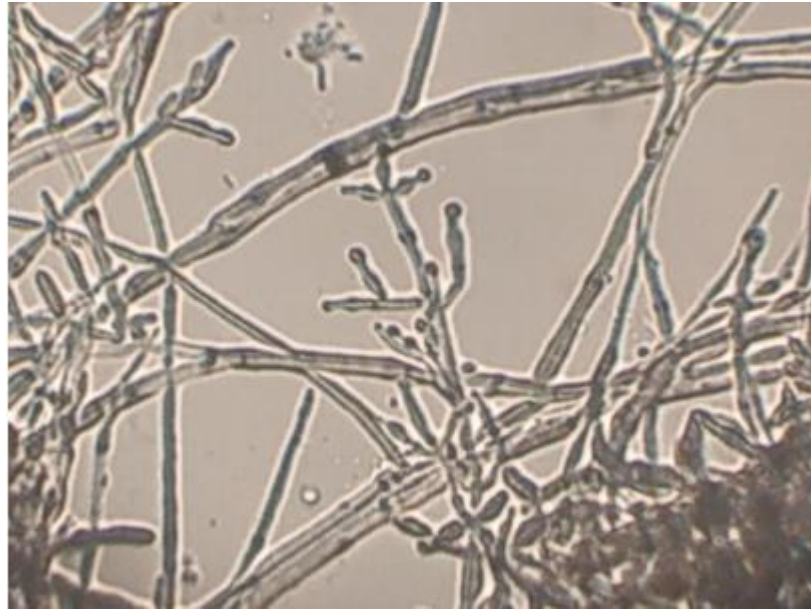
Kolonija *T. koningiopsis* uzgajana na PDA supstratu na 25 °C u vremenu od 72 sata proizvodi radijus od 48 do 67 mm karakteristične maslinasto zelene boje, dok pri temperaturi od 35 °C micelarni radijus iznosi u rasponu od 2 do 12 mm. Istraživana vrsta *T. koningiopsis* pripada diurnim vrstama, zbog izmjene svjetla i tame formiraju karakteristične koncentrične krugove zelene boje, koji su jasan znak sporulacije. U tami se formira bijeli micelij na površini agara koji je bez konidija, tj. formira se tzv. vegetativni micelij, dok se na rubovima koncentričnim krugova formiraju jastučići konidija (Samuels i sur., 2006).

○ Izgled anamorfa

Nespolni organi su konidiofori s konidijama. Sterilne hife ili duge fertilizirane ekstenzije konidiofora su odsutne kod vrste *T. koningiopsis*. Konidiofori imaju grananje nalik na piramidu s kratkim glavnim ogrankom, a lateralnim ograncima dužim, što je karakteristično za rod

Trichoderma. Fijalide, vršne konidiogene stanice konidiofora, rastu u grupi ili pojedinačno, a blastičnim načinom proizvode konidije. Na slici 2.3.1. vidljive su fijalide koje se nalaze na vrhu konidiofora. Konidije sadrže pigment koji u kada su u masi daje koloniji karakterističnu zelenu boju. Konidije su elipsoidnog oblika, veličine 2,5-3 x 3,5-4 μm , a stijenka im je glatka.

Nespolnim, taličnim načinom, stvaraju se i hlamidospore koje nastaju interkalarno u hifama ili terminalno (Samuels i sur., 2006).



Slika 2.3.1. Fotografija M. Marijića iz 2019. prikazuje fijalide na vrhu konidiofora *Trichoderma koningiopsis* (u sredini)

- **Izgled teleomorfa *Hypocrea koningiopsis* Samuels**

Spolno tijelo je peritecij koji nastaje u stromi. Stroma vrste *H. koningiopsis* je smeđe boje, okruglog oblika i promjera od 1,5 do 2,5 mm. Peritecionalna uzdignuća nisu vidljiva, ako se pojave, onda su kao niske jastučaste protuberance (tuberkule). Peritecijski otvori, ostiole, su jedva vidljivi kao blage tamnije areole. Spolni organi askusi su cilindrični s blago zadebljanim vrhom, a askospore su u askusu poredane u jednom redu no, kako su dimorfne, dio askospora je proziran. Peritecij je subglozni, visok u pravilu od 150 do 250 μm , ali može biti i od 130 do 275 μm , širok je u pravilu od 90 do– 150 μm , ali može biti i od 60 do 150 μm (Mycobank, 2021).

2.4. *Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri R., 1954.

Uzročnik baršunaste plijesni lista rajčice je *Fulvia fulva*, sin. *Passalora fulva*, sin. *Cladosporium fulvum*, sin. *Mycovellosiella fulva*. U tablici 2.4.1. nalazi se klasifikacija vrste *Fulvia fulva*. Pretpostavlja se da potječe iz Južne Amerike koja je domovina kultivarima rajčice (*Solanum lycopersicum* L.) te njezinih divljih srodnika. U svijetu se sve češće pojavljuju problemi s navedenom gljivom u uzgoju rajčice na otvorenom, ali ima i sve više slučajeva zaraze u hidroponskom uzgoju i zaštićenim prostorima zbog osjetljivosti same biljke na zarazu navedenim patogenom. Bolest je sve raširenija u državama velikim proizvođačima rajčice, poput: SAD-a, Italije, Francuske, Španjolske, Rumunjske i Grčke (Gleason i sur., 1995). U Hrvatskoj je prvi puta potvrđena prije više od 35 godina, tad nije predstavljala problem u proizvodnji rajčice. Godine 2006. počelo je detaljnije istraživanje *F. fulva* u Hrvatskoj, gdje se pokazalo da je bolest zabilježena u 10 županija od 2006. godine do 2014. godine. Osim utvrđenih šteta kojima narušava gospodarsku vrijednost rajčice, *F. fulva* može pogodovati razvoju alergijskog bronhitisa, tako da je tijekom višekratne berbe utvrđeno da može narušiti zdravstveno stanje proizvođača rajčice (Guba i sur., 1938.; Cvjetković, 1977.; Šubić, 2005., Crous i sur., 2007).

Tablica 2.4.1 Klasifikacija vrste *Fulvia fulva*

CARSTVO	FUNGI
Razdjel	<i>Ascomycota</i>
Podrazdjel	<i>Pezizomycotina</i>
Razred	<i>Dothideomycetes</i>
Podrazred	<i>Dothideomycetidae</i>
Red	<i>Mycosphaerellales</i>
Porodica	<i>Mycosphaerellaceae</i>
Rod	<i>Fulvia</i>
Vrsta	<i>Fulvia fulva</i>

2.4.1. Morfologija

F. fulva je gljiva koje se može uzgajati na različitim hranjivim podlogama: Oatmeal agar, Czapek's agar, PDA (Potato Dextroza Agar), Malt agar, Cherry agar, V8 agar, Lupinus agar, agar od lista rajčice te ostali (Gardner, 1925; De Vries, 1952; Mijatović, 1964; Anonymus, 1968, Ellis, 1971).

Boja micelija ovisno o starosti kulture, tipu hranjive podloge, pH podloge i dr., u početku je žuta i ide do svijetlozelenkasto-maslinaste, a kasnije je tamnoljubičasta (Mijatović, 1964; Guba i sur., 1938; de Vries, 1952; Ellis, 1971; Cvjetković, 1977).

Konidiofori izlaze iz strome i obično su nerazgranati, na bazi su uži, na vrhu se šire (Holiday i Mulder, 1976). Dužina konidija je od 57 do 120 μm , ali je poznato da je u nekim izvanrednim slučajevima dužina bila i do 200 μm . Pri bazi je debljina konidija 2 do 4 μm , a na proširenju 5 do 8 μm (Ellis, 1971; Holiday i Mulder, 1976; Jones i sur., 1993).

Konidije su većinom dvostanične i septirane, imaju od 2 do 4 septe. Veličine konidija variraju od 12-47x4-10 μm , 9-28x4-8 μm , 12-27x6 μm te starost kulture ne utječe na veličinu samih konidija (de Vries, 1952; Ellis, 1971; Jones i sur., 1993; Satou i sur., 2005; Cvjetković, 1977). Oblik konidija je cilindričan ili eliptičan, ravan ili blago zakrivljen i raste u lancima. Boja im je svijetlo do tamnosmeđe boje (de Vries, 1952; Ellis 1972; Cvjetković, 1977). Vršne konidije su kraće i jednostanične ili dvostanične, dok su konidije bližu konidioforu duže i dvostanične (Spangler, 1924; Mijatović, 1964).

2.4.2. Epidemiologija baršunaste pjegavosti rajčice

Povoljni uvjeti za razvoj bolesti pojavljuju se u kišnim razdobljima proljeća i zime, kad je teško regulirati vlagu zraka, posebice u zaštićenom prostoru (Novak, 2016). Za pojavu bolesti potrebni su: visoka relativna vlaga zraka 85 do 100 % te temperatura od 10 do 32 °C. Razvoj bolesti počinje od donjih najstarijih listova i širi se prema vrhu biljke (Maceljski i sur., 2004). Najčešće se listovi suše i otpadaju, a kod rane zaraze i ako je zahvaćena velika lisna površina, štete od te bolesti mogu biti jako velike (Cvjetković, 2004). Gusti sklop biljaka i pojava rose u jutarnjim satima pogoduju razvoju bolesti, a uobičajeno je da se bolest pojavljuje u drugom dijelu vegetacije, zbog obilne lisne mase i razlike između dnevnih i noćnih vrijednosti temperatura zraka.

Konidije su otporne na nepovoljne uvjete suše te pri nedostatku domaćina mogu zadržati vijabilnost najmanje godinu dana. Na taj način predstavljaju primarni inokulum i u vrijeme povoljnih uvjeta zaraze biljku. Velik broj konidija koje se šire vjetrom nastaje na naličju lista, ali i prskajući vodom, oruđem, odjećom radnika, a pretpostavlja se i kukcima. U kapljici vode započinje klijanje konidija na naličju lista ili pri relativnoj vlazi većoj od 85 % i temperaturi od 10 do 32 °C (optimalno od 22 do 24 °C). Konidija stvara nepravilnu tanku i usku hifu koja nepravilno raste na lisnoj površini, a nakon otprilike tri dana hife ulaze u list rajčice kroz otvorene puči. Hife se šire i rastu u intercelularnom (međustaničnom) prostoru mezofilnih stanica (apoplasta) formirajući duge, razgranate strukture. U periodu od 10 do 15 dana nakon

penetracije, konidiofori se izdižu iz pući i stvaraju veliki broj jednostaničnih ili višestaničnih konidija koje se oslobađaju putem vjetra ili vodom te su sposobne ostvariti sekundarne zaraze lista. Prvi simptomi pojavljuju se 15 dana nakon ulaska gljive u biljno tkivo (Novak, 2016).

Simptomi se najčešće ostvaruju na listovima rajčice, a nešto rjeđe mogu biti zaraženi plodovi, cvjetovi, stabljika i peteljke. Simptomi na drugim dijelovima biljke se pojavljuju 10 do 15 dana nakon pojave na donjim listovima (starijim listovima) te se tad šire na mlađe listove, što je jedan od razloga zašto se bolest ne uočava na vrijeme. Na licu lista pojavljuju se svijetlozelene do žute pjege koje su nepravilnog oblika i veličina. Na istom mjestu ali na naličju lista pojavljuje se maslinasto-zelena baršunasta prevlaka koja je nastala od brojnih sporonosnih organa (konidiofora i konidija). Ako se zaraza ostvari u kratkom vremenu i zbog obilne sporulacije, listovi se počinju sušiti, a epifitocija završava defolijacijom biljaka. Kod izrazito jakih zaraza simptomi se uočavaju na cvjetovima, peteljkama i plodovima. Cvijet se zarazi preko tučka ili prašnika te se suše i otpadaju. Zaraza zelenih i zrelih plodova moguća je uz peteljkovinu i na mjestima gdje je došlo do oštećenja ploda. Nakon ostvarene zaraze ploda, patogen prodire u unutrašnjost ploda gdje dolazi do sjemena (Novak, 2016).

2.4.3. Suzbijanje

Osnovna i najpraktičnija mjera sprječavanja zaraze gljivom *F. fulva* je sadnja hibrida rajčice otpornih na patotipove gljive. Osim uzgojem otpornih kultivara, uspješno se suzbijanje može postići kombinacijom preventivnih mjera zaštite, dezinfekcijom zaštićenog prostora prije sadnje rajčice i pravovremenom uporabom fungicida. Osnovne agrotehničke mjere u kontroli su uklanjanje zaraženih biljnih ostataka i plodored. Zbog razvijanja bolesti pod visokom relativnom vlagom zraka, potrebno je smanjiti relativnu vlagu zraka prozračivanjem zaštićenih prostora, izbjegavanjem prskanja biljaka vodom da bi se izbjegla vlažnost listova. Uočavanje simptoma na vrijeme i stalna kontrola nasada spriječit će daljnje širenje bolesti. Početni stadiji zaraze često prođu neopaženo i fungicidi se ne upotrijebe na vrijeme zbog toga što se prvi simptomi pojavljuju na naličju lista. Važna mjera zaštite je i uklanjanje zaraženog biljnog materijala iz proizvodnog nasada da se smanji infekcijski potencijal. Prilikom sakupljanja zaraženih dijelova biljke obavezno je koristiti rukavice i zaštitnu masku (Novak i Miličević, 2010).

Pri pojavi simptoma, važno je da se prije uklanjanja zaraženih dijelova biljke, biljku tretira fungicidom. Kod visokih hibrida rajčice provodi se višekratna berba, a prvi simptomi se pojavljuju već kod plodonošenja ili tijekom same berbe, što je otežavajuće za izbor fungicida zbog karence. Karence je vrlo bitna, jer najjači napad bolesti dolazi u vrijeme berbe (Novak,

2016). U Tablici 2.4.3.1. prikazana su registrirana sredstva za suzbijanje baršunaste plijesni lista rajčice.

Tablica 2.4.3.1. Registrirani fungicidi za suzbijanje baršunaste plijesni lista rajčice

Aktivna tvar	Trgovački naziv fungicida	Karenca	Proizvođač
Difenkonazol	ARGO	7 dana	Sharda Cropchem Limited
Difenkonazol	DIFCOR	7 dana	Globalchem
Tetrakonazol	DOMARK 40 ME	4 dana	Isagro S.p.a.
Azoksistrobin	ORTIVA	3 dana	Syngenta Agro d.o.o.
Tiofanat-metil	TOPSIN	3 dana	Nisso Schemical
Azoksistrobin	ZAKEO 250 SC	3 dana	Syngenta Agro d.o.o.
Azoksistrobin	ZAFTRA AZT 250 SC	3 dana	Syngenta Agro d.o.o.

3. Materijali i metode

Laboratorijsko istraživanje provedeno je akademske godine 2020./2021. u mikološkom laboratoriju Zavoda za fitopatologiju, Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. U provedenom istraživanju testiran je antagonistički i antibiotski utjecaj autohtonog izolata *Trichoderma koningiopsis* STP1 na patogenu vrstu *Fulvia fulva*. Istraživanje antagonizma provedeno je metodom „dvojnih kultura“ (eng. dual cultures), a antibioze „testom volatilnih metabolita“. Pokus je postavljen u shemi slučajnog bloknoeg rasporeda s tri varijante u tri repeticije u oba testa. Na taj način je ukupno iskorišteno 18 petrijevki s PDA (engl. potato dextrose agar; Biolife Italiana Srl., Italija) supstratom. Varijante te njihove šifre navedene su u tablici 3.1.

Korišteni su izolati gljiva zbirke izv. prof. dr. sc. Topolovec-Pintarić. Autohtoni izolat STP1 vrste *T. koningiopsis* izoliran je iz rizosfernog sloja oranice, a izolat patogene vrste *F. fulva* iz zaražene rajčice, sorte Belle u hidroponskom uzgoju na lokalitetu Donja Lomnica. Za potrebe pokusa svi izolati su umnažani uzgojem u petrijevim zdjelicama promjera 10 cm na PDA supstratu uz inkubaciju u klima komori bez prisutnosti svijetla i na 25 °C. U tablici 3.1. prikazane su varijante koje su korištene u istraživanju antagonizma i antibioze *Trichoderma koningiopsis* prema *Fulvia fulva*.

Tablica 3. 1. Varijante istraživanja antagonizma i antibioze *Trichoderma koningiopsis* prema *Fulvia fulva*

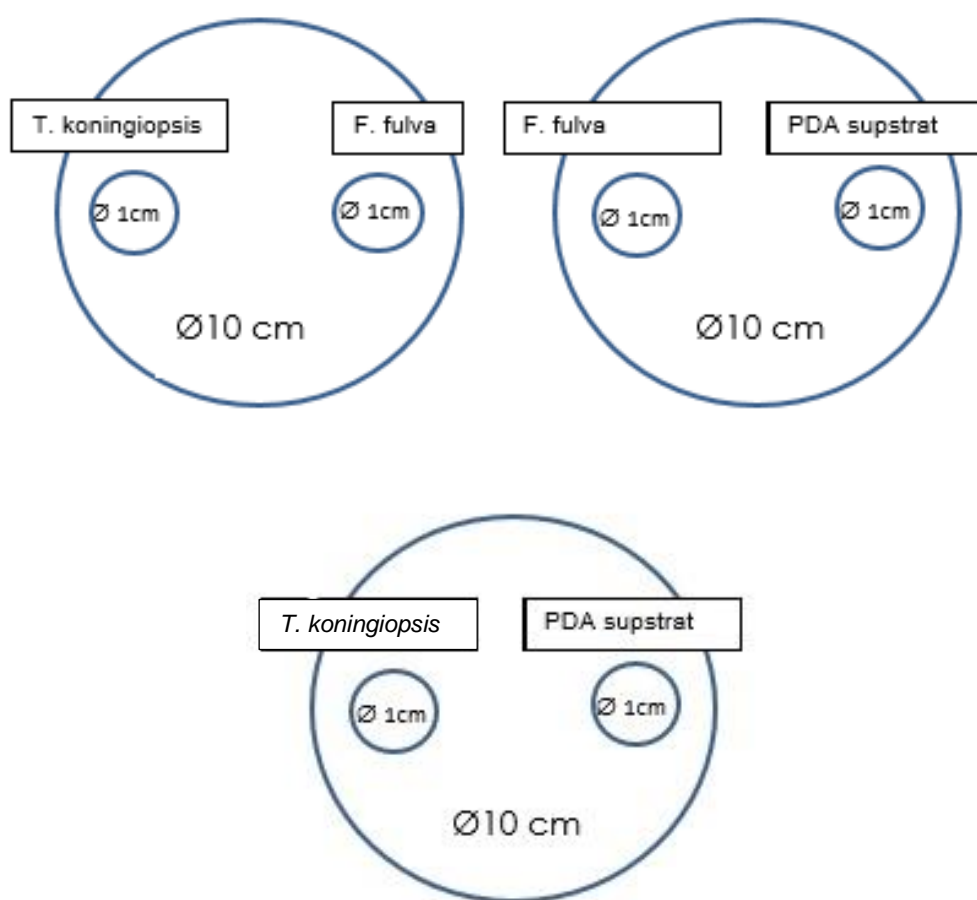
Br.	Varijanta	Šifra
1.	<i>Trichoderma koningiopsis</i> + <i>Fulvia fulva</i>	STP1 + FF
2.	Kontrola: <i>Fulvia fulva</i> + PDA disk	K - STP1
3.	<i>Trichoderma koningiopsis</i> + PDA disk	K – FF

3.1. Testiranje antagonizma

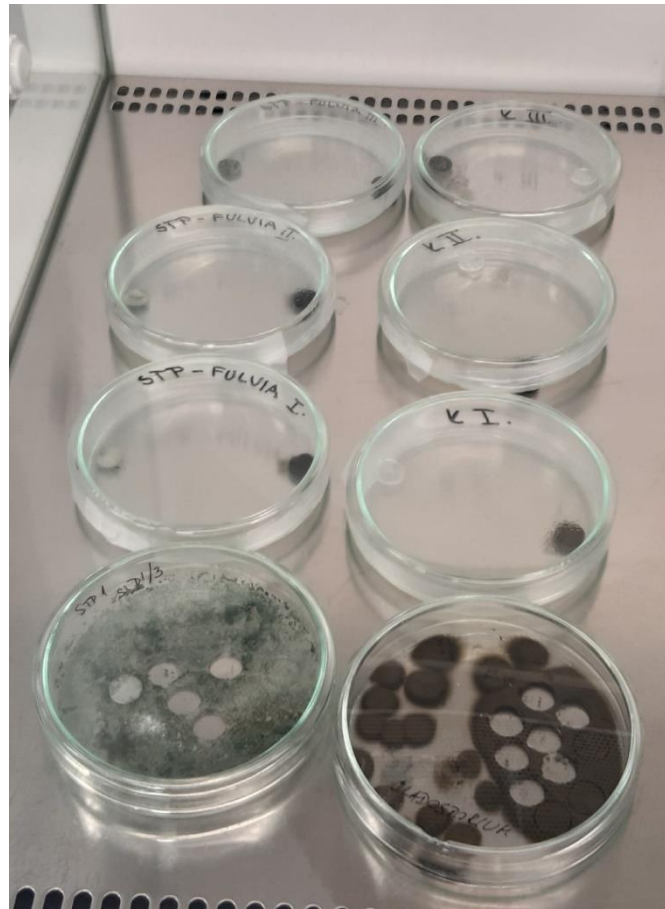
Istraživanje je provedeno testom „dvojnih kultura“ (eng. dual cultures) prema Porras i sur. (2002). Test dvojnih kultura namijenjen je utvrđivanju antagonizma između gljivičnih vrsta. Utvrđuje se kompeticija za hranjivi supstrat te mikoparazitacija micelarnih kultura.

Sukladno protokolu metode korištene su kulture stare 4 dana *T. koningiopsis* i *F. fulva* bile su uzgojene u čistoj kulturi PDA supstrata u petrijevim zdjelicama promjera 10 cm u klima-

komori pri temperaturi od 25 °C u mraku, a za potrebe istraživanja. Istraživanje je provedeno u sterilnim uvjetima komore za sterilan rad, tzv. laminaru. Sterilnim kružnim sjekačem izrezani su micelarno-agarski diskovi promjera 1 cm u kulturama obje gljivične vrste. Diskovi su ezom prenijeti na PDA supstrat petrijevke, na način da se strana s micelijem polaže na supstrat. Uz lijevi rub petrijevke polagan je micelarni disk *T. koningiopsis*, a s desne strane micelarni disk *F. fulva*. U kontrolnim petrijevim zdjelicama umjesto antagonista *T. koningiopsis* u varijanti K-FF ili *F. fulvum* u varijanti K-STP1 postavljani su sterilni agarski diskovi (PDA) (Slika 3.1.1.). Na slici 3.1.2. prikazani su fotografirane petrijevke antagonizma *Trichoderma koningiopsis* i *Fulvia fulva* i kontrola *Fulvia fulva*.



Slika 3.1.1. Shematski prikaz izvedbe testiranja antagonizma



Slika. 3.1.2. Antagonizam *Trichoderma koningiopsis* na *Fulvia fulva* (lijevo) i kontrola *Fulvia fulva* (desno)

3.2. Testiranje antibioze

Istraživanje je provedeno testom „dvojnih kultura“ za utvrđivanje hlapivih metabolita (eng. volatile production) prema Dennis i Webster (1971). U ovom testu su također korištene četiri dana stare kulture *T. koningiopsis* i *F. fulva*. U istu petrijevku promjera 10 cm polažu se diskovi obje gljivične kulture, antagonista *T. koningiopsis* i odabrane fitopatogene vrste *F. fulva*. Disk antagonista polagan je na PDA supstrat izliven na poklopac petrijeve posude, a disk odabranog patogena na PDA supstrat u zdjelici. U kontrolnim petrijevkama, ovisno o varijanti K-STP1 ili K-FF, su umjesto jedne gljivične vrste postavljeni sterilni agarski disk, vidljivo na slici 3.2.1. na kojoj je prikazan shematski prikaz antibioze.

Inokulirane petrijeve zdjelice zatvorene su parafinskom trakom (Parafilm, Brand GMBH+CO KG, Njemačka) radi sprječavanja otvaranja i time kontaminacije inokuliranih petrijevih zdjelica. Zatvorene petrijeve zdjelice inkubirane su u klima-komori 7 dana u mraku,

na temperaturi od 25 °C. Na slici 3.2.2. prikazano je testiranje antibioze, odnosno porast *Fulvia fulva* u prisutnosti *Trichoderma koningiopsis*.

○ Prikupljanje rezultata

Sedmog dana pokusa prikupljani su rezultati mjerenjem minimalnog i maksimalnog promjera izraslih micelarnih kolonija u svim petrijevkama kojih je izračunata srednja vrijednost rasta kolonije. Dobivene srednje vrijednosti radijalnog porasta kolonija uvrštene su u formulu za izračun indeksa inhibicije prema Roys i Ries (1978) :

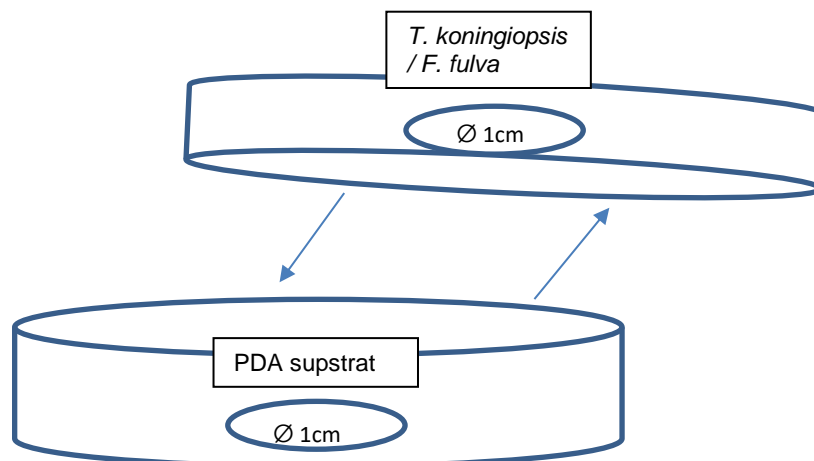
$$I(\%) = \frac{(a - b)}{a} \times 100$$

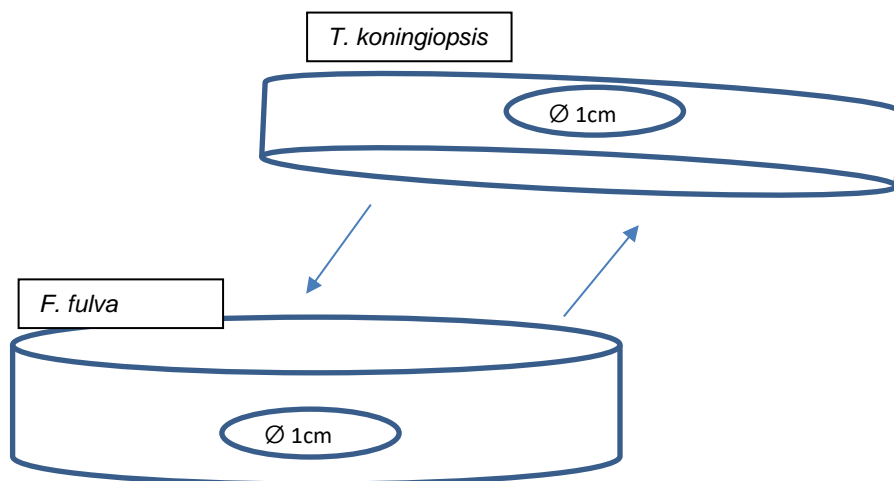
I= Indeks inhibicije

a = srednja vrijednost radijalnog porasta patogena u kontroli

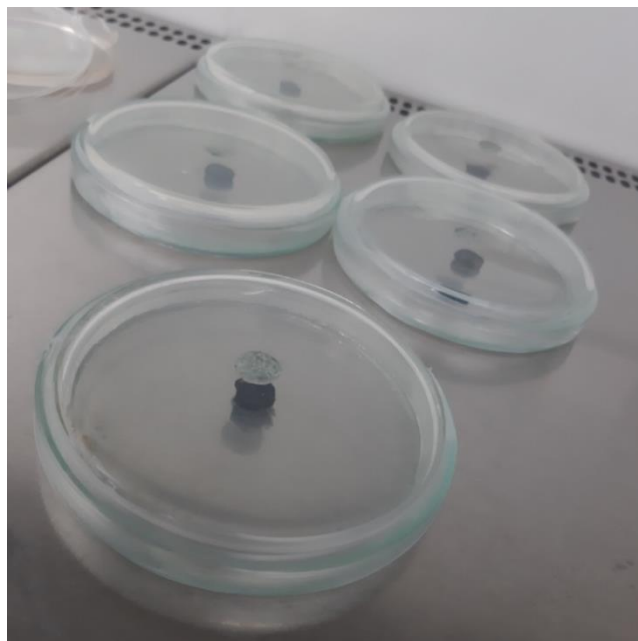
b = srednja vrijednost radijalnog prostora patogena u prisutnosti antagonista

Indeks inhibicije vrednuje visinu antagonističkog učinka antagonista temeljem rasta fitopatogene vrste u njegovoj prisutnosti. Signifikantnim i zadovoljavajućim antagonističkim djelovanjem prema autorima metode smatra se vrijednost indeksa inhibicije u vrijednosti od 50 % i više.





Slika 3.2.1. Shematski prikaz izvedbe testiranja antibiotike



Slika. 3.2.2. Testiranje antibiotike: porast *Fulvia fulva* u prisutnosti *Trichoderma koningiopsis*

4. Rezultati i rasprava

Antagonistički učinak autohtonog izolata *Trichoderma koningiopsis* na fitopatogenu vrstu *Fulvia fulva* je vrednovan kroz antagonizam tj. mehanizme kompeticije za prostor i hranjiva te mikoparazitacije i antibiozu tj.-antifungalni utjecaj hlapljivih metabolita.

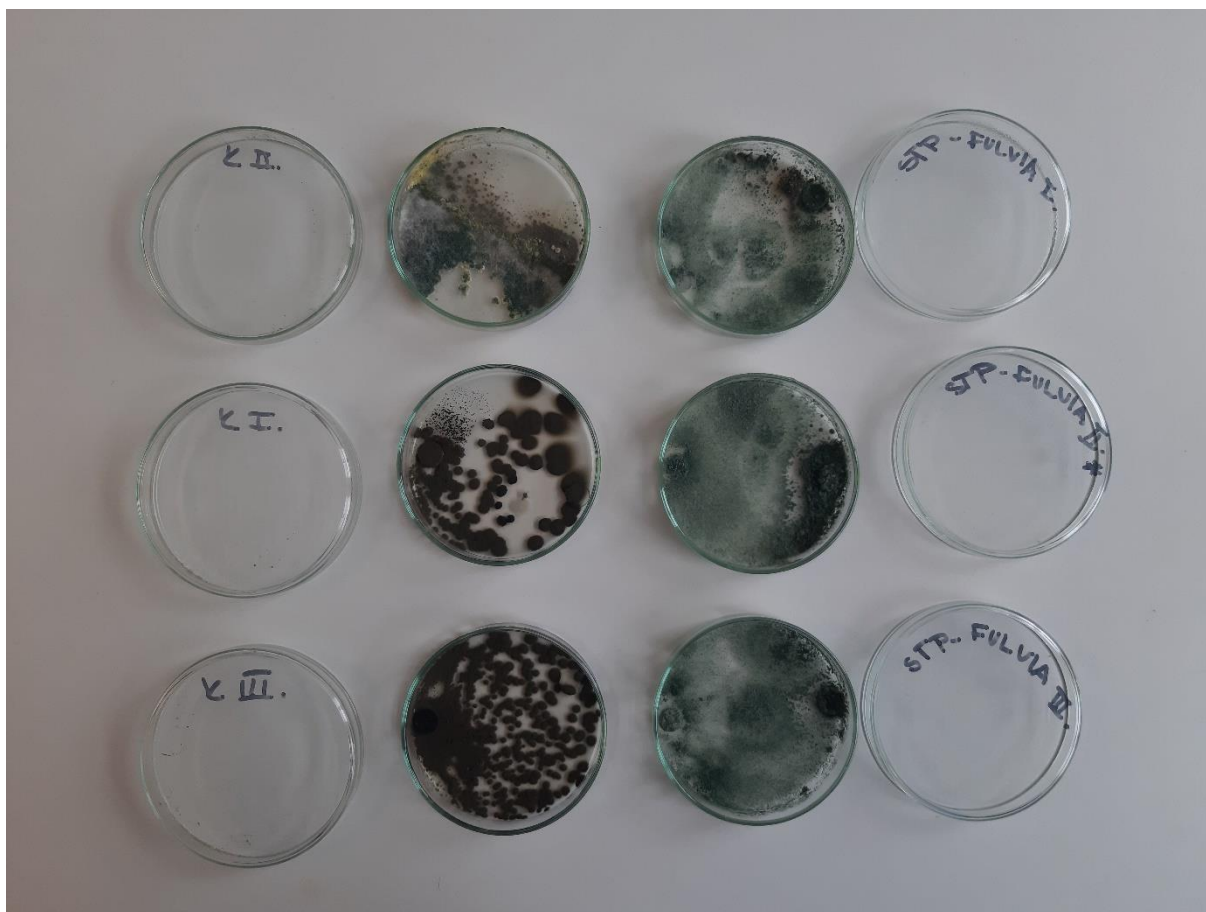
4.1. Testiranje antagonizma

Porast micelarne kolonije izolata *F. fulva* u prisutnosti antagonista *Trichoderma koningiopsis* bio je u rasponu od najmanjeg promjera koji je iznosio 1 mm pa do najvećeg koji je iznosio 16 mm. Srednja vrijednost radijalnog porasta iznosila je 8,67 mm. U kontrolnoj varijanti K-FF srednja vrijednost radijalnog porasta patogena *F. fulva* iznosila je 90 mm. Micelarna kolonija *T. koningiopsis* je i u dvojnim kulturama s *F. fulva*, kao i u kontroli, maksimalno u sedam dana prerasla petrijevu zdjelicu tj. izmjeren je porast 100 mm. Takav rast potvrda je mikoparazitiranja *T. koningiopsis* STP1 na koloniji *F. fulva*. Jak antagonistički utjecaj izolata STP1 potvrđen je visokim indeks inhibicije patogena *F. fulva* od 90,36 %. Rezultati su prikazani u tablici 4.1.1., dok je na slici 4.1.1. prikazano testiranje antagonizma.

Tablica 4.1.1. Porast micelarnih kolonija *Trichoderma koningiopsis* i *Fulvia fulva* u dvojnim kulturama u testiranju antagonizma.

Promjer kolonije *Fulvia fulva* (mm)

Varijanta	STP1+FF		K - FF		K-STP1	
	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX
1.	7	13	85	95	100	100
2.	12	16	86	94	100	100
3.	1	3	85	95	100	100
\bar{x}	8,67		90		100	
I (%)	90,367		/		/	



Slika 4.1.1. Testiranje antagonizma : kontrolne petrijevke *F. fulva* (lijevo) i test petrijevke (desno)

4.2. Testiranje antibioze

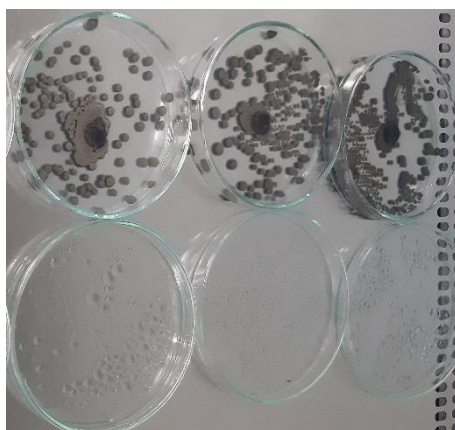
Brzi rast *T. koningiopsis* STP1 je bio izražen i u ovom testu. Porast micelarne kolonije izolata *F. fulva* u prisutnosti *T. koningiopsis* iznosio je između 14 i 33 mm. Srednja vrijednost radijalnog porasta patogena iznosila je 21,6 mm. U kontrolnoj varijanti K-FF srednja vrijednost radijalnog porasta patogena *F. fulva* iznosila je 84 mm, dok je u kontrolnoj varijanti K-STP1 srednja vrijednost radijalnog porasta *T. koningiopsis* iznosila 100 mm.

Indeks inhibicije patogena *F. fulva* iznosio je 62,4 % čime je potvrđena prisutnost hlapljivih metabolita *T. koningiopsis*, kao i jaki antifungalni učinak na *F. fulva*. Rezultati su prikazani u tablici 4.2.1., a na slikama 4.2.1. i 4.2.2. prikazana je antibioza s kontrolnim petrijevkama *Fulvia fulva* i antibioza *Trichoderma koningiopsis* i *Fulvia fulva*.

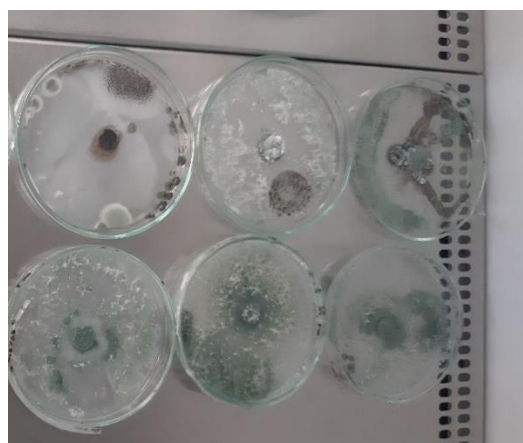
Tablica 4.2.1. Rezultati antibiotskog utjecaja *Trichoderma koningiopsis* na *Fulvia fulva*.

Promjer kolonije *Fulvia fulva* (mm)

Varijanta	STP1+FF		K - FF		K-STP1	
	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX
1.	21	33	59	81	100	100
2.	16	21	82	90	100	100
3.	14	22	92	100	100	100
\bar{x}	21,6		84		100	
I (%)	62,4		/		/	



Slika 4.2.1. Testiranje antibioze: kontrolne petrijevke *Fulvia fulva*



Slika 4.2.2. Testiranje antibioze: dvojne kulture *Fulvia fulva* (gornji red, poklopac petrijevki) i *Trichoderma koningiopsis* (donji red, zdjelica petrijevke)

Na temelju provedenog laboratorijskog testiranja antagonističkog učinka autohtonog izolata vrste *Trichoderma koningiopsis*, utvrđeno je da je izolat *T. koningiopsis* inhibirao rast i razvoj izolata patogena u klasičnoj metodi dvojnih kultura za proučavanje antagonizma te antibioze.

Budući da je optimalna temperatura za rast i razvoj micelarne kolonije antagonističke vrste *T. koningiopsis* 25 do 35 °C, za očekivati je kako će *T. koningiopsis* pokazati dobra antagonistička svojstva pri temperaturi inkubacije od 25 °C. U klasičnoj metodi dvojnih kultura pri 25 °C, antagonist *T. koningiopsis* je ostvarila je zadovoljavajući postotak indeks inhibicije od 90,367 % patogenog izolata *F. fulva* putem mehanizama mikoparazitizma i antagonizma, dok je prisutnost volatila provedena kroz test za utvrđivanje produkcije volatila.

U testu antibioze, provedenom za utvrđivanje produkcije volatila utvrđeno je antibiotsko djelovanje izolata *T. koningiopsis* u kojem inhibira rast i razvoj izolata *F. fulva*. Indeks inhibicije patogena u testu za utvrđivanje produkcije volatila iznosio zadovoljavajućih 62,4 %.

Fitopatogena gljivična vrsta *F. fulva* ekonomski je značajan uzročnik bolesti porodice *Solanaceae*, posebice rajčice, stoga je potrebna stalna zaštita usjeva. Klasična upotreba fungicida dovodi do rezistentnosti te nemogućnosti korištenja istih u ekološkoj proizvodnji, zato se teži biološkom suzbijanju bolesti. Budući da je autohtoni izolat *T. koningiopsis* ostvario dobre rezultate u istraživanju, postoji mogućnost da se u idućim istraživanjima dokaže postojanost i spektar njegovog djelovanja kako u laboratoriju tako i u zaštiti usjeva u polju, kao i u samim zaštićenim prostorima.

Jargalsaikhan i sur. (2020) su u istraživanju *Trichoderma citrinoviride* i *Cladosporium fulvum* metodom dvojnih kultura za testiranje antagonizma u 4 repeticije, pri temperaturi od 25 °C u 7 dana, utvrdili indeks inhibicije patogena u vrijednosti višoj od 60 % što znači da je *T. citrinoviride* signifikantno inhibirao rast *Cladosporium fulvum* mikoparazitacijom i kompeticijom.

Godine 2010. Elad je istraživao biokontrolu gljivičnih bolesti *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* i *Cladosporium fulvum* pomoću *Trichoderma harzianum* T39. *Cladosporium fulvum* je bio tretiran u zaštićenom prostoru gdje se uzgajala rajčica, a *Trichoderma harzianum* se koristila kao biokontrolni pripravak (TRICHODEX). Istraživanje je provedeno uz suzbijanje fungicidima, gdje su različite doze aktivnih tvari biokontrolnog pripravka TRICHODEX (0,2g/l, 0,4g/l) pokazale vrlo sličnu djelotvornost na istraživane patogene. Utvrđeno je znatno smanjenje rasta triju istraživanih gljivičnih vrsta, što omogućuje

da se biokontrolni pripravak još dodatno istraži u uvjetima *in vivo* te *in vitro*, kako bi se dobili kvalitetniji dokazi o dozaciji i utjecaju fungicida na sam biokontrolni pripravak.

Daljnjim istraživanjima u laboratorijskim uvjetima *in vitro* trebala bi se ispitati postojanost i spektar djelovanja *T. koningiopsis*, a u uvjetima *in vivo* reakcije u prirodnim uvjetima u živoj biljci i tijekom umjetnih inokulacija u zaštićenim prostorima. Iz ostvarenih rezultata istraživanja može se utvrditi da je *T. koningiopsis* potencijalni kandidat za biološko suzbijanje.

5. Zaključak

Temeljem provedenog istraživanja u kojem je testiran antagonistički učinak autohtonog izolata STP1, vrste *Trichoderma koningiopsis* na fitopatogenu gljivu *Fulvia fulva* metodom dvojnih kultura te testom volatila, može se zaključiti slijedeće:

1. Izolat *T. koningiopsis* signifikantno je inhibirao rast i razvoj patogena *F. fulva* u metodi dvojnih kultura i inkubaciji na 25 °C (I=90,367 %).

2. Metodom dvojnih kultura potvrđena je antibioza i mikoparazitizam, izolata *T. koningiopsis* naspram patogena *F. fulva*.

3. Istraživanjem je prihvaćena postavljena hipoteza kako će izolat *T. koningiopsis* potisnuti i antibiotski djelovati na suprotstavljenog patogena *F. fulva*.

4. Antagonistički izolat *T. koningiopsis* pokazao je vrlo dobro djelovanje hlapljivih tvari na patogenu vrstu *F. fulva* (I =62,4 %). Tim istraživanjem je dokazana antibiotska sposobnost suprotstavljenih izolata bez direktnog kontakta micelija.

5. Metoda dvojnih kultura pogodna je za istraživanje obostranog odnosa dviju istraživanih vrsta koje se dovode u odnos antagonist – patogen.

6. Testom volatila utvrđeno je djelovanje hlapljivih tvari na patogenu vrstu *F. fulva* te se također čini pogodnim za istraživanje kao i za dopunu i provjeru dobivenih rezultata metodom dvojnih kultura.

6. Popis literature

1. Anderson J.G., Smith J.E. (1971). The production of conidiophores and conidia by newly germinated conidia of *Aspergillus niger* (microcycle conidiation). *Microbiology society* 69: 185-197
2. Anonymus (1968). *Plant Pathologist's Pocketbook*. The Commonwealth Mycological Institute Kew Surrey Eng Commonwealth Mycological Institut
3. Benitez T., Rincon A.M., Limon M.C., Codon A.C. (2004). Biocontrol Mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology* 7: 249-260.
4. Bissett J. (1984). A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Longibrachiatum* sect. nov. *Can. J. Bot.* 62: 924-931.
5. Bissett J. (1991a) A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Canadian Journal of Botany* 69(11), 2357–2372.
6. Bissett J. (1991b) A revision of the genus *Trichoderma*. III. Sect. *Pachybasium*. *Canadian Journal of Botany*. 69(11), 2373-2417.
7. Bissett J. (1991c). A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Additional notes on section *Longibrachiatum*. *Canadian Journal of Botany*. 69(11), 2418-2420.
8. Bissett J. (1992). *Trichoderma atroviride*. *Canadian Journal of Botany*. 70, (3), 639-641.
9. Bissett J., Gams W., Jaklitsch W., Samuels G.J. (2015) Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. *IMA Fungus* 6 (2):263-295.
10. Cai F., Druzhinina I.S. (2021) In honor of John Bissett: authoritative guidelines on molecular identification of *Trichoderma*. *Fungal Diversity* <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00464-4>
11. Chen J.-L., Liu K., Miao C.-P., Sun S.-Z., Chen Y.-W., Xu L.-H., Guan H.-L., Zhao L.- X. (2016). Salt tolerance of endophytic *Trichoderma koningiopsis* YIMPH30002 and 36 its volatile organic compounds (VOCs) allelopathic activity against phytopathogens associated with *Panax notoginseng*. *Annals of Microbiology*. 66: 981-990.
12. Crous P. W., Braun U., Schubert K., Groenewald J. Z. (2007). The genus *Cladosporium* and similar dermaticeous hyphomycetes. CBS Fungal Biodeverity Centre, The Netherlands, 137.
13. Cvjetković B. (1977). *Fulvia fulva* (Cooke) Cif. *Biljna zaštita*, 4: 160-161
14. Cvjetković B. (2004). Društvene vijesti Izvješće 48. seminara biljne zaštite. *Glasilo biljne zaštite*, 4: 260-261
15. De Vries G. A. (1952). Contribution to the knowledge of the genus *Cladosporium* Link ex Fr. Baarn – Uitgeverij & Drukkerij Hollandia, 121
16. Dennis C., Webster J., (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: II Production of volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*:51-58

17. Druzhinina I. S., Kopchinskiy A. G., Kubicek C. P. (2006). The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience*. 47: 55-64.
18. Elad Y., Kapat A. (1999.) The Role of *Trichoderma harzianum* Protease in the Biocontrol of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology* 105: 177-189
19. Elad Y. (2000). *Trichoderma harzianum* T39 Preparation for Biocontrol of Plant Diseases- Control of *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum*, *Biocontrol Science and Technology*, 10:4; 499-507.
20. Ellis M. B. (1971). *Dematiaceus Hyphomycetes*. CMI, London, 306-307
21. Ellis, R. J., Timms-Wilson, T. M., Bailey, M. J., (2000). Identification of conserved traits in fluorescent *Pseudomonads* with antifungal activity. *Environmental Microbiology*, 2: 274-284.
22. Gams W., Bissett, J. (1998) Morphology and identification of *Trichoderma*. In: *Trichoderma and Gliocladium. Basic biology, taxonomy and genetics*. 3-34
23. Gardner M. W. (1925). *Cladosporium* Leaf Mold of tomato, fruit invasion and seed transmission. *The Journal of Agricultural Research* 31(6):519-540
24. Gašić K., Obradović A. (2012). Indukovana otpornost biljaka. *Ratar. Povrt.* 49:3 (2012) 326-334 https://www.researchgate.net/publication/272904229_Induced_plant_resistance e> Posjećeno: 20. Srpnja 2021
25. Grahovac M., Inđić M., Lazić S., i Vuković S. (2009). Biofungicidi i mogućnosti primene u savremenoj poljoprivredi. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za fitomedicinu i zaštitu životne sredine.
26. Guba E. F., Rackemann F. M. (1938). Species of *Cladosporium* on tomato and allergic response in man as an aid to their identification. *Mycologia*, 30(6):625-634
27. Gupta V. K., Ayyachamy M. (2012). *Biotechnology of Fungal Genes*, . Posjećeno: 16. srpnja, 2021.
28. Harman G. (2006.) Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*. 96: 190-4
29. Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*. 2: No. 1. 43–56.
30. Hjeljord L, Tronsmo A. (1998.) *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: Harman GE, Kubicek CP, editors. *Trichoderma and Gliocladium*. London: Taylor and Francis; . 131–52.
31. Hoitink A. J., Changa M. (2004.) Production and utilization guidelines for disease suppressive composts. *Acta Horticulturae*. 635. 87-92.
32. Holiday P., Mulder J. L. (1976). *Fulvia fulva*, CMI Descriptions of Pathogenetic Fungi and Bacteria. No. 481

33. Howell, C. R. (2003). Mechanisms Employed by Trichoderma Species in the Biological Control of Plant Diseases: The History and Evolution of Current Concepts. *Plant Disease*, 87: 4-10
34. Howell, C.R., Stipanovic, R. D., Lumsden, R. D., (1993). Antibiotic production by strains of *Gliocladium virens* and its relation to the biocontrol of cotton seedling diseases. *Biocontrol Science and Technology*, 3: 435-441.
35. Ivić D. (2014). Agrotehničke, mehaničke i fizikalne mjere u zaštiti bilja od bolesti. *Glasilo biljne zaštite*. 14: No. 5. 391-399. <<https://hrcak.srce.hr/169294>> Pristupljeno 16.7.2021.
36. Ivić D. (2021.) Eska vinove loze i novi pristupi u zaštiti od eske. *Glasilo biljne zaštite*. 21: No. 2. 355-359.
37. Jargalsaikhan, A., Janchiv, T., Myagmarsaikhan, G., Gantsolmon, E., & Khureldagva, O. (2020). Study on Trichoderma Citrinoviride 31/4 – Antagonistic Activity and Jasmonic Acid. *European Journal of Agriculture and Food Sciences*, 2(6). <https://doi.org/10.24018/ejfood>
38. Jones J. B., John Paul Jones, Stall R. E., Zitter T. A. (1993). Compendium of Tomato Disease (Leaf Mold = *Fulvia fulva* (Cooke) Cif., 18). APS Press., St. Paul, USA, 73
39. Jovičić – Petrović J. (2014). Gljive iz industrijskog otpada kao antagonisti fitopatogenim gljivama. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu. Poljoprivredni fakultet.
40. Junaid J. M., Dar N. A., Bhat T. A., Bhat A. H., Bhat M. A. (2013). Commercial Biocontrol Agents and Their Mechanism of Action in the Management of Plant Pathogens. *International Journal of Modern Plant & Animal Sciences*. Vol: No. 2. 39-57.
41. Kapat A., Zimand G., Y. (1998). Biosynthesis of pathogenicity hydrolytic enzymes by *Botrytis cinera* during infection of bean leaves and in vitro. Cambridge University Press. 102(8).
42. Kredics L., García Jimenez L., Naeimi S., Czifra D., Urbán P., Manczinger L., Vágvölgyi C., Hatvani L. (2010). A challenge to mushroom growers: the green mould 37 disease of cultivated champignons. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. FORMATEX. 295-205.
43. Kubicek C.P., Harman G.E., (1998.). *Trichoderma and Gliocladium: Basic Biology, Taxonomy and Genetics*. 1st ed. London: Taylor & Francis e-Library.
44. Kumar J., Pundhir V. S. (2009). Recent advances in biological control of plant diseases. *Centre of advanced studies in plant pathology*, . Posjećeno: 20. Srpnja 2021.
45. Lapaire C., Dunkle L. (2003.) Microcycle conidiation in *Cercospora zae-maydis*. *Phytopathology*. 93:193-199
46. Latorre, B. A., Lillo, C., Rioja, M. E., (2001). Eficacia de los tratamientos fungicidas para el control de *Botrytis cinerea* de la vid en función de la época de aplicación. *Ciencia e Investigacion Agraria*, 28: 61-66.

47. Lewis J. A., G. Papavizas G. C. (1983.) Production of chlamydospores and conidia by *Trichoderma* spp in liquid and solid growth media. *Soil Biology and Biochemistry*. 15: 351-357
48. Marijić M. (2019.) Antifungalni utjecaj askomicete *Trichoderma koningiopsis* na *Fusarium equiseti* i *Fusarium avenaceum*, Diplomski rad, Agronomski fakultet, Zagreb
49. Maceljski, M., Cvjetković, B., Ostojić, Z., Igrc Barčić, J., Pagliarini, N., Oštrec, Lj., Barić, K., Čizmić, I. (2004): Štetočinje povrća. Čakovec: Zrinski, 1-516.
50. Martinko K. (2015). Interakcija *Trichoderma viride* i *Fusarium solani* u prisutnosti Raxil TM GEL 206, Diplomski rad, Agronomski fakultet, Zagreb.
51. Mijatović M. (1964). Biologija i suzbijanje *Cladosporium fulvum* (Cooke) parazita crvenog patlidžana. Doktorska dizertacija, Poljoprivredni fakultet Beograd
52. Miličević, T. i Kaliterna, J. (2014). Biološko suzbijanje bolesti kao dio integrirane zaštite bilja. *Glasilo biljne zaštite*, 14(5): 410-415. Preuzeto s <https://hrcak.srce.hr/169296>
53. Mukherjee A. K., Horwitz B. A., Singh U. S., Schmoll M. (2012). *Trichoderma: Biology and Applications*, . Posjećeno: 15. Srpnja 2021.
54. Mycobank (2021. a). *Fulvia fulva*. [online] Pristupljeno 18. kolovoza, 2021
55. Mycobank (2021. b). *Trichoderma koningiopsis*. [online] Pristupljeno 15. srpnja, 2021
56. Naher L., Yusuf U., Ismail A., Hossain K. (2014). *Trichoderma* SPP: A biocontrol agent for sustainable management of plant diseases. *Pak. J. Bot.* 46: No. 4. 1489-1493.
57. Neumann B., Laing MD. (2006). *Trichoderma: An Ally in the Quest for Soil Sustainability*. In, *Biological Approaches to Sustainable Soil Systems*. CRC Press. Boca Raton, USA
58. Novak A. (2012.) Karakterizacija patotipova gljivice *Passalora fulva* (Cooke) U. Braun & Crous uzročnika baršunaste plijesni lista rajčice u Republici Hrvatskoj, doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek
59. Novak A. (2016.) Baršunasta plijesan lista rajčice, *Glasilo biljne zaštite*, Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo – Zavod za zaštitu bilja
60. Novak A., Miličević T. (2010.) Raširenost i intenzitet zaraze rajčice gljivom *Passalora fulva* uzročnikom baršunaste plijesni lista rajčice u Hrvatskoj, *Agronomski glasnik* ISSN 0002-1954
61. Papavizas G., C. (1985). *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 23: 23-54.
62. Persoon C.H. (1974). Neuer Versuch einer systematischen Eintheilung der Schwämme. *Neues Magazin für die Botanik*. 1: 63-80. Kühn. *Plant Protection Science*. 38: 620-622.
63. Porras M., Barrau C., Santos B., Arroyo F.T., Blanco C., Romero F. (2002). Effects of Temperature on in vitro Response of *Trichoderma* Strains Against Strawberry Pathogen *Rhizoctonia solani* K

64. Racić G. M. (2017). Ekološko-biohemijska proučavanja varijabilnosti autohtonih vrsta gljiva iz roda *Trichoderma* u različitim tipovima zemljišta. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet
65. Royse D. J., Ries S. M. (1978). The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. *Phytopathology*. 68: 603-607.
66. Saba H., Vibhash D., Manisha M., Prashant K.S., Farhan H., Tauseef A. (2014). *Trichoderma* – a promising plant growth stimulator and biocontrol agent. *Mycosphere* Doi 10.5943/mycosphere/3/4/14
https://www.researchgate.net/publication/260983567_Trichoderma_-_a_promising_plant_growth_stimulator_and_biocontrol_agent> Posjećeno: 4. Kolovoza 2021
67. Samson R. A. (1989.) Filamentous fungi in food and feed. *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement*. 27S-75S
68. Samuels G.J., Jaklitsch W.M. Dodd, S.L., Druzhinina I.S. (2006). *Hypocrea rufa/Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia ><https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18490991>> Posjećeno: 10. Kolovoza 2021
69. Satou M., Shinozaki T., Nishi K., Kubota M. (2005). Leaf mold of tomato caused by races 4 and 4.11 of *Passalora fulva* in Japan. *J Gen. Plant Pathol.* 71: 436-437
70. Schuster A, Schmoll M. (2010.) Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 87(3): 787-99
71. Sharma, R. (2012). A brief review on mechanism of *Trichoderma* fungus use as biological control agents. *International Journal of Inovations and BioSciences*, 2: 200-210.
72. Skendžić S. (2018.) Antagonizam i antibioza *Trichoderma longibrachium* na *Fusarium solani* i *Alternaria solani*, Diplomski rad, Agronomski fakultet, Zagreb
73. Spangler R. C. (1924). *Cladosporium fulvum*. *Botanical Gazette* 78(3): 349-352
74. Stone A. G., Scheuerell S. J., Darby H. M. (2004). Suppression of Soilborne Diseases in Field Agricultural Systems. In: *Soil organic matter in sustainable agriculture*. (Magdoff, F., Weil, R. R., Eds.), CRC Press LLC, Boca Raton, Florida. pp. 131-178.
75. Stone, A. G., Scheuerell, S. J., Darby, H. M. (2004). Suppression of Soilborne Diseases in Field Agricultural Systems. In: *Soil organic matter in sustainable agriculture*. (Magdoff, F., Weil, R. R., Eds.), CRC Press LLC, Boca Raton, Florida. pp. 131-178.
76. Šubić M. (2005). Baršunasta plijesan rajčice. *Gospodarski list* 24. kolovoza 2021.
77. Taylor, J.W. (2011). One Fungus = One Name: DNA and fungal nomenclature twenty years after PCR. *IMA Fungus* 2, 113–120. <https://doi.org/10.5598/imafungus>.
78. Topolovec-Pintarić S. (2019). *Trichoderma*: Invisible Partner for Visible Impact on Agriculture. *Trichoderma - The Most Widely Used Fungicide*. IntechOpen. [online] Pristupljeno 28.07.2021.

79. Topolovec-Pintarić S., Žutić I., Đermić E. (2012). Enhanced plant growth by *Trichoderma harzianum* based pellets Section 4, Vegetable Growing, Ornamental, Aromatic and Medicinal Plants 47th Croatian and 7th International Symposium on Agriculture 112. University of Zagreb, Faculty of Agriculture, . Posjećeno: 21. srpnja, 2021
80. Topolovec-Pintarić S., Žutić I., Đermić E. (2012.). Enhanced plant growth by *Trichoderma harzianum* based pellets Section 4, Vegetable Growing, Ornamental, Aromatic and Medicinal Plants 47th Croatian and 7th International Symposium on Agriculture 112. University of Zagreb, Faculty of Agriculture, (<http://aas.bf.unilj.si/marec2013/10Topolovec.pdf>)
81. Topolovec-Pintarić, S., Cvjetković, B., Miličević T. (2004). Biofungicidi temeljeni na *Trichoderma* vrstama. Glasilo biljne zaštite. 4: 239-241.
82. Uphoff N., Ball A. S., Fernandes E. (2006). Biological approaches to sustainable soil systems. Taylor & Francis, Ltd, London.
83. Weindling R. (1934). Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lingorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. Phytopathology. 24: 1153-1179.
84. Yin H., Hartman G. L., Nickell C. D., Widholm J. M. (1996.) Characterization and purification of phytotoxin produced by *Fusarium solani*, the casual agent of soybean sudden death syndrome. Phytopathology. No.3 86: 277-282
85. Zeman S., Fruk G. i Jemrić T. (2011). Alelopatski odnosi biljaka: pregled djelujućih čimbenika i mogućnost primjene. Glasnik Zaštite Bilja, 34(4): 52-59. Preuzeto s <https://hrcak.srce.hr/163235>
86. Živković S. (2016). Biološka kontrola skladišnih fitopatogenih gljiva. XXI savetovanje o biotehnologiji. Zbornik radova, Vol. 21.(23)

Životopis

Tena Šuto rođena je 1. svibnja 1997. godine u Zagrebu. Djetinjstvo provodi u Kumrovcu gdje i završava osnovnu školu. Aktivno se bavila treniranjem plivanja u Tuheljskim Toplicama i natjecanjima u plivanju na području cijele Europe i Republike Hrvatske. Srednju školu upisuje 2012. godine u Zaboku, Opću gimnaziju Antuna Gustava Matoša u Zaboku koju završava 2016. godine. Iste godine upisuje Preddiplomski studij Zaštite bilja, a 2019. upisuje Diplomski studij Fitomedicine.

Tečno u govoru i pismu koristi se engleskim jezikom, njemačkim jezikom se koristi vrlo dobro u govoru i pismu, dok se slovenskim koristi vrlo dobro u govoru. Ima razvijene IT vještine poput korištenja Microsoft Office programa.

Tijekom studiranja efikasno usklađuje vrijeme za studiranje sa studentskim radom i volontiranjem. Tijekom 2017., 2018., i 2019. radi na *Godišnjem Božićnom adventu u Zagrebu*. Tokom 2018. radi u lancu trgovina Spar Hrvatska d.o.o., Zagreb i u 2021. godini radi studentski posao u Call centru u A1 Hrvatska gdje stječe komunikacijske i marketinške sposobnosti.

Slobodno vrijeme obožava provoditi s obitelji i kućnim ljubimcima, čitajući knjigu, volontirajući, pomažući starijima i djeci, gljivarenjem, istražujući prirodne ljepote uz duge šetnje i dobro društvo.