

Biološko suzbijanje biljnih bolesti

Brajković, Snježana

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:181:336172>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-23**



**ODJEL ZA
BIOLOGIJU**
Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

[Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za biologiju
Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Snježana Brajković

Biološko suzbijanje biljnih bolesti

Završni rad

Osijek, 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Department of Biology

Undergraduate university study programme in Biology

Scientific Area: Natural Sciences

Scientific Field: Biology

BIOLOGICAL CONTROL OF PLANT DISEASES

Snježana Brajković

Thesis performed at: Department of Biology

Supervisor: Melita Mihaljević, PhD, Prof.

Short abstract: The ecological approach to breeding of different cultures in agriculture is being applied all over the world and the biological control of plant diseases is one of the major measures. Biological control is the suppression of harmful activities of one organism by one or more other organisms, often called natural enemies. In this paper, different mechanisms of action of biological suppression of plant diseases have been described and in several examples the modes of action of the biological agent on some of the plant diseases have been described. Biological control agents should become an integral part of the production management of a particular culture where biological control agents are essential but the success of culture is not solely dependent on their activity.

Original in: Croatian

Key words: biological agents, antagonism, competition, microparasitism, antibiosis

Thesis deposited: on the Department of Biology website and the Croatian Digital Theses Repository of the National and University Library in Zagreb

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

BIOLOŠKO SUZBIJANJE BILJNIH BOLESTI

Snježana Brajković

Rad je izvršen na: Odjel za biologiju

Mentor: Dr. sc. Melita Mihaljević, izv. prof.

Kratak sažetak završnog rada: Ekološki pristup uzgoju raznih biljnih kultura sve se više primjenjuje u poljoprivredite je biološko suzbijanje biljnih bolesti jedna od ključnih mjera za njegovu uspješnost. Biološka kontrola je suzbijanje štetnih aktivnosti jednog organizma od strane jednog ili više drugih organizama nazvanih prirodnim neprijateljima. U ovom radu su opisani različiti mehanizmi djelovanja biološkog suzbijanja biljnih bolesti, kao što su antibioza, parazitizam i kompeticija. Opisani su načini djelovanja biopesticida na bazi gljiva, virusa i kvasaca kao i djelovanja nekih antagonističnih bakterija i gljiva na suzbijanje biljnih bolesti. Iz pregleda rezultata vidljivo je da upotreba bioloških sredstava treba postati sastavni dio kontrole biljnih bolesti čime bi se mogli poboljšati ukupni učinci biljne proizvodnje.

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: biološki kontrolni agens, antagonizam, kompeticija, mikroparazitizam, antibioza

Rad je pohranjen: na mrežnim stranicama Odjela za biologiju te u Nacionalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice u Zagrebu

Sadržaj:

1. UVOD	1
2. TEMATSKI DIO	3
2.1. Biološka kontrola biljnih bolesti	3
2.2. Mehanizmi djelovanja antagonističkih mikroorganizama	7
2.2.1. Antibioza	8
2.2.2. Kompeticija	9
2.2.3. Parazitizam	11
2.2.4. Inducirana rezistentnost	12
2.3. Podjela biopesticida i njihova upotreba	13
2.3.1. Biofungicidi na bazi gljiva	13
2.3.2. Biopesticidi na bazi virusa	14
2.3.3. Biofungicidi na bazi kvasaca	17
2.3.4. Antagonističke bakterije	19
2.3.5. Antagonističke gljive	21
3. ZAKLJUČAK	23
4. LITERATURA	24

1. UVOD

Poznato je da su insekti i gljive najznačajniji patogeni na biljnim kulturama. Posljedično se bilježi gubitak u prinosima na usjevima kao što su pšenica, riža, pamuk, proso i druge kulture, a ukupni gubitak prinosa na poljoprivrednim kulturama na svjetskoj razini procjenjuje se na oko 5-40%. Također je zadnjih godina proizvodnja mahunarki doživjela gubitke od 67% u prinosu zbog jake rezistentnosti *Helicoverpa armigera* na insekticide. Dodatno, mahunarke kao što je kikiriki, crni grah, sklone su napadu gljiva koje se nalaze u tlu kao što je *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* i druge. Šećernu trsku (*Saccharum officinarum*), koja se masovno uzgaja u Indiji, napadaju insekti kao što su *Tryporyza novella*, *Chiloinfuscatellus*, *Pyrilla perpusilla*, te značajno umanjuju prinose (Revathi i Kalaiselvi, 2011).

Različite metode koriste se za sprečavanje, ublažavanje ili kontrolu biljnih bolesti. Osim dobre agronomске i hortikulturne prakse, uzgajivači se često oslanjaju na kemijska gnojiva i pesticide što je pridonijelo spektakularnim poboljšanjima produktivnosti i kvalitete usjeva tijekom proteklog stoljeća. Međutim, onečišćenje okoliša uzrokovano prekomjernom uporabom i zlouporabom kemikalija u poljoprivredi, kao i strahovanja od strane nekih protivnika pesticida, dovelo je do značajnih promjena u stavovima ljudi prema korištenju pesticida u poljoprivredi. Danas postoje strogi propisi o korištenju kemijskih pesticida, a postoji i politički pritisak za uklanjanje najopasnijih kemikalija s tržišta.

Zbog toga su u novije vrijeme istraživanja usmjerena na razvoj alternativa sintetičkim kemikalijama za suzbijanje štetnika i bolesti. Među tim alternativama su biološke metode za suzbijanje biljnih bolesti.

Prema Miličević i Kaliterna (2014), do sada je u svijetu registrirano više od 100 bioloških pripravaka za suzbijanje biljnih patogena na bazi 14 vrsta antagonističkih bakterija i 12 antagonističkih vrsta gljiva od čega je najveći broj komercijaliziran u američkim državama. I u Hrvatskoj se sve više govori o važnosti biološke borbe protiv biljnih štetočina te biološko suzbijanje biljnih bolesti polako postaje bitan segment u integriranoj zaštiti bilja. Različite vrste bioloških sredstava su dostupne za upotrebu, ali daljnji razvoj i učinkovito usvajanje zahtijevaju veće razumijevanje složenih interakcija biljaka, ljudi i okoliša.

Cilj rada

Cilj ovog rada je pregledno prikazati načine djelovanja raznih bioloških kontrolnih agensa te predstaviti značaj biološkog suzbijanja biljnih bolesti kroz odabrane primjere do sada uspješne primjene u zaštiti biljnih kultura.

2. TEMATSKI DIO

2.1. Biološka kontrola biljnih bolesti

Općenito, pod pojmom biološke kontrole smatra se primjena prirodnih proizvoda koji su ekstrahirani ili fermentirani iz različitih prirodnih izvora. To mogu biti vrlo jednostavne smjese prirodnih sastojaka sa specifičnim aktivnostima ili kompleksne smjese s višestrukim učinkom na domaćina, kao i na patogen. Biološka kontrola biljnih bolesti s entomološkog stajališta sastoji se u korištenju živih grabežljivih insekata, entomopatogenih nematoda ili mikrobnih patogena kako bi se suzbila populacija različitih insekata štetnika. U patologiji biljaka, pojam se odnosi na upotrebu mikrobnih antagonista za suzbijanje bolesti kao i na upotrebu patogena specifičnih za domaćina za suzbijanje korova. U oba slučaja, organizam koji suzbija štetnika ili patogena, naziva se biološki kontrolni agens (kako je navedeno u radu Miličević i Kaliterna, 2014).

Prema Alabouvette i suradnici (2006), različite definicije biološke kontrole koje se nude u znanstvenoj literaturi često izazivaju konfuziju i kontroverzu. Na primjer, članovi Američkog nacionalnog vijeća za istraživanja uzeli su u obzir moderne biotehnoške promjene i odredili biološku kontrolu kao "uporabu prirodnih ili modificiranih organizama, gena ili genskih proizvoda, kako bi se smanjili učinci neželjenih organizama i pogodovali poželjnim organizmima kao što su usjevi, blagotvorni insekti i mikroorganizmi". Međutim, ova je definicija potaknula mnoge rasprave i često se smatra preširoko definiranom.

Definicije biokontrole razlikuju se ovisno o cilju supresije, broju, vrsti i izvoru bioloških agensa, kao i stupnju i vremenu ljudske intervencije. Najčešće, biološka kontrola je suzbijanje štetnih aktivnosti jednog organizma od strane jednog ili više drugih organizama, često nazvanih prirodnim neprijateljima. Što se tiče biljnih bolesti, supresija se može postići na mnogo načina. Ako se uzgajivačke aktivnosti smatraju relevantnima, u definiciju bi se mogle uključiti i poljoprivredne prakse kao što su rotacija i sadnja kultura rezistentnih na bolesti (prirodno odabranih ili genetski modificiranih). Budući da biljni domaćin reagira na brojne biološke čimbenike, kako patogena tako i nepatogena, inducirana rezistencija domaćina može se smatrati oblikom biološke kontrole.

U najužem smislu, biološka kontrola se odnosi na svrhovito korištenje uvedenih ili rezistentnih živih organizama, osim biljaka domaćina otpornih na bolesti, za suzbijanje

aktivnosti i populacije jednog ili više biljnih patogena. To može uključivati upotrebu mikrobnih inokulata za suzbijanje jednog tipa ili klase biljnih bolesti. To također može uključivati upravljanje tlama za promicanje kombiniranih aktivnosti prirodnih tala i biljnih organizama koji doprinose općoj supresiji.

U većini slučajeva biološka kontrola odnosi se na suzbijanje jednog patogena (ili štetnika), jednim antagonistom, u jednom sustavu. Biološka kontrola je ništa drugo nego ekološki menadžment skupine organizama. Uključuje iskorištavanje mikroorganizama koji utječu na biljne bolesti kako bi se poboljšalo zdravlje biljke. Suzbijanje bolesti upotrebom biljnih agenasa se sastoji od interakcija između biljke (domaćin), patogena, biološkog agensa (antagonist), mikrobiološkog sustava na i oko biljke i fizikalnog okoliša. Biološka kontrola biljnih bolesti razlikuje se od biokontrole insektima na više načina, što je vidljivo iz Tab. 1.

Tablica 1. Usporedba biokontrole biljnih bolesti agensima biološke kontrole i biokontrole insektima (preuzeto i prilagođeno iz Chandrashekara i Manivannan, 2012).

Biokontrola agensima biološke kontrole	Biokontrola insektima
Kontrola bolesti postiže se antibiozom, kompeticijom te manje hipeparazitima.	Većinom parazitima i predatorima.
Antagonisti su u većini slučajeva pasivni i nisu mobilni, kontakt s patogenom je slučajan.	Paraziti su aktivni, mobilni i traže plijen.
Za jednu vrstu patogena dostupno je više antagonista/kompetitora.	Jedan (parazit/predator) na jedan plijen.
Metoda se oslanja isključivo na nativne organizme.	Obično se uvoze paraziti/predatori iz drugih zemalja.
U velikoj mjeri se koristi sjeme bez štetočina.	Ne koristi se sjeme bez štetočina.

Iako postoje različita tumačenja što se sve može smatrati biološkim suzbijanjem biljnih patogena, uglavnom se kao **biološko suzbijanje biljnih patogena** podrazumijeva upotreba živih organizama ili njihovih produkata (Alabouvette i sur., 2006). To su prije svega različiti antagonistički mikroorganizmi, od kojih su najčešće bakterije i gljive, te manji broj gljivama slični organizama (pseudogljive), protozoa, virusa i nematoda.

Biološko suzbijanje biljnih patogena obuhvaća i suzbijanja bolesti putem same biljke, odnosno induciranjem ili stimuliranjem njihovih vlastitih obrambenih mehanizama upotrebom tzv. obrambenih aktivatora ili elicitora (salicilna kiselina i njezini derivati, jasmonati i dr.) koji induciraju obrambene mehanizme u biljkama (tvorba fitoaleksina, o patogenezis-ovisnih proteina ili PR proteina, formiranje histoloških barijera i dr.).

Također se kao biološko suzbijanje biljnih patogena može smatrati i upotreba biljnih ekstrakata različitih vrsta biljaka koji imaju toksično djelovanja na biljne patogene (tzv. botanički fungicidi). Međutim, uz sve navedeno kad se govori o biološkom suzbijanju biljnih patogena najčešće se misli na njihovo suzbijanje putem antagonističkih mikroorganizama, koje jednim imenom možemo nazvati biološkim agensima. Biološki pripravci ili **biopesticidi na bazi antagonističkih mikroorganizama** često se jednim imenom nazivaju **biofungicidi**, bez obzira na koje biljne patogene djeluju, iako se termin biofungicidi odnosi samo na suzbijanje fitopatogenih gljiva. Najviše komercijaliziranih biofungicida je na bazi antagonističkih gljiva (mikofungicidi) te na bazi antagonističkih bakterija (bakteriofungicidi i bakteriobaktericidi).

Biološka kontrola ima više prednosti u odnosu na sve druge metode kontrole biljnih bolesti, što je vidljivo iz Tab.2. U prednostima se ističe da je biološka kontrola najjeftinija u odnosu na sve ostale metode, a biološki agensi nisu toksični za biljke te su prihvatljivi za okoliš. Agensi biljne kontrole ne samo da kontroliraju biljne bolesti već pospješuju rast korijena i stabljike stvaranjem povoljne mikroflore te tako mogu doprinijeti poboljšavanju prinosa usjeva.

Tablica 2. Prednosti i nedostaci biološke kontrole biljnih bolesti (preuzeto i prilagođeno iz Chandrashekara i Manivannan, 2012).

Prednosti biološke kontrole	Nedostaci biološke kontrole
Biološka kontrola je najjeftinija u odnosu na sve druge metode.	Agensi biokontrole se mogu koristiti samo za specifične bolesti.
Agensi biološke kontrole štite usjev tijekom cijele godine.	Manje su učinkoviti u odnosu na fungicide.
Visoko su učinkoviti na specifične biljne bolesti.	Agensi biokontrole imaju sporije djelovanje u kontroli biljnih bolesti.
Nisu toksični za biljke. Upotreba agensa biljne kontrole je sigurnija za okoliš i osobu koja to sredstvo aplicira.	Trenutno je dostupan mali broj biljnih agenasa nisudostupni u većim količinama.
Lako se razmnože u tlu i ne ostavljaju probleme za sobom.	Ova metoda se koristi kao preventivna mjera
Agensi biljne kontrole mogu eliminirati patogene sa mjesta infekcije.	Agensi biokontrole bi se trebali multiplicirati i dobavljati bez kontaminacije od strane educiranog osoblja.
Agensi biljne kontrole ne samo da kontroliraju biljne bolesti već pospješuju rast korijena i stabljike stvaranjem povoljne mikroflore. Pobljšavaju prinos usjeva.	Rok valjanosti agensa biokontrole je kratak. Antagonist, <i>Trichoderma viride</i> vrijedi četiri mjeseca dok <i>Pseudomonas fluorescens</i> vrijedi samo 3 mjeseca.
Jednostavni su za korištenje.	Potrebna količina populacije agensa biokontrole se treba provjeravati periodički i održavati na količini koja odgovara učinkovitoj upotrebi.
Mogu se kombinirati sa biofertilizatorima.	Učinkovitost agensa biokontrole u velikoj mjeri ovisi o uvjetima u okolišu.
Jednostavna proizvodnja.	Agens biokontrole pod određenim uvjetima može postati patogen.

2.2. Mehanizmi djelovanja antagonističkih mikroorganizama

Biološko suzbijanje biljnih patogena temelji se na specifičnim reakcijama antagonističkih mikroorganizama (gljiva, bakterija, virusa i dr.) s biljnim patogenima, koje obuhvaćaju interakcije tipa antibioze, kompeticije (nadmetanja), parazitizma (mikoparazitizam i hiperparazitizam) i inducirane rezistentnosti (kako je navedeno u radu Miličević i Kaliterna, 2014). Postoji više vrsta antagonističkog djelovanja – direktni, mješoviti i indirektni antagonizam - s različitim mehanizmima djelovanja, kao što je prikazano u Tab. 3. Mehanizmi antagonističkog djelovanja kao što su antibioza, kompeticija i parazitizam, te inducirana rezistentnost, u nastavku se opisuju.

Tablica 3. Vrste antagonističkog djelovanja biološke kontrole biljnih patogena (preuzeto i prilagođeno iz Chandrashekara i Manivannan, 2012).

Tip	Mehanizam	Primjeri
Direktni antagonizam	Hiperparazitizam	Litički/neki nelitički mikovirusi, <i>Ampelomyces quisqualis</i> , <i>Lysobacter enzymogenes</i> , <i>Pasteuria penetrans</i> , <i>Trichoderma virens</i> .
Mješoviti antagonizam	Antibiotik	2,4-diacetilfloroglukinol, fenazini, ciklički lipopeptidi.
	Litički enzimi	hitinaze, proteaze.
	Fizikalno/kemijska interakcija	Blokiranje pora unutar tla; onemogućeno stvaranje klice.
	Kompeticija	Okupiranje izvora vode i hrane;okupiranje fizičkog okoliša
Indirektni antagonizam	Indukcija otpornosti domaćina	Kontakt sa staničnim stijenkama gljive, detekcija patogena, indukcija posredovana fitohormonom.

2.2.1. Antibioza

Antibioza je štetno djelovanje antagonističkih mikroorganizama na biljne patogene putem toksičnih produkata njihovog metabolizma u koje spadaju razni antibiotici koji pokazuju toksični ili inhibirajući efekt na biljne patogene. Između brojnih mikroorganizama koji pokazuju antibiotsko djelovanje do sada je najveći broj komercijaliziranih pripravaka na bazi bakterija, posebno vrsta rodova *Bacillus* i *Streptomyces*, koji se koriste za suzbijanje fitopatogenih gljiva (Maceljski i sur., 2004). Antibioza je osnovni mehanizam njihovog djelovanja, a supresija patogena se ostvaruje sekrecijom antibiotika i degradacijskih enzima.

Vrste roda *Bacillus* su gram-pozitivne bakterije, štapičaste, aerobne ili fakultativno anaerobne bakterije rasprostranjene širom svijeta, a prisutne su u tlu, vodi i zraku, ali i kao endofiti na površini biljnih organa. Sposobnost formiranja spora svrstava ih u grupu komercijalno isplativih antagonista. U biopreparatima su kao aktivne komponente najzastupljenije vrste *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. polymyxa* i *B. amyloliquefaciens*. Danas se vrlo uspješno koriste vrste *B. subtilis* i *B. amyloliquefaciens* u suzbijanju sljedećih fitopatogenih gljiva: *Botrytis cinerea*, *Cladosporium musae*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Penicillium expansum*, *Monilinia fructicola*, *Monilinia fructigena* (Živković i sur., 2016).

Antagonističko djelovanje bakterija roda *Bacillus* se temelji na izlučivanju antibiotika i kompleksa degradacijskih enzima širokog spektra djelovanja. Posljednjih godina registrirani su biopreparati koji kao aktivne tvari sadrže spore ili antibiotske metabolite navedenih bioloških agenasa.

Vrste roda *Streptomyces* su gram-pozitivne, filamentozne, sporogene bakterije i kao saprofiti su najprisutnije u tlu. Početkom druge polovice 20. stoljeća izoliran je veliki broj vrsta ovog roda i intenzivirana su istraživanja vezana za njihovu antibiotsku aktivnost. Eksperimenti su ukazali na čitav spektar antibiotika koje *Streptomyces spp.* proizvode, a koji osim u humanoj i veterinarskoj medicini, praktičnu primjenu mogu naći i u poljoprivrednoj proizvodnji (Kišpatić, 1992). Utvrđeno je da antibiotske aktivne skupine pripadaju grupi aminoglikozida, makrolida, β -laktama, peptida, poliena i tetraciklina. Mikroskopskim pregledom utvrđeno je da hife svih ispitivanih patogena u prisustvu

antagonista ovog roda, u početnom stadiju bubre, postaju razgranate, zadebljale i poprimaju crveni pigment. Crvena boja potom iščezava, u stijenkama hifa se nagomilava melanin. Nakon dva tjedna miceliji patogena se deformiraju i propadaju (Živković i sur., 2010).

Najznačajniji biološki agensi roda *Streptomyces* korišteni u kontroli fitopatogenih gljiva su: *S. hygroscopicus*, *S. griseoviridis*, *S. griseus*, *S. lydicus*, *S. natalensis* i *S. platensis*. Oni u *in vitro* i *in vivo* uvjetima manifestiraju snažnu inhibiciju patogena gljiva iz roda *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Gauemannomyces*, *Fusarium*, *Monilinia*, *Mucor*, *Penicillium*. Antibiotik natamicin koji proizvodi vrsta *S. natalensis* je komercijaliziran i primjenjuje se u veterini i prehrambenoj industriji, ali je ispitan i kao potencijalni biološki agens za suzbijanje slijedećih vrsta gljiva: *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Monilinia laxa* (Lu i sur., 2008).

2.2.2. Kompeticija

Kompeticija podrazumijeva nadmetanje antagonističkih mikroorganizama s biljnim patogenima, prije svega za izvore hrane, ali i za ostale potrebne čimbenike važne za život (prostor i dr.). U interakciji kompeticije antagonistički mikroorganizmi nadjačavaju biljne patogene pa se na taj način uspješno koriste kao biološki agensi ili antagonisti.

Kod primjene antagonista korijen biljke domaćina tj. rizosfera se mora naseliti organizmom koji ima funkciju biološkog suzbijanja bolesti prije nego dođe do infekcije patogenom. Takav način djelovanja pokazuje veliki broj antagonističkih gljiva i pseudogljiva, kao npr. vrste roda *Trichoderma*.

Vrsta *Trichoderma asperellum* ima višestruko pozitivno djelovanje u tlu, u svojim sekretima ima antibiotsko djelovanje te djeluje nepovoljno na štetne mikroorganizme, parazitira te uništava druge štetne gljivice u tlu poput vrsta rodova *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Fusarium* te *Sclerotinia* i prodire u hife drugih gljiva te apsorbira njihov sadržaj.



Slika 1. Primjer zaštite biljke preparatom koji sadrži gljivicu *Trichoderma asperellum* (Web 1).

Gljivice iz roda *Trichoderma asperellum* koloniziraju i zauzimaju životni prostor drugih štetnih gljivica i stvaraju biološke stimulanse te hormone (auksin, citokinin, giberlin) koji potiču bolji rast biljke i veći prinos (Chet i sur., 2006). Auksin je fitohormon čiji je glavni predstavnik indol-3-octene kiselina koja stimulira rast adventivnog korjenja (rizogeneza) i inhibira rast glavnog korijena, povećava vegetativnu masu biljke i stimulira cvjetanje. Međutim, visoka koncentracija auksina je štetna za biljku jer se sporo i nikako ne razgrađuju. Citokinin, još jedna skupina biljnih hormona je s druge strane odgovorna za odgađanje starenja, stimuliranje stanične diobe, djelovanje na sazrijevanje kloroplasta, kontroliranje apikalne meristeme te utječe na staničnu diferencijaciju. Citokinini u svojim produktima sadržavaju korisne tvari koje poboljšavaju rast biljaka, te razgrađuju nepovoljne oksidativne tvari (enzime i toksine) koje su nastale u izlučevinama mikroba i drugih štetnih organizama.

Tako je dokazano da je vrsti *Trichoderma harzianum* svojstveno da utječe na pojačan porast biljaka što se moglo uočiti na osnovu pokusa u plastenicima te je ustvrđeno povećanje porasta klijanja za 30% i korijenovog sustava tih biljaka za 95% (Chet i sur., 2006).

2.2.3. Parazitizam

Parazitizam je direktni napad ili parazitiranje antagonističkih mikroorganizama na biljnim patogenima koji se često naziva i hiperparazitizam. Takvo djelovanje najčešće imaju neke antagonističke gljive i pseudogljive (vrste rodova *Trichoderma*, *Ampelomyces*, *Coniothyrium*, *Pythium* dr.), pa se taj vid hiperparazitizma naziva i mikoparazitizam iako uključuje i viruse. Mikoparazitizam se temelji na odnosu micelija antagonista i patogena nakon čega izlučevine enzima obavljaju degradaciju stanične stijenke domaćina.

Opće je poznato da su gljivice iz roda *Trichoderma* iznimno važne u biološkoj kontroli jer se njihovo parazitsko djelovanje očituje nadasve prema gljivici *Rhizoctonia solani* koja je poznata kao najčešći uzročnik truleži velikog broja kultura, kao npr. rajčice, lubenice i mnogih drugih biljaka koje se uzgajaju u kontroliranim uvjetima, a može napasti u bilo kojoj fazi uzgoja (Chet i sur., 1998). Uključuje specifično antagonističko prepoznavanje patogena i nekoliko tipova enzimatske degradacije stanične stijenke kako bi parazit mogao penetrirati u hifu patogena. Direktna interakcija između *Trichoderme spp.* i patogena je mikoparazitizam i predstavlja niz mehanizama koji uključuju proizvodnju brojnih enzima važni za razgradnju stanične stijenke patogena. Chet i sur. (1998) su definirali četiri faze ovog procesa: kemotrofizam i prepoznavanje, vezivanje i namotavanje, proždiranje stanične stijenke domaćina, te probavljanje stanice domaćina. Tako je u početku potrebno detektirati drugu gljivicu, nakon čega se *Trichoderma* nastanjuje tik do nje te počne proizvoditi specifične enzime koji su od iznimne važnosti za razgradnju stanične stijenke patogena. Nakon toga svoje hife namotava oko domaćina, u ovom slučaju patogena, te prodire u stanicu domaćina uz pomoć enzima koji pogoduju razgradnji stanične stijenke patogena, što dovodi do smrti hife domaćina (patogena).

Proizvodnja i regulacija litičkih enzima kao što su hitinaza, glukonaza i proteaza, od ključne su važnosti u mikoparazitizmu odnosno biološkoj kontroli. Gljivice roda *Trichoderma spp.* poznate su i po lučenju snažnog hidrolitičkog multienzimskog kompleksa (hitinaza, beta-1,3-glukonaza, beta-1,6-glukonaza, alfa-1,3 glukonaza), proteaza te celulaza (Mukherjee i sur., 2012). Njihovo djelovanje u poljoprivredi je višestruko, pa tako gljivice ovoga roda imaju ulogu u zaštiti usjeva od bolesti, djeluju kao vrhunski inhibitori rasta, razvijaju imunost same biljke na određene bolesti, a kada je u pitanju razvoj patogenih gljivica, *Trichoderma* i tu ima riješenje, a to je da luči brojne enzime koji djeluju preventivno. U konvencionalnoj poljoprivredi došlo je do ozbiljnog

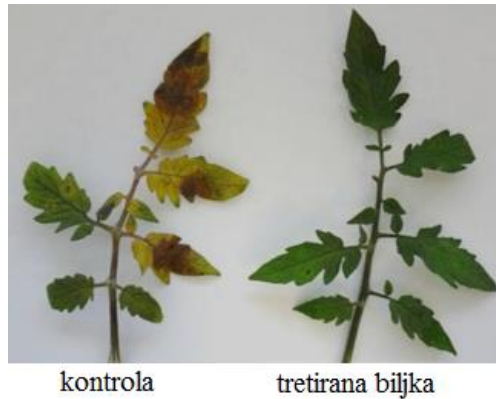
narušavanja biodiverziteta te gljivice ovog roda pomažu u ponovnom uspostavljanju ravnoteže. Poznato je i djelovanje u kontroli korova. Osim gore navedenih prednosti ova gljivica je od iznimne važnosti i kada su u pitanju alternativni izvori energije.



Slika 2. Primjer napada gljivice *Rhizoctonia solani* na stabljiku lubenice (Web 2).

2.2.4. Inducirana rezistentnost

Inducirana rezistentnost je indirektan način djelovanja antagonističkih mikroorganizama na biljne patogene preko same biljke domaćina u kojoj induciraju ili stimuliraju određene obrambene reakcije. Jedan od primjera inducirane otpornosti je inokulacija stabljike jagode zaražene gljivicom *Botrytis cinerea* sa vrstom *Trichoderma harzianum*. Poznato je da je *B. cinerea* glavni uzročnik sive plijesni i jedna je od glavnih gljivičnih bolesti jagoda u svijetu. Iako se njeno djelovanje primarno pripisuje mehanizmu inducirane rezistentnosti, uključeno je više mehanizama kao što su kompeticija za stanište i nutrijente, mikoparazitizam, fungalna aktivnost zbog enzima koje luči *T. harzianum*. Dokazano je također da L-amino kiselina oksidaza (Th-l-AAO), identificirana iz *T. harzianum* deaktivira hife *B. cinerea*. Takav način štiti biljku od svih sojeva istog virusa, ali ne i od drugih virusa.



Slika 3. Primjer tretiranja lišća rajčice gljivicom *Trichoderma harzianum* u svrhu zaštite od patogene gljivice *Botrytis cinerea* (Web 3).

2.3. Podjela biopesticida i njihova upotreba

Ispuštanje prirodnih neprijatelja na poljoprivredne površine ciljno i namjerno zapravo je primjena bioloških sredstava za zaštitu bilja koji se nazivaju biopesticidi (Bažok i sur., 2014).

Pesticidi se općenito dijele na sredstva za zaštitu bilja, sredstva za suzbijanje nametnika na ljudima i životinjama i sredstva za zaštitu drva i tekstila. Kako su sredstva za zaštitu bilja najbrojnija često se naziv "pesticidi" odnosi na njih.

2.3.1. Biofungicidi na bazi gljiva

Biofungicidi na bazi gljiva zbog svoje različite prirode imaju različite mehanizme djelovanja. Najčešći mehanizmi djelovanja su kompeticija, mikroparazitizam te proizvodnja metabolita.

U skupinu biofungicida spada i gljiva *Trichoderma sp.*, jedna od najčešćih gljiva u prirodi kod koje su izraženi mikroparazitizam i antiobioza, a može se naći u većini obradive zemlje. Mikoparazitski proces je zasnovan na direktnom kontaktu micelija antagonista i patogena, a nakon toga sekreti enzima obavljaju degradaciju stanične stijenke domaćina (Kubicek i sur., 2001).

Vrsta *Trichoderma harzianum* je kontaktni antibiotski fungicid niske toksičnosti za čovjeka, korisne kukce i životnu sredinu, prikladan za ekološku zaštitu u vinogradima, voćnjacima, povrtnjacima, ratarstvu i uzgoju ukrasnog bilja. U Hrvatskoj je registriran za suzbijanje gljive *Botrytis cinerea* na vinovoj lozi i jagodama (Lučić, 2009).

Vrsta *Pytium oligandrum* je antagonist vrstama *Phytophthora*, *Rhizoctonia* *Verticillium*, *Sclerotinia*. Za suzbijanje gljiva iz roda *Sclerotinia* koriste se biofungicidi na bazi gljive *Coniothyrium minitans*. Za suzbijanje uzročnika pepelnice koristi se gljivica *Ampelomyces quisqualis* koja je dobro poznata kao hiperparazit roda *Erysiphaceae* – patogenih gljiva, uzročnika pepelnice. Izolat *A. quisqualis* M-10 je pronađen 1984. godine u sušnoj zoni Izraela, a uveden je u primjenu 1995. godine. Mehanizam djelovanja se zasniva na hiperparazitizmu, to jest klijajuće spore potiskuju razvoj pepelnice. Ovaj proces zahtijeva relativnu vlažnost od minimum 60% u mikro sredini klijajućih spora. Kada prode u hife patogena, poslije 2-4h, hiperparazit se razvija nezavisno od uvjeta okolne sredine. Krajnji rezultat je prekid razvoja pepelnice (Grahovac i sur., 2009).

2.3.2. Biopesticidi na bazi virusa

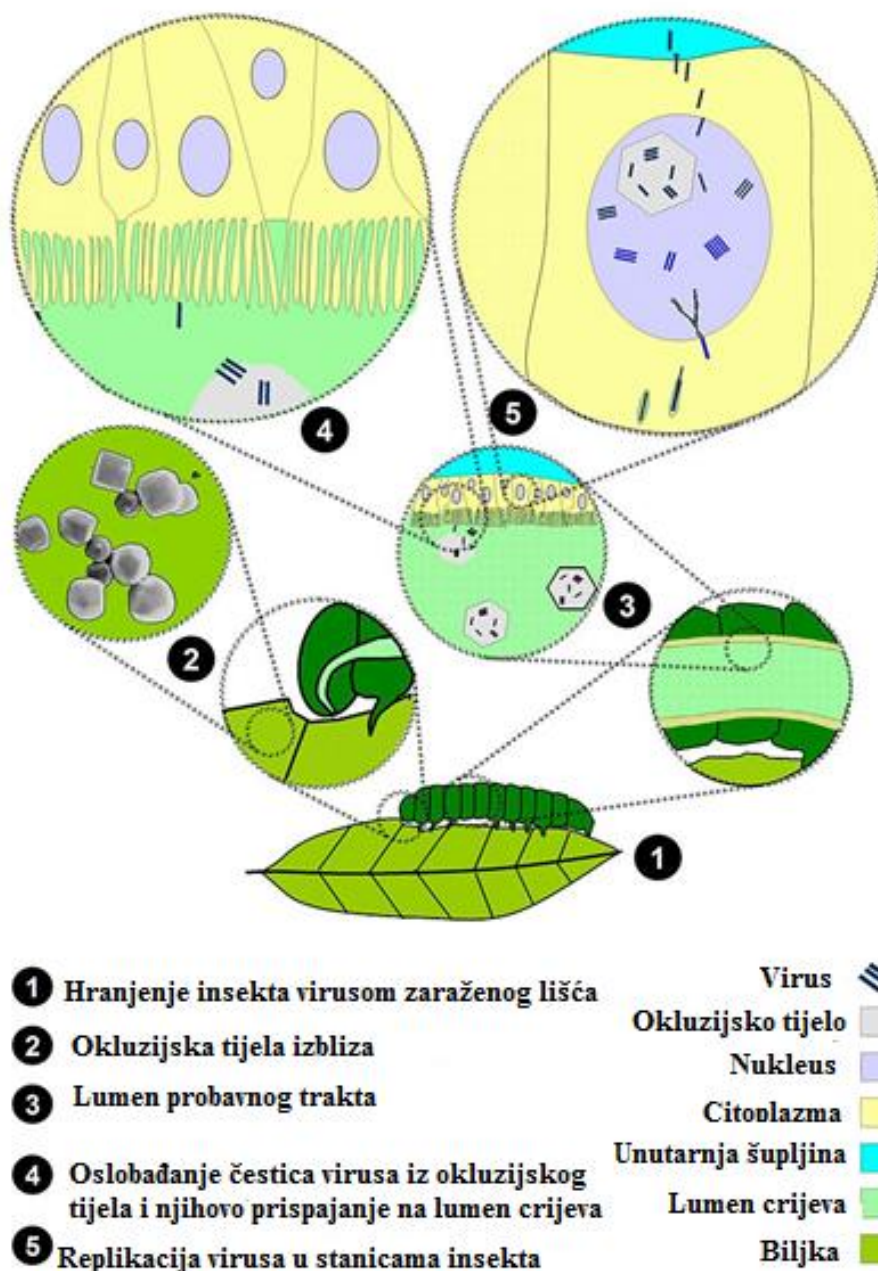
Bakulovirusi ili mikrobiološki virusi javljaju se u prirodi te posjeduju sposobnost zaraze i uništavanja određenih vrsta štetnih kukaca. Entomopatogeni virusi koji su izolirani iz više od tisuću vrsta kukaca, ubrajaju se u bakuloviruse, a najčešći su virusi granuloze i nuklearne poliendrije koji inficiraju i ubijaju štetne organizme. Bakulovirusi su patogeni i većinom moraju biti uneseni u tijelo štetnika kako bi se stanice u tijelu zarazile i dalje reproducirale u tijelu štetnika (Ivezić, 2008). Biološki pripravci na bazi virusa primjenjuju se diljem svijeta od 40-tih godina prošlog stoljeća pa se tako i u Hrvatskoj mogu kupiti pripravci na bazi virusa kao npr. pripravci za suzbijanje jabučnog savijača.

Životni ciklus bakulovirusa (Sl. 4) uključuje dva različita oblika virusa (Rohrmann, 2008). Virus iz okluzije prisutan je u matrici proteina (polyhedrin ili granulin) i odgovoran je za primarnu infekciju domaćina, dok se bujni virus oslobađa kasnije iz zaraženih stanica domaćina tijekom procesa sekundarne infekcije. Bakulovirusi imaju vrlo specifične vrste tropizama među beskralježnjacima s više od 600 vrsta domaćina. Najčešći su domaćini

nezreli (larvalni) oblici vrste moljaca, ali su takvi virusi pronađeni i kod zaraženih lisnih osa, komaraca i škampi.

Početna infekcija javlja se kada se osjetljivi domaćinski insekti hrane biljkama koje su kontaminirane sa zatvorenim oblikom virusa. Matrica bjelančevina otapa se u alkalnom okolišu želuca domaćina (želuca), otpuštajući virus iz okluzija koji se zatim spajaju na stupnu epitelnu staničnu membranu crijeva domaćina i prenesu u stanicu u endosomima. Nukleokapsidi bježe od endosoma i transportiraju se do jezgre. Ovaj korak je moguće posredovan aktinskim filamentima. Viralna transkripcija i replikacija pojavljuju se u staničnoj jezgri, a nove čestice bujnog virusa izvučene su iz bazolateralne strane kako bi sustavno širile infekcije. Bujni virus se spaja na labavo prilagođenu membranu stanice domaćina s ekspresiranim i prikazanim virusnim glikoproteinima.

Među zastupljenijima su virus granuloze te virus poliedarije (suzbijanje gusjenica različitih vrsta). Patogeni virusi se mogu na dva načina prenijeti na domaćina: roditelji preko jajašaca prenose virus na sljedeću generaciju ili direktnom infekcijom domaćina. Nakon par dana od unošenja hrane javljaju se simptomi i zaražena jedinka se prestaje hraniti te dolazi do diskoloracije kutikule. U roku 2-3 dana nakon pojave simptoma dolazi do uginuća domaćina.



Slika 4. Dijagram životnog ciklusa Bakulovirusa (preuzeto i prilagođen iz Rohrmann, 2008).

Među važnije patogene viruse ubrajaju se cytoplasmic polyhedrosis virus (CPV), nuclear polyhedrosis virus (NPV) i granulosis virus (GV). Glavni nedostaci preparata su ovisnost o klimatskim faktorima, fotolabilnost, kratkotrajno i sporo djelovanje te uži spektar djelovanja. Da bi se postigao odgovarajući efekt, potrebno je višekratno tretiranje u kombinaciji sa drugim mjerama (Cvjetković, 2016).

Biološki pripravci na bazi virusa primjenjuju se diljem svijeta od 40-tih godina prošlog stoljeća pa se tako i u Hrvatskoj mogu kupiti pripravci na bazi virusa, kao npr. pripravci za suzbijanje jabučnog savijača. Prilikom istraživanja učinkovitosti suzbijanja jabučnog savijača na pokusnim parcelama Poljoprivrednog instituta Osijek, zaštita se provodila na tri sorte jabuka biološkim preparatom Granupom na bazi granulovirusa *Cydia pomonella* (CpGV) gdje je učinkovitost na sve tri sorte iznosila u prosjeku 92,51% što je vrlo zadovoljavajuće i preporučuje se u zaštiti jabuke barem u zadnjim tretmanima jer nema opasnosti od rezidua i karence (Budinščak, 2013).

2.3.3. Biofungicidi na bazi kvasaca

Vrste *Rhodotorula glutinis*, *Cryptococcus laurentii*, *Candida famata* i *Pichia guilliermondii* (izolat 29-A) navode se kao vrlo efikasni antagonisti fitopatogenh gljiva *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium expansum*, *P. italicum* i *P. digitatum* koje su uzročnici bolesti na plodovima jabuka, krušaka, jagoda, kivija, grožđa, naranči, mandarina i grejpfruta (Lima i sur., 1999). U nastavku se opisuju primjeri primjene biofungicida za suzbijanje gljivica koje su široko rasprostranjene diljem svijeta i uzročnici su bolesti tzv. sive plijesni koju uzrokuje vrsta *Botrytis cinerea* i plave plijesni koju uzrokuje vrsta *Penicillium expansum*.

Vrsta *Botrytis cinerea* je nekrotični gljivični patogen, uzrokuje bolest sivih plijesni u preko 200 biljnih vrsta domaćina te je posebno destruktivna na voću i povrću (Williamson i sur., 2007).



Slika 5. Primjer napada sive plijesni *Botrytis cinerea* na jagode (Web 4).

Patogen je sposoban prenijeti efekte sRNA u biljne stanice domaćina te suzbiti imunitet domaćina i izlučiti velik broj enzima kako bi ubio stanice domaćina tijekom infekcije. Na poljoprivrednim površinama se često pojavljuju razni sojevi vrste *B. cinerea* otporni na fungicide, te su potrebne alternativne metode za učinkovito suzbijanje ovog patogena. Potvrđeno je da eterična ulja dobivena iz aromatskih biljaka mogu značajno inhibirati klijavost spora i micelija rasta *B. cinerea in vitro* i pokazala je dobru zaštitu od bolesti sivih plijesni kod rajčice koja se uzgaja staklenički. Osim eteričnih ulja, biološka kontrola se također smatra obećavajućim načinom za kontrolu *B. cinerea*.

Kao antagonističko sredstvo, *Rhodotorula glutinis* je pokazao dobru učinkovitost biokontrole protiv sive plijesni kod različitih plodova kao i na druge bolesti koje se javljaju nakon berbe, a uzrokovane su gljivicama *Penicillium expansum*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus stolonifer* (Zhang i sur., 2010).

Vrsta *Penicillium expansum* je psihrofilna plava plijesan koja je uobičajena diljem svijeta. Iako je prvenstveno poznata kao bolest jabuka, ovaj biljni patogen može zaraziti širok raspon domaćina, uključujući kruške, jagode, rajčicu, kukuruz i rižu. *P. expansum* proizvodi patulin karcinogenog metabolita, neurotoksin koji je štetan kad se konzumira. Patulin proizvodi gljivica kao čimbenik virulencije jer inficira domaćina. Razina patulina u hrani je zakonski regulirana u mnogim razvijenim zemljama, a posebno stoga jer su proizvodi od jabuka značajna dječja hrana. Gljivica također može proizvesti mikotoksin citrinin.

Različitim ispitivanjima spomenutih izolata došlo se do nekih novih saznanja. Prema Limi i sur. (1999) koji su od dvjesto kvasaca izoliranih sa površina različitih plodova pedeset testirali na kontrolu *P. expansum* na jabuci, najviše do izražaja po pitanju antagonizma spram spomenute gljive imali su izolati *Rhodotorula glutinis* i *Cryptococcus laurentii*. Testiranjem izolata na patogenima utvrđeno je da *C. laurentii* ispoljava veću i stabilniju aktivnost te veću gustoću koloniziranja od izolata *R. glutinis*. Budući da su dva spomenuta izolata ispoljila različite nivoe antagonističke aktivnosti u kontroli više patogena na uskladištenim proizvodima, ispitani su i mehanizmi njihova djelovanja.



Slika 6. Primjer napada plave plijesni *Penicillium expansum* na plod jabuke (Web 5).

Kompeticija za hranjive tvari imala je najznačajniju ulogu u aktivnosti oba kvasca, naročito izolata *R. glutinis*. Direktna interakcija s hifama patogena utvrđena je samo kod izolata *R. glutinis*, dok kod aktivnijeg izolata *Cryptococcus laurentii*, ovakva pojava nije zabilježena. U odnosu na *Rhodotorula glutinis*, izolat *Cryptococcus laurentii* je *in vitro* producirao značajno više ekstracelularne beta-1,3-glukanaze, kada je uzgajan u prisustvu hifa patogena *P. expansum* i *B. cinerea* antibioza nije bila registrirana.

2.3.4. Antagonističke bakterije

Od velikog broja bakterija koji pokazuju antagonističko djelovanje prema biljnim patogenima za komercijaliziranu primjenu u biološkom suzbijanju danas se u svijetu koriste vrste rodova: *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pantoea*, *Pasteuria*, *Pseudomonas* i *Streptomyces*. Najveću primjenu u praksi imaju vrste i izolati bakterija iz rodova: *Agrobacterium*, *Bacillus* i *Streptomyces* (kako je navedeno u Miličević i Kaliterna, 2014).

Bakterija *Agrobacterium tumefaciens* uzrokuje bakterijski rak kod biljaka (Yildiz i sur., 2016). Bolest je karakterizirana rastom tvari slične tumoru na inficiranoj biljci, često na spoju između korijena i izdanka. Tumori potiču konjugativni prijenos DNA segmenta (T-DNA) iz plazmida koji inducira bakterijski tumor (Ti). Usko povezana vrsta, *Agrobacterium rhizogenes*, inducira tumore korijena, i nosi zaseban Ri (korijen-inducirajući) plazmid. Iako je taksonomija *Agrobacteriuma* trenutno u reviziji, utvrđeno je

da su vrste *A. tumefaciens* i *A. rhizogenes* sposobne zauzeti Ti ili Ri-plazmid, dok su sojevi vrste *A. grobacterium vitis* ograničeni na vinovu lozu i mogu imati Ti-plazmid.



Slika 7. Napad bakterije *Agrobacterium tumefaciens* koja uzrokuje rak biljaka (Web 6).

Također nosi gene za biosintezu biljnih hormona, auksina i citokinina, te za biosintezu opina, osiguravajući izvor ugljika i dušika za bakterije koje većina drugih mikroorganizama ne može koristiti, dajući *Agrobacterium* selektivnu prednost.

Mijenjanjem hormonske ravnoteže u biljnoj stanici, biljka se ne može kontrolirati podjelom tih stanica, a tumori se stvaraju. Omjer auksina i citokinina koji su proizvedeni tumorima određuje morfologiju tumora (korijenski, neorganiziran ili sličan). Iako generalno viđena isključivo kao uzročnik infekcije u biljaka, *Agrobacterium* može biti krivac oportunističkih infekcija kod ljudi sa oslabljenim imunološkim sustavom. Zbog djelovanja na gene, *Agrobacterium* se koristi u genetičkom inženjeringu.

Određeni sojevi *A. tumefaciens* su osjetljivi na antibiotik agrocin koji proizvodi *A. radiobacter*, bakterija iz tla koja ne inficira biljke. Primjer proizvedenog antibiotika je Agrocin-84, koji je analog agrocina A koji se proizvodi u krvnim žilama tumora induciranim sojevima *A. tumefaciens* čiji je Ti plazmid kodiran za nopal i agrocina A. Agrocin-84 oponaša agrocina A i stoga preuzima isti transportni sustav koji koristi *A. tumefaciens* za korištenje agrocina A. U stanici *A. tumefaciens*, antibiotik Agrocin-84 inhibira replikaciju DNA i stanični rast.

Agrocin-84 se primjenjuje u zaštiti biljaka od patogena uranjanjem korijenskog sustava u suspenziju *A. radiobacter* prije sadnje u infestiranim poljima. U mnogim drugim regijama gdje borave agrocin-neosjetljivi sojevi *A. tumefaciens* (sojevi koji ne posjeduju agrocinopin A), ova strategija biološke kontrole je neučinkovita.

2.3.5. Antagonističke gljive

U svijetu se koristi velik broj gljiva koje pokazuju antagonističko djelovanje na biljne patogene. Za komercijalnu primjenu je do sada istraženo i iskorišteno 12 vrsta antagonističkih gljiva, kao npr. *Pythium oligandrum*, *Candida oleophila*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Gliocladiumvirens*, *Fusarium oxysporium*, *Coniothyrium minitans*, *Ampelomyces quisqualis* i druge. Najveću primjenu u zaštiti bilja od bolesti za sada imaju antagonističke vrste iz rodova *Trichoderma*, *Coniothyrium* i *Ampelomyces*.

Sclerotinia minor je biljni patogen koji najčešće inficira mrkvu, suncokret, krumpir, kikiriki i salatu. Micelij napada niže grane i brzo ulazi u stanično tkivo uzrokujući kolaps stanica. Micelij tada razvije bijelu, pahuljastu masu na površini tkiva dok istovremeno ulazi u još više biljnog tkiva. Biljka je na kraju ubijena i sklerocij se proizvodi u izobilju na mrtvom tkivu. Neki sklerociji padaju s biljnog tkiva u tlo ili se mogu zadržati na mrtvom biljnom tkivu kao zimzelen u inokulumu. Kada su uvjeti pogodni, sklerocij klija u bilo micelija (seksualni stupanj gljive). U micelijalnoj fazi gljiva inficira novu biljku i ciklus počinje ponovo. Ako sklerocij dovede do apotecije (što je vrlo rijetka pojava kod *S. minor*), formiraju se askusi s askosporama (seksualne spore). Kada su askospore zrele, ispuštaju se i nastane biljku, klijaju i ponovno započinju ciklus bolesti. Za njegovo suzbijanje koristi se *Coniothyrium minitans*.



Slika 8. Kikiriki zaražen gljivicom *Sclerotinia minor* (Web 7).

Mogući agensi biokontrole koji su predmet istraživanja su antagonistički organizmi kao *Trichoderma spp.*, *Gliocladium spp.*, *Penicillium spp.*, *Talaromyces spp.*, i *Sporodesmium spp.* Ovi organizmi proizvode komponente kao što su beta-1,3-glukanazu i hitinazu, enzime koji mogu probiti staničnu stijenku uzrokujući smrt te napadaju sklerocij mnogih gljivičnih patogena. Geni ovih enzima su izolirani, klonirani i primjenjuju se na biljkama u svrhu zaštite od gljivičnih patogena (Jabnoun-Khiareddine i sur., 2009).

3. ZAKLJUČAK

Agensi biokontrole se nameću kao alternativna metoda u suzbijanju biljnih bolesti s obzirom na sve veće zahtjeve za zaštitom okoliša i ljudi. Upotreba korisnih mikroorganizama ili njihovih metaboličkih produkata je intervencija u okolišu koja ako se koristi na pravilan način nije štetna po okoliš i ljude.

Zaštita biljke postiže se uz pomoć produkata metabolizma biološkog agensa koji djeluju antagonistički na parazite, odnosno patogene. Mikroorganizmi proizvode enzime, vitamine te biljne hormone čime utječu na imunitet biljke povećavajući joj otpornost. Upravo zbog svojih antagonističkih i kompeticijskih odnosa spram štetnih mikroorganizama, igraju glavnu ulogu u ekološkoj poljoprivredi.

4. LITERATURA

- Alabouvette, C., Olivain, C., Steinberg, C. (2005) Biological control of plant diseases: the European situation. *European Journal of Plant Pathology* 11: 329-341.
- Bažok, R., Gotlin Čuljak, T., Grubišić, D. (2014) Integrirana zaštita bilja od štetnika na primjerima dobre prakse. *Glasilo biljna zaštite* 14: 357-390.
- Budinščak, Ž. (2013) Problemi u zaštiti jabuke u 2012. godini, 8. Znanstveno – stručno savjetovanje hrvatskih voćara s međunarodnim sudjelovanjem, Zagreb.
- Castoria, R., De Curtis, F., Lima, G., De Cicco, V. (1997) β -1,3-glucanase activity of two saprophytic yeasts and possible mode of action as biocontrol agents against postharvest diseases, *Postharvest Biology and Technology* 12: 293-300.
- Chandrashekara, K. N., Manivannan, S., Chandrashekara, C., Chakravarthi, M. (2012) Biological Control of Plant Diseases. U: Singh, V. K., Singh, Y., Singh, A. (ur.) *Ecofriendly Innovative Approaches in Plant Disease Management*. International Book Distributors and Publisher, New Delhi, 147-166.
- Chet, I., Viterbo, A., Brotman, Y. (2006) Enhancement of plant disease resistance by the biocontrol agent *Trichoderma*. *Life Sciences*, 1: 1-12.
- Cvjetković, M. (2016) Benefitni mikroorganizmi kao alternative kemijskim fungicidima. Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Poljoprivredni fakultet, Osijek.
- Domnas, A. J., Warner, S. A. (1991) Biochemical activities of entomophagous fungi. *Critical Reviews in Microbiology* 18: 1-13.
- Ekesi, S., Maniania, N. K., Lux, S. A. (2002) Mortality in three African Tephritid fruit fly puparia and adults caused by the entomopathogenic fungi. *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science and Technology* 12: 7-17.
- El-Sayed, G. N., Coudron T. A., Ignoffo, C. M., Riba, G. (1989) Chitinolytic activity and virulence associated with native and mutant isolates of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. *Journal of Invertebrate Pathology* 154: 394-403.
- Gindin, G., Samish, M., Alekseev, E., Glazer, I. (2001) The susceptibility of *Boophilus annulatus* (Ixodidae) ticks to entomopathogenic fungi. *Biocontrol Science and Technology* 11: 111-118.
- Girlanda, M., Perotto, S., Moenne-Loccoz, Y., Bergero, R., Lazzeri, A., Defago, G., Bonfante, P., Luppi, A. M. (2001) Impact of biocontrol *Pseudomonas fluorescens*

- CHA0 and a genetically modified derivative on the diversity of culturable fungi in the cucumber rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 1851-1864.
- Goldman, G. H., Hayes, C., Harman, G. E. (1994) Molecular and cellular biology of biocontrol by *Trichoderma* spp. *Trends in Biotechnology* 12: 478-482.
- Grahovac, M., Inđić, D., Lazić, S., Vuković, S. (2009): Biofingicidi i mogućnosti primene u savremenoj poljoprivredi, Novi Sad.
- Ivezić, M. (2008) Entomologija - Kukci i ostali štetnici u ratarstvu. Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Poljoprivredni fakultet.
- Ivić, D. (2016) Bijela trulež [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary] na rajčici, *Glasilo biljne zaštite*, 16: 500-504.
- Jabnoun-Khiareddine, H., Daami-Remadi, M., Ayed, M. (2009) Dynamic Soil, Dynamic Plant Biocontrol of Tomato Verticillium Wilt by Using Indigenous Gliocladium spp. and Penicillium sp. Isolates. *Dynamic Soil, Dynamic Plant*. 3: 70-79.
- Kišpatić, J. (1992) Opća fitopatologija. Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
- Kubicek, C. P., Baker, S., Gamauf, C., Kenerley, C. M., Druzhinina, I. S. (2008) Purifying selection and birth-and-death evolution in the class II hydrophobin gene families of the ascomycete *Trichoderma/Hypocrea*. *BMC Evolutionary Biology* 8: 4.
- Lima, G., Arru, S., De Curtis, F., Arras, G. (1999) Influence of antagonist, host fruit and pathogen on the biological control of postharvest fungal diseases by yeasts. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 23: 223-229.
- Lima, G., De Curtis, F., Castoria, R., De Cicco, V. (1998) Activity of the yeasts *Cryptococcus laurentii* and *Rhodotorula glutinis* against post-harvest rots on different fruits. *Biocontrol Science and Technology* 8: 257-267.
- Lu, C. G., Liu, W. C., Qui, J. Y., Wang, H. M., Liu, T., Liu, W. D. (2008) Identification of an antifungal metabolite produced by a potential biocontrol Actinomyces strain A01. *Brazilian Journal of Microbiology* 39: 701-707.
- Lučić, K. (2009) Sadržaj sredstava za zaštitu bilja. *Glasnik zaštite bilja* 1-2: 191-192.
- Maceljiski, M., Cvjetković, B., Ostojić, Z., Igrc Barčić, J., Pagliarini, N., Oštrec, Lj., Barić, K., Čizmić, I. (2004) Štetočinje povrća: s opsežnim prikazom zaštite povrća od štetnika, uzročnika bolesti i korova. Čakovec, Zrinski d.d.

- McSpadden Gardener, B. B., Fravel, D. R. (2002). Biological control of plant pathogens: Research, commercialization and application in the USA. *Plant Health Progress* 3: 1-18.
- Miličević, T., Kaliterna, J. (2014) Biološko suzbijanje bolesti kao dio integrirane zaštite bilja, *Glasilo biljne zaštite* 14: 410-415.
- Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Kenerley, C. M. (2012) Secondary metabolism in *Trichoderma*: a genomic perspective. *Microbiology* 158: 35-45.
- Revathi, N., Ravikumar, G., Kalaiselvi, M., Gomathi, D., Uma, C. (2011) Pathogenicity of Three Entomopathogenic Fungi against *Helicoverpa armigera*. *Journal of Plant Pathology & Microbiology* 2: 4.
- Rohrmann, G. F. (2008) *Baculovirus Molecular Biology*- 3rd ed., Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information.
- Williamson, B., Tudzynski, B., van Kan, J. A. (2007) *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology* 8: 561-580.
- Yildiz, M., Ayca, M., Park, S. (2016) New Approaches to *Agrobacterium tumefaciens*-Mediated Gene Transfer to Plants. U: Jamal, F. (ur.) *Genetic Engineering - An Insight into the Strategies and Applications*, IntechOpen, DOI: 10.5772/66465.
- Zhang, H., Ma, L., Turner, M., Xu, H., Zheng, X., Dong, Y., Jiang, S. (2010) Salicylic acid enhances biocontrol efficacy of *Rhodotorula glutinis* against postharvest *Rhizopus* rot of strawberries and the possible mechanisms involve. *Food Chemistry* 122: 577-583.
- Živković, S. (2016) Biološka kontrola skladišnih fitopatogenih gljiva. U: Marković, D., Tomić, D. (ur.) *Zbornik radova 1, XXI savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem*, Agronomski fakultet, Čačak, Srbija. *Zbornik radova* 21: 327-334.
- Živković, S., Stojanović, S., Ivanović, Ž., Gavrilović, V., Popović, T., Balaž, J. (2010) Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Archives of Biological Sciences*, 62: 611-623.

Mrežne stranice

Web 1. <https://biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.php>

Web 2. <https://www.plantpath.ifas.ufl.edu/u-scout/cucurbits/rhizoctonia-root-rot.html>

Web 3. https://www.researchgate.net/figure/Trichoderma-harzianum-induces-systemic-protection-against-the-pathogen-Botrytis-cinerea_fig1_242334471

Web 4. <https://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=1568096>

Web 5. <https://betterknowamicrobe.tumblr.com/post/96462956974/penicillium-expansum>

Web 6. http://mmg-233-2013-geneticsgenomics.wikia.com/wiki/The_Ti_Plasmid:_Lateral_Gene_Transfer_Mechanism_and_Utility

Web 7. https://projects.ncsu.edu/cals/course/pp728/S_minor/Sclerotinia_minor.html