Utjecaj askomiceta Trichoderma longibrachiatum i Trichoderma sp. na rast mrkve

Habjanec, Matija

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:893475

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet
University of Zagreb
Faculty of Agriculture

Utjecaj askomiceta *Trichoderma longibrachiatum i Trichoderma sp.* na rast mrkve

DIPLOMSKI RAD

Matija Habjanec

Zagreb, rujan, 2019.

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet
University of Zagreb
Faculty of Agriculture

Diplomski studij:

Fitomedicina

Utjecaj askomiceta *Trichoderma longibrachiatum i Trichoderma sp.* na rast mrkve

DIPLOMSKI RAD

Matija Habjanec

Mentor:

izv.prof.dr.sc. Snježana Topolovec-Pintarić

Zagreb, rujan, 2019.

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, Matija Habjanec, JMBAG 0178101322, rođen/a 09.02.1996. u Varaždinu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

Utjecaj askomiceta *Trichoderma longibrachiatum* i *Trichoderma sp*. na rast mrkve

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor 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/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

_____
Potpis studenta / studentice

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice Matija Habjanec, JMBAG 0178101322, naslova

Utjecaj askomiceta *Trichoderma longibrachiatum* i *Trichoderma sp*. na rast mrkve

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo: potpisi:

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

Zahvala

Ovime zahvaljujem …

Na trudu, dobroj volji, pomoći, korisnim savjetima i velikom razumijevanju mentorici izv.prof.dr.sc. Snježani Topolovec-Pintarić.

Posebno se zahvaljujem cijeloj obitelji na bezuvjetnoj potpori, a najviše roditeljima koji su mi sve to omogućili i bez kojih ništa nebi bilo moguće. Također, curi Moniki na strpljenju, pomoći i podršci.

Na kraju, zahvaljujem se svima koji su mi na bilo koji način pomogli prilikom izrade ovog rada.

Sadržaj

1. Uvod ……..…….… 1

1.1. Cilj istraživanja … ……... 2

2. Rod *Trichoderma* ……..…..… 3

2.1. Morfologija i biologija *Trichoderma* vrsta ……..……. 4

2.2. Primjena u poljoprivrednoj proizvodnji ……..……. 6

2.3. *Trichoderma longibrachiatum* ……..…… 10

2.3.1. Morfologija *Trichoderma longibrachiatum* ……..…… 11

2.4.*Trichoderma viridescens* ……..…… 14

2.4.1. Morfologija *Trichoderma viridescens* ……..…… 14

3. Mrkva (*Daucus carota*) ……..……..…… 18

3.1. Morfološke karakteristike mrkve ……..…… 18

3.2. Agrotehnički uvjeti uzgoja mrkve ……..…….. 18

3.3. Hranidbena i zdravstvena vrijednost mrkve ……..…… 20

3.4. Sorta Nanntes 2 ……..…….. 20

4. Materijali i metode ……..……..…… 22

5. Rezultati ……..…… 26

6. Rasprava ……..……..…… 29

7. Zaključak ……..……... 31

8. Literatura ……..……..… 32

Sažetak

Diplomskog rada studenta/ice **Matija Habjanec**, naslova

Utjecaj askomiceta *Trichoderma longibrachiatum i Trichoderma sp.* na rast mrkve

Gljive iz roda *Trichoderma* imaju veliki značaj u poljoprivrednoj proizvodnji jer se koriste kao bio-fungicidi i bio-gnojiva. Za uspješno i kvalitetno djelovanje *Trichoderma* vrsta zaslužna je pseudomikoriza koja se gljiva uključuje u biljni genom i uvjetuje modifikacije koje rezultiraju metaboličkim promjenama. Zahvaljujući mikorizi dolazi do: povećanja biljnog rasta, indukcija biljnog mehanizma obrane od napada patogena, nematoda, kukaca i boljem podnašanju uvjeta stresa (insolacija, suša, salinitet, itd). Iz zbirke autohtonih izolata izdvojene su *T. longibrachiatum* i *Trichoderma viridescens* za koje nisu istražene posljedice pseudomikorize s mrkvom.

Ključne riječi: bio-gnojivo, mrkva, pseudomikoriza

Summary

Of the master's thesis – student Matija Habjanec**,** entitled

Influence of Ascomycetes *Trichoderma longibrachiatum* and *Trichoderma* sp. on the growth of carrots

Trichoderma mushrooms are on of great importance in agricultural production because they are used as bio-fungicides and bio-fertilizers. For the successful and high quality of the *Trichoderma* species, it is a pseudo-cornea that is involved in the fungi in the plant genome and causes modifications that result in metabolic changes. Thanks to mycorrhiza, there is: increase of plant growth, induction of plant defense mechanism from attack of pathogens, nematodes, insects and better tolerance of stress conditions (insolation, drought, salinity, etc.). From the collection of autochthonous isolates, *T. longibrachiatum* and *Trichoderma viridescens* for which the consequences of pseudomycorrhizal with carrot were not investigated.

Keywords: bio-fertilizer carrot, pseudomycorrhiza

1. Uvod

U današnje vrijeme intenzivne, visoko proizvodne, tehnološki napredne te tržišno konkurentne poljoprivrede, većina poljoprivrednih proizvođača želi održati ili povećati kakvoću i količinu svog prinosa. Proizvođač želi smanjiti mogućnosti od napada bolesti, kukaca i ostalih štetočinja koji mu stvaraju dodatne troškove u proizvodnji i smanjuju dobit. Biljne bolesti uzrokuju velike gubitke i štete u poljoprivrednoj proizvodnji te se njihovom kontrolom i pravilnim suzbijanjem postižu kvalitetniji i viši prinosi (Ivić 2014.).

Trenutno se u svijetu najvećim dijelom kao sredstva za zaštitu bilja koriste kemijska sredstva ili pesticidi. Pesticidi su različitog kemijskog sastava, toksikoloških osobina, perzistentnosti te su potencijalni zagađivači životne okoline. Saznanja o ovim rizicima primjenom nekih insekticida i fungicida te pojavom rezistentnosti kukaca i biljnih patogena na primjenu sredstava, zabrane primjene određenih sredstava za zaštitu bilja pokrenulo je nove interese i istraživanja u poljoprivrednoj proizvodnji. Struka se sve više okreće uvođenju alternativnih mjera u zaštiti bilja kao što su biološki preprati te neke druge nepesticidne metode (Grahovac i sur. 2009.).

Mikroorganizmi koji se koriste u svrhu zaštite bilja proizvode razne produkte metabolizma kao što su spore, antibiotici, kristali, toksini te pomoću njih biljkama pomažu u borbi protiv štetnih organizama. Također, mogu imati antagonističko djelovanje na neke korovne vrste koje mogu biti izvor zaraze te kukce i nematode. Produkti korisnih mikroorganizama kao što su enzimi i vitamini mogu povećati otpornost kod tretiranih biljnih vrsta. Biopesticidi podijeljeni su prema tome koju vrstu štetočinja suzbijaju: bioinsekticide, biofungicide, bioherbicide i dr. (Igrc-Barčić i Maceljski 2001.).

Cilj današnje fitomedicine je ekološka zaštita biljnih vrsta i smanjena upotreba kemijskih mjera. To se nastoji postići preventivnim mjerama zaštite te upotrebom najnovijih patenata biološkog suzbijanja. Ekološka poljoprivreda temelji se na primjeni bio-pripravaka kako bi se mogli deklarirati proizvodi „proizveden bez pesticida“. Carstvo gljiva sadrži vrste koje se mogu upotrijebiti u biološkoj borbi protiv bolesti, kukaca, korova te nematoda. Jedan od najpoznatijih rodova gljiva koji se koristi za suzbijanje fitopatogenih gljiva te nematoda je rod *Trichoderma* (Topolovec-Pintarić i sur. 2004.).

Vrste iz roda *Trichoderma* filamentozne su gljive koje uglavnom žive u tlu. Koriste se za bio-pripravke koji se temelje na antagonističkim mehanizmima kojima *Trichoderma* vrste potiskuju svoje konkurente: sposobnost kompeticije za hranjiva i prostor, antagonistička sposobnost, mikoparazitizam te antibioza (Papavizas 1985.).

Mikorizne gljive roda *Trichoderma* poznate su po svom antifugalnom djelovanju kroz biofungicide. Na tretiranim biljkama je kao sporedni efekt primijećen povećan rast i razvoj biljaka (Topolovec- Pintarić i sur. 2013.). Danas je poznato kako sposobnost stimulacije biljnog rasta nije sekundarni efekt antifungalnog djelovanja *Trichoderma* vrsta nego je ona neovisna i jednako značajna i signifikantna. To je dokazano istraživanjem u sterilnom supstratu i bez biljnih patogena gdje je bio povećani rast i razvoj biljaka (Celar i Valić 2005.).

U svijetu se danas koristi sve više bio-pripravaka na osnovu *Trichoderma* vrsta. Najpoznatija vrsta koja se koristi za bio-pripravke je *Trichoderma viride.* Kolonizacijom korijena ova vrsta stimulira njegov rast te povećava usvajanje hranjiva i njihovo iskorištavanje samim time povećava se rast i razvoj biljaka. Smatra se kako je direktan utjecaj ove gljive na promociju rasta i razvoja biljaka od velike važnosti za poljoprivrednu proizvodnju te shvaćanje kakvu važnost *Trichoderma* vrste imaju u ekosustavu (Topolovec-Pintarić i sur. 2013.). Još uvijek se istražuje utjecaj na rast i razvoj biljnih vrsta kod različitih vrsta i biotipova iste vrste, ali postoje radovi gdje postoji pozitivan utjecaj *T. viride* i *T. harzianum* na rast i razvoj krastavaca, salate i paprike (Bal i Altinatas 2006.).

1.1. Cilj istraživanja

Cilj istraživanja rada temeljio se na djelovanju dva autohtona izolata gljiva iz roda *Trichoderma*, izolat *Trichoderma longibrachiatum* STP1 i izolat *Trichoderma viridescens* STP8 na rast i razvoj mrkve. Istraživanju se pristupilo uz sljedeće hipoteze:

1. Izolat *Trichoderma longibrachiatum* STP1 pozitivno će utjecati na razvoj korijena mrkve.

2. Izolat *Trichoderma viridescens* STP8 pozitivno će djelovati na razvoj korijena mrkve.

3. Izolati STP1 i STP8 razlikovat će se po utjecaju na razvoj korijena mrkve.

2. Rod *Trichoderma*

Prvi put se rod spominje davne 1794. godine kao zelena plijesan koja raste na oštećenim granama i drugim supstratima (Persoon 1974; Shuster 2010.). Rod *Trichoderma* obuhvaća anamorfni stadij askomicetnih filamentoznih gljiva čiji je pripadajući teleomorfni stadij u rodu *Hypocreae* (Rifai 1969.). Prema teleomorfu se pripadnici roda sistematiziraju u (*Ascomycota, Pezyzomycotina, Sordariomycetetes, Hypocromycetidae, Hypcereales, Hypocreae*) (Index fungorum 2019.).

Danas je u svijetu identificirano više od 100 različitih vrsta iz roda *Trichoderma* no sve do 1969. godine smatralo se da postoji samo jedna vrsta *T. viride* Pers (Druzhinina i sur. 2006.). Monofiletski rod se zadržao sve do 1969. dok Rifai nije opisao devet agregatnih vrsta prema njihovim morfološkim karakteristikama sistema grananja konidiofora, rasporedu fijalida, specifičnostima fijalida te njihovu morfologiju. Opisane vrste bile su sljedeće: *T. aureoviride* Rifai, *T. hamatum* (Bonord.) Bain, *T. harzianum* Rifai, *T. koningii* Oudem, *T. longibrachiatum* Rifai, *T. piluliferum* Rifai, *T. polysporum* Rifai, *T. pseudokoningii* Rifai i *T. viride* Pers. Fragmenti svih vrsta malo se morfološki razlikuju te se točna pripadnost vrsta određuje molekularnim metodama (Druzhinina i sur. 2006.).

Vrste roda *Trichoderma* su dominantan dio mikrobionta tla u raznim klimatskim područjima na Zemlji ali također izolirane su i sa filosfere, kao i organske tvari biljnog porijekla u raspadanju na površni tla. Zbog svoje metaboličke sposobnosti i agresivne kompetitivnosti izraziti su kozmopoliti, a vrlo rijetko su patogeni na biljkama (Bissett i Gams 1998.). Kada se izolira *Trichoderma* se mora kapsulirati u određenu formulaciju kako bi se mogla kasnije primjenjivati u drugim tipovima tla (Topolovec-Pintarić 2019.).

U modernoj poljoprivredi vrste roda *Trichoderma* imaju važnost zbog dobre antagonističke sposobnosti protiv patogenih gljiva (Slika 2.1.). Imaju sposobnost proizvodnje antifungalnih metabolita (antibioza), kompeticija za hranjiva i prostor, indukcija obrambenih mehanizama u biljnim vrstama. Uz antifungalne mehanizme uočena je i sposobnost promicanja biljnog rasta i visine biljke, površine lišća i suhe tvari. Također, *Trichoderma* pospješuje klijanje biljaka iz sjemena koje je brže i u većem postotku. Smatralo se u početku kako su ove sposobnosti uzrokovane obranom biljke od patogenih gljiva. Dokazano je kako *Trichoderma* u sterilnom tlu bez prisustva patogenih organizama povećala rast i razvoj biljaka (Celar i Valič, 2005.). Iz svega navedenog smatra se kako su izravni učinci gljiva iz ovog roda na rast i razvoj biljaka od velike važnosti za poljoprivrednu proizvodnju i za razumijevanje uloge *Trichoderma* vrsta u prirodi i upravljanju ekosustavima (Topolovec-Pintarić 2019.).

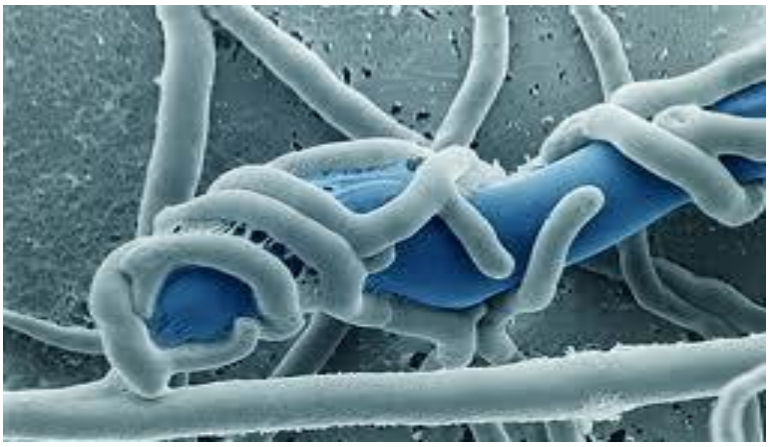
2.1. Morfologija i biologija *Trichoderma* vrsti

Vrste iz roda *Trichoderma* prepoznatljive su po svom brzom rastu micelarnih kolonija na hranjivim supstratima, u vremenskom periodu od 4 do 7 dana ispune petrijevku promjera 9 cm. Specifičnost vrsta je ta što su fotoosjetljive te mogu sporulirati na raznim prirodnim i umjetnim podlogama u koncentričnom obliku. Rast u koncentričnom obliku je njihov odgovor na izmjenu dana i noći s razvojem konidija u periodu dana tj. svjetlosti. Optimalna temperatura za rast i razvoj micelarnih kolonija je 25 - 30 ^{o}C, kada temperatura poraste iznad 30 ^{o}C rast micelarnih kolonija prestaje (Kumar i Pundhir 2009.).

U početku su kolonije vodenasto bijele ili prozirne boje, glatke, dok kasnije postaju smaragdno zelene boje. Formiraju jako dobro vidljive koncentrične zone koje izgledaju kao prsteni te postupno mijenjaju boju iz bjelkasto-zelene u maslinasto-zelenu kada sazriju (Bisset 1991.). Pošto *Trichoderma* vrste spadaju u diuralne vrste za njih su specifični navedeni koncentrični krugovi koji nastaju zbog izmjene dana i noći i specifičnih su boja od zelene do tamnožute boje. To je znak da je došlo do sporulacije tj. formiranja nespolnih organa na miceliju ove gljive, nespolnih spora konidija tipa fijalospora koje blastičnim načinom nastaju na nespolnim organima konidioforima (Slika 2.2.) (Samuels i sur. 2006.).

Konidiofori se granaju u „dendritik“ tipu, taj tip grananja podsjeća na drvo ili piramidu. Uz osnovu centralne osi konidiofora nalaze se najdulje grane dok se prema vrhu skraćuju. Fijalide ili vršne konidiogene stanice konidiofora imaju kruškoliki oblik a u vršnom djelu imaju suženje u subcilindrični vrat, vrlo često dolaze u pršljenovima (Slika 2.3.) (Kumar i Pudhir 2009.). Kada se *Trichoderma* vrste gledaju pod mikroskopom na vrhu fijalida vide se konidije okruglastog oblika (Bissett 1991.). One se holoblastično produciraju iz fijalida te su po tipu nastanka nazivaju fijalospore (Kumar i Pundhir 2009.).

Konidije vrsta roda *Trichoderma* većinom su elipsoidnog oblika te dimenzija 3-5 x 2-4 µm. Stjenke konidija mogu biti glatke ili lagano ornamentirane, dok boje variraju od bijele, smeđe, rijetko sive a najčešće su zelene (Mukherjee i sur. 2012.). Konidije daju pigmentaciju kolonija jer je u njima pigment pa masa konidija stvara karakterističnu zelenu boju. Produkcija konidija potaknuta je brojnim stresnim uvjetima za gljivu kao što su nedostatak vlage, povećane temperature (više od 30 ^{o}C), utroškom nutrijenata u medija ili dodatak glutamata mediju (Mukherjee i sur. 2012.).

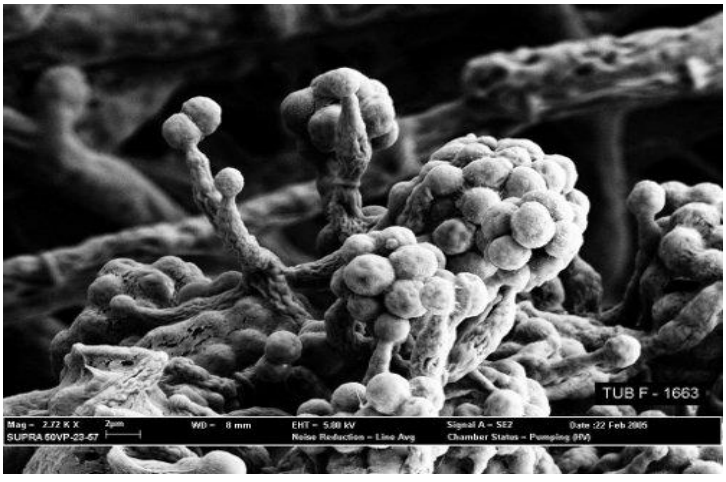


Slika 2.1. Hife *Trichoderma* sp. (siva boja) parazitiraju hifu druge gljive

Izvor: http://allplantprotection.blogspot.com/2012/04/trichoderma-multi-useful-fungi.html – pristup 24.5.2019.



Slika 2.2. Micelarna kolonije vrste *Trichoderma longibrachiatum* autohtoni izolat STP1



Slika 2.3. Konidiofor sa konidijama vrste *Trichoderma atroviride*

Izvor: TUB Microbial culture collection

http://www.tub-collection.com/pic.html - pristup 24.05.2019.

Gljive roda *Trichoderma* imaju sposobnost proizvesti hlamidospore. Hlamidospore tipične za ovaj rod su jednostanične okruglastog ili elipsoidnog oblika, bezbojne, glatke stjenke te se pojavljuju na krajevima kratkih hifa (Kumar i Pundhir 2009.). Kod ovih vrsta hlamidospore pronađene su u prirodi u tlu, sterilnom tlu, ekstraktima tla te krutom i tekućem hranjivom mediju (Mukherjee i sur. 2012.). Proizvodnja hlamidospora ovisi o pH i sastavu medija na kojem kolonija raste te uvjetima rasta (Lewis i Papaviaz 1983.). Više se hlamidospora proizvede na krutom nego na tekućem hranjivom mediju. Hlamidospore nastaju u maom broju te ne predstavljaju značajan dio inokuluma za izradu formulacija vio-pripravka (Mukherjee i sur. 2012.).

Teleomorfni stadij većine vrsta determiniran je nekom molekularnom metodom i svrstava se u rod *Hypocreae*, kod manjeg broja vrsta još nije determiniran ili ne postoji (Samuels i sur. 2006.).

2.2. Primjena u poljoprivrednoj proizvodnji

Vrste roda *Trichoderma* mogu se naći u različitim tipovima tla diljem svijeta. Sastavni su dio rizosfere tla i vrlo su dominantne iz tog razloga vrlo su interaktivne u tlu, korijenu i folijarnom okolišu (Papavizas 1985., Sharma, 2011.). Svaka vrsta iz ovog roda ima specifične zahtjeve prema vlazi i temperaturi. Sve vrste preferiraju vlažna tla (Kumar i Pundhir 2009.).

Najvažnija je primjena *Trichoderma* vrsta u poljoprivrednoj proizvodnji gdje se koriste kao stimulator biljnog rasta, kao biofungicidi te se još koriste za stvaranje transgenih biljaka otpornih na bolesti. Sve to zahvaljujući njihovoj sposobnosti da kao antagonisti, rizosferni kolonizatori, promotori biljnog rasta, indikatori obrambenih mehanizama u biljkama te neutralizatori enzima koje luče patogeni organizmi (Kumar i Pundhir 2009.).

Vrste iz roda *Trichoderma* proizvode brojne stanične enzime primjerice celulaze, hitinaze i proteaze, primjenjuju se u velikom broju grana industrije kao što su kemijska; farmaceutska; tekstilna. Jedan primjer je i korištenje produkata metabolizma *Trichoderma* vrsta za izbjeljivanje denim tkanina i to se naziva „stone wash“ stil (Harman 2006.).

Pomoću enzima koja *Trichoderma* vrste posjeduju povećavaju topljivost tvari u tlu koje su biljnim vrstama manje pristupačne te im na taj način omogućavaju veću dostupnost hranjiva. Samim tim procesom povećanog unosa hranjiva u biljku povećava se i prinos (Altomare i sur. 1999.). Dokazano je kako *Trichoderma* vrste pospješuju raspadanje biljnih ostataka u tlu. Također neke vrste poput *T. reesei* imaju odlične rezultate u proizvodnji enzima celulaze koji razgrađuje celulozu te se iz tog razloga koriste za razgradnju celuloze u biotehnološkoj industriji (Kubicek i Panttila 1998.).

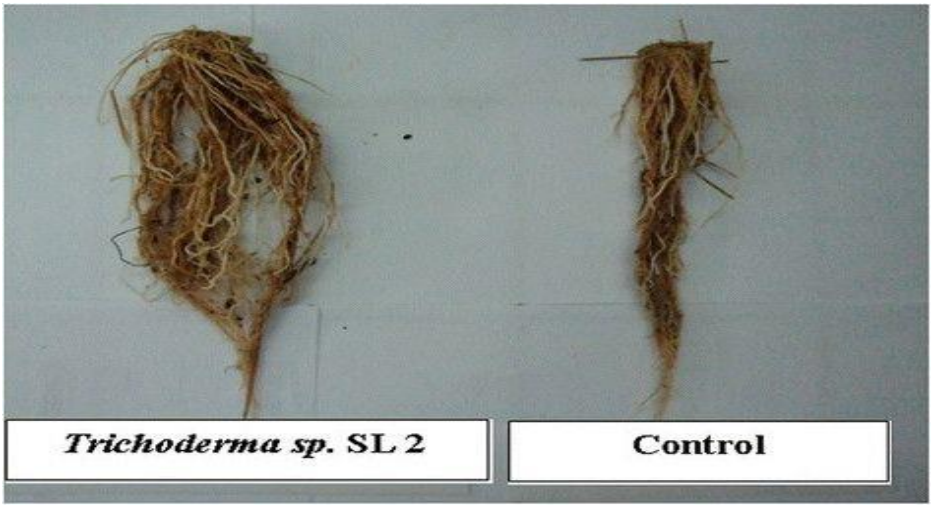
Vrlo je važna uloga *Trichoderma* vrsta u razgradnji alelokemikalija prije nego te čestice inhibiraju rast i razvoj biljke, čime bi se smanjio korijenov sustav za kolonizaciju *Trichoderma* vrstama (Ling 1999.). Alelokemikalija je riječ koja dolazi od grčkih riječi allelon (jedan drugome) i pathos (patiti) to ukazuje na kemijsku inhibiciju jedne vrste prema drugoj. U biljnom svijetu alelopatija ostvaruje se putem kemijskih spojeva (alelokemikalija) koji inhibiraju razvoj i rast ili služe kao signal za prisutnost kompetitora (Zeman i sur. 2011.). Kroz izmjenu tvari u zoni korijena biljke vrste roda *Trichoderma* razgrađuju fitotoksične enzime proizvedene od strane drugih štetnih mikroorganizama. Sposobnost inaktiviranja proizvodnje enzima dokazuje istraživanje koje pokazuje kako *Trichoderma harzianum* utječe na aktivnost hidrolitičkih enzima proizvedenih od strane patogena *Botrytis cinerea*. Enzimi *B. cinerea* uzrokuju degradaciju staničnih stjenki stanica biljke što dovodi do razvoja biljne bolesti. Rezultati istraživanja pokazuju kako enzimi proteaze koju proizvodi *T. harzianum*, razgrađuju enzime proizvedene od strane *B. cinerea* te na taj način reduciraju jačinu napada bolesti (Uphoff i sur. 2006.).

Najvećim djelom se *Trichoderma* vrste koriste kao antagonisti gljivičnih uzročnika biljnih bolesti tj. biofungicidi ali također mogu biti korisne kao promotori biljnog rasta (biognojiva). Sve je više dokaza kako je promocija biljnog rasta neovisna od antagonističke sposobnosti ovih gljiva te je jednako značajna sposobnost *Trichoderma* vrsta kao njihova anatagonistička sposobnost (Topolovec-Pintarić i sur. 2012.).

Trenutno u svijetu pripravci na bazi *Trichoderma* čine 60% ukupno svih biofungicida (Topolovec-Pintarić 2019).

Kolonizacijom korijena biljke vrste roda *Trichoderma* potiču njegov jači rast i razvoj (Chang i sur. 1986.). Danas se *Trichoderma* vrste smatraju oportunističkim biljnim simbiontima iz tog razloga jer koloniziraju korijen biljaka i prodiru u epidermu tkiva korijena te nekoliko slojeva stanica ispod te razine, na taj način sa biljnim vrstama uspostavljaju pseudomikorizni odnos. Pomoću pseudomikoriznog odnosa *Trichoderma* vrste potiču lokalizirane i sustavne otpornosti biljaka na njezine patogene (gljive, nematode). Ovim odnosom i biljke i *Trichoderma* imaju korist, biljke povećanjem korijena usvajaju više makro i mikroelemenata potrebnih za svoje rast i razvoj a *Trichoderma* iskorištava ugljikohidrate koje luče biljni korijeni i njima se hrane (Slika 2.4.). Upravo zbog toga *Trichoderma* potiče biljku na više usvajanja hranjiva kako bi ona imala više ugljikohidrata za sebe (Topolovec-Pintarić 2019.).

Nakon uspostave pseudomikorize, *Trichoderma* vrsta sintetizira protein svolenin, koji stimulira ubrzanu proliferaciju korijena biljke, jer intenzivira njegov rast te pruža zaštitu samog korijena od toksičnih supstanci koje se nalaze u tlu (Racić 2017., Shuster i Schmoll 2010.).



Slika 2.4. Utjecaj vrste *Trichoderma sp*. SL2 na rast i razvoj korijena

Izvor: Physiological and growth response of rice plants (*Oryza sativa* L.) to *Trichoderma* spp. inoculants https://amb-express.springeropen.com/articles/10.1186/s13568-014-0045-8 - pristup 24.05.2019.

Istraživanja su pokazala kako do promocije biljnog rasta dolazi pomoću različitih mehanizama vrsta roda *Trichoderma* i oni se dijele na direktne i indirektne (Racić 2017., Verma i sur. 2007.). Pod direktnim mehanizmima smatraju se mogućnost otapanja fosfata, mikrohraniva i minerala koji imaju bitne uloge u biljnom rastu, izlučivanje supstanci koje reguliraju biljni rast, sekrecija molekula kao što su siderofori, ekstrastanični enzimi i vitamini. Smatralo se kako je promocija biljnog rasta indirektni mehanizam na kojeg utječe *Trichoderma* indukcijom otpornosti biljaka prema patogenima. Također poznata je njihova sposobnost induciranja otpornosti biljnih vrsta koje su izložene raznim abiotičkim i biotičkim stresnim uvjetima. Prema podacima iz literature primjena gljiva iz ovog roda u rizosferni sloj tla gdje se nalazi korijen biljaka povećava se vigor korijena i otpornost prema suši koja je jedan od najznačajnijih abiotskih stresova. Primjenjuju se također i u uvjetima gdje su biljke izložene i drugim abiotskim stresovima kao što su salinitet, ekstremne temperature, vlaga ili povećane količine hranjivih tvari (Mastouri i sur. 2010., Racić 2017.).

Jedan od važnih čimbenika zašto su *Trichoderma* vrste uspješne u biološkoj borbi je sposobnost parazitiranja fitopatogenih gljiva (Papavizas 1985). Biljke posjeduju sofisticirani osjetilni sustav koji im omogućava uočavanje kemijskih signala potencijalnih patogena i na taj način daju prikladne biokemijske odgovore. Kada vrste roda *Trichoderma* nastane korijen biljke potaknu induciranu obranu biljke nakon infekcije patogenom. Gljiva izlučuje sekret za pokretanje signalnog mehanizma koji zatim dovodi do promjena u samom metabolizmu biljaka i na taj način usporava se proces širenja patogena. Ovakvim brzim obrambenim odgovorom biljke prepoznaju i u konačnici se suprotstavljaju brojnim napadima raznih vrsta patogena (Gupta i Ayyachamy 2012).

Svaka biljna vrsta posjeduje proteinske receptore koji prepoznaje napad patogena. Talijanski uročnjak (*Arabidopsis thaliana*) posjeduje jedan takav protein kodiran kao HR4 genom. Kroz istraživanje ekspresije gena HR4 kod ove biljne vrste u interakciji sa gljivom *T. atroviride* rezultati pokusa pokazali su kako gen HR4 ima veliku ulogu u uspostavi interakcije između biljke *A. thaliana* s gljivom *T. atroviride*. Zbog te interakcije dolazi do buđenja lokalne a i sistemične rezistentnosti biljke. Biljka *A. thaliana* kolonizaciju korijena gljivom *T. atroviride* smatra kao kolonizaciju patogenom te zbog toga aktivira svoj obrambeni mehanizam (Saenz-Mata i Jimenez-Bremont 2012.).

Kod procesa interakcije između *Trichoderma* vrsta i same biljke, gljive otpuštaju elicitore koji zatim induciraju različite tipove prijenosa signala kojima aktiviraju obrambene proteine u biljkama tzv. ˝okidače˝. Aktiviranjem ˝okidača˝ biljka započinje proizvodnju enzima koji su uključeni u supresiju patogena i jačanje biokemijskih i strukturalnih komponenti u biljci. Okidač ima elicitorsko djelovanje koje uzrokuje induktivno stečeni imunitet bolje rečeno nespecifični odgovor biljne na napada štetnih organizama (Gupta i Ayyachamy 2012.).

Rezultati nekih istraživanja pokazali su kako *Trichoderma* vrste proizvode određene količine supstanci u obliku auksina i giberelina. Daljnjim istraživanjima sinteze auksina IAA (eng. – indol acetil acid) dokazano je kako *T. viride* sintetizira najviše IAA od svih ostalih *Trichoderma* vrsta te je to imalo pozitivan utjecaj na razvoj korijena 10 koloniziranih biljaka. Tim istraživanjem dokazano je kako je prisutnost auksina zaslužna za razvoj korijenovih dlačica (Uphoff i sur. 2006.).

Istraživan je učinak *Trichoderma* vrsta na rast i razvoj sadnica duhana i rajčice u autoklaviranom tlu. Tim radom dokazano je kako veći broj sadnica ovih biljnih vrsta ima povećani razvijeni korijen i povećanu nadzemnu masu i to nakon osam tjedana. Provedenim testiranjem je dokazano kako *Trichoderma* vrste proizvode tvari koje dovode do poboljšanog rasta i razvoja kod biljaka (Upoff i sur. 2006.).

Istraživanjem kojeg su proveli Chet i sur. (2006.) zaključeno je kako vrste iz roda *Trichoderma* posjeduju sposobnost da izazovu jači porast biljaka. To su dokazali povećanim klijanjem biljaka tretiranih *Trichoderma* vrstama za 30% te povećanje korijenovog sustava istih za 95%. Samim procesom inokulacije gljive u biljke otkriveno je povećano usvajanje fosfora i željeza od strane biljke (Chet i sur. 2006.).

2.3. *Trichoderma longibrachiatum*

Vrsta je otkrivena davne 1969. godine i otkrio je Mien Rifai, koji je revidirao rod *Trichoderma* te razdvojio u 9 različitih kompleksnih grupa. Kasnije 1991. godine John Bisset je pregledao komplekse vrsta roda *Trichoderma* te prepoznao 40 različitih vrsta i opisao novih 14 vrsta (Bissett 1991.). Vrste *T. longibrachiatum* i *T. pseudokoningii* Bissett je stavio u sekciju (grupu) *Longibrachiatum*. Vrste iz ove sekcije najpoznatije su po proizvodnji enzima hidrolize celuloze (Harman i Kubicek 1998., Kubicek i sur. 2009., Samuels i sur. 2012.).

U prošlosti je *T. longibrachiatum* vrlo često zamjenjivana filogenetski vrlo sličnom vrstom *T. reesei* (teleomorf *Hypocrea jecorina*) (Samuels i sur. 2012.). Ovu vrstu je vrlo teško morfološki determinirati naspram *T. reesei* i *T. parareesei*. Za razliku od *T. reesei* konidije *T. longibrachiatum* formiraju se u velikom broju na SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar ili Synthetic nutrient agar) unutar 69 sati, uz to *T. longibrachiatum* ima više savijene ili vijugave fijalide za razliku od *T. reesei* (Samuels i Hebbar. 2015.).

Za razliku od ostalih vrsta iz sekcije *Longibrachiatum T. longibrachiatum* je genetski različita, jer ipak se radi o filogenetski različitim vrstama koje se izoliraju jedna iz druge. One su kozmopolitski simpatičke vrste (Druzhinina i sur. 2018.).

Tablica 2.1. Klasifikacija *Trichoderma longibrachiatum* unutar carstva Gljive

CARSTVO	**Fungi**
RAZDJEL	**Ascomycota**
PODRAZDJEL	**Pezizomycotina**
RAZRED	**Sordariomycetes**
PODRAZRED	**Hypocreomycetidae**
RED	**Hypocreales**
PORODICA	**Hypocreaceae**
ROD	***Trichoderma***
VRSTA	***Trichoderma longibrachiatum***

Izvor: Index fungorum 2019.

Kao i ostale vrste iz roda *Trichoderma* i *T. longibrachiatum* je većinom prisutna u izolatima iz tla, a moguće ju je naći i u drugim mjestima kao što su životinje koje žive u tlu, gljive za konvencionalni uzgoj (šampinjoni…), drvo u raspadnutom stanju, pristaništa i luke. U zatvorenim prostorima kao što su gospodarski objekti gdje se uzgajaju gljive za ljudsku prehranu te kuće ili zgrade koje su vlažne mogu biti dobra mjesta za pojavu većih kolonija. Poznato je kako *T. longibrachiatum* parazitira fitopatogene nematode u tlu (Druzhinina i sur. 2018.).

Koliko je uspješna u suzbijanju nematoda pokazali su pokusi in-*vitro*. Dokazano je kako *T. longibrachiatum* ima najbolji parazitni i letalni učinak na sekundarni juvenilni stadij nematode *Meloidogyne incognitate* gdje je zabilježen mortalitet tretiranih jedinki veći od 88 % nakon 14 dana od tretiranja. Tijela jedinki napadnutih nematoda imala su deformiranu površinu ili su bila potpuno rastvorena metabolitima *T. longibrachiatum* (Zhang i sur. 2015.). Istraživanje je kasnije prošireno na nematodu *Heterodera avenae* i krajnji rezultat je bio 90 % mortalitet jedinki, 18 dana nakon tretiranja (Zhang i sur. 2014.).

Gljive iz roda *Trichoderma* poznate su po svojem mikoparazitnom djelovanju, tako je i *T. longibrachiatum* poznata kao mikoparazit te su provedena razna istraživanja djelovanja na gljivične patogene diljem svijeta na različitim biljnim vrstama. Pozitivno djeluje na rast i razvoj biljaka kojima omogućava veće usvajanje hranjiva. Inhibira rast i razvoj biljnih parazita i raznih alelokemikalija uz to inducira povećanu sintezu fitohormona u biljkama (Gupta i sur. 2014.).

2.3.1. Morfološke karakteristike

Micelarne kolonije

Optimalna temperatura za razvoj micelarnih kolonija ove vrste nalazi se u rasponu 25-35 ^{o}C na hranjivom PDA supstratu i to u uvjetima tame s određenim kratkim periodima svjetlosti. U takvim uvjetima ova vrsta u potpunosti ili gotovo potpuno prekrije petrijevku promjera 9 cm (Slika 2.5.) (Samuels i sur. 2012.). Prema prethodno navedenom temperaturnom intervalu radijus micelarne kolonije ove vrste iznosi 55-75 mm. Prilikom povećanja temperature na 40 ^{o}C radijus micelarne kolonije vrste smanjuje se i on iznosi 24-62 mm. U povoljnim uvjetima *T. longibrachiatum* razvija uniformo raspoređen veliki broj pustula koje su vrlo često u koncentričnim krugovima (Hebbar i Samuels 2015). Uzgoj *T. longibrachiatum* je također moguć i na SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar ili Synthetic nutrient agar). Na SNA kod temperature od 25 ^{o}C radijus kolonija iznosi 50-65 mm, dok kod temperature od 35 ^{o}C iznosi 38-63 mm (Jaklitisch i sur. 2006.).

Micelij *T. longibrachiatum* tamnozelene je boje, visine 0,25 mm, kasnije s vremenom zbija se u micelarno tkivo i na njemu su vidljivi fertilni konidiofori (Hebbar i Samuels 2015.).

Anamorfni stadij *Trichoderma longibrachiatum* Rifai

Rod *Trichoderma* ima tipične konidiofore koji se granaju nalik na drvo ili piramidu (Bissett 1991.). Konidiofori mogu biti pojedinačni ili u lancima te pustulama daju bodljikavi izgled. Fijalide koje se nalaze na konidioforima cilindričnog su oblika, često su na sredini podbuhlog oblika te pojedinačne. Dužina samih fijalida kreće se 3,5-17,2 µm te širine 1-7,3 µm, na njihovim vrhovima nastaju konidije (fijalospore) (Hebbar i Samuels 2015.).

Proces razvoja konidija teče na tipičan način i to tako da se formiraju koncentrični krugovi u temperaturnom rasponu 20-35 ^{o}C u uvjetima tame unutar 48 h. Često konidije mogu posjedovati žuti pigment koji se zatim može formirati unutar 72 h u temperaturnom rasponu 20-30 ^{o}C. Kod kolonija koje svoj razvoj imaju tjedan dana u uvjetima svjetla i na temperaturi od 25 ^{o}C konidijske pustule tada formiraju tamne koncentrične krugove. Same konidije su oblog do elipsoidnog oblika, glatke, zelene boje, a veličina je 3,2-10,5 x 2-5,2 µm (Samuels i sur. 2012.).

Hlamidospore nastaju na vrhovima hifa, a najčešće u velikom broju nastaju na CMD (*Cornmeal dextrose agar*) (Hebbar i Samuels 2015.). Promjera hlamidospora je 4,5-14 µm, a oblik im može biti od ovalnog do oblika trolisne djetline (Slika 2.6.) (Samuels i sur. 2012.).

Način na koji se *T. longibrachiatum* grana karakterističan je za sve vrste iz sekcije *Longibrachiatum*. Pod mikroskopom fertilni ogranci sastoje se od nekoliko razina grananja. Na vrhu se ogranci ne granaju i nose pojedinačnu fijalidu dok su distalni ogranci duži i granaju se (Hebbar i Samuels 2015.).

Teleomorfni stadij *Hypocrea orientalis* Samuels & O. Petrini

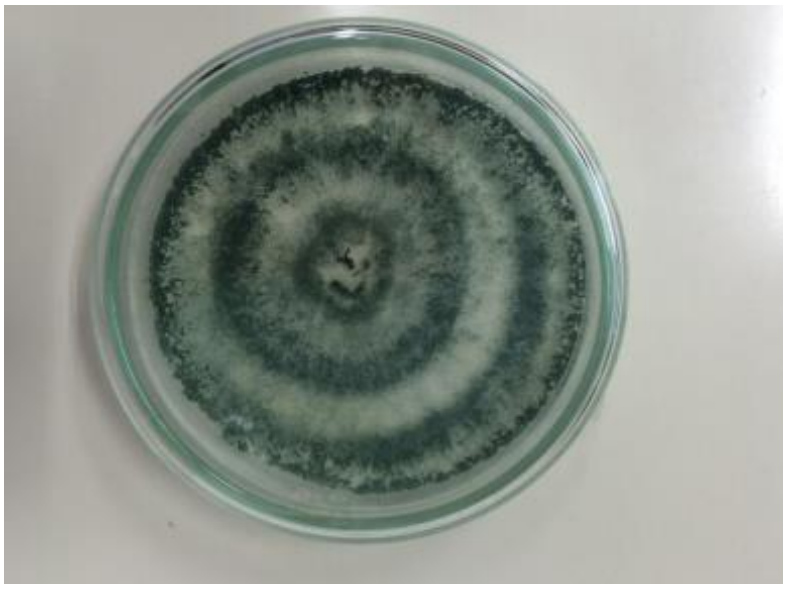
Teleomorfni stadij je stroma. Po 2-4 strome grupiraju se u male grupe koje su promjera 1-4 mm, dok su dugačke i do 8 mm te 1,5 mm duboke. Oblik strome je jastučasti, glatke površine koja je u početku sivo-maslinaste boje pa svijetlosmeđa ili narančasto-smeđa, a kasnije tamnosmeđa s maslinastim tonovima. Na stromama se nalaze periteciji.

Peritecij je spolno plodno tijelo, ovalnog je oblika (viši nego širi), 200-250 µm visoki, 120-160 µm promjera. Peritecij izbacuje crne ostiole (otvori za oslobađanje askospora) na površinu strome. Askusi su veličine 74-93 x 5,2-7 µm, cilindričnog oblika, s skraćenim vrškom gdje se nalazi jedva vidljivi vršni prsten.

Askospore su ovalnog ili poluovalnog oblika distalna stanica je 3,2-4,7 x 3,5-4,7 µm i dijelom su askospore monomorfne. Izgled micelija je u početku kompaktne strukture s izrazito kratkim dlačicama te žuto-maslinaste boje, kasnije je boja maslinasto-smeđa s zvjezdastim finim pukotinama koje su dužine 45-110 µm (Samuels i sur. 2012.).

Još nije potpuno istražena populacijska struktura i reprodukcijska strategija *T. longibrachiatum*. Međutim provedene su brojne filogenetske analize sekcije

Longibrachiatum koje su pokazale mogućnosti klonalnosti ove vrste samim time askomicetna vrsta *Hypocrea orientalis* predložena je kao stadij teleomorfa *T. longibrachiatum* (Samuels i sur. 2012.).



Slika 2.5. Micelarna kolonija *Trichoderma longibrachiatum* izolat STP1



Slika 2.6. Mikroskopski prikaz hlamidospora *Trichoderma longibrachiatum*

Izvor: Researchgate

https://www.researchgate.net/figure/LPAB-preparation-showing-chlamydospores-of-T-longi-brachiatum_fig3_9020109 - pristup 24.05.2019.

2.4. *Trichoderma viridescens*

Vrsta *T. viridescens* smatra se kompleks biotipova koji se morfološki ne razlikuju no, razlikuju se fiziološki i genetički (Jaklitsch 2013.). Ova vrsta najbolje se razlikuje od *T. viride* po proliferirajućim fijalidama kokosovog mirisa koje se nalaze na iskrivljenim konidiforima na PDA i CDA agaru te konidijama varijabilnog oblika. Obje ove vrste slične su u svojoj distribuciji. Gljive iz ovog kompleksa *T. viridescens*, *T. paraviridescens virilente*, *T. viridarium*, *T. olivascens* široko su rasprostranjene. Dok ostale gljive iz ovog kompleksa kao što su *T. trixiae*, *T. viridialbum* i *T. composticola* pronađene u Americi u/ili Europi i nisu široko rasprostranjene. Kod gljiva *T. appalachiense* i *T. neosinense* poznat je samo njihov teleomorfni stadij iz jugoistočnog dijela Australije i Tajvana (Samuels i Hebbar 2015.).

2.4.1. Morfološke karakteristike

Micelarne kolonije *T. viridescens* najbolje se razvijaju na temperaturi od 25 ^{o}C i to na PDA supstratu u radijusu od 28-33 mm dok na SNA supstratu u radijusu od 24-26 mm. Na temperaturi od 35 ^{o}C razvoj micelarnih kolonija je zaustavljen i on iznosi na oba supstrata 0. Konidijski proizvodi se u početku zračne hife a kasnije se tvore pustule koje su približno 1 mm promjera. Konfluentne pustule veličine su do 8 mm do njihovog ruba, postaju zelene za četiri dana, također i konidije u pustulama su zelene boje, često i žute dok pigmentacija nije primijećena na SNA. Na PDA i CDM vrlo često *T. viridescens* ostaje sterilna (Samuels i Hebbar 2015.). Miris micelarnih kolonija podsjeća na kokos (Jaklitsch 2011.).

Anamorfni stadij *Trichoderma viridescens* (A.S. Horne & H.S. Will.) Jaklitsch & Samuels

Postoje dva tipa konidofora kod ovog kompleksa gljiva nazivaju je 1 i 2. Oba tipa konidiofora ne formira se u istom supstratu. Tipovi 1 i 2 konidiofora pronađeni su samo na CDM i PDA supstratu dok je na SNA pronađen samo tip 1 konidiofora.

Prvi tip („1“) su konidiofori s tipično jednom ili nekoliko vršnih fijalida, a nastaju na rubu pustule ili se izdižu iznad nje (Slika 2.6.). Rjeđe se fijalide formiraju cijelom dužinom konidiofora u širokim razmacima. Konidiofori u formiraju unutrašnjosti pustula tipično su ravni ili ja njihova centralna os vijugava i razgranata. Grane su im uparene te sve dužine s udaljavanjem od vrha, pri čemu svaka grana završava sa jednom do tri fijalide u križnom pršljenu. Fijalide ovog tipa konidiofora blago su zadebljale u sredini osim u zbijenim pustulama kada su ravne, rijetko vijugave ili nalik na kuku. Veličina fijalida kreće se u intervalima (4.7-)7.2-11.5(-20) µm duljine, (1.7-)2.5-3.2(-4.2) µm širine na najširim mjestima,

L/W (1.5-)2.5-4.5(-9.5) µm duljine, u bazalnom djelu (1.0-)1.7-2.5(-3.5) µm širine (Samuels i Hebbar 2015.).

Drugi tip („2“) konidiofora se često razvijaju na PDA i CDM supstratima. Glavna os konidiofora nije formirana ili je slabo vidljiva obzirom da se odmah počinje granati (Slika 2.7.). Grane se javljaju u oštrim kutovima u odnosu na hifu iz koje se izdižu te završavaju sa jednom ili dvije fijalide. Često se periferne fijalide proliferiraju te nastaju lanci od dvije do šest stanica koji završavaju jednom terminalnom fijalidom. Fijalidne stanice u lancima su proširene u sredini te više ili manje sužene sa na krajevima. Lanci stanica i fijalida koji se pojavljuju u moniliformnim oblicima ponekad imaju dugi cilindrični vrat (Samuels i Hebbar 2015.).

Interkalarne fijalide, one koje nastaju lateralno ispod vršne fijalide uz septu koja ju odvaja od konidiofora, mogu biti prisutne ali nisu uobičajene na svim hranjivim medijima.

Konidije su jajolikog i elipsoidnog oblika veličine (2.2-)3.0-3.7(-4.7) µm x (2.7-)3.5-4.5(-8.5) µm zelene boje. Kod temperatura od 15 ^{o}C do 30 ^{o}C smanjen je razvoj konidija i nije toliko izražen miris na kokos, najbolji razvoj konidija je na 30 ^{o}C (Jaklitsch 2011.).

Hlamidospore se većinom prisutne ali postoji i vjerojatnost da se ne pojave, mogu biti terminalne ili interkalarne te subglobozne (Samuels i Hebbar 2015.). Njihova pojava je obično za 5-6 dana. Veličina hlamidospora je u intervalu (7–) 8–12 (–16) × (6–) 7–11 (–13) µm, l / w (0,9–) 1,0–1,3 (-1.5) (n = 28). Većinom nakon dva dana blijede u tamno zelenu boju (Jaklitsch 2011.).

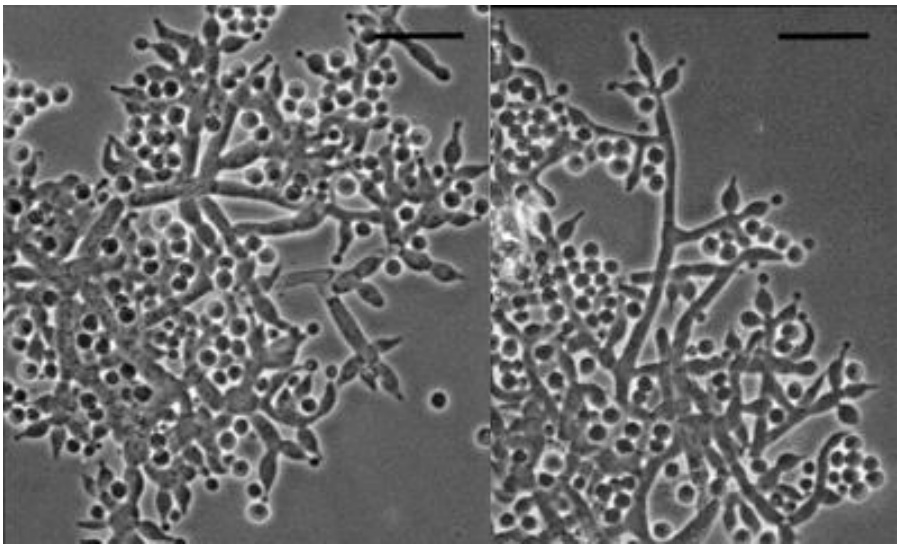
Teleomorf *Hypocrea viridescens* Jaklitsch & Samuels

Spolno tijelo je peritecij koji nastaje u stromi.

Strome su duljine 0,5 – 4 mm, dok im je debljina u intervalu 0,5 – 1,5 mm. Stroma nepravilnog okruglog oblika, a za supstrat pričvršćena us svojem središnjem dijelu. U početku kad su strome mlade one su naranđasto-smeđe, svijetlo smeđe, žuto-smeđe do svijetlo crvenosmeđe boje, a kasnije postaju većinom tamnocrveno smeđe, smeđe do tamno crveno, rijetko ružičasto-smeđe ili sivkasto crvene te naranđasto do naranđasto-crvene boje. Također kada su mlade na njima se pojavljuju periteciji žućkaste do hrđave boje (Jaklitsch 2011.).

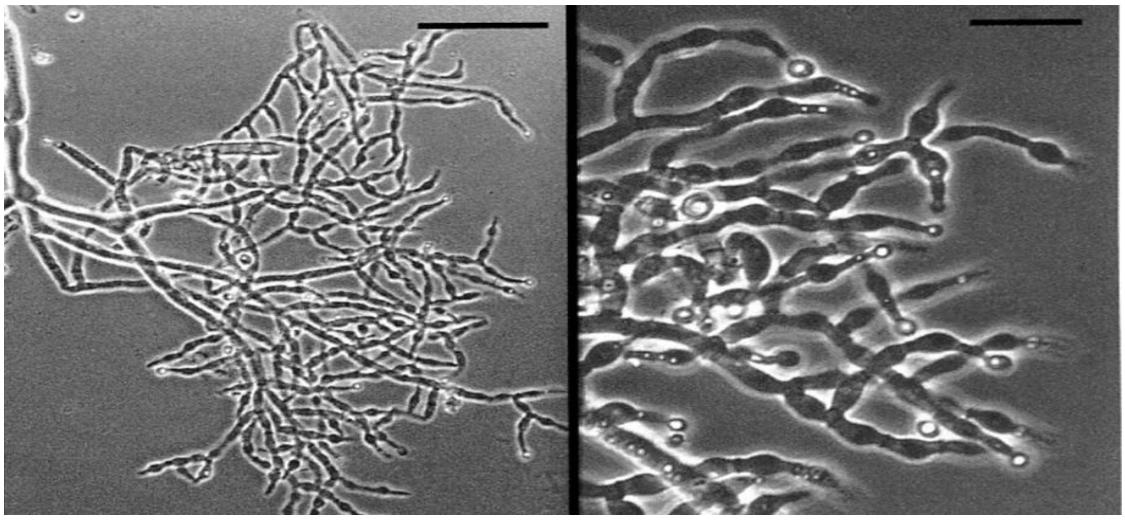
Peritecij je eliposidnog ili okruglog oblika, podsjeća na oblik tikvice. U početku razvoja stroma pojava peritecija je obilna, što su strome starije to je i broj peritecija manji. Ostiole izbacuju askospore koje su široke i dugačke 0.5 µm.

Askospore su ovlanog do klinastog oblika, a moguća je i pojava dugačkog do klinastog oblika sa donjim krajem široko zaobljenim (Jaklitsch 2011.).



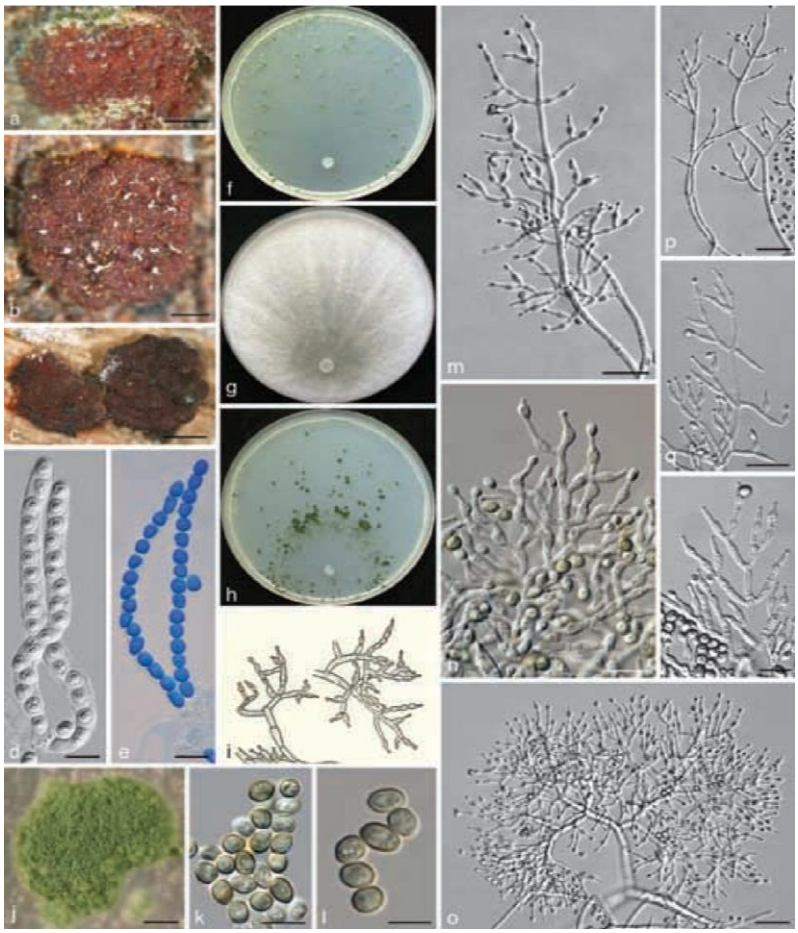
Slika 2.6. Konidiofori *Trichoderma viridescens,* tip 1, skala:10 µm

Izvor: Samuels i Hebbar,2015



Slika 2.7. Konidiofori *Trichoderma viridescens,* tip 2, skala:10 µm

Izvor: Samuels i Hebbar,2015



Slika 2.7. Prikaz spolnih oblika (a-e) te nespolnih oblika (f-r) gljive *Trichoderma viridescens*

Izvor: Disentangling the *Trichoderma viridescens* complex

https://www.semanticscholar.org/paper/Disentangling-the-Trichoderma-viridescens-complex-Jaklitsch-Samuels/a1abc83b9827025db8ea939f52166fd507e62841/figure/3 -pristup- 28.05.2019.

3. Mrkva (*Daucus carota*)

Mrkva je dvogodišnja zeljasta biljka koja spada u razred *Magnoliopsida*, red *Apiales* te porodicu *Apiaceae* hrvatski štitarke. (Plantea 2017.). Podrijetlo mrkve je s područja Mediterana, a kao povrće se koristi od pretpovijesnog razdoblja. Današnje forme mrkve razvile su se višestrukim mutacijama (Lešić i sur. 2004.). Uzgaja se u zemljama s umjerenim klimatom.

3.1. Morfološke karakteristike mrkve

U svojoj prvoj vegetacijskoj godini mrkva razvija korijen i lisnu masu, dok u drugoj godini razvija generativne organe cvijet, plod a kasnije sjemenke. Korijen mrkve raste duboko u tlo i ima mnoštvo postranih žilica koje povećavaju mogućnost usvajanja hranjiva i vode iz tla. Prema podacima korijen mrkve može u povoljnim uvjetima za rast otići u dubinu više od 1 m (Lešić i sur. 2004.). Boja korijena mrkve razlikuje se od žute pa sve do narančaste, crvene, različitih nijansi ljubičaste boje. Izduženog je oblika sa različitim oblicima vrha od tupog do zašiljenog vrha (Slika 3.1.) (Agroklub 2019.). Korijen mrkve sastoji se od tri dijela: epikotila ili skraćene stabljike, hipokotila i dijela korijena sa postranim korjenčićima. Stabljika je vrlo kratka sve dok ne krene generativna faza, zatim se izdužuje i može narasti do 1 m visine (Parađiković 2009.). Listovi mrkve duboko urezani i spiralno rastu po stabljici, svijetlozelene do tamnozelene su boje te kao i stabljika po sebi imaju sitne dlačice. Vrlo su mirisni, aromatični, hranjivi i bogati karotenom upravo zbog toga su vrlo dobra stočna hrana (Kantoci 2014.). Mrkva ima cvjetove bijele do žute boje koji se nalaze u cvatu pod nazivom štitac. Plod mrkve je kalavac i sastoji se od 2 jednosjemena plodića oblika polumjeseca te se oni koriste za sjetvu (Parađiković 2009.).

3.2. Agrotehnički uvjeti uzgoja mrkve

Plodored je vrlo važan za mrkvu koja se na istoj parceli može uzgajati tek nakon 3-4 godine. Najbolje predkulture za mrkvu su kulture koje se obilno gnoje stajskim gnojem te nisu bile zakorovljene tokom vegetacije. Većinom su to rajčica, paprika, mahunarke, žitarice, krumpir. Kao predkultura mrkva je dobra za većinu drugih kultura (Matotan 2004.).

Mrkva se sije u gredice sa više redova (Slika 3.2.). Nema velikih zahtjeva za temperaturom može klijati već kod temperatura 3-4 ^{o}C ali kod tako niskih temperatura proces klijanja je vrlo spor. Kada niknu biljke mrkve otporne su na niske temperature sve do -5 ^{o}C. Optimalna temperatura za rast i razvoj je 18-20 ^{o}C (Bilje 2015.). Kada su ljeti

temperature više od 30 ^{o}C korijen mrkve se vrlo sporo razvija i ostaje kratak i sa puno vlakana te je mrkva neukusna (Agroklub 2019.).



Slika 3.1. Mrkva

Izvor: Agrohemija

http://www.agrohemija.com/proizvodi/mrkva-nantes-forto-10-gr-seminis-1312.html -pristup-24.05.2019.



Slika 3.2. Gredice mrkve u intenzivnoj proizvodnji u polju

Izvor: Pinova

http://pinova.hr/hr_HR/baza-znanja/povrcarstvo/mrkva/sjetva-mrkve - pristup 24.05.2019.

Navodnjavanje je vrlo važan čimbenik kako bi proizvodnja mrkve bila uspješna posebno u dvije faze vegetacije. Prvi je period od nicanja pa da prvih 5-6 listova, dok je drugi period u koje dolazi do razvoja i debljanja korijena u tom je periodu ujedno i mrkvi najviše potrebno dovoljno vlage. Ukoliko u početku nema dovoljno vlage velika je mogućnost prorijeđenog sklopa, a ako u fazi debljanja korijena dođe do nedostatka vlage u tlu korijen će biti sitan, kratak i žilav (Agroklub 2019.).

Tlo koje mrkva zahtjeva za svoj rast i razvoj je pH vrijednosti od 5,5-6,5 to je blago kiselo do neutralno tlo. Sama struktura tla mora biti mrvičasta dobro porozna i duboka tla sa dovoljnim količinama humusne tvari. Teška i glinasta tla su nepoželjna jer se korijen ne može pravilno razvijati i često je deformiran. Prije sjetve treba obaviti duboku obradu tla do 30 cm dubine, a kasnije i predsjetvenu pripremu.

3.3. Hranidbena i zdravstvena vrijednost mrkve

Uzgaja se zbog svog zadebljalog korijena koji se koristi u ljudskoj prehrani. Zbog brojnih vitamina i minerala koje sadrži mrkva blagotvorno djeluje na ljudski organizam, upravo zbog toga svrstana je u 10 najvažnijih vrsta povrća (Kantoci 2014.). Mrkva je jedan od najvažnijih izvora vitamina A te sadrži veliku većinu potrebnih vitamina za ljudski organizam (Vegicept 2012.). Uz vitamin A sadrži i karoten koji je vrlo važan za ljudski vid, zdravu kožu, antioksidativnu zaštitu i imunitet. Vitamini koji se još mogu naći u njezinom sastavu su B1, B3, B9, C, D, E, K, te minerale kalcij, cink, željezo, fosfor, mangan, molibden. Dokazano je kako mrkva smanjuje rizik od karcinoma (rak pluća, rak dojke, rak maternice, rak debelog crijeva, rak prostate), usporava starenje, pomaže u sprječavanju infekcija, smanjuje rizik od srčanih bolesti, čisti tijelo od štetnih tvari, štiti zube i desni, smanjuje rizik od moždanog udara (Delić 2016.). Također prema istraživanjima mrkva se spominje kao inhibitor Alzheimerove bolesti (Sharma i sur. 2012.).

3.4. Sorta Nanntes 2

Sorta mrkve koja je korištena u pokusu je sorta Nanntes 2. Njezine osnovne karakteristike su stabljika sa lišćem visine do 30 cm, narančasti korijen duljine 15 cm sa relativno malom jezgrom, tupim vrhom (Slika 3.3.). Moguća je sjetva od veljače pa sve do mjeseca svibnja. Zahtjeva dobro drenirana, pjeskovita i lagana tla. Kroz vegetaciju treba dovoljno sunca za bolju boju korijena te dovoljne količine vlage kako bi korijen bio pravilno formiran i zadovoljavajuće veličine (Gardenersworld 2019.).

Tablica 3.1. Hranidbena vrijednost svježeg korijena mrkve

Hranidbeni sastojci	Količina u %
Sirove bjelančevine	0,5 - 1,2
Sirove masti	0,1 - 0,3
Ugljikohidrati	5,8 - 8,8
od toga šećeri	4,8
Vlakna	0,6 - 1,32
Minerali	0,66 - 1,0
Voda	86,5 - 93,0

Izvor: Pinova, 2014.
http://pinova.hr/hr_HR/baza-znanja/povrcarstvo/mrkva/hranidbena-vrijednost-mrkve) - pristup 24.05.2019.



Slika 3.3. Izgled korijena mrkve sorte Nanntes 2
Izvor: Carrot Nantes 2 (Organic) Seeds
https://www.mr-fothergills.co.uk/Vegetable-Seeds/Carrot-Seed/Carrot-Nantes-2-Organic-Seeds_2.html#.XOfEDRYzbIU -pristup 24.05.2019.

4. Materijali i metode

Pokus je proveden u plasteniku na OPG-u Ivan Habjanec u Gornjem Jesenju u 2018. godini. U provedenom poljskom pokusu istraživan je utjecaj autohtonih izolata askomicetnih gljiva *Trichoderma longibrachiatum* označene šifrom STP1 i *Trichoderma viridescens* označene šifrom STP8 na rast i razvoj mrkve.

Izolate je izolirala izv.prof.dr.sc. S. Topolovec-Pintarić i čuvaju se u zbirci *Trichoderma* izolata u Mikološkom laboratoriju Zavoda za fitopatologiju, Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta. Izolati su za potrebe pokusa čuvani i umnažani u petrijevim posudicama promjera 9 cm, na PDA supstratu uz inkubaciju u klima-komori u tami na 21 °C. Inkapsulacija inokuluma svakog izolata u praškastu formulaciju provela je izv.prof.dr.sc. S. Topolovec-Pintarić (receptura u tajnosti) u Mikološkom laboratoriju. Koncentracija spora u formulaciji podešena je na $8x10^{10}$ spora/mg.

Pokus je postavljen po shemi slučajnog bloknog rasporeda sa tri varijante u pet ponavljanja. Parcelica jednog ponavljanja bila je veličine 2 m^2 . Ukupna površina pokusa iznosila je 30 m^2. Varijante pokusa bile su:

1) *Trichoderma longibrachiatum* – STP1
2) *Trichoderma viridescens* - STP8
3) Kontrola – K

Korišten je grudni supstrat, slabo humusno tlo alkalne reakcije prema analizi Zavoda za ishranu bilja, Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta. Priprema tla obavljena je u dvije faze: 1) duboka obrada tla do 30 cm ručno štihanjem (slika 4.1.), 2) usitnjavanje frezanjem pomoću kultivatora (slika 4.2.). Pomoću špage označeni su redovi na pokusnim parcelicama i zatim su grabljama napravljeni kanali za sjetvu mrkve (slika 4.3.).

Za sjetvu je korišteno sjeme mrkve Nanntes 2 uvezeno iz Italije proizvedeno 2017 godine. Sjeme nije bilo tretirano sredstvima za zaštitu bilja. Sjetva je obavljena ručno 13. travnja 2018. i neposredno po prekrivanju zemljom zaliveno pomoću kante za zalijevanje. Do kraja pokusa vlaženje je održavano ugrađenim sustavom za navodnjavanje kap na kap. U svrhu navodnjavanja korištena je kišnica.

Tjedna dana nakon sjetve 40 % biljaka je niknulo, a u narednom tjednu 100 % biljaka, a tada je obavljeno prvo plijevljenje korova i prorijeđen je ponik radi optimizacije gustoće sklopa. Plijevljenje je obavljeno ručno pomoću motike.

Mjesec dana nakon sjetve sve biljke su bile u fenofazi prva tri prava lista (slika 4.4.). U toj fenofazi, 13. svibnja 2018., obavljena je aplikacija pripravaka na osnovu oba izolata. STP1 i STP8. Praškaste formulacije pripremljene su miješanjem s vodom (kišnica) u koncentraciji 2 g/10 l, koliko je iznosila doza za površinu svih pet ponavljanja jedne varijante tj. 10 m^2

površine. Tretiranje je obavljeno leđnom prskalicom (Garden pro 16) direktnim usmjeravanjem dizne uz bazu biljne rozete pri tlu, a ne po biljkama (slika 4.5.). Nakon obavljenog tretiranja tlo je još dodatno zaliveno sistemom kap na kap. Kroz vegetaciju nije bilo primjene nikakvih sredstava za zaštitu bilja.

Ukupno po jednoj pokusnoj parcelici od 2 m^2 bilo je 125 biljaka, te je svaka varijanta imala ukupno 628 biljaka. Ukupni broj biljaka na cijelom pokusu iznosio je 1884 biljke mrkve.



Slika 4.1. Obrada tla štihačom



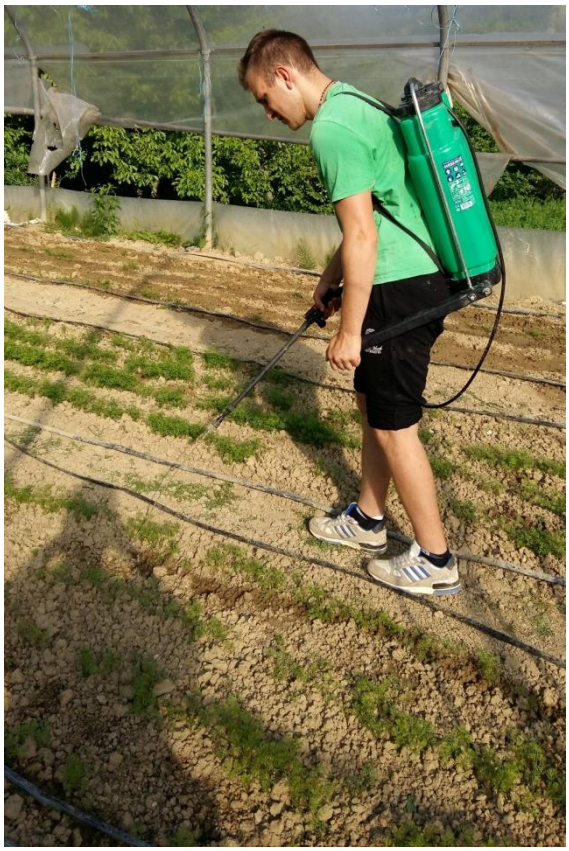
Slika 4.2. Frezanje pomoću kultivatora



Slika 4.3. Označavanje redova za sjetvu



Slika 4.4. Mrkva u fenofazi prva tri prava lista



Slika 4.5. Aplikacija pripravka pomoću leđne prskalice



Slika 4.5. Izgled parcela u pokusu

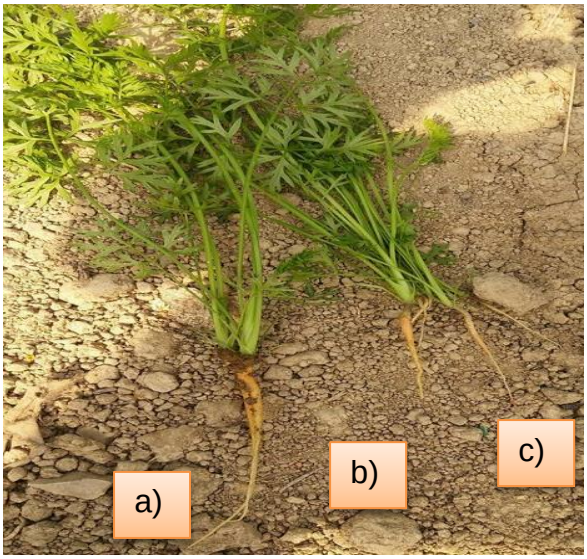
5. Rezultati

Vrednovanje utjecaja autohtonih izolata *T. longibrachiatum STP1 i T. viridescens STP8* na rast biljaka mrkve učinjeno je prema sljedećim izmjerenim karakteristikama: ukupan prinos biljaka na pokusnoj parceli, ukupna masa korijena na pokusnoj parceli, prosječna težine biljke, prosječna težina korijena, ukupna težina lisne mase, prosječna težina lisne mase po biljci.

Najveći ukupan prinos biljaka bio je u tretmanu izolatom *T. longibrachiatum STP1* (123 kg), slijedio je prinos na Kontroli (104 kg) te potom u tretmanu izolatom *T. viridescens STP8* (93 kg). Najveća prosječna masa 1 biljke također je utvrđena u tretmanu izolatom *T. longibrachiatum STP1* (0,196 kg), zatim na Kontroli (0,166 kg) te potom u tretmanu izolatom *T. viridescens STP8* (0,148 kg). Rezultati su prikazani u Tablici 5.1. i Slikom 5.1.

Najveća masa korijena biljaka je u tretmanu izolatom *T. longibrachiatum* STP1 (108 kg), zatim je slijedila masa korijena na Kontroli (90 kg) te nakon toga u tretmanu izolatom *T. viridescens* STP8 (79 kg). Najveća prosječna masa korijena 1 biljke također je utvrđena u tretmanu izolatom *T. longibrachiatum* STP1 (0,172 kg), potom na Kontroli (0,143 kg) te zatim u tretmanu izolatom *T. viridescens* STP8 (0,124 kg). Organoleptički korijen mrkve u tretmanu pripravkom na osnovu *T. longibrachiatum* STP1 imao je slađi i bolji okus te nježniju i užu srčiku za razliku od onog u tretmanu pripravkom na osnovu izolata *T. viridescens* STP8. Rezultati su prikazani u Tablici 5.2. i Slikom 5.1. i 5.2.

Najveća lisna masa biljaka bila je u tretmanima izolatima *T. longibrachiatum* STP1 i T. *viridescens* STP8 (15 kg), te zatim na Kontroli (14 kg). Najveća prosječna lisna masa 1 biljke također je bila na tretmanima izolatima *T. longibrachiatum* STP1 i *T. viridescens* STP8 (0,024 kg) te zatim na Kontroli (0,023 kg). Rezultati su prikazani su prikazani u Tablici 5.3. i Slikom 5.1.



Slika 5.1. Prosječne biljke mrkve nakon tretiranja: a) pripravak na osnovu *Trichoderma longibrachiatum* STP1; b) pripravak na osnovu *Trichoderma viridescens* STP8; c) Kontrola



Slika 5.2. Korijen mrkve sa parcele tretirane izolatom *Trichoderma longibrachiatum* STP1

Tablica 5.1.Ukupan prinos mrkve na 10 m^2

	***Trichoderma longibrachiatum* STP1**	***Trichoderma viridescens* STP8**	**KONTROLA**
Ukupni prinos	123 kg	93 kg	104 kg
Prosječna masa 1 biljke	0,196 kg	0,148 kg	0,166 kg

Tablica 5.2. Masa korijena mrkve na 10 m^2

	***Trichoderma longibrachiatum* STP1**	***Trichoderma viridescens* STP8**	**KONTROLA**
Masa korijena	108 kg	78 kg	90 kg
Prosječna masa 1 korijena	0,172 kg	0,124 kg	0,143 kg

Tablica 5.3. Lisna masa mrkve na 10 m^2

	***Trichoderma longibrachiatum* STP1**	***Trichoderma viridescens* STP8**	**KONTROLA**
Lisna masa	15 kg	15 kg	14 kg
Prosječna lisna masa 1 biljke	0,024 kg	0,024 kg	0,023 kg

6. Rasprava

Danas je u svijetu prihvaćeno kako pozitivan utjecaj *Trichoderma* vrsta na biljni rast sposobnost koja ne ovisi o antifungalnoj sposobnosti ovih filamentoznih gljiva (Altomare i sur., 1999.). Upravo iz tog razloga primjena *Trichoderma* vrsti kao promotora biljnog rasta je najvažnija sa agronomskog aspekta. Shvaćanjem važnosti uloge filamentoznih gljiva roda *Trichoderma* u kultiviranim ekosistemima doprinosi i boljem razumijevanju njihove uloge u prirodnim ekosistemima (Štorga, 2016.).

Najviše istraživanja na promociju biljnog rasta korištene su povrtne kulture kao što su paprika, krastavci, kupus te salata (Bal i Altinatas, 2006.). Također utvrđen je pozitivan utjecaj *Trichoderma* vrsta na rast i razvoj rajčice (Baker i sur., 1984).

Međutim metabolički produkti *Trichoderma* vrsti te izolati iste vrste nisu jednaki što se može vidjeti u njihovoj selektivnosti u utjecaju na različite biljne vrste pa čak i sorte iste biljne vrste (Celar i Valič, 2005). Iz tog razloga ako određeni izolat *Trichoderma* vrste promovira rast salate to nužno ne mora značit kako će taj isti izolat promovirati plodonošenje rajčice (Topolovec-Pintarić i sur., 2013.). To se moglo vidjeti i u ovom pokusu kako dvije različite *Trichoderma* vrste ne djeluju jednako učinkovito na biljku mrkve.

Analizira se kako je to vjerojatno povezano sa boljom interakcijom između *Trichoderma* vrsta ili pojedinog izolata iste vrste sa određenom biljnom vrstom jer izlučevine biljnog korijena mogu inducirati ili inhibirati micelarni rast gljive (Bal i Altintas, 2008.). Kao primjer u istraživanju Chang i sur. 1986. konidijska suspenzija *Trichoderma sp*. dodana je u tlo rajčici, paprici i krastavcima te je rezultat bio povećana težina suhe mase, dok kod graha i rotkve nije došlo do povećanja težine suhe mase nakon primjene suspenzije *Trichoderma sp.* (Chang i sur. 1986).

Na kraju istraživanja prema postavljenim ciljevima izolat *T. longibrachiatum* STP1 promovirao je rast i razvoj mrkve te omogućio veću pristupačnost hranjiva iz tla biljci, što se može zaključiti iz veće ukupne mase biljke te mase korijena naspram netretiranih biljaka sa Kontrole. Za razliku od izolata *T. longibrachiatum* STP1, izolat *T. viridescens* STP8 nije imao pozitivan učinak na rast i razvoj mrkve, nego su rezultati bili slabiji. Oba izolata djelovala su podjednako na lisnu masu biljke mrkve, ali su se razlikovale u djelovanju na korijen mrkve.

Tokom vegetacijskog perioda zamijećena je pojava cvjetne stabljike sa cvjetovima na tretiranim parcelama. To je zanimljiva spoznaja iz razloga što je mrkva dvogodišnja biljna vrsta koja cvijet i plod formira druge vegetacijske godine. Na parceli tretiranoj izolatom *T. longibrachiatum* STP1 bilo je deset biljaka sa cvjetovima, a na parceli tretiranoj izolatom *T. viridescens* STP8 6 biljaka sa cvjetovima a kasnije je došlo do formiranja plodova.

U pokusu je korišten supstrat koji nije dovoljno niske pH reakcije te ne sadrži dovoljne količine humusne tvari koje preferira mrkva. Stoga bi bilo vrijedno pokus ponoviti te koristiti

supstrat koji više odgovara mrkvi dakle, kiseliji sa više humusne tvari. Također bilo bi dobro uključiti još neke druge *Trichoderma* vrste te njihove izolate obzirom da su se izolati međusobno razlikovali u svojem djelovanju.

7. Zaključak

Nakon provedenog istraživanja utjecaja izolata *Trichoderma longibrachiatum* STP1 i *Trichoderma viridescens* STP8 na rast i razvoj mrkve mogu se donijeti sljedeći zaključci:

1. Ukupna masa biljaka mrkve tretiranih izolatom *T. longibrachiatum* STP1 bila veća (123 kg) u odnosu na masu biljaka tretiranih izolatom *T. viridescens* STP 8 (93 kg) i Kontrole (104 kg).

2. Prosječna masa jedne biljke bila veća u tretmanu izolatom *T. longibrachiatum* STP1 (0.196 kg) u odnosu na masu jedne biljke u tretmanu izolatom *T. viridescens* STP 8 (0.148 kg) i Kontrole (0.166 kg).

3. Masa korijena biljaka mrkve tretiranih izolatom *T. longibrachiatum* STP1 bila je veća (108 kg) u odnosu na masu korijena biljaka mrkve tretiranih izolatom *T. viridescens* STP 8 (78kg) i kontrolnu parcelu (90 kg).

4. Prosječna masa jednog korijena biljke mrkve bila je veća u tretmanu izolatom *T. longibrachiatum* STP1 (0.172 kg) u odnosu na masu jednog korijena biljke mrkve tretirane izolatom *T. viridescens* STP8 (0.124 kg) i kontrolnu parcelu (0.143 kg).

5. Ukupna lisna masa podjednako je bila razvijena u biljaka tretiranih izolatom *T. longibrachiatum* STP1 i izolatom *T. viridescens* STP 8 (24 kg) te neznatno niža na Kontroli (23 kg).

Na kraju je moguće zaključiti kako je izolat *Trichoderma longibrachiatum* STP1 perspektivan za primjenu u uzgoju mrkve u uzgojnim uvjetima nalik onima u provedenom istraživanju, a to su slabo humusno tlo alkalne reakcije u zaštićenom prostoru plastenika. Naročito koristan učinak bi pripravak na osnovu ovog izolata mogao imati u ekološkom uzgoju kao zamjena kemijskim gnojivima, a može povećati biljni rast i prinos jednako ili bolje od kemijskih gnojiva. Primjena se pokazala jednostavnom i jeftinijom te sigurnijom i dugotrajnijeg učinka od kemijskih pripravaka. Dobiveni rezultati preporuka su za nastavak istraživanja utjecaja izolata *Trichoderma longibrachiatum* STP1 u različitim uzgojnim uvjetima zaštićenih i poljskih prostora i raznim povrtnim kulturama.

8. Popis literature

1. Agroklub 2019. Mrkva, (https://www.agroklub.com/sortna-lista/povrce/mrkva-164/) - pristup 13.05.2019.
2. Altomare C., Norvell W.A., Björkman T., Harman G.E. (1999.). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant—Growth—Promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. Applied and Environmental Microbiology 65:2926-2933
3. Baker R, Elad Y, Chet I., (1984). The controlled experiment in the scientifc method with special emphasis in biological control. Phytopathology. 74: 1019–1021
4. Bal U., Altintas S. (2006). Application of the antagonistic fungus Trichoderma harzianum (TrichoFlow WPTM) to root zone increases yield of bell peppers grown in soil. Biological Agriculture & Horticulture. 24: 149-163.
5. Bilje 2015. Mrkva (http://www.bilje.hr/POLJOPRIVREDA/AgBase_2/HTM/mrkva.htm) - pristup 07.05.2019.
6. Bissett J. (1991.). A revision of the genus Trichoderma, Intrageneric classification Canadian Journal of botany. 69: 2357 – 2372.
7. Botanički praktikum 2000. Botanički praktikum, (http://www.botanic.hr/praktikum/tumac_a.htm) –pristup 19.06.2019.
8. Celar F. i Valić N. (2005). Effects of Trichoderma spp. and Gliocladium roseum culture filtrates on seed germination of vegetables and maize. Journal of Plant Diseases and Protection. 112: 343-350.
9. Chang Ya-Chun, Chang Yih-Chang, Baker R., Kleifeld O., Chet I., (1986.). Increased growth of plants in presence of the biological contro agent Trichoderma harzianum. Plant Disease 70:145-148
10. Chet I., Viterbo A., Brotman Y., Lousky T. (2006.). Enhancement of plant disease resistance by the biocontrol agent Trichoderma (http://www.weizmann.ac.il/Biology/open_day_2006/book/Abstracts/Ilan_Chet.pdf) - pristup 29.05.2019.
11. Delić D. (2016.). Mrkva – super namirnica za savršeno zdravlje, (https://www.cybermed.hr/clanci/mrkva_super_namirnica_za_savrseno_zdravlje) - pristup 13.05.2019.
12. Druzhinina I.S., Chenthamara K., Zhang J., Atanasova L., Yang D., Miao Y., Rahimi M.J., Grujic M., Cai F., Pourmehdi S., Salim K.A., Pretzer C., Kopchinskiy A.G., Henrissat B., Kuo A., Hundley H., Wang M., Aerts A., Salamov A., Lipzen A., LaButti K., Barry K., Grigoriev I.V., Shen Q., Kubicek C.P. (2018.). Massive lateral transfer of genes encoding plant cell walldegrading enzymes to the mycoparasitic fungus Trichoderma from its plant – 68 associated hosts (https://genome.jgi.doe.gov/Trilo3/Trilo3.home.html) - pristup 14.05.2019.

13. Druzhinina I.S., Kopchinskiy A.G., Kubicek C.P. (2006.). The first 100 Trichoderma species characterized by molecular data. Mycoscience, 47: 55 – 64.
14. Gams W., Bissett J. (1998.). Morphology and identification of Trichoderma. pp. 3- 34. - In C. P. Kubieek and G. E. Harman (eds.), Trichoderma and Gliocladium. Taylor & Francis Ltd., London, U.K.
15. Gardenesworld 2019. *Daucus carota* Nantes 2, (https://www.gardenersworld.com/plants/daucus-carota-nantes-2/) - pristup 03.05.2019.
16. 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.
17. Gupta V. K., Ayyachamy M. (2012.). Biotehnology of Fungal Genes, (https://books.google.hr/books?id=kDXSBQAAQBAJ&pg=PR7&lpg=PR7&dq=#v=onepage&q&f=false) - pristup 23.05.2019.
18. Gupta V. K., Schmoll M., Herrera-Estrella A., Upadhyay R. S.y Druzhinina I., Touhy G. M. (2014.). Biotechnology and Biology of Trichoderma (https://www.sciencedirect.com/book/9780444595768/biotechnology-and-biology-of-trichoderma) Pristupljeno: 14.05.2019.
19. Harman, G. E. (2006.). Overview of mechanisms and uses of Trichoderma sp. Phytopathology. 96: 190-194
20. Hebbar P.K., Samuels G.J. (2015.). Trichoderma – Identification and agrocultural applications. The American Phytopathological Society, Minnesota.
21. Igrc Barčić J., Maceljski M. (2001). Ekološki prihvatljiva zaštita bilja od štetnika. Zrinski, Čakovec.
22. Index fungorum (2019.). (http://www.indexfungorum.org/names/names.asp) - pristup 13.05.2019.
23. Ivić D. (2014). Agrotehničke, mehaničke i fizikalne mjere u zaštiti bilja od bolesti. Glasilo biljne zaštite, 14 (5), 391 – 399. (https://hrcak.srce.hr/169294) pristup 12.06.2019.
24. Jaklitsch W.M. (2011.). European species of Hypocrea part II: Species with hyaline ascospores, Fungal Diversity 48(1):1-250. (https://www.researchgate.net/publication/51714608_European_species_of_Hypocrea_part_II_Species_with_hyaline_ascospores) – pristup 30.05.2019.
25. Jaklitsch W.M., Samuels G. J., Dodd S. L., Lu B.-S., Druzhinina I. S. (2006.). Hypocrea rufa/ Trichoderma viride: a reassessment , and description of five closely related species with and without warted conidia. Studies in Mycology 55:135-177.
26. Kantoci D. (2014.). Sve o mrkvi. Glasnik zaštite bilja, 37(6), 20 - 24.
27. Kubicek C.P., Harman G.E., (1998.). *Trichoderma* and *Gliocladium*: Basic Biology, Taxonomy and Genetics. 1st ed. London: Taylor & Francis e-Library;
28. Kumar J., Pundhir V. S. (2009.). Recent advances in biological control of plant diseases. Centre of advanced studies in plant pathology,

(http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.716.9068&rep=rep1&type=pdf) -pristup 21.05.2019.

29. Lee S., Yap M., Behringer G., Hung R., Bennett J. W. (2016.). Volatile organic compounds emitted by Trichoderma species mediate plant growth. Fungal biology and biotechnology, 3(1), 7. (http://ijrar.org/papers/IJRAR1904568.pdf) - pristup 14.05.2019.
30. Lešić R., Borošić J., Burutac I., Herak-Ćustić M., Poljak M., Romić D. (2004.). Povrćarstvo – II. dopunjeno izdanje
31. Lewis J. A. i Papavizas G. C. (1983). Production of chlamydospores and conidia by Trichoderma spp. in liquid and solid growth media. Soil Biol. Biochem. 15: 351- 357.
32. Martinko K. (2015.). Interakcija Trichoderma viride i Fusarium solani u prisutnosti Raxil TM GEL 206, Diplomski rad, Agronomski fakultet, Zagreb
33. Matotan Z. (2004.). Suvremena proizvodnja povrća; Nakladni zavod Gobus, Zagreb
34. Mukherjee A. K., Horwitz B. A., Singh U. S., Schmoll M. (2012.). Trichoderma: Biology and Applications, (https://books.google.hr/books?id=SBb4AgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=%20%20hr#v=onepage&q&f=false) - pristup 21.05.2019.
35. Papavizas G., C. (1985). Trichoderma and Gliocladium: biology, ecology and potential for biocontrol. Annu. Rev. Phytopathol. 23: 23 – 54.
36. Parađiković N. (2009). Opće i specijalno povrćarstvo. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Poljoprivredni fakultet u Osijeku
37. Pinova (2014.). Hranidbena vrijednost mrkve, (http://pinova.hr/hr_HR/baza-znanja/povrcarstvo/mrkva/hranidbena-vrijednost-mrkve) - pristup 24.05.2019.
38. Plantea (2017.). Mrkva, (https://www.plantea.com.hr/mrkva/) – pristup 03.05.2019.
39. Saba H., Vibhash D., Manisha M., Prashant KS., 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) - pristup 23.05.2019.
40. Saenz-Mata J., Jimenez-Bremont J.F. (2012.). HR4 gene is induced in the Arabidopsis-Trichoderma atroviride beneficial interaction (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22942755) - pristup 23.05.2019
41. Samuels G. J., Hebbar P. K. (2015.). Trichoderma: Identification and Agricultural Applications. 1st ed. St. Paul: The American Phytopathological Society, Minnesota p. 166.
42. Samuels G. J., Ismaiel A., Mulaw T. B., Szakacs G., Druzhinina I. S., Kubicek C. P., Jaklitsch W. M. (2012.). (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3432902/) - pristup 14.05.2019.
43. 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) - pristup 14.05.2019.

44. Sharma K. D., Karki S., Thakur N. S., Attri S. (2012.). Chemical composition, functional properties and processing of carrot – a review. Journal of food science and technology. 49(1): 22 – 23
45. Shuster A., Schmoll M. 2010., 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
46. Štorga G. (2016.). Stimulacija rasta i cvatnje maćuhica izolatom stp mikorizne gljive trichoderma viride, Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
47. Toplovec-Pintarić S. (2019.). *Trichoderma*: Invisible Partner for Visible Impact on Agriculture
48. 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.uni-lj.si/marec2013/10Topolovec.pdf) - pristup 22.05.2019.
49. Topolovec-Pintarić S., Žutić I., Đermić E. (2013). Enhanced growth of cabbage and red beet by Trichoderma viride. Acta Agriculturae Slovenica. 100: 87-92.
50. Uphoff N., Fernandes E., Herren H., Husson O. (2006.). Biological Approaches to Sustainable Soil Systems (http://faculty.washington.edu/elizaw/SB_soil_system.pdf) - pristup 23.05.2019.
51. Zeman S., Fruk G. i Jemrić T. (2011). Alelopatski odnosi biljaka: pregled djelujućih čimbenika i mogućnost primjene. Glasnik Zaštite Bilja, 34 (4), 52 – 59
52. Zhang S., Gan Y., Xu B. (2015). Biocontrol potential of a native species of Trichoderma longibrachiatum against Meloidogyne incognita, Applied Soil Ecology, Volume 94, 21 – 29 (https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929139315001122?via%3Dihub) - pristup 14.05.2019.
53. Zhang S., Gan Y., Xu B., Xue Y. (2014.). The parasitic and lethal effects of Trichoderma longibrachiatum against Heterodera avenae, Biological Control Volume 72 , 1 – 8. (https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S104996441400022X?via%3Dihub) - pristup 14.05.2019.

Životopis

Matija Habjanec rođen je 09.02.1996. godine u Varaždinu. Osnovnu školu pohađao je u Gornjem Jesenju u Osnovnoj školi Gornje Jesenje. Srednjoškolsko obrazovanje stekao je u Srednjoj poljoprivrednoj školi Bedekovčina od 2010. do 2014. godine gdje je završio smjer Poljoprivredni tehničar općeg smjera. Nakon završene srednje škole upisao se na Agronomski fakultet u Zagrebu gdje je 2017. godine završio trogodišnji preddiplomski studij Zaštita bilja i time stekao zvanje univ. bacc. ing. agr. Trenutno studira u Zagrebu na Agronomskom fakultetu diplomski studiju Fitomedicina. Dobro se koristi engleskim jezikom te može komunicirati pomoću njega. Tijekom srednjoškolskog obrazovanja bio je na razmjeni u Njemačkoj 2013. godine gdje je obavljao stručnu praksu u trajanju od dva tjedna te po završenoj praksi dobio certifikat o stručnom usavršavanju. Bavi se malim nogometom (futsal) trenira u MNK Jesenje koji se natječe u 1. HMNL. Također jedan je od članova Savjeta mladih Općine Jesenje kojima je cilj potaknuti i uključiti mlade u funkcioniranje Općine.