

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Tina ZUPANČIČ

**UČINEK IZBRANIH HERBICIDOV NA RAST  
MICELIJA ANTAGONISTIČNIH GLIV  
*Trichoderma spp.***

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Tina ZUPANČIČ

**UČINEK IZBRANIH HERBICIDOV NA RAST MICELIJA  
ANTAGONISTIČNIH GLIV *Trichoderma* spp.**

DIPLOMSKO DELO  
Visokošolski strokovni študij

**THE EFFECT OF SELECTED HERBICIDES ON MYCELIAL GROWTH OF  
ANTAGONISTIC FUNGI *Trichoderma* spp.**

GRADUATION THESIS  
Higher professional studies

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo je zaključek visokošolskega študija Agronomije na Biotehniški fakulteti v Ljubljani. Nastajalo je na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo v fitopatološkem laboratoriju.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomske naloge imenovala prof. dr. Franci Aca CELARJA.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Gregor OSTERC  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Franci Aco CELAR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Članica: prof. dr. Nina KACJAN MARŠIČ  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je diplomsko delo rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravico shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Tina ZUPANČIČ

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Vs
- DK UDK 632.937.14.05:632.954(043.2)
- KG antagonistična gliva/flurokloridon/izoksaflutol/foramsulfuron/amidosulfuron/*Trichoderma* spp.
- AV ZUPANČIČ, Tina
- SA CELAR, Franci Aco (mentor)
- KZ SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- LI 2016
- TD Diplomsko delo (visokošolski strokovni študij)
- OP IX, 28, [5] str., 5 pregl., 5 sl., 4 pril., 23 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Antagonistične glive vzdržujejo ravnovesje med posameznimi talnimi glivami in skrbijo, da se patogene glive ne razmnožijo preveč. Zato imajo *Trichoderma* spp. pomembno vlogo v kmetijskem ekosistemu. Z našo raziskavo smo v laboratorijskih razmerah želeli ugotoviti vpliv izbranih herbicidov na rast micelija gliv *Trichoderma* spp. in sicer Racer (flurokloridon), Merlin (izoksaflutol), Equip (foramsulfuron) in Grodyl (amidosulfuron), pri različnih koncentracijah 100, 75, 50, 25, 12,5, 6,25 in 0 % priporočenega poljskega odmerka in pri dveh različnih temperaturah 20 in 25 °C. Inkubacija je potekala 14 dni, v tem času smo opazovali rast in razvoj micelija in dobljene rezultate primerjali z rastjo v kontroli (gojišče brez herbicida). Glede na inhibicijo rasti micelija smo po toksikoloških testih herbicide razvrstili v štiri razrede: 1 = neškodljiv (< 25% inhibicija), 2 = malo škodljiv (25 - 50 %), 3 = zmerno škodljiv (51 - 75 %), 4 = škodljiv (> 75 %). Trije herbicidi imajo fungistatični učinek na glivi *Trichoderma* spp., eden od njih pa za glivo ni škodljiv. Glivi *Trichoderma* spp. sta zelo občutljivi na preizkušene herbicide, posebej pri priporočenih poljskih koncentracijah, kot tudi pri manjših odmerkih. Flurokloridon ima pri obeh temperaturah in vseh koncentracijah zelo izrazit fungistatičen učinek, pri 100 % in 75 % celo fungicidni učinek. Foramsulfuron ima tudi izrazit fungistatičen učinek, ki pa z zmanjševanjem odmerka slabi. Izoksaflutol in amidosulfuron sta imela zelo malo zaviralnih učinkov in bi jih lahko uporabljali na pridelovalnih površinah skupaj z glivama *Trichoderma* spp. Amidosulfuron pa sploh ni imel zaviralnih učinkov, celo stimulatивно je vplival na rast micelija.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Vs  
DC UDC 632.937.14.05:632.954(043.2)  
CX antagonistic fungus/flurochloridon/isoxsaflutole/foransulfuron/amidosulfuron/  
*Trichoderma* spp.  
AU ZUPANČIČ Tina  
AA CELAR, Franci Aco (supervisor)  
PP SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Department of Agronomy  
PY 2016  
TI THE EFFECT OF SELECTED HERBICIDES ON MYCELIAL GROWTH  
OF ANTAGONISTIC FUNGI *Trichoderma* spp.  
DT Graduation Thesis (Higher professional studies)  
NO IX, 28, [5] p., 5 tab., 5 fig., 4 ann., 23 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB Antagonistic fungi maintain a balance between particular types of soil fungi and ensure that proliferation of the pathogenic fungi is kept under control. Therefore, *Trichoderma* spp. play an important role within an agricultural ecosystem. The purpose of our research was to determine the effects of different types of chosen herbicides have on the growth of mycelium of the fungi *Trichoderma* spp. under laboratory conditions. The herbicides used at various concentrations levels (100, 75, 50, 25, 12,5, 6,25), at 0 % of the recommended field dosage and at two different temperatures 20°C and 25°C were Racer (flurochloridone), Merlin (isoxaflutole), Equip (foramsulfuron) and Grodyl (amidosulfuron). The incubation lasted 14 days and during this period we were monitoring the growth and development of mycelium, while at the same time comparing all of the gathered results with the controlled culture medium (a culture medium without a presence of herbicide). Based on the mycelium growth's inhibition and according to the toxicology tests, we then classified these herbicides into 4 different classes: 1 = harmless (< 25% inhibition), 2 = somewhat harmful (25 - 50 %), 3 = moderately harmful (51 - 75 %), 4 = harmful (> 75 %). Three of these herbicides were found to have a fungistatic effect on the *Trichoderma* spp. fungi and one of those was no harm to the fungi. The fungi *Trichoderma* spp. are very sensitive to established herbicides, especially at the recommended field concentration levels and whenever lower dosages are used. Flurochloridone was found to have a prominent fungistatic effect at both specified temperatures and with all of the concentration levels used, while it even had a fungicidal effect at 100 % and 75 %. Foransulfuron also showed a distinct fungistatic effect, which weakened with lower dosages. Isoxaflutole and amidosulfuron have both shown very few inhibitive effects and could be used for cultivation alongside the

*Trichoderma* spp. fungi. Lastly, amidosulfuron showed no inhibitive activity and was even found to stimulate the growth of the mycelium.

## KAZALO VSEBINE

	Str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION .....	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO PREGLEDNIC.....	VI
KAZALO SLIK.....	VII
KAZALO PRILOG .....	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....	IX
<b>1 UVOD</b> .....	<b>1</b>
1.1 NAMEN NALOGE .....	1
1.2 CILJI NALOGE .....	1
1.3 DELOVNE HIPOTEZE .....	2
<b>2 PREGLED OBJAV</b> .....	<b>3</b>
2.1 ANTAGONISTIČNE GLIVE .....	3
2.2 GLIVE <i>Trichoderma</i> spp.....	3
2.3 FITOFARMACEVTSKA SREDSTVA .....	6
<b>2.3.1 Herbicidi</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3.2 Opis herbicidov uporabljenih v poskusu</b> .....	<b>7</b>
2.4 BIOTIČNO VARSTVO .....	9
<b>3 MATERIAL IN METODE</b> .....	<b>11</b>
3.1 POTEK DELA.....	11
3.2 MERITVE IN OBDELAVA PODATKOV .....	13
<b>4 REZULTATI</b> .....	<b>14</b>
<b>5 RAZPRAVA IN SKLEPI</b> .....	<b>24</b>
5.1 RAZPRAVA.....	24
5.2 SKLEPI.....	25
<b>6 POVZETEK</b> .....	<b>26</b>
<b>7 VIRI</b> .....	<b>27</b>

ZAHVALA

PRILOGE

### KAZALO PREGLEDNIC

	Str.
Preglednica 1: Osnovni podatki o herbicidih.	11
Preglednica 2: Odstotek inhibicije rasti micelija glive <i>Trichoderma asperellum</i> pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem pri 20 °C po 14 dneh ter razdelitev v posamezne razrede glede na obseg inhibicije	13
Preglednica 3: Odstotek inhibicije rasti micelija glive <i>Trichoderma gamsii</i> pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem pri 20 °C po 14 dneh ter razdelitev v posamezne razrede glede na obseg inhibicije	15
Preglednica 4: Odstotek inhibicije rasti micelija glive <i>Trichoderma asperellum</i> pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem pri 25 °C po 14 dneh ter razdelitev v posamezne razrede glede na obseg inhibicije	17
Preglednica 5: Odstotek inhibicije rasti micelija glive <i>Trichoderma gamsii</i> pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem pri 25 °C po 14 dneh ter razdelitev v posamezne razrede glede na obseg inhibicije	18

## KAZALO SLIK

	Str.
Slika 1: <i>Trichoderma harzianum</i> pod mikroskopom	4
Slika 2: Povprečni relativni prirast micelija glive <i>Trichoderma asperellum</i> po 14 dneh pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolo (izraženih v %) pri temperaturi 20 °C in 60- odstotni zračni vlagi.	14
Slika 3: Povprečni relativni prirast micelija glive <i>Trichoderma gamsii</i> po 14 dneh pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolo (izraženih v %) pri temperaturi 20 °C in 60- odstotni zračni vlagi	16
Slika 4: Povprečni relativni prirast micelija glive <i>Trichoderma asperellum</i> po 14 dneh pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolo (izraženih v %) pri temperaturi 25 °C in 60- odstotni zračni vlagi.	17
Slika 5: Povprečni relativni prirast micelija glive <i>Trichoderma gamsi</i> po 14 dneh pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolo (izraženih v %) pri temperaturi 25 °C in 60- odstotni zračni vlagi.	19



## KAZALO PRILOG

- Priloga A: Povprečna površina rasti micelija glive *Trichoderma asperellum* pri štirih herbicidih v različnih odmerkih po 14 dneh pri temperaturi 20 °C
- Priloga B: Povprečna površina rasti micelija glive *Trichoderma asperellum* pri štirih herbicidih v različnih odmerkih po 14 dneh pri temperaturi 25 °C.
- Priloga C: Povprečna površina rasti micelija glive *Trichoderma gamsii* pri štirih herbicidih v različnih odmerkih po 14 dneh pri temperaturi 20 °C.
- Priloga D: Povprečna površina rasti micelija glive *Trichoderma gamsii* pri štirih herbicidih v različnih odmerkih po 14 dneh pri temperaturi 25 °C.

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

rpm – (revolutions per minute) je merilo frekvence vrtenja, vrtljaji na minuto, število rotacij okrog fiksne osi na minuto.

DT<sub>50</sub> - stopnja razgradnje pesticidov se izraža kot razpolovna doba DT<sub>50</sub>, v letih, mesecih ali dneh.

FFS- fitofarmacevtsko sredstvo

## 1 UVOD

Skrb za čim manjše posege v kmetijski ekosistem in za spodbujanje naravnih mehanizmov pred škodljivimi organizmi nas privede do integriranega varstva rastlin. Njegov cilj je zmanjšano tveganje za zdravje ljudi in okolja z ekonomsko in ekološko uporabo fitofarmaceutskih sredstev (FFS) pri zatiranju škodljivih organizmov. V integriranem varstvu rastlin se upoštevajo ukrepi, s katerimi zmanjšamo možnost pojava bolezni in širjenje škodljivcev, poudarja se sajenje zdravih rastlin, pravilnega kolobarjenja in ohranjanje koristnih organizmov (Mavsar in Knapič, 2007).

Biotično varstvo skrbi za obvladovanje škodljivih organizmov v kmetijstvu in uporablja žive naravne sovražnike, antagoniste in kompetitorje ter druge organizme, ki se sami razmnožujejo (Milevoj, 2011).

Zato je zelo pomembno poznavanje biotičnega varstva rastlin, saj s tem ohranjamo naravno pestrost, varujemo okolje in zmanjšamo uporabo FFS.

Pri uporabi biotičnih pripravkov moramo upoštevati, da gre za živa bitja, na katere je okoljski vpliv zelo velik, saj poleg časa in načina uporabe močno vplivajo na njihovo rast, razvoj in posledično na njihovo učinkovitost (Celar, 2006).

Z antagonisti zatiramo listne, talne in skladiščne bolezni pri rastlinskih patogenih. Antagonisti lahko s svojim delovanjem in izločki spodbudijo rast in razvoj rastlin (Mausam in sod., 2007).

### 1.1 NAMEN NALOGE

Biotični pripravek Remedier (glivi *Trichoderma asperellum* in *Trichoderma gamsii*) je registriran za preprečevanje okužb z nekaterimi talnimi glivami (*Sclerotinia sclerotium*, *Verticillium dahliae*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*), ki okužujejo rastline prvenstveno prek korenin. Osnovni princip delovanja je, da antagonistični glivi *Trichoderma* spp. čim bolj in čim hitreje kolonizirata rizosfero in s tem preprečita okužbe s patogeni. Pripravek je namenjen za talno aplikacijo tako, da bi lahko največ težav (fungistazo) za njegovo učinkovito delovanje povzročali predvsem talni herbicidi ter sredstva za razkuževanje semen in tal. Veliko manj pa insekticidi in fungicidi, ki jih uporabljamo za foliarno aplikacijo. V poskus smo vključili herbicide, ki se pogosto uporabljajo v naši kmetijski praksi.

### 1.2 CILJI NALOGE

V laboratorijskih razmerah ugotoviti ali izbrani herbicidi vplivajo na rast in razvoj antagonističnih gliv *Trichoderma* spp. in kakšne so možnosti sočasne uporabe v integriranem varstvu rastlin.

### 1.3 DELOVNE HIPOTEZE

Herbicidni pripravki imajo različen vpliv na rast in razvoj antagonističnih gliv *Trichoderma* spp. Zaviralni učinek herbicidov se povečuje z večanjem njihovih odmerkov.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 ANTAGONISTIČNE GLIVE

Antagonistične glive vzdržujejo ravnovesje med posameznimi talnimi glivami in skrbijo, da se patogene glive ne razmnožijo preveč. Antagonistične aktivnosti med organizmi razdelimo v tri velike skupine:

1. Antibioza in liza: antibioza je oviranje enega organizma z presnovnimi produkti (hlapnimi in nehlapnimi) drugega. Gre za zaviranje rasti patogenih gliv. Presnovki (metaboliti) prodrejo v celico in zaradi kemične toksičnosti zavrejo njeno aktivnost. Liza je skupni izraz za propad in razkroj biotične snovi.
2. Kompeticija (tekmovanje): največkrat gre za tekmovanje za hrano, prostor, kisik in še druge rastne dejavnike, ki jih v okolju primanjkuje.
3. Parazitizem: antagonisti parazitirajo hife in druge strukture patogenov.

Antagonistično dejavnost gliv *Trichoderma* spp. se v laboratoriju preizkuša s pomočjo »dvojnih kultur«. To tehniko uporabljajo za hitro testiranje antagonističnega potenciala posameznih gliv. Gojišče lahko vpliva na rast in morfologijo preučevanih gliv, vpliva lahko tudi na tekmovanje med patogenom in antagonistom, ter na interakcije med miceliji. Na antagonistične aktivnosti poleg gojišča vplivajo tudi dejavniki okolja (vlaga, toplota, sestava atmosfere itd.) (Celar, 1995).

### 2.2 GLIVE *Trichoderma* spp.

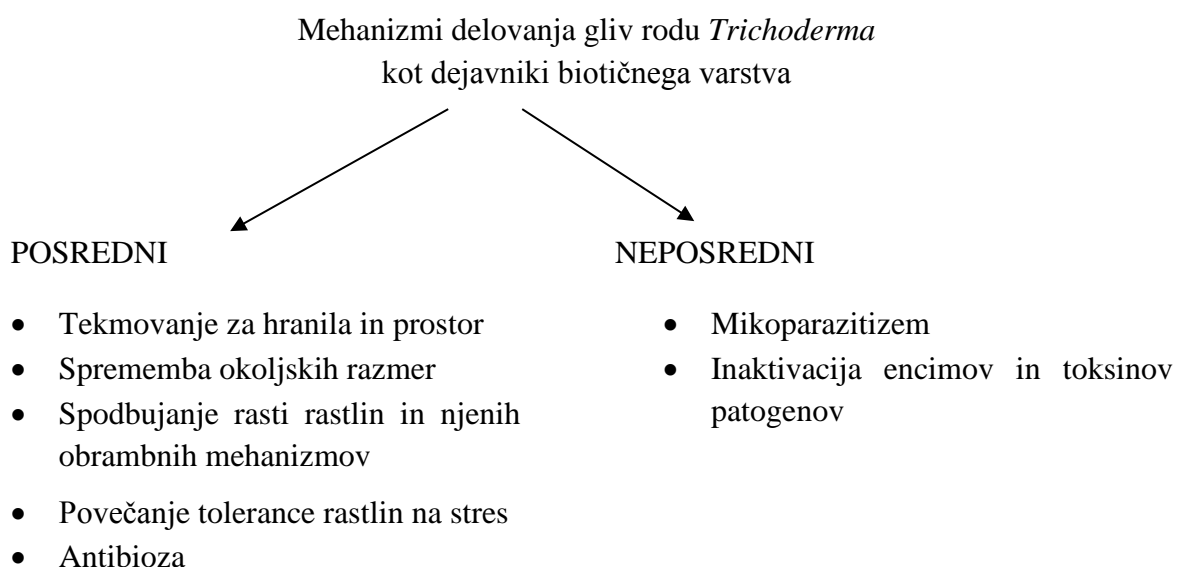
Rod *Trichoderma*, ki ga poznamo že skoraj 200 let, sestavljajo anamorfne glive, prvotno izolirane iz tal in razkrajajoče organske snovi. So zelo razširjene in preproste za izolacijo. Izolati rastejo hitro na mnogih substratih, izločajo metabolite z antibiotično aktivnostjo in delujejo proti širokemu spektru različnih patogenov. Vedenjski vzorci izolatov *T. asperellum* pa se razlikujejo glede na tarčno (patogeno) glivo (Grondona in sod., 1997).



Slika 1: *Trichoderma harzianum* pod mikroskopom (Trichoderma ..., 2016)

Vrste rodu *Trichoderma* spp. lahko identificiramo glede na morfologijo in barvo kolonij na gojišču, nadaljnjo identifikacijo pa potrdimo z ogledom morfologije konidijev in konidioforov pod mikroskopom (slika 1) (Benitez in sod., 2004).

Večina vrst, ki sestavljajo rod *Trichoderma*, deluje kot dejavnik biotičnega varstva pred različnimi glivnimi fitopatogeni. Mehanizmov biotičnega varstva je več, delimo pa jih na posredne in neposredne.



Vsi ti mehanizmi lahko delujejo usklajeno in povezano, odvisni pa so od dostopnosti hranil, pH, temperature in koncentracije kovin v tleh. Aktivacija mehanizmov vključuje tvorbo specifičnih metabolitov: rastnih dejavnikov, hidrolitičnih encimov, sideroforov, antibiotikov ter ogljikovih in dušikovih permeaz (Benitez in sod., 2004).

*Trichoderma harzianum* tvori antibiotike, ki zavirajo delovanje rastlinskih patogenov in inducira sistemsko in lokalno odpornost. Poleg tega sintetizira rastlinske rastne faktorje, ki krepijo vitalnost rastlin. *Trichoderma* spp. je zaradi svojih poznanih antibiotskih učinkov in drugih mehanizmov (kompeticija, parazitizem, tvorba toksinov) potencialni dejavnik biotičnega varstva proti patogenim glivam *Macrophomia phaseolina*, *Rhizoctonia solani* in *Pythium* spp. (Bhosale in sod., 2015).

Singh in sod. (2014) so ugotovili, da je rast gliv *Trichoderma* spp. optimalna pri vrednosti pH med 5,5 in 7,5 ter temperaturi med 25 °C in 30 °C. Preizkušali so tudi vpliv zračenja gojišča (prirast biomase v tekočem gojišču). Prirast je bil največji pri vrednosti 150 rpm. Izolati iz obdelanih kmetijskih površin so bili tudi prilagodljivejši na spremenljive vrednosti pH-ja kot izolati iz neobdelanih površin.

Bhosale in sod. (2015) so raziskovali *in vitro* učinek določenih fungicidov, insekticidov in herbicidov na glivo *Trichoderma harzianum*. V raziskavi so uporabili dva sistemski fungicida: Systhane (miklobutanil) in Curzate M8 (cimoksanil in mankozeb) in dva kontaktna fungicida: Copper (bakrov oksiklorid) in Suphur (žveplo). Na trdna gojišča z različnimi koncentracijami fungicidov so nacepili glivo *Trichoderma harzianum* in po petih dneh izmerili premer kolonij. Z uporabljenimi fungicidi so določili biodegradacijsko sposobnost glive *Trichoderma harzianum*. Poleg naštetih fungicidov so za test biodegradacijske sposobnosti uporabili še insekticid Nuvan (diklorvos) in herbicid z aktivno snovjo glifosfat. Uporaba fungicidov je povzročila neželene učinke na ne-ciljne organizme. Kombinacija manjše koncentracije fungicida in tolerantnega biološkega kontrolnega dejavnika kot npr. *Trichoderma harzianum* promovira zatiranje bolezni podobno kot pri uporabi močnejše doze fungicida.

De Cal in sod. (1994) poročajo, da dejavniki biotičnega varstva, ki lahko tolerirajo fungicide do določene ravni in v kombinaciji s fungicidi uspešno odpravljajo bolezni.

Uporaba tolerantnih dejavnikov biotičnega varstva v kombinaciji z manjšimi koncentracijami fungicidov lahko uspešno zatira bolezni, obenem pa zmanjša uporabo fungicidov in s tem povzročeno škodo ne-ciljnih organizmom v interakciji.

## 2.3 FITOFARMACEVTSKA SREDSTVA

Fitofarmacevtska sredstva so v končni obliki aktivne snovi in pripravki, ki so namenjeni za (Zakon o fitofarmacevtskih sredstvih, 2012):

- varstvo rastlin oziroma rastlinskih proizvodov pred škodljivimi organizmi oziroma preprečevanje delovanja škodljivih organizmov;
- vpliv na življenjske procese rastlin, drugače kot s hranili;
- ohranjanje rastlinskih proizvodov, če niso predmet drugih predpisov;
- zatiranje nezaželenih rastlin, delov rastlin, zadrževanje ali preprečevanje nezaželene rasti rastlin.

Aktivne snovi (učinkovine) so snovi ali mikroorganizmi, vključno z virusi, ki imajo splošen ali poseben učinek na škodljive organizme ali na rastline, dele rastlin ali rastlinske proizvode.

Po kemični sestavi so fitofarmacevtska sredstva anorganske in organske spojine. Fitofarmacevtska sredstva oziroma pesticide razdelimo v skupine glede na ciljno skupino, ki jo zatiramo (Maček in Kač, 1990):

- baktericidi (sredstva za zatiranje bakterij, povzročiteljic rastlinskih bolezni),
- fungicidi (sredstva za zatiranje gliv, ki povzročajo rastlinske bolezni),
  - botriticidi (sredstva za uporabo proti glivi *Botrytis cinerea*),
  - tileticidi (sredstva za razkuževanje semena proti trdi sneti iz rodu *Tilletia*),
  - venturicidi (sredstva za zatiranje gliv iz rodu *Venturia*),
- insekticidi (sredstva za zatiranje žuželk),
  - ovicidi (sredstva za uničevanje jajčec),
  - larvicidi (sredstva za zatiranje ličink),
  - adulticidi (sredstva za zatiranje odraslih stadijev),
  - aficidi (sredstva za zatiranje listnih uši),
- herbicidi (sredstva za zatiranje plevelov oz. neželenih rastlin),
  - arboricidi (sredstva za zatiranje olesenelih rastlin),
  - defolianti (sredstva za predčasno odpadanje listja),
  - desikanti (sredstva za sušenje rastlin),
- graminicidi (sredstva za zatiranje trav),
- algicidi (sredstva za zatiranje alg),
- nematocidi ali antihelminthiki (sredstva za zatiranje ogorčic ali nematod),
- moluskicidi ali limacidi (sredstva za zatiranje polžev),
- rodenticidi (sredstva za zatiranje glodalcev).

### 2.3.1 Herbicidi

Herbicidi so snovi, ki uničujejo rastline ali pa jih zavirajo v razvoju. S herbicidi pri zatiranju plevelov gojeni rastlini izboljšamo rastne razmere oziroma izločimo konkurenco. Z njimi želimo zatreti predvsem na kopnem rastoče plevelne enoletnice in večletnice (trave, zeli, grmovja, drevesa), včasih pa tudi vodne rastline in alge.



Po obsegu delovanja delimo herbicide na:

- totalne, ki uničujejo vse ali večino rastlinskih vrst, in
- selektivne, ki zatirajo samo nekatere rastlinske vrste.

Totalni herbicidi imajo širok obseg delovanja, medtem ko selektivni herbicidi zatirajo manj rastlinskih vrst in imajo ožji obseg delovanja. Če želimo uspešno tretiranje s herbicidi, moramo izbrati čas, ko so pleveli občutljivi za izbrani pripravek, gojene rastline pa odpornejše (Maček in Kač, 1990).

Herbicide delimo še glede na to, kako jih sprejme rastlina in kako le ta potuje po rastlini:

- dotikalne ali kontaktne herbicide, ki jih rastlina sprejme skozi list oziroma skozi zelene organe in povzročajo lokalno odmiranje poškropljenih rastlinskih delov,
- listne translokacijske (sistemične) herbicide, ki jih rastlina sprejme predvsem skozi list in se po prevodnem sistemu prenesejo v vse rastlinske dele.
- talne translokacijske (sistemične) herbicide, ki prodrejo v rastline prek korenin in se po prevodnem sistemu premeščajo v nadzemske rastlinske dele. V tleh ostanejo dalj časa aktivni.

Plevel je rastlina, ki raste med gojenimi rastlinami in z njimi tekmuje za hranila, vodo, prostor in svetlobo. Če plevel ne zatiramo se lahko količina pridelka zmanjša za 40 – 100 %. To je odvisno od tekmovalne sposobnosti gojenih rastlin, sestavne flore plevelov in stopnje zapleveljenosti. Če želimo učinkovito in donosno kmetijsko pridelavo, je potrebno ustrezno zatirati plevel (Lešnik, 2007).

Herbicide s prodorom v plevel doseže zaviralni učinek s tem, da onemogoči delovanje enega ali več encimov, ki uravnavajo življenjske procese. Če mehanizme delovanja herbicidov dobro poznamo, lahko ocenimo učinkovitost herbicida po uporabi. Poznavanje učinkovitosti herbicidov nam je v pomoč tudi pri načrtovanju kolobarjenja s herbicidi. Skrb za okolje je zelo pomemben dejavnik pri razvoju herbicidov. Pomembno je zanesljivo delovanje aktivne snovi herbicida, ampak zakonodaja predpisuje tudi natančno določene ekotoksikološke lastnosti (Lešnik, 2007).

### 2.3.2 Opis herbicidov uporabljenih v poskusu

Odstavek povzet s strani PPDB – Pesticide Properties Data Base (2016) in spletne strani FITO-INFO (2016).

Pripravek Equip – aktivna snov je foramsulfuron, v pripravku jo je 2,25 %.

Je sistematični herbicide, ki v plevelih zatira sintezo aminokislin in s tem prepreči delitev celic, tako se rast prekine in rastlina odmre. Uporablja se pri zatiranju širokolistnega in ozkolistnega plevela po vzniku koruze. Na koruso herbicide ne vpliva, ker ima vgrajeno varovalo izoksadifen, ki v korusi razgradi foramsulfuron in tako ne zavira rasti korusi. Ko korusa doseže razvojno fazo 2 – 6 listov lahko uporabimo herbicide Equip, ki spada v skupino sulfonil sečnin. Ker ima dodano močilo, se herbicide takoj po škropljenju ne

izpira. S sredstvom Equip se lahko na isti površini škropi le enkrat v eni rastni sezoni. Če se sredstvo uporablja na predpisan način in v predpisanih odmerkih, ne povzroča fitotoksičnosti. Priporočen odmerek je 2 do 2,5 l/ha ob porabi 200 do 300 l vode na ha. Paziti moramo, da pripravek ne pride v stik z vodotoki, jezeri, vodnjaki in vodnimi izviri, zato škropimo 15 m stan od njih. Razpolovna doba  $DT_{50}$  je 25,4 dni.

Pripravek Racer – aktivna snov je flurokloridon, v pripravku jo je 25 %.

Selektivni herbicid z aktivno snovjo flurokloridon, ki jo rastline absorbirajo preko korenin in kalčkov. Ker flurokloridon preprečuje nastanek karotenoida (varovalnega pigmenta za klorofil) inhibira fotosintezo. Uporablja se za zatiranje večine vrst širokolistnega in nekaterih vrst travnega plevela v sončnicah, koruzi, krompirju in v sadovnjakih ter vinogradih. Sredstva ne smemo uporabljati v vročem in vetrovnem vremenu. Preprečiti moramo zanašanje sredstva na zelene dele sosednjih gojenih rastlin, saj lahko pride do fitotoksičnosti (pri krompirju in sončnicah). Paziti moramo, da ne pride v stik z vodotoki, jezeri, vodnjaki in vodnimi izviri, zato moramo škropiti vsaj 20 m stan od njih. Razpolovna doba  $DT_{50}$  je 53 dni. Priporočen odmerek je 2 do 4 l/ha ob porabi 300 do 600 l vode na ha.

Pripravek Grodyl – aktivna snov je amidosulfuron, v pripravku jo je 75 %.

Aktivna snov amidosulfuron je selektivni sistemski herbicid iz skupine sulfonil sečnin. V rastlino prehaja skozi liste in korenine ter se nato prenaša po rastlini. Herbicid zavira acetolacetatno sintezo in na ta način zavre rast plevela, pojavijo se blede lise, ki se širijo akropetalno in bazipetalno. Uporablja se za zatiranje širokolistnega plevela v pšenici, ječmenu, ovsu, rži, piri, tritikali, lanu in na travnikih ter pašnikih. S sredstvom zatiramo največ enkrat v eni rastni sezoni. Lahko ga uporabljamo pri temperaturi zraka od +5 °C navzgor. Takoj, ko pride aktivna snov v plevel, se rast plevela ustavi. V času 1-2 tedna po tretiranju se pojavijo na listih značilni rdečkasto modro vijolični ožigi. Plevel popolnoma odmre 3 do 5 tednov po škropljenju. Pri tem pazimo na onesnaževanje vodotokov, vodnjakov, jezer in izvirov, tako da upoštevamo neškropljen varnostni pas 15 m od meje brega vode. Priporočen odmerek je od 30 do 60 g/ha pri porabi vode 200 do 400 l/ha. Razpolovna doba  $DT_{50}$  je 21 dni.

Pripravek Merlin – aktivna snov je izoksafutol, v pripravku jo je 24 %.

Sistemski herbicid z aktivno snovjo izoksafutolom, absorbira se preko korenin in listov. Uporablja se za zatiranje enoletnega širokolistnega in ozkolistnega plevela. Vlažnost tal ne vpliva na delovanje herbicida, ker ima posebnega načina delovanja (ne izhlapeva, se ne razgrajuje na svetlobi, se ne veže na talne delce). In na ta način ohranja učinkovitost tudi, če več tednov po škropljenju ne dežuje. Še po treh tednih brez dežja ohrani enako učinkovitost kot, če bi deževalo takoj po škropljenju. Aktivna snov izoksafutol se ne izpira v globlje plasti tal ampak se pretvori v diketonitril, ki vpliva na korenine plevela. Na istem zemljišču se lahko sredstvo uporabi največ enkrat v eni

rastni sezoni. Večina gojenih rastlin je zelo občutljivih na to sredstvo, zato je potrebno preprečiti zanašanje na zelene dele sosednjih rastlin. Pri škropljenju je potrebno preprečiti onesnaževanje vodotokov, vodnjakov, jezer in vodnih izvirov, tako da upoštevamo predpise s področja varstva voda. Škropimo lahko 15 m od meje brega vode. Priporočen odmerek 0,3 do 0,4 l/ha pri porabi 200 do 400 l vode na ha. Razpolovna doba  $DT_{50}$  je en dan.

## 2.4 BIOTIČNO VARSTVO

Z biotičnim varstvom rastlin obvladujemo škodljive organizme v kmetijstvu in gozdarstvu, z uporabo živih naravnih sovražnikov, antagonistov in kompetitorjev ali njihovih produktov in drugih organizmov, ki se sami razmnožujejo (Zakon o zdravstvenem varstvu rastlin, 2007).

Biotično varstvo pridobiva na pomenu, saj mu predpisujejo vedno večjo vrednost v pridelavi živeža, tako ekološkega kot domačega. Komerčni interes je vodilo za spremembe pri pridelavi živeža, okrasnih rastlin in krme, vendar biotično varstvo nudi veliko več prednosti pred kemičnimi fitofarmaceutskimi sredstvi. Skrb za okoljske in ekonomske metode pri ohranjanju nivoja škodljivih organizmov, je vodilo biotičnega varstva v sklopu integriranega varstva rastlin (Helyer in sod., 2014).

Pri biotičnem zatiranju rastlinskih boleznih gre za vsako zmanjšanje možnosti za okužbo ali za zmanjšanje stopnje okužbe, če smo pri tem izrabili možnosti, ki jih daje okolje, povzročitelj bolezni, njegov gostitelj in antagonisti tega povzročitelja (Celar, 1995).

Hrana koristnih organizmov ali naravnih sovražnikov so rastlinski škodljivci, v njih ali na njih ali v njihovi bližini se razvijajo in jih na ta način tudi zatrejo (pokončajo). V biotičnem varstvu rastlin so ključnega pomena antagonistični mikroorganizmi in koristni živalski organizmi oziroma naravni sovražniki, ker niso nevarni ljudem in ne poškodujejo rastlin. Biotično zatiranje rastlin škodljivih organizmov ali biotično varstvo rastlin je način, ki uporablja žive koristne organizme (plenilce, parazitoide, entomopatogene ogorčice, entomopatogene glive, protozoe, bakuloviruse) za obvladovanje populacij škodljivih organizmov in s tem zmanjšujejo škodo (Milevoj, 2011).

Biotično varstvo lahko definiramo kot uporabo naravnih ali genetsko spremenjenih organizmov, z namenom zmanjšanja vplivov neželenih organizmov, ki škodijo človeku koristnim organizmom kot so različne poljščine, drevesa, živali in koristni mikroorganizmi. Ta strategija je ekološka in združljiva z različnimi modeli kmetijstva. Eden izmed pomembnejših organizmov na področju zatiranja škodljivih organizmov so glive *Trichoderma* spp. So finančno dostopne, nimajo škodljivih vplivov na ljudi, imajo minimalni vpliv na ravnovesje v tleh, se ne akumulirajo v prehranjevalni verigi in ne škodijo koristnim organizmom. Obstaja več mehanizmov preko katerih vrste rodu *Trichoderma* delujejo kot dejavniki biotičnega varstva; kolonizacija tal in delov rastline, z namenom zasedbe fizičnega prostora in preprečevanja razmnoževanja patogenov, tvorba encimov za razkrajanje celične stene patogenov, tvorba antibiotikov, ki uničijo patogene (Monte in Llobell, 2003)

Stopnja učinkovitosti biotičnih pripravkov sovpada s številnimi med seboj povezanimi živimi in neživimi dejavniki. Dejavniki so prisotnost fitofarmaceutskih sredstev, mikrobnih antagonisti, obnašanje gostitelja, temperatura, vlažnost in sončno obsevanje (Lacey in sod., 2001).

Remedier je preventivni biotični fungicid za zatiranje talnih gliv v vrtninah in okrasnih rastlinah. Glavni učinkovini sta glivi *Trichoderma asperellum* in *Trichoderma gamsii*, formuliran je v obliki močljivega praška (WP). Deluje tako, da oblikuje micelij okoli korenin gojene rastline, ki deluje kot nekakšna ovira. Tako nastopi tekmovanje za življenjski prostor in hranila. Uporabljamo ga kot preventivni fungicid, ki vsebuje naravno prisotna in izbrana izolata antagonističnih gliv. Pripravek Remedier se uporablja za zatiranje fitopatogenih gliv *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotium*, *Verticillium dahliae*, *Thielaviopsis basicola*, *Phytophthora capsici* na koreninah in koreninskem vratu gojenih rastlin. Priporoča se, da se sredstvo za uporabo pripravi 24-36 ur pred tretiranjem in sicer tako, da se raztopi vsakih 500 g sredstva v 5 L vode (2,5 kg v 25 litrov vode). Ko glivo apliciramo v zemljišče, gliva kolonizira v prsti in na koreninah tretiranih rastlin ter tekmuje s patogenimi glivami, oziroma s pomočjo encimov razgradi celične stene škodljivih gliv. Ker je način delovanja samo preventiven, glivo apliciramo 5-7 dni pred setvijo ali presajanjem, da se razvije. Sredstvo nima kurativnega delovanja in v primeru, da se je bolezen na rastlini že razvila, sredstvo ne more ozdraviti že okužene rastline. S sredstvom se tretira, ko je temperatura zemlje najmanj 10 °C (Kos in sod. 2011).

### 3 MATERIAL IN METODE

Uporabili smo testno metodo, ki temelji na navodilih za testiranje stranskih učinkov FFS na glivo (Coremans-Pelseneer, 1994). Konidije smo zamenjali s koščki micelijev in jih uporabili na agarnih ploščah z različno vsebnostjo izbranih herbicidov. V poskusu smo uporabili naslednje herbicide (preglednica 1).

Preglednica 1: Osnovni podatki o herbicidih.

Pripravek	Učinkovina	Delež (%)	Odmerek/ha	Poraba vode (l/ha) (priporočeno)	PO* ml(g)/l	Proizvajalec
Equip	foramsulfuron	2,25	2,5 l	200-300	2,5	Bayer CS
Racer	flurokloridon	25	4 l	300-600	4	Makhteshim Agan
Grodly	amidosulfuron	75	40 g	200-300	0,04	Bayer CS
Merlin	izoksaflutol	75	130 g	200-400	0,13	Bayer CS

\* 100 % poljski odmerek v poskusu – koncentracija herbicida v gojišču

Priporočena poraba vode pri izbranih herbicidih se giblje med 200 in 500 litri (v povprečju okoli 300 l) za posamezne pripravke. V poskusu smo za pripravo agarnih plošč poenotili porabo vode na 1000 litrov vode na hektar. To pomeni, da so bile začetne laboratorijske koncentracije v agarnih ploščah v povprečju 2 do 5-krat manjše kot bi jih dejansko uporabili v škropilni brozgi. Za primerjavo pa smo opravili tudi kontrolno obravnavanje, ki ni vsebovalo herbicida.

#### 3.1 POTEK DELA

Začeli smo s pripravo gojišča, za katerega smo uporabili PDA gojišče. V 1 l destilirane vode smo dodali 39 g PDA (Potato Dextose Agar, Biolife) gojišča. V vodni kopeli smo ga kuhali toliko časa, da se je agar popolnoma raztopil. Nato smo ga prelili v erlenmajerice v vsako po 100 ml. V erlenmajerice smo dodali še magnetna mešala in jih dali v avtoklav sterilizirat pri temperaturi 121°C, tlaku 103,4 kPa za 15 minut. Poleg erlenmajeric smo avtoklavirali tudi tipse za pipete, ki smo jih uporabili za dodajanje pripravkov.

Po končani sterilizaciji erlenmajeric s pripravljenim gojiščem smo jih ohladili na temperaturo 50 – 55 °C in jim dodali ustrezno količino pripravka. Paziti smo morali, da se nam ni preveč ohladil, saj bi imeli težave pri razlivanju. Izbrane herbicide smo dodali v naslednjih odmerkih; 100 %, 75 %, 50 %, 25 %, 12,5 %, in 6,25 % priporočenega hektarskega odmerka.

Herbicide Racer 25 – EC je v obliki koncentrata za emulzijo in smo ga lahko dodali neposredno v gojišče. Priporočen odmerek herbicida na hektar je 4l. V 100 ml gojišča smo za 100 % odmerek herbicida s sterilnimi tipsi odpipetirali 400  $\mu$ l herbicida, za 75 % odmerek 300  $\mu$ l, za 50% odmerek 200  $\mu$ l, za 25 % odmerek 100  $\mu$ l, za 12,5% je odmerek 50  $\mu$ l in za najmanjšo koncentracijo 6,25 % odmerek 25  $\mu$ l.

Pri herbicidu Equip je priporočen odmerek na hektar 2,5 l. Zato smo za 100 % odmerek v erlenmajerico s 100 ml gojišča odpipetirali 250  $\mu$ l, za 75 % odmerek 188  $\mu$ l, za 50 % odmerek 125  $\mu$ l, za 25 % odmerek 63  $\mu$ l in 12,5 % odmerek 32  $\mu$ l in za 6,25 % odmerek 16  $\mu$ l. Ker je v obliki koncentrata za emulzijo, smo ga dodali neposredno v gojišče.

Herbicide Merlin je v obliki močljivih zrn (WG) in jih je potrebno predhodno raztopiti. Zato smo pripravili založno raztopino. Naredili smo 100 krat bolj koncentrirano raztopino kot je priporočen poljski odmerek pri porabi vode 1000 l. Priporočen odmerek herbicida na hektar je 130g. Tako smo 1,3g raztopili v 100 ml vode in odpipetirali v erlenmajerico za 100 % odmerek 1 ml, za 75% odmerek 750  $\mu$ l, za 50 % odmerek 500  $\mu$ l, za 25 % odmerek 250  $\mu$ l, za 12,5% odmerek 125  $\mu$ l in za 6,25% odmerek 63  $\mu$ l.

Tudi herbicide Grodyl je v obliki močljivih zrn (WG), zato smo pripravili založno raztopino enako kot pri prejšnjem herbicidu. Priporočen odmerek herbicida na hektar je 40 g. V erlenmajerici smo raztopili 400 mg na 1000 ml vode in odpipetirali za 100 % odmerek 1 ml, za 75 % odmerek 750  $\mu$ l, za 50 % odmerek 500  $\mu$ l, za 25 % odmerek 250  $\mu$ l, za 12,5 % odmerek 125  $\mu$ l in za 6,25 % odmerek 63 $\mu$ l.

Nato smo erlenmajerice z gojiščem in odmerjenimi pripravki dali na magnetno mešalo, kjer smo pri temperaturi mešalne plošče 60 °C vse skupaj dobro premešali. V brezprašni komori smo gojišča s pripravkom razlili v sterilne petrijevke. V vsako petrijevko smo nalili približno 15 ml. Postopek smo ponovili za vse herbicide in odmerke, na koncu smo dobili 192 petrijevk z gojišči. Za vsako glivo je bilo 6 petrijevk kontrolnih, kar pomeni, da so vsebovale smo PDA gojišče brez dodanih herbicidov.

Na pripravljene agarne plošče smo nacepili koščke premera 5 mm 14 dni stare kulture glive *Trichoderma* spp. gojene na PDA gojišču, v temi pri temperaturi 25°C. Koščke micelija smo pripravili s pomočjo sterilnega plutovrta.

Petrijevke smo zatesnili s parafilmom in jih označili. Nato smo inokulirane agarne plošče 14 dni inkubirali v popolni temi, v rastni komori, pri 20 in 25°C ter pri 60 % relativni zračni vlagi.

### 3.2 MERITVE IN OBDELAVA PODATKOV

Površinske priraste micelija smo odčitali po 7 in 14 dneh, izmerili premer micelija po dolžini in širini in občrtali zunanji rob. Po 14 dneh smo površine odčitali s pomočjo analizatorja slike (Nikon NIS Elements BR 2.30). Vse zbrane podatke smo vnesli v računalniški program Excel in uredili v tabele in ovrednotili z opisno statistiko. Dobljene rezultate smo nato statistično obdelali s pomočjo Student- Newman- Keuls testa pri 5 % tveganju (Statgraphics Plus Professional).

Izračunali smo odstotek inhibicije rasti micelija za vsak herbicid in vsako koncentracijo, v primerjavi s kontrolnim odobravanjem. Za izračun odstotka inhibicije smo uporabili naslednjo formulo:

$$I (\%) = \frac{K-H}{K} \times 100$$

I(%) – odstotek inhibicije; K- površina micelija v kontrolnem odobravanju; H – površina micelija v odobravanju s herbicidom.

Glede na povprečen odstotek inhibicije smo posamezna obravnavanja razvrstili v štiri razrede: razred 1: neškodljiv (< 25 %); razred 2: malo škodljiv (25 – 50 %); razred 3: zmerno škodljiv (51- 75 %); in razred 4: škodljiv (>75 %) (Sterk in sod., 2003).

## 4 REZULTATI

Zanimal nas je vpliv štirih izbranih herbicidov na rast micelija antagonističnih gliv *Trichoderma asperellum* in *Trichoderma gamsii* v različnih koncentracijah in pri dveh različnih temperaturah. Površine prirastlih micelijev smo izmerili po 7 in 14 dneh.

Dobili smo podatke o povprečni inhibiciji rasti micelija glive *Trichoderma asperellum* in *Trichoderma gamsi*, pri različnih deležih (100 %, 75 %, 50 %, 25 %, 12,5 %, 6,25 %) priporočenega poljskega odmerka herbicida v gojišču.

Izračunali smo povprečno inhibicijo iz vseh ponovitev, ki smo jih pridobili za posamezni odmerek pripravka pri obeh temperaturah. Rezultate povprečne inhibicije smo uvrstili v enega izmed štirih razredov glede na stopnjo škodljivosti (Sterk in sod., 2003).

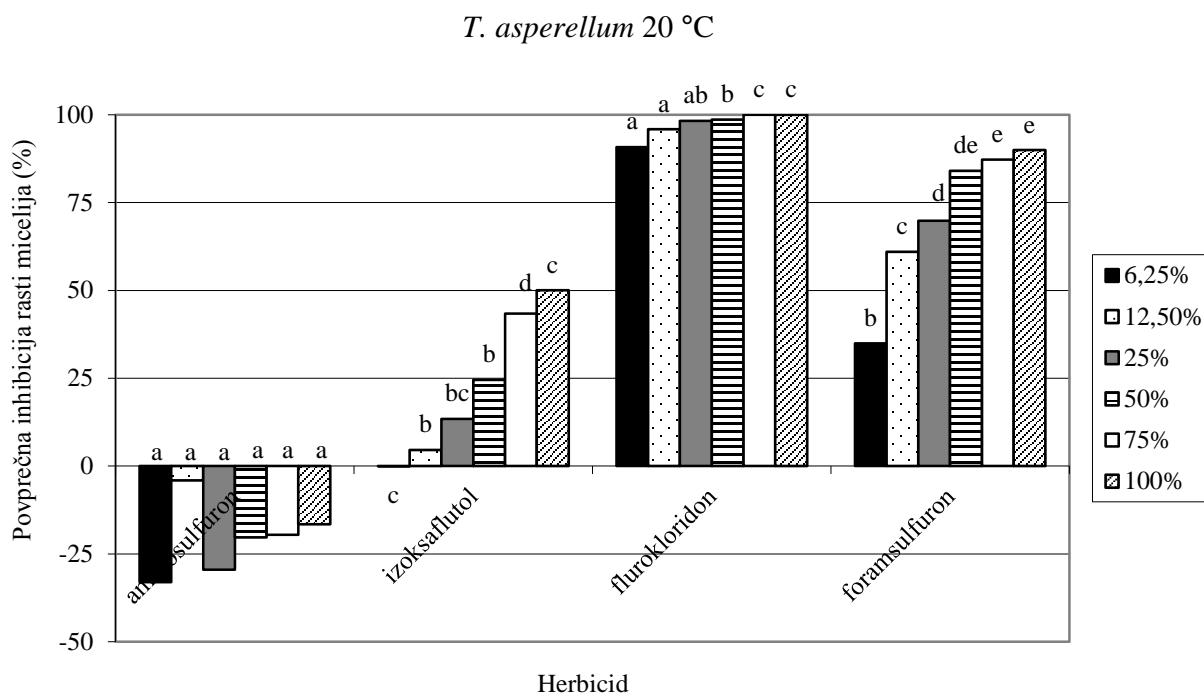
Preglednica 2: Odstotek inhibicije rasti micelija glive *Trichoderma asperellum* pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem pri 20 °C po 14 dneh ter razdelitev v posamezne razrede glede na obseg inhibicije.

Kncetracija v %	flurokloridon	X	izoksaflutol	X	foramsulfuron	X	amidosulfuron	X
100	100,00	4	50,04	2	89,96	4	-16,56	1
75	100,00	4	43,41	2	87,30	4	-19,56	1
50	98,69	4	24,52	1	84,04	4	-20,32	1
25	98,25	4	13,48	1	69,81	3	-29,51	1
12,5	95,89	4	4,60	1	60,97	3	-4,08	1
6,25	90,85	4	-0,07	1	34,97	2	-33,08	1

Legenda: X – razred inhibicije: 1.razred: neškodljiv (<25 % ); 2.razred: malo škodljiv ( 25-50 % ); 3.razred: zmerno škodljiv (51- 75 %) in 4.razred: škodljiv (75 %) (Sterk in sod., 2003); negativni predznak pomeni, da je herbicid stimuliral rast micelija.

Iz preglednice 2, kjer so zbrani podatki o povprečni inhibiciji rasti glive po 14 dneh pri temperaturi 20 °C je razvidno, da pripravka Racer (flurokloridon) in Equip (foransulfuron) delujeta zelo zaviralno na glivo *Trichoderma asperellum*, ne glede na odmerek, ki je bil dodan v našem primeru od 6,25 % do 100 %. Pripravek Merlin (izoksaflutol) je bil manj inhibitoren za glivo *Trichoderma asperellum*, medtem ko pripravek Grodyl (amidosulfuron) rasti glive ni inhibiral temveč stimuliral.





Slika 2: Povprečni relativni prirast micelija glive *Trichoderma asperellum* po 14 dneh pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolo (izraženih v %) pri temperaturi 20 °C in 60-odstotni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci pomenijo statistično značilne razlike v priraščanju micelija po istem času rasti micelija glive in različnih koncentracijah dodanega herbicida, znotraj enega pripravka.

Ugotovili smo, da ima pripravek Racer na podlagi flurokloridona pri temperaturi 20 °C izrazit fungistatičen učinek (> 75% inhibicija), pri odmerku 100 % in 75 % pa celo fungicidni učinek, gliva sploh ni rastle. Pri 50 % odmerku je bila inhibicija 99 %, pri 25 % pa le malenkost manjša, 98 %. Pri odmerku 12,5 % je bila inhibicija 96 %. Pri najmanjšem odmerku, 6,25 %, je bil še vedno izrazit fungicidni učinek, saj je bila inhibicija v povprečju 91 %, povprečna površina 0,96 cm<sup>2</sup>, zato je bil uvrščen v četrti razred stopnje škodljivosti (škodljiv). Statistične razlike so vidne med 6,25 % odmerkom in ostalimi obravnavanji. Razlike so statistično značilne med 6,25 % in 25 % in med 25 % in 75%. Med večjimi odmerki ni statistično značilnih razlik, kar pomeni, da ima 75 % odmerek enak negativni učinek kot 100 % (slika 2). V prilogi A pa so navedene povprečne površine micelija.

Pripravek Equip (foramsulfuron) je imel izrazit fungistatični učinek, vendar se je inhibitorni učinek na rast micelija glive zmanjševal z zmanjševanjem odmerka herbicida. Pri 100 % je bila inhibicija prirasta micelija 90 %, pri 75 % odmerku 87 %, pri 50 % odmerku 84 % in pri 25 % odmerku je bila inhibicija 70 % (zmerno škodljiv). Pri 12,5% odmerku pa je bila inhibicija prirasta 61 %. Pri 6,25 % odmerku pa smo

pripravek Equip po stopnji škodljivosti uvrstili v razred malo škodljiv, ker je bila inhibicija rasti 35 % (slika 2).

Pripravek Merlin (izoksaflutol) je imel pri vseh koncentracijah veliko manjši inhibični učinek na rast micelija. Tudi pri največjih koncentracijah odmerka smo ga uvrstili v razred 2 (malo škodljiv). Pri največjem odmerku je povzročil 50 % inhibicijo prirasta micelija (malo škodljiv). Pri 75 % odmerku je bila inhibicija prirasta 43 %. Pri odmerku 50 % pa smo ga uvrstili v razred neškodljiv, saj je bila inhibicija prirasta le 25 %. Pri 25 % odmerku je inhibicija prirasta 13 % in pri 12,5 % odmerku 5 %. Pri odmerku 6,25 % pa je bila inhibicija negativna kar pomeni, da je herbicid stimuliral rast micelija (slika 2)..

Pri pripravku Grodyl (amidosulfuron) pa smo opazili, da rasti micelija glive ne inhibira, ampak pri vseh odmerkih stimulira. Pripravek Grodyl (amidosulfuron) je bil popolnoma neškodljiv za glivo, zato je primeren za sočasno uporabo z glivo *Trichoderma asperellum*. Povprečna površina prirasta micelija pri kontrolnem obravnavanju je bila 10,45 cm<sup>2</sup>, pri najmanjšem odmerku, 6,25 %, pa je bil prirast 13,91 cm<sup>2</sup>, kar kaže na to, da je pripravek na glivo deloval stimulatивно na rast micelija (slika 2).

Preglednica 3: Odstotek inhibicije rasti micelija glive *Trichoderma gamsii* pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem pri 20 °C po 14 dneh ter razdelitev v posamezne razrede glede na obseg inhibicije.

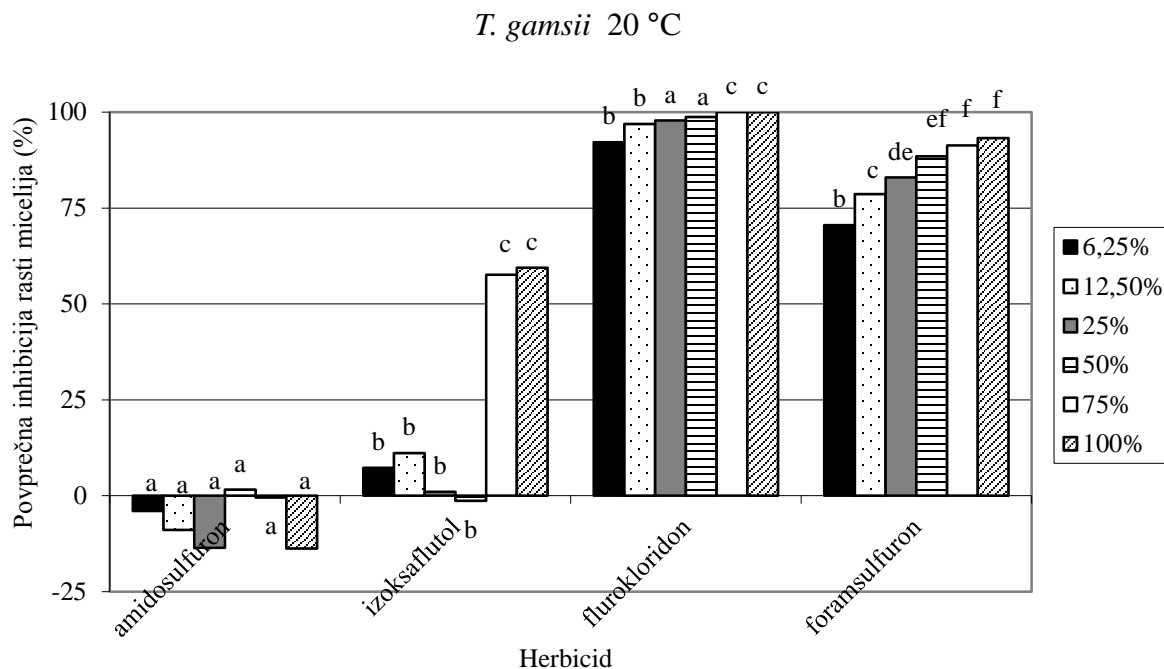
Koncentracija v %	flurokloridon	X	izoksaflutol	X	foramsulfuron	X	amidosulfuron	X
100	100,00	4	59,44	3	93,20	4	-13,75	1
75	100,00	4	57,61	3	91,33	4	-0,43	1
50	98,78	4	-1,32	1	88,45	4	1,59	1
25	97,78	4	1,06	1	82,97	4	-13,53	1
12,5	96,90	4	11,7	1	78,63	4	-8,88	1
6,25	92,17	4	7,32	1	70,56	3	-3,99	1

Legenda: X – razred inhibicije: 1.razred: neškodljiv (<25 %); 2.razred: malo škodljiv (25-50 %); 3.razred: zmerno škodljiv (51- 75 %) in 4.razred: škodljiv (75 %) (Sterk in sod., 2003; negativni predznak pomeni, da je herbicid stimuliral rast micelija).

Iz preglednice 3, kjer so zbrani podatki o povprečni inhibiciji glive po 14 dneh pri temperaturi 20 °C je razvidno, da sta pripravka Racer (flurokloridon) in Equip (foramsulfuron) delovala zelo inhibično na glivo *Trichoderma gamsii*, ne glede na odmerke herbicida. V prilogi C so navedene povprečne površine prirasta micelija.

Pripravek Grodyl (amidosulfuron) ni inhibiral rasti glive, inhibicija je bila negativna in ni bilo statističnih razlik med obravnavanji oz. odmerki pripravka. Pri 50 % odmerku je bila inhibicija rasti le 1,59 %. Na rast micelija je deloval celo stimulatивно.

Pripravku Merlin (izoksaflutol) pa smo pri večjih odmerkih (100 in 75 %) uvrstili v razred 3 (zmerno škodljiv), medtem ko je bil pri vseh ostalih odmerkih neškodljiv ali celo nekoliko stimuliral rast micelija (pri 50 % odmerku).



Slika 3: : Povprečni relativni prirast micelija glive *Trichoderma gamsii* po 14 dneh pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolo (izraženih v %) pri temperaturi 20 °C in 60- odstotni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci pomenijo statistično značilne razlike v priraščanju micelija po istem času rasti micelija glive in različnih koncentracijah dodanega herbicida, znotraj enega pripravka.

Pri pripravku Merlin (izoksaflutol) je bila pri 6,25 % odmerku inhibicija prirasta 7 %, pri 12,50 % odmerku 12 %, pri 25 % odmerku 1%. Pri odmerku 50 % je bila inhibicija negativna, rast micelija ni bila inhibirana, celo nekoliko stimulirana. Pri odmerku 75 % je bila inhibicija 58 % in pri odmerku 100 % je bila inhibicija rasti 59 %. Tako, da statistične značilne razlike nastopijo pri 75 % in 100 % odmerkom in ostalimi manjšimi (slika 3).

Pri pripravku Racer (flurokloridon) je bila pri najmanjšem odmerku (6,25 %) inhibicija rasti micelija glive 92 %. Pri 12,5 % odmerku je bila inhibicija rasti 97 %. Pri odmerku 25 % je bila inhibicija 98 %. Pri odmerku 50% je bila inhibicija 99 %. Pri odmerku 75 % in 100 % je bila inhibicija 100 % in gliva ni rasla, tako da sta ta odmerka delovala celo fungicidno. Pripravak je imel v vseh odmerkih na glivo izredno fungistatični učinek in je bil uvrščen v najvišji razred škodljivosti (slika 3).

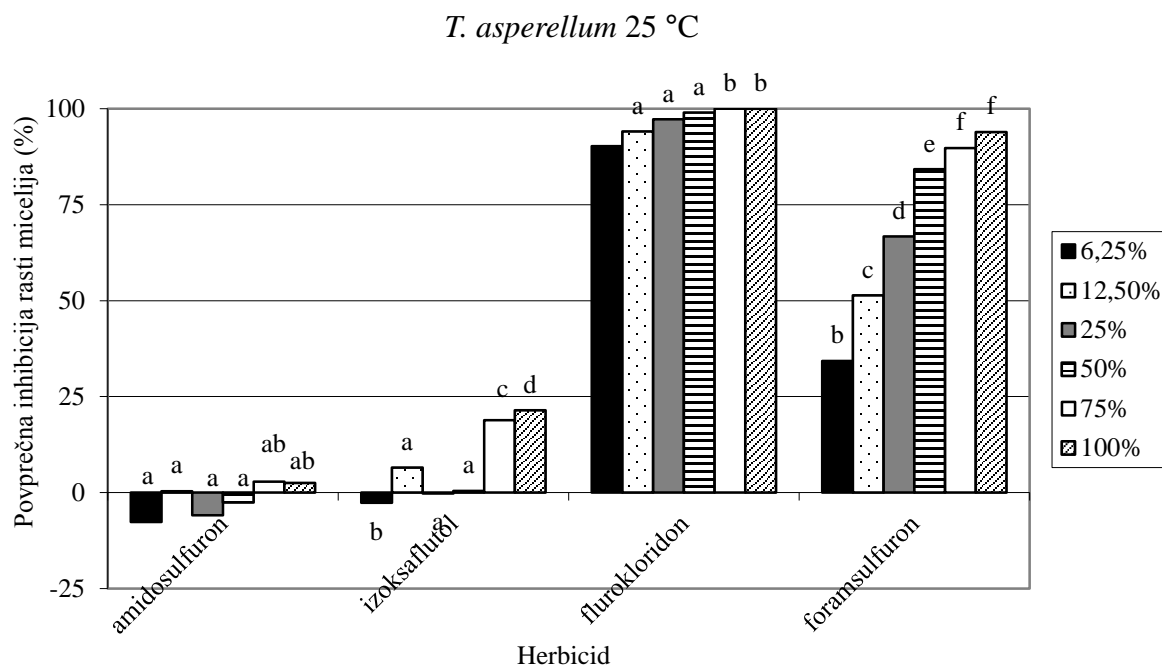
Tudi pripravek Equip (foramsulfuron) je imel močen inhibitorni učinek na rast micelija. Pri odmerku 6,25 % je bila inhibicija 71%, pri 12,5 % odmerku 79 % in pri 25 % odmerku 83 %. Pri 50 % odmerku je bila inhibicija prirasta 88 %, pri 75 % odmerku 91 % in pri 100% odmerku 93 % (slika 3).

Tudi pri temperaturi 25 °C sta imela pripravka Racer (flurokloridon) in Equip (foramsulfuron) zelo velik inhibitorni učinek na rast micelija. Pripravek Merlin (izoksaflutol) je imel manjši inhibitorni učinek in smo ga uvrstili v razred neškodljiv. Medtem, ko smo pri pripravku Grodyl (amidosulfuron) opazili, da glive ne inhibira ampak, da spodbuja rast micelija (preglednica 4).

Preglednica 4: Odstotek inhibicije rasti micelija glive *Trichoderma asperellum* pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem pri 25 °C po 14 dneh ter razdelitev v posamezne razrede glede na obseg inhibicije.

Koncentracija v %	flurokloridon	X	izoksaflutol	X	foramsulfuron	X	amidosulfuron	X
100	100,00	4	21,42	1	93,94	4	2,47	1
75	100,00	4	18,84	1	89,79	4	2,80	1
50	99,07	4	0,44	1	84,27	4	-2,63	1
25	97,30	4	-0,24	1	66,76	3	-5,91	1
12,5	94,08	4	6,52	1	51,37	3	0,37	1
6,25	90,30	4	-2,64	1	34,26	2	-7,66	1

Legenda: X – razred inhibicije: 1.razred: neškodljiv (<25 % ); 2.razred: malo škodljiv ( 25-50 % ); 3.razred: zmerno škodljiv (51- 75 %) in 4.razred: škodljiv (75 %) (Sterk in sod., 2003); negativni predznak pomeni, da je herbicid stimuliral rast micelija.



Slika 4: Povprečni relativni prirast micelija glive *Trichoderma asperellum* po 14 dneh pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolo (izraženih v %) pri temperaturi 25 °C in 60- odstotni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci pomenijo statistično značilne razlike v priraščanju micelija po istem času rasti micelija glive in različnih koncentracijah dodanega herbicida, znotraj enega pripravka.

Pripravek Grodyl (amidosulfuron) je pri temperaturi 25 °C in pri 100 % odmerku le za 2 % zaviral rast micelija. Pri 75 % odmerku je bila inhibicija 3 %, pri 50% in 25 % odmerku je bila inhibicija negativna. Pri odmerku 12,5 % je bila inhibicija 0,4 %. Pri 6,25 % odmerku je bila inhibicija tudi negativna. Pripravek Grodyl ni zaviral rasti micelija ampak nanj deluje celo stimulatивно, tako da je primeren za sočasno uporabo z glivo *Trichoderma asperellum* (slika 4).

Pripravek Merlin (izoksaflutol) je pri 100 % odmerku za 21 % zaviral rast micelija. Pri 75 % odmerku je bila inhibicija 19 % in pri 50% odmerku 0,44 %. Pri 25% odmerku je bila inhibicija malenkostno negativna.. Pri odmerku 12,5 % je bila inhibicija 7 % in pri odmerku 6,25 % negativna. Po stopnji škodljivost smo pripravek Merlin uvrstili v 1. razred inhibicije, kar pomeni, da je neškodljiv za glivo *Trichoderma asperellum* (slika 4).

Tudi pri temperaturi 25 °C sta imela najbolj izrazit inhibitorni učinek pripravka na podlagi flurokloridona in foramsulfurona. Pripravek Racer (flurokloridon) je imel pri 100 % in 75 % celo fungicidni učinek (gliva ne raste). In tudi pri ostalih odmerkih je izrazil fungistatičen učinek (> 75 % inhibicija). Inhibicija je pri vseh odmerkih nad 90%. Pri odmerku 100 % in 75% je bila inhibicija rasti micelija 100%. Pri odmerku 50 % je bila inhibicija prirasta 99 %, pri 25 % odmerku 97 % in pri 12,5 % odmerku 94 % .

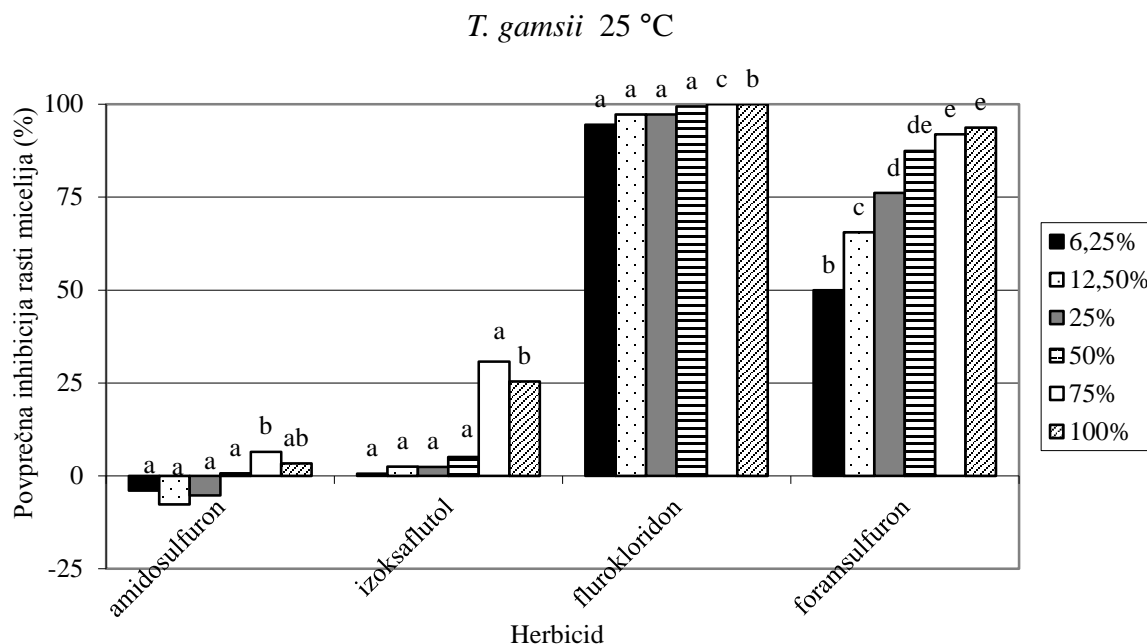
Tudi pri najmanjšem odmerku 6,25 % je bila inhibicija rasti 90 %, tako da je bil pripravek pri vseh odmerkih uvrščen v 4. razred (škodljiv) (slika 4).

Pri pripravku Equip (foramsulfuron) pa vidimo statistično značilne razlike med obravnavanji oz. odmerki (slika 4). Pri odmerku 100 % je bila inhibicija 94 %, pri 75 % odmerku 90 % in pri 50% odmerku 84 %. Pri odmerku 25 % je bila inhibicija 67 % in pri 12,5 % odmerku 51 %. Zaviralni učinek je bil še vedno zelo velik; 3. razred (zmerno škodljiv). Pri najmanjšem odmerku 6,25% je bila inhibicija rasti micelija 34 % in ga glede na stopnjo škodljivosti uvrstimo v 2. razred (malo škodljiv). Povprečne površine prirasta micelija so navedene v prilogi B.

Preglednica 5: Odstotek inhibicije rasti micelija glive *Trichoderma gamsii* pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem pri 25 °C po 14 dneh ter razdelitev v posamezne razrede glede na obseg inhibicije.

Koncentracija v %	flurokloridon	X	izoksaflutol	X	foramsulfuron	X	amidosulfuron	X
100%	100,00	4	25,46	2	93,74	4	3,36	1
75%	100,00	4	30,78	2	91,89	4	6,48	1
50%	99,39	4	5,12	1	87,48	4	0,68	1
25%	99,14	4	2,39	1	76,17	3	-5,28	1
12,5%	97,22	4	2,47	1	65,54	3	-7,62	1
6,25%	94,49	4	0,58	1	49,96	2	-3,97	1

Legenda: X – razred inhibicije: 1.razred: neškodljiv (<25 % ); 2.razred: malo škodljiv ( 25-50 % ); 3.razred: zmerno škodljiv (51- 75 % ) in 4.razred: škodljiv (75 %) (Sterk in sod., 2003); negativni predznak pomeni, da je herbicid stimuliral rast micelija.



Slika 5: Povprečni relativni prirast micelija glive *Trichoderma gamsii* po 14 dneh pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolo (izraženih v %) pri temperaturi 25 °C in 60- odstotni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci pomenijo statistično značilne razlike v priraščanju micelija po istem času rasti micelija glive in različnih koncentracijah dodanega herbicida, znotraj enega pripravka.

Pri temperaturi 25 °C sta imela na glivo *Trichoderma gamsii* najbolj inhibitorni učinek pripravka na podlagi flurokloridona in foramsulfurona (preglednica 5, slika 5).

Pri obravnavanju s herbicidom Grodyl (amidosulfuron) je bila inhibicija pri 100 % odmerku 3 %, 75 % odmerku 6 % in pri 50 % odmerku 0,68%. Pri 25 %, 12,5 % in 6,25 % odmerku je bila inhibicija negativna, kar pomeni, da je pripravek Grodyl pri odmerkih manjših od 50 % je stimulatивно učinkoval na rast micelija (slika 5).

Pri pripravku Merlin (izoksafutol) je bila pri 100 % odmerku inhibicija 25 %. Pri 75 % odmerku je bila inhibicija 31 %, tako, da smo odmerka 100 % in 75 % glede na stopnjo škodljivosti vključili v razred malo škodljiv. Pri 50 % odmerku je bila inhibicija 5 %. Pri 25 % odmerku je bila inhibicija 2 %, pri 12,5 % odmerku 2 % in pri 6,25 % odmerku 0,58 %. Pri vseh najmanjših odmerkih smo glede na stopnjo škodljivosti pripravek uvrstili v razred neškodljiv (preglednica 5).

Obravnavanje, pri katerem je bil dodan herbicid Racer (flurokloridon) je bila inhibicija pri 100 % in 75 % odmerku 100 % in ni bilo prirasta, kar pomeni, da je pripravek imel fungicidni učinek. Pri 50 % odmerku je bila inhibicija 99 %, pri 25 % odmerku 99 % in pri 12,5 % odmerku 97 %. Pri 6,25 % odmerku pa je bila inhibicija še vedno zelo

velika, 94 %. Pripravek je zelo inhibiral rast micelija in ima izrazit fungicidni oziroma fungistatični učinek (slika 5).

Pri pripravku Equip (foramsulfuron) je bila inhibicija pri 100 % odmerku 94 %, pri 75 % odmerku 92 % in pri 50 % 87 %. Pri 25 % odmerku je bila inhibicija 76 %. Do 25 % odmerka smo pripravek uvrstili v 4. razred (škodljiv). Pri 12,5 % odmerku je bila inhibicija 65 % in pri najmanjšem odmerku, 6,25 %, je bila 50 %. Med obravnavanji obstajajo statistično značilne razlike. Statistično značilne razlike nastopijo med 6,25 % odmerkom in ostalimi obravnavanji. Razlike niso statistično značilne med 50 % in 100 % odmerkom. Povprečne površine prirasta micelija so navedene v prilogi D.

Iz pridobljenih podatkov smo pri temperaturah 20 °C in 25 °C in 60 % r.z.v. ter vseh odmerkih obeh učinkovin, flurokloridona in foramsulfurona, zaznali močan negativen vpliv na rast micelija glive.

Pripravek Racer (flurokloridon) je za glivo škodljiv v vseh koncentracijah, saj ima zelo močen fungistatičen učinek, v večjih koncentracijah pa deluje celo fungicidno. Tudi herbicidni pripravek Equip z učinkovino foramsulfuron negativno vpliva na rast micelija, saj tudi ta deluje zelo fungistatično v majhnih odmerkih.

Po 14 dneh pri glivi *Trichoderma asperellum* pri pripravku Equip, temperaturi 20 °C statistične razlike nastopijo že pri 6,25 % odmerku, medtem ko pri odmerkih 50 % -100 % ne prihaja do razlik. Pri temperaturi 25 °C pa razlike tudi nastopijo že pri najnižjem odmerku medtem ko pri 75 % in 100 % odmerku pa do razlik ne pride. Pri glivi *Trichoderma gamsii* pa statistične razlike nastopijo med odmerki 6,25 %, 12,5 % in 25 %, medtem ko med 25% in 50% med 50 % in 75 % in med 75 % in 100 % ne prihaja do razlik.

Po 14 dneh pri glivi *T. asperelum* pri pripravku Racer in temperaturi 20 °C statističnih razlik ni do 25 % odmerka, med 25 % in 50 % so vidne razlike in med 50 % in 100 % tudi prihaja do vidnih razlik. Pri temperaturi 25 °C pa do 50 % odmerka ni vidnih statističnih razlik, med 50 % in 100 % pa so vidne razlike. Pri glivi *Trichoderma gamsii* pa pri temperaturi 20 °C so vidne statistične razlike med posameznimi odmerki. Med odmerki 6,25 % in 12,5 % odmerkom ne vidimo razlik in med 25 % in 50% odmerkom tudi ni vidnih razlik. Pri temperaturi 25 °C pa med 6,25 % in 50 % odmerkom ni statističnih razlik.

Pripravek Merlin ima pri temperaturi 20 °C in pri glivi *Trichoderma asperellum* vidne statistične razlike med 6,25 % odmerkom in ostalimi obravnavanji. Pri glivi *Trichoderma gamsii* pa so vidne razlike samo pri višjih koncentracijah med odmerkom 75 % in 100 % pri obeh temperaturah je enako.

Pri pripravku Grodyl pa pri temperaturi 20 °C pri obeh glivah med različnimi odmerki ni vidnih statistično značilnih razlik. Pri temperaturi 25 °C pa so razlike vidne med odmerki 50 % in 100 %.



V našem poskusu je bil 100 % poljski odmerek oziroma koncentracija izračunan na predpostavki, da je poraba vode 1000 litrov na hektar. Priporočena poraba vode s strani proizvajalcev pri različnih herbicidih je približno 2 do 5 – krat manjša (200 – 600 litrov), kar razvidno iz preglednice 1, zato je dejanska koncentracija škropilne brozge na polju za tolikokrat večja. Zato smo pri poskusu priredili količino vode, da bi bile koncentracije med različnimi pripravki med seboj primerljive. Ko glivi *Trichoderma* spp. vdelamo v tla, nista nikoli izpostavljeni osnovni koncentraciji pripravka, zato je tudi naša največja koncentracija 100 % herbicidov v agarnih ploščah, pomenila le 20 do 50 % koncentracije v herbicidni škropilni brozgi (odvisno od izbranega herbicida), ki jo uporabljamo za tretiranje na polju. S tem načinom smo se poskušali približati pogojem, ki nastanejo v tleh po aplikaciji z herbicidi, ker se različno vežejo na glinene in humusne delce, odvisni so od mikrobiološke in kemične razgradnje ter od vremenskih vplivov (količine padavin, izpiranja).

V poskusu smo obravnavali herbicidne pripravke, ki jih drugi raziskovalci niso preizkušali.

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

Biotično varstvo je način, ki za obvladovanje škodljivih organizmov v kmetijstvu in gozdarstvu uporablja žive narave sovražnike, antagoniste, kompetitorje in druge organizme, ki se lahko sami razmnožujejo.

Gliva *Trichoderma* spp. vzdržuje ravnovesje med posameznimi talnimi glivami in skrbi, da se patogene glive ne razmnožijo preveč.

Pridobivanje znanja s področja biotičnega zatiranja škodljivce je zelo priporočljivo, saj je zelo pomembno sploh na območjih, kje je uporaba fitofarmaceutskih sredstev omejena ali prepovedana. Pri uporabi biotičnih pripravkov, katerih glavna učinkovina so mikroorganizmi, moramo upoštevati, da v okolje vnašamo živa bitja, na katera vplivajo okoljski dejavniki, tako da je ključni dejavnik v kmetijski praksi poljska učinkovitost in sočasna uporaba z fitofarmaceutskimi sredstvi.

V diplomskem delu so predstavljeni rezultati laboratorijskih raziskav, v katerih smo preučevali vpliv štirih različnih talnih herbicidov, na rast micelija antagonističnih gliv *Trichoderma* spp. Uporabili smo herbicide, ki se uporabljajo v slovenski kmetijski pridelavi, Racer z aktivno snovjo fluorkloridon, Merlin (izoksafutol), Equip (foramsulfuron) in Grodyl (amidosulfuron). V laboratoriju smo pripravili PDA gojišče, v katerega smo dodali različne deleže (%) priporočenega poljskega odmerka posameznega herbicida. Herbicide smo dodali v šestih koncentracijah in sicer 100 %, 75 %, 50 %, 25 %, 12,5 %, 6,25 % priporočenega poljskega odmerka. Pri kontrolnem obravnavanju v gojišče nismo dodali herbicida. Vsako obravnavanje smo izvedli v treh ponovitvah. Na gojišča smo nacepili glivi *Trichoderma asperellum* in *Trichoderma gamsii* in vse skupaj gojili pri dveh različnih temperaturah, 20°C in 25 °C. Rast micelija smo preverjali po 7 in 14 dneh, z občrtovanjem zunanlega roba posameznega micelija. Po 14 dneh smo s pomočjo čitalca posneli sliko odobravanj in jih s pomočjo računalniškega programa Nikon NIS Elements BR 2,30 obdelali. Dobljene površine micelija po 7 in 14- dneh smo nato statistično ovrednotili s programom Statgraphics Plus; Student–Newma–Keuls test pri 5 odstotnem tveganju. Izračunali smo še odstotke inhibicije rasti micelija v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem.

Dva od štirih preučevanih herbicidov (fluorkloridon, foramsulfuron) sta glede na rezultate *in vitro* poskusov za souporabo z glivama *Trichoderma asperellum* in *Trichoderma gamsii* neuporabna, saj delujeta izredno fungistatično, fluorkloridon v višjih koncentracijah celo fungicidno. Pripravka Grodyl (amidosulfuron) in Merlin (izoksafutol) pa sta primerna za souporabo z glivama *Trichoderma* spp., ker ne oziroma zelo malo vplivata na rast in razvoj glive. Rezultati so pokazali, da pri nekaterih odmerkih delujeta celo stimulatивно na rast micelija. Po stopnji škodljivosti uvrščamo

flurokloridon in foramsulfuron v razred škodljiv, izoksaflutol pri večjih koncentracijah pri temperaturi 20 °C v razred malo škodljiv, amidosulfuron pa v razred neškodljiv.

Rezultati so nam pokazali, da lahko zelo majhne količine ostankov herbicidov negativno vplivajo na glivo *Trichoderma asperellum* kot *Trichoderma gamsii*, zato moramo biti pazljivi, katere herbicide uporabljamo v predposevkih, ker lahko zelo vplivajo na učinkovitost pripravka na podlagi *Trichoderma* spp., ki ga uporabimo na trenutnem posevku. Saj imata dva od preučevanih herbicidov (flurokloridon, foramsulfuron) že pri zelo nizkem odmerku izrazit fungistatičen učinek.

## 5.2 SKLEPI

V laboratorijskem poskusu *in vitro* smo ugotovili, da je herbicidni pripravek Grodyl (amidosulfuron) primeren za souporabo z glivo *Trichoderma* spp., saj je inhibicija rasti micelija glive negativna. To pomeni, da je ob prisotnosti herbicida v gojišču rast micelija celo stimulirana (prirast micelija je bil večji od kontrolnega obravnavanja). Herbicidni pripravek Merlin je v manjših koncentracijah tudi primeren za sočasno uporabo z *Trichoderma* spp. tako, da se zaviralni učinek herbicidov povečuje z večanjem odmerkov. Herbicidna pripravka Racer in Equip pa imata močen fungicidni učinek na glivo, v večjih koncentracijah celo fungicidni in zato nista primerna za souporabo z biotičnimi pripravki na podlagi gliv *Trichoderma* spp. Pri večini herbicidov pa je vidna razlika v prirastu micelija obeh gliv pri temperaturi 25 °C, kjer je večji kot pri temperaturi 20°C. Predvidevamo, da na to lahko vpliva dejstvo, da sta glivi toploljubni (optimalna temperatura za razvoj je med 25 in 30 °C ) in da sta glivi pri višji temperaturi bolj vitalni in je fungistatični učinek herbicidov zato manjši.

V laboratorijskih razmerah smo ugotovili, da imajo izbrani herbicidi velik vpliv na rast in razvoj antagonističnih gliv *Trichoderma* spp., tako zaviralnega kot stimulativnega.

Potrebno je upoštevati, da je bila omenjena študija izvedena *in vitro* in ne predstavlja rezultatov, ki bi jih lahko pridobili v poljskem poskusu, ker na rezultat vpliva še veliko drugih dejavnikov. Zato je potrebno rezultate pridobljene v laboratoriju, ponoviti tudi na kmetijskih pridelovalnih površinah. Preveriti je potrebno, kakšni herbicidi so se uporabljali v predposevkih, saj smo ugotovil, da lahko že majhna količina herbicida vpliva na glivi *Trichoderma* spp.

## 6 POVZETEK

Antagonistične glive vzdržujejo ravnovesje med posameznimi talnimi glivami in skrbijo, da se patogene glive ne razmnožijo preveč. Tako z biotičnim varstvom dosežemo uporabo naravnih mehanizmov, ki vzdržujejo ravnovesje v ekosistemu. Zato ima *Trichoderma* spp. pomembno vlogo v kmetijskem ekosistemu. Z našo raziskavo smo v laboratorijskih razmerah ugotavljali vpliv izbranih herbicidov na rast micelija gliv *Trichoderma* spp. Uporabili smo naslednje herbicide Racer (flurokloridon), Merlin (izoksaflutol), Equip (foramsulfuron) in Grodyl (amidosulfuron). Pri različnih koncentracijah 100, 75, 50, 25, 12,5, 6,25 in 0 % priporočenega poljskega odmerka in pri dveh različnih temperaturah 20 in 25 °C smo jih uporabili na dveh glivah *Trichoderma asperellum* in *Trichoderma gamsii*. Inkubacija je potekala 14 dni, v tem času smo opazovali rast in razvoj micelija in dobljene rezultate primerjali z rastjo v kontroli (gojišče brez herbicida). Glede na inhibicijo rasti micelija smo po toksikoloških testih herbicide razvrstili v štiri razrede: 1 = neškodljiv (< 25% inhibicija), 2 = malo škodljiv (25 - 50 %), 3 = zmerno škodljiv (51 - 75 %), 4 = škodljiv (> 75 %). Trije herbicidi imajo fungistatični učinek na glivi *Trichoderma* spp., eden od njih pa za glivo ni škodljiv. Glivi *Trichoderma* spp. sta zelo občutljivi na preizkušene herbicide, posebej pri priporočenih poljskih koncentracijah, kot tudi pri manjših odmerkih. Flurokloridon ima pri obeh temperaturah in vseh koncentracijah zelo izrazit fungistatičen učinek, pri 100 % in 75 % celo fungicidni učinek. Foramsulfuron ima tudi izrazit fungistatičen učinek, ki pa z zmanjševanjem odmerka slabi. Izoksaflutol in amidosulfuron sta imela zelo malo zaviralnih učinkov in bi jih lahko uporabljali na pridelovalnih površinah skupaj z glivama *Trichoderma* spp. Amidosulfuron pa sploh ni imel zaviralnih učinkov, celo stimulatивно je vplival na rast micelija, tako da bi ga lahko uporabljali na pridelovalnih površinah skupaj z glivami *Trichoderma* spp. Uporaba antagonističnih gliv *Trichoderma* spp. bi bila možna predvsem na površinah, kjer se lahko nadzoruje dejavnike okolja. Ker že zelo majhne količine ostankov herbicidov lahko negativno vplivajo na rast glive *Trichoderme* spp.

## 7 VIRI

- Benítez T., Rincón A.M., Limón M.C., Codón A.C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7, 4: 249-260
- Bhosale A. M., Borade S. V., Raut R. R. 2015. In vitro effect of certain fungicides, insecticide and herbicide on *Trichoderma Harzianum*. *International Journal of Informative & Futuristic Research*, 3, 1: 271-273
- Celar F. A. 1995. Antagonizem med talnimi saprofitskimi in parazitskimi glivami – mehanizmi in možnost uporabe v biotičnem varstvu rastlin. V: Zbornik predavanj in referatov: 2. slovenski posvet o varstvu rastlin. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 437-445
- Celar F. A. 2006. Biotična fitofarmacevtska sredstva; antagonisti in entomopatogeni. Študijsko gradivo za področje varstva rastlin. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: CD-ROM
- Coremans–Pelseneer J. 1994. Laboratory tests on the entomopatogenic fungus *Buauveria*. *IOBC/WPRS Bulletin*, 17, 10: 147-154
- De Cal A., Pascual S., Melgarejo P. 1994. In vitro studies on the effects of fungicides on beneficial fungi of peach twig mycoflora. *Mycopathologia*, 126, 1: 15-20
- FITO – INFO – slovenski informacijski sistem za varstvo rastlin.  
[http://www.fitoinfo.si/index.asp?ID=VarOk/BV/BV\\_0.asp](http://www.fitoinfo.si/index.asp?ID=VarOk/BV/BV_0.asp) (16.04.2016)
- Grondona I., Hermosa R., Tejada M., Gomis M.D., Mateos P.F., Bridge P. D., Monte E. and Garcia-Acha I. 1997. Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. *Applied Environmental Microbiology*, 63, 8: 3189–3198
- Helyer N., Cattlin N., Brown K. 2014. Biological control in plant protection. A color handbook second edition. Taylor & Francis Group. LLC: 276 str.
- Kos A., Majcen D., Reggiori. 2011. Remedier, novi biotični fungicid italijanskega podjetja ISAGRO S.P.A., na osnovi antagonističnih gliv *Trichoderma harzianum* in *Trichoderma viride*, za zatiranje talnih glivičnih bolezní pri pridelavi vrtnin, okrasnih rastlin in lončnic. V: Zbornik predavanj in referatov, Podčetrtek, 2011: 385  
[http://dvr.s.bf.uni-lj.si/spvr/2011/60Kos\\_A\\_et\\_al.pdf](http://dvr.s.bf.uni-lj.si/spvr/2011/60Kos_A_et_al.pdf) (17.04.2016)
- Lacey L.A, Frutos R., Kaya H.K., Vail P. 2001. Insect pathogens as Biological control agents: Do they have a future *Biological Control*, 21: 299 - 310

Lešnik M. 2007. Tehnika in ekologija zatiranja plevelov. Ljubljana, Kmečki glas: 243 str.

Maček J., Kač M. 1990. Kemična sredstva za varstvo rastlin. Ljubljana, Kmečki glas: 500 str.

Mavsar S., Knapič V. 2007. Ureditev biotičnega varstva rastlin v Sloveniji. V: Zbornik predavanj in referatov 8. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 6-7. marec 2007  
[http://www.dvrs.bf.uni-lj.si/spvr/2007/10mavsar\\_07.pdf](http://www.dvrs.bf.uni-lj.si/spvr/2007/10mavsar_07.pdf) (17.04.2016)

Mausam V., Satinder K., Barar., R.D. Tayagi, R.Y. Suranpalli. 2007. Antagonistic fungi *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control, Biochemical engineering journal, 37, 1: 1-20

Milevoj L. 2011. Biotično zatiranje škodljivcev v zavarovanih prostorih. Ljubljana, Fitosanitarna uprava Republike Slovenije: 84 str.

Monte E., Llobell A. 2003. Trichoderma in organic agriculture. Actas v congreso mundial del aguacate: 725–733  
[http://www.avocadosource.com/WAC5/Papers/WAC5\\_p725.pdf](http://www.avocadosource.com/WAC5/Papers/WAC5_p725.pdf) (12.04.2016).

PPDB – Pesticide properties data base. University of Hertfordshire.  
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/> (17.04.2016).

Singh A., Shahid M., Srivastava M., Pandey S., Sharma A. 2014. Optimal Physical Parameters for Growth of *Trichoderma* Species at Varying pH, Temperature and Agitation. *Virology & Mycology*, 3: 1-7

Sterk G., Heuts F., Merck N., Bock J. 2003. Sensitivity of non – target arthropods and beneficial fungal species to chemical and biological plant protection products: Results of laboratory and semi field trials. V: 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods, Honolulu, 14 – 18 januar 2002, USDA Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team: 306 – 313

Trichoderma. *Pharmaceutical Microbiology*. 2014 <http://www.pharmamicroresources.com/2014/06/trichoderma/>

Zakon o fitofarmacevtskih sredstvih. 2012. Ur. l. RS, št. 83/12

Zakon o zdravstvenem varstvu rastlin. 2007. Ur. l. RS, št. 62/07

## ZAHVALA

Največja zahvala za nesebično pomoč in spodbudo pri pisanju diplomskega dela gre mentorju prof. dr. Franci Aco Celarju in asistentki doc. dr. Katarini Kos, ker sta bila vedno na voljo, ko sem potrebovalo pomoč pri nalogi. Hvala!

Hvala mojim domačim, ker niso obupali nad mano in so verjeli vame, da bom zaključila z diplomskim delom.

Hvala vsem sodelavcem za spodbudo in potrpežljivost. Hvala Lili in Jerneju za dopust in vso moralno podporo.

Hvala Evi in Janu.

Hvala vsem, ki ste kakorkoli prispevali in mi pomagali pri nastajanju diplomskega dela ter verjeli vame.

## PRILOGA A

Povprečna površina micelija glive *Trichoderma asperellum* pri štirih herbicidih v različnih odmerkih po 14 dneh pri temperaturi 20 °C

	amidosulfuron	izoksaf lutol	flurokloridon	foramsulfuron
Kontrola	10,45 cm <sup>2</sup>	9,05 cm <sup>2</sup>	10,45 cm <sup>2</sup>	5,01 cm <sup>2</sup>
100%	12,18 cm <sup>2</sup>	4,52 cm <sup>2</sup>	0,00 cm <sup>2</sup>	0,50 cm <sup>2</sup>
75%	12,49 cm <sup>2</sup>	5,12 cm <sup>2</sup>	0,00 cm <sup>2</sup>	0,64 cm <sup>2</sup>
50%	12,57 cm <sup>2</sup>	6,83 cm <sup>2</sup>	0,14 cm <sup>2</sup>	0,80 cm <sup>2</sup>
25%	13,53 cm <sup>2</sup>	7,83 cm <sup>2</sup>	0,18 cm <sup>2</sup>	1,51 cm <sup>2</sup>
12,5%	10,88 cm <sup>2</sup>	8,63 cm <sup>2</sup>	0,43 cm <sup>2</sup>	1,96 cm <sup>2</sup>
6,25%	13,91 cm <sup>2</sup>	9,06 cm <sup>2</sup>	0,96 cm <sup>2</sup>	3,26 cm <sup>2</sup>



## PRILOGA B

Povprečna površina micelija glive *Trichoderma asperellum* pri štirih herbicidih v različnih odmerkih po 14 dneh pri temperaturi 25 °C.

	amidosulfuron	izoksaf lutol	flurokloridon	foramsulfuron
Kontrola	46,33 cm <sup>2</sup>	41,31 cm <sup>2</sup>	34,00 cm <sup>2</sup>	38,03 cm <sup>2</sup>
100%	45,18 cm <sup>2</sup>	32,46 cm <sup>2</sup>	0,00 cm <sup>2</sup>	2,30cm <sup>2</sup>
75%	45,03 cm <sup>2</sup>	33,52 cm <sup>2</sup>	0,00 cm <sup>2</sup>	3,88 cm <sup>2</sup>
50%	45,55 cm <sup>2</sup>	41,13 cm <sup>2</sup>	0,32 cm <sup>2</sup>	5,98 cm <sup>2</sup>
25%	49,07 cm <sup>2</sup>	41,41 cm <sup>2</sup>	0,91 cm <sup>2</sup>	12,64 cm <sup>2</sup>
12,5%	46,16 cm <sup>2</sup>	38,61 cm <sup>2</sup>	2,01 cm <sup>2</sup>	18,49 cm <sup>2</sup>
6,25%	49,88 cm <sup>2</sup>	42,39cm <sup>2</sup>	3,29 cm <sup>2</sup>	25,00 cm <sup>2</sup>

## PRILOGA C

Povprečna površina micelija glive *Trichoderma gamsii* pri štirih herbicidih v različnih odmerkih po 14 dneh pri temperaturi 20 °C

	amidosulfuron	izoksaflutol	flurokloridon	foramsulfuron
Kontrola	11,70 cm <sup>2</sup>	11,34 cm <sup>2</sup>	11,71 cm <sup>2</sup>	10,53 cm <sup>2</sup>
100%	13,32 cm <sup>2</sup>	4,60 cm <sup>2</sup>	0,00 cm <sup>2</sup>	0,71 cm <sup>2</sup>
75%	11,76 cm <sup>2</sup>	4,81 cm <sup>2</sup>	0,00 cm <sup>2</sup>	0,91 cm <sup>2</sup>
50%	11,52 cm <sup>2</sup>	11,49 cm <sup>2</sup>	0,14 cm <sup>2</sup>	1,22 cm <sup>2</sup>
25%	13,29 cm <sup>2</sup>	11,22 cm <sup>2</sup>	0,26 cm <sup>2</sup>	1,79 cm <sup>2</sup>
12,5%	12,74 cm <sup>2</sup>	10,07 cm <sup>2</sup>	0,36 cm <sup>2</sup>	2,25 cm <sup>2</sup>
6,25%	12,17 cm <sup>2</sup>	10,51 cm <sup>2</sup>	0,92 cm <sup>2</sup>	3,10 cm <sup>2</sup>

## PRILOGA D

Povprečna površina micelija glive *Trichoderma gamsii* pri štirih herbicidih v različnih odmerkih po 14 dneh pri temperaturi 25 °C.

	amidosulfuron	izoksaflutol	flurokloridon	foramsulfuron
Kontrola	47,35 cm <sup>2</sup>	43,77 cm <sup>2</sup>	42,11 cm <sup>2</sup>	42,36 cm <sup>2</sup>
100%	45,76 cm <sup>2</sup>	32,63 cm <sup>2</sup>	0,00 cm <sup>2</sup>	2,65 cm <sup>2</sup>
75%	44,28 cm <sup>2</sup>	30,30 cm <sup>2</sup>	0,00 cm <sup>2</sup>	3,44 cm <sup>2</sup>
50%	47,03 cm <sup>2</sup>	41,53 cm <sup>2</sup>	0,26 cm <sup>2</sup>	5,30 cm <sup>2</sup>
25%	49,85 cm <sup>2</sup>	42,73 cm <sup>2</sup>	0,36 cm <sup>2</sup>	10,09 cm <sup>2</sup>
12,5%	50,96 cm <sup>2</sup>	42,69 cm <sup>2</sup>	1,17 cm <sup>2</sup>	14,60 cm <sup>2</sup>
6,25%	49,23 cm <sup>2</sup>	43,52 cm <sup>2</sup>	2,32 cm <sup>2</sup>	21,20 cm <sup>2</sup>