

## Biofungicidi i mogućnosti njihove primjene u suzbijanju fitopatogenih gljiva i pseudogljiva

### Sažetak

Biofungicidi ili mikrobiološki fungicidi su komercijalizirani biološki pripravci na bazi mikroorganizama (gljiva, pseudogljiva i bakterija), koji imaju antagonističko djelovanje na fitopatogene gljive i pseudogljive, te tako sprječavaju njihov rast i razvoj. Biofungicidi na bazi antagonističkih gljiva i pseudogljiva nazivaju se još i mikofungicidi, a biofungicidi na bazi antagonističkih bakterija nazivaju se bakteriofungicidi. Antagonističko djelovanje mikroorganizama korištenih u biofungicidima može se očitovati u vidu različitih interakcija s fitopatogenim gljivama i pseudogljivama, kao što su parazitizam, antibioza, kompeticija, inducirana rezistentnost i dr. Za proizvodnju komercijaliziranih bakteriofungicida za sada se najčešće koriste antagonističke vrste bakterija iz rodova *Bacillus*, *Pseudomonas* i *Streptomyces*, a za proizvodnju komercijaliziranih mikofungicida koriste se najčešće antagonističke vrste gljiva ili pseudogljiva iz rodova *Ampelomyces*, *Chaetomium*, *Coniothyrium*, *Gliocladium*, *Pythium* i *Trichoderma*. Od velikog broja komercijaliziranih biofungicida u svijetu, u Hrvatskoj su trenutno registrirana samo četiri biofungicida i to tri bakteriofungicida i jedan mikofungicid. Bakteriofungicidi su *Serenade ASO* (na bazi vrste *Bacillus amyloliquefaciens*), *Sonata* (na bazi vrste *Bacillus pumilus*) i *Proradix* (na bazi *Pseudomonas sp.*), a jedini mikofungicid je *Vintec* (na bazi antagonističke gljive *Trichoderma atroviride*).

**Cljučne riječi:** biofungicidi, bakteriofungicidi, fitopatogene gljive, mikofungicidi

### Uvod

Fitopatogene gljive su najbrojnija skupina biljnih patogena na kultiviranim biljnim vrstama. Opisano je preko 15 000 fitopatogenih vrsta gljiva i pseudogljiva, koje uzrokuju različite mikoze i pseudomikoze na biljkama domaćinima. Dominantni način njihov suzbijanja još uvijek je upotreba kemijskih fungicida. Međutim, sve više se u skladu s zahtjevima ekološki prihvatljive biljne proizvodnje nastoji uvoditi i primjenjivati biološke metode njihovog suzbijanja, upotrebom različitih antagonističkih mikroorganizama (gljiva, pseudogljiva i bakterija) na bazi koji su već razvijeni brojni komercijalizirani biofungicidi. Točan broj trenutno komercijaliziranih biofungicida u svijetu je teško reći, ali je taj broj i dalje puno manji od broja drugih komercijaliziranih biopesticida (bioinsekticidi, bionematocidi i dr.). Prema nekim podacima npr. u Sjedinjenim Američkim Državama bilo je registrirano više od 30 biofungicida na bazi 22 vrste antagonističkih bakterija i gljiva (Fravel, 2005). U Hrvatskoj do sada nije bilo opsežnijih znanstvenih ili stručnih radova o biofungicidima i njihovoj primjeni, pa je ta tematika i dalje slabo poznata. Kao prvi radovi mogu se istaknuti radovi Cvjetkovića (1980 i 1990), te u novije vrijeme jedan rad o korištenju mikofungicida u integralnoj zaštiti jagode od napada gljive *Botrytis cinerea* (Miličević i sur. 2006), dva stručna rada o biološkom suzbijanju biljnih patogena (Miličević, 2006; Miličević i Kaliterna, 2014) i nekoliko radova o antagonističkim vrstama iz roda *Trichoderma* (Topolovec Pintarić i sur. 2004; Topolovec Pintarić, 2019. i dr.). Izdan je i jedan sveučilišni priručnik „*Urbano biovrtlarstvo*“ (Gotlin Čuljak i sur., 2019) u kome je suzbijanje bolesti prikazano isključivo ekološki prihvatljivim metodama, među kojima i biofungicidima. Mogućnost suzbijanja fitopatogenih gljiva i pseudogljiva biofungicidima temelji se na antagonističkom djelovanju specifičnih vrsta bakterija, gljiva i pseudogljiva, koje može biti u vidu direktnog i indirektnog antagonizma (Pal i Gardener, 2006; Aboutorabi, 2018; Alabouvette i sur., 2006; Haydari i Pe-

<sup>1</sup> Prof.dr.sc.Tihomir Miličević, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb  
Autor za korespondenciju: tmilicevic@agr.hr

ssarakli, 2010). U direktni antagonizam spadaju interakcije tipa parazitizma i antibioze, a u indirektni antagonizam spadaju interakcije tipa kompeticije i inducirane rezistentnosti biljaka domaćina. Ovaj parazitizma poznat je i pod nazivom hiperparazitizam. Najčešće se susreće kao način antagonističkog djelovanja kod gljiva (antagonističke vrste iz rodova *Ampelomyces*, *Coniothyrium*, *Chaetomium*, *Gliocladium*, *Trichoderma*) te kod gljivama sličnih organizama (FLO) ili pseudogljiva (antagonističke vrste roda *Pythium*). Antibioza je antagonističko djelovanje mikroorganizama putem njihovih toksina ili antibiotika, koji imaju toksični ili inhibirajući efekt na fitopatogene gljive i pseudogljive. Ovaj način antagonističkog djelovanja najčešće se susreće kod bakterija (antagonističke vrste iz rodova *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* i dr.). Kompeticija ili nadmetanje je način antagonističkog djelovanja u kome se korišteni mikroorganizmi iz biofungicida nadmeću ili bore s fitopatogenim gljivama i pseudogljivama na biljkama domaćinima za izvore hrane, prostor i dr. Najčešće se susreće kod nekih antagonističkih vrsta gljiva (*Trichoderma*, *Aspergillus* i dr.). Inducirana rezistentnost biljaka domaćina je način antagonističkog djelovanja putem obrambenih mehanizma same biljke domaćina, tako da mikroorganizmi iz biofungicida u biljkama potiču različite obrambene reakcije (tvorbu fitoaleksina, PR proteina i dr.), pomoću kojih se onda biljka sama brani od napada fitopatogenih gljiva i pseudogljiva (aktivna otpornost).

### Bakteriofungicidi

Ova skupina biofungicida temelji se na antagonističkim vrstama bakterija koje pokazuju neki vid antagonizma prema fitopatogenim gljivama i pseudogljivama kao uzročnicima biljnih bolesti. Najčešće je to antibioza. Prema podacima FIS portala Ministarstva poljoprivrede (Fitosanitarni informacijski sustav - Popis registriranih sredstava za zaštitu bilja) na Web adresi: <https://fis.mps.hr/trazilicaszb/> u Hrvatskoj su trenutno registrirana tri bakteriofungicida i to: **Serenade ASO** (na bazi antagonističke vrste *Bacillus amyloliquefaciens*) za suzbijanje više vrsta fitopatogenih gljiva (*Botrytis cinerea*, *Monilinia* spp, *Sclerotinia* spp. i dr.) i bakterija (*Erwinia amylovora*, *Xanthomonas* spp. i dr.), na različitim biljkama domaćinima, zatim **Sonata** (na bazi antagonističke vrste *Bacillus pumilus*) za suzbijanje više vrsta pepelnica (Erysiphaceae) i **Pro-radix** (na bazi *Pseudomonas* sp.) za suzbijanje fitopatogenih gljiva iz roda *Rhizoctonia* i *Helminthosporium* na krumpiru i drugim kultiviranim biljkama. U Tablici 1, na temelju pregleda literature navedene u popisu, prikazane su najčešće antagonističke vrste bakterija na bazi kojih su komercijalizirani razni bakteriofungicidi u svijetu.

**Tablica 1.** Važnije antagonističke vrste bakterija u proizvodnji bakteriofungicida

**Table 1.** The most important antagonistic species of bacteria in the production of bacteriofungicides

<i>Vrsta antagonističke bakterije</i>	<i>Fitopatogene gljive i pseudogljive</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	Vrste rodova <i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Phytophthora</i> i dr.
<i>Bacillus licheniformis</i>	Razne vrste fitopatogenih gljiva - uzročnika folijarnih bolesti
<i>Bacillus pumilus</i>	Gljive u tlu na korijenu biljaka i pepelnice (Erysiphaceae)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Botrytis cinerea</i> , vrste roda <i>Monilinia</i> i dr.
<i>Burkholderia cepacia</i>	Vrste rodova <i>Rhizoctonia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Pythium</i> i dr.
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Vrste rodova <i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> i dr.
<i>Pseudomonas syringae</i>	<i>Botrytis cinerea</i> , vrste rodova <i>Penicillium</i> , <i>Mucor</i> i dr.
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	Vrste roda <i>Fusarium</i> i dr.
<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	Vrste rodova <i>Sclerotinia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Microdochium</i> i dr.
<i>Streptomyces lydicus</i>	Vrste rodova <i>Pythium</i> , <i>Phytophthora</i> i dr.
<i>Streptomyces griseoviridis</i>	Vrste rodova <i>Fusarium</i> , <i>Phomopsis</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Pythium</i> i dr.

## Mikofungicidi

Ova skupina biofungicida temelji se na antagonističkim vrstama gljiva ili pseudogljiva koje pokazuju neki vid antagonizma prema fitopatogenim gljivama i pseudogljivama. Najčešće je to hiperparazitizam i kompeticija. Veliki broj gljiva i pseudogljiva pokazuju antagonističko djelovanje na fitopatogene gljive i pseudogljive (mikoparazitizam), međutim samo manji broj njih za sada se koristi u proizvodnji komercijaliziranih biofungicida (mikofungicida). Kaewachai i sur. (2009) navode npr. 28 mikofungicida na bazi 24 vrste antagonističkih gljiva i pseudogljiva. Većina mikofungicida ima djelovanje na više različitih vrsta fitopatogenih gljiva i pseudogljiva, iako postoje i mikofungicidi čije je djelovanje usmjereno samo na jednu vrstu ili jednu skupinu fitopatogenih gljiva ili pseudogljiva, kao što su npr. mikofungicidi na bazi vrste *Pythium oligandrum*, koji djeluju samo na fitopatogene vrste pseudogljiva iz tog istog roda ili oni na bazi vrsta *Ampleomyces quisqualis* i *Pseudozyma flocculosa*, koji djeluju samo na pepelnice (Erysiphaceae). Najveći broj mikofungicida u svijetu je na bazi različitih antagonističkih vrsta iz roda *Trichoderma*. Prema Sheridan i sur. (2014) preko 250 mikofungicida je registrirano na bazi preko 20 antagonističkih vrsta tog roda (*T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. gamsii*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. polysporum*, *T. virens* i dr.). Također postoje i razni pripravci na bazi antagonističkih *Trichoderma* vrsta koji nisu registrirani kao mikofungicidi, već kao mikrobiološka hranjiva, stimulatori rasta i dr. Takvih ima jako puno i svijetu, a neki do njih postoje na tržištu i u našoj zemlji. Prema podacima FIS portala Ministarstva poljoprivrede (Fitosanitarni informacijski sustav - Popis registriranih sredstava za zaštitu bilja) na Web adresi: <https://fis.mps.hr/trazilicaszb/>, u Hrvatskoj trenutno postoji samo jedan registrirani mikofungicidi Vintec na bazi antagonističke vrste *Trichoderma atroviride*, a koji se koristi u borbi protiv eske ili apopleksije vinove loze (*Phaeomoniella chlamydospora*, *Fomitiporia* spp. i dr.) i drugih mikoza drva vinove loze (petrijeva bolest, eutipoza, botriosferioze i dr.). U Tablici 2, na temelju pregleda radova navedenih u popisu literature, prikazane su važnije antagonističke vrste gljiva i pseudogljiva na bazi kojih su komercijalizirani razni mikofungicidi u svijetu, te fitopatogene gljive i pseudogljive na koje djeluju.

**Tablica 2.** Važnije antagonističke vrste gljiva i pseudogljiva u proizvodnji mikofungicida

**Table 2.** The most important antagonistic species of fungi and pseudofungi in the production of mycofungicides

Vrsta antagonističke gljive	Fitopatogene gljive i pseudogljive
<i>Ampleomyces quisqualis</i>	Pepelnice ( <i>Erysiphaceae</i> )
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Botrytis cinerea</i> , vrste roda <i>Monilinia</i> i dr.
<i>Candida oleophila</i>	Vrste rodova <i>Botrytis</i> i <i>Penicillium</i>
<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Botrytis cinerea</i> , vrste roda <i>Phytophthora</i> i dr.
<i>Chaetomium cupreum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>
<i>Coniothyrium minitans</i>	Vrste roda <i>Sclerotinia</i> ( <i>Sclerotinia minor</i> , <i>S. sclerotiorum</i> )
<i>Fusarium oxysporum</i>	Vrste rodova <i>Rhizoctonia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i> i dr.
<i>Gliocladium</i> spp.	Razne vrste fitopatogenih gljiva u tlu
<i>Gliocladium catenulatum</i>	Vrste rodova <i>Pythium</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Rhizoctonia</i> i dr.
<i>Gliocladium virens</i>	Vrste rodova <i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> i dr.
<i>Phleviopsis gigantea</i>	<i>Heterobasidion annosum</i>
<i>Pseudozyma flocculosa</i>	Pepelnice ( <i>Erysiphaceae</i> )
<i>Pythium oligandrum</i>	Fitopatogene vrste pseudogljiva iz roda <i>Pythium</i>
<i>Talaromyces flavus</i>	Vrste rodova <i>Verticillium</i> , <i>Rhizoctonia</i> i dr.
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Botrytis cinerea</i> , vrste rodova <i>Rhizoctonia</i> , <i>Fusarium</i> i dr.
<i>Trichoderma polysporum</i>	Gljive truležnici na drveću
<i>Trichoderma viride</i>	Vrste rodova <i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> i dr.
<i>Trichoderma atroviride</i>	Gljive uzročnici bolesti drva v. loze ( <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> , <i>Fomitiporia</i> spp. i dr.)

Važno je napomenuti da postoje i mikofungicidi na bazi dviju ili više vrsta antagonističkih gljiva, posebno iz roda *Trichoderma*. Osim vrsta gljiva navedenih u ovoj tablici kao antagonističke vrste s velikim potencijalom komercijalizacije u vidu mikofungicida navode se također i vrste rodova *Ulocladium*, *Penicillium*, *Clonostachys*, *Acermonium*, *Cladosporium*, *Glomus*, *Sclerotinia* i dr. (Heydari i Pesarakli, 2010; Kaewchai i sur., 2009; McSpadden Gardener i Fravel, 2002; Kamal i sur., 2015; Suprapta, 2012).

## Literatura

- Alabouvette, C., Olivain, C., Steinberg, C. (2006): Biological Control of Plant Diseases: the European Situation. *European Journal of Plant Pathology* 114: 329–341.
- Aboutorabi, M. (2018): A Review on the biological Control of Plant Diseases using Various Microorganisms. *Journal of Research in Medical and Dental Science* 6 (4): 30-35.
- Cvjetković, B. (1990): Mikrobi protiv biljnih patogena. *Priroda* 45: 6-9.
- Cvjetković, B. (1980): *Erysiphe cruciferarum*, the pathogen of powdery mildew of cabbage and its hyperparasite *Ampeomyces quisqualis*. *Zaštita Bilja* 31: 373-377.
- Fravel, D.R. (2005): Commercialization and Implementation of Biocontrol. *Annual Review of Phytopathology* 43: 337-359.
- Gotlin Čučjak, T. i sur. (2019): Urbano biovrtlarstvo. Sveučilišni priručnik, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
- Heydari, A., Pesarakli, M. (2010): A Review on Biological Control of Fungal Plant Pathogens Using Microbial Antagonist. *Journal of Biological Sciences* 10(4): 273-290.
- Kaewchai, S., Soyong, K., Hyde, K.D. (2009): Mycofungicides and fungal biofertilizers. *Fungal Diversity* 38: 25-50.
- Kamal, R., Gusain, Y.S., Kumar, V., Sharma A. K. (2015): Disease management through biological control agents: An eco-friendly and cost effective approach for sustainable agriculture. *Agricultural Reviews* 36 (1): 37-45.
- McSpadden Gardener, B. B., Fravel, D.R. (2002): Biological control of plant pathogens: Research, commercialization and application in the USA. *Plant Health Progress* 10: 1-15.
- Miličević, T. (2006): Biološko suzbijanje biljnih patogena – Današnje stanje u svijetu i mogućnosti primjene. *Glasiilo biljne zaštite* 6: 310-316.
- Miličević, T., Ivić, D., Cvjetković, B., Duralija, B. (2006): Possibilities of strawberry integrated disease management in different cultivation systems. *Agriculture Conspectus Scientifi* 71 (4): 129-134.
- Miličević, T., Kaliterna, J. (2014): Biološko suzbijanje bolesti kao dio integrirane zaštite bilja. *Glasiilo biljne zaštite* 5: 410-415.
- Pal, K. K., McSpadden Gardener, B. B. (2006): Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor* 10: 1117-1142.
- Sheridan L. W., Ruocco, M., Vinalo, F., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, Al., Lanzuise, S., Manganiello, G., Matteo, L. (2014): Trichoderma-based products and their widespread use in Agriculture. *The Open Mycology Journal* 8 (Suppl-1, M4): 71-126.
- Suprapta, D. N. (2012): Potential of microbial antagonists as biocontrol agents against plant fungal pathogens. *Journal of ISSAAS* 18(2): 1-8.
- Topolovec-Pintarić, S., Cvjetković, B., Miličević, T. (2004): Biofungicidi temeljeni na *Trichoderma* vrstama. *Glasiilo biljne zaštite* 4: 239-241.
- Topolovec-Pintarić, S. (2019): Trichoderma: Invisible Partner for Visible Impact on Agriculture. *Trichoderma The Most Widely Used Fungicide*/Manjur Shah, Mohammad ; Sharif, Umar ; Rufai Buhari, Tijjani (ur.). London: Intech Open, str. 15-35.

Prispjelo/Received: 15.6.2020.

Prihvaćeno/Accepted: 6.7.2020.

Professional paper

## Biofungicides and possibilities of their application in the biocontrol of phytopathogenic fungi and pseudofungi

### Abstract

*Biofungicides or microbiological fungicides are commercialized biological fungicides based on various microorganisms (fungi, pseudofungi and bacteria), which have an antagonistic effect on phytopathogenic fungi and pseudofungi. Biofungicides based on antagonistic species of fungi and pseudofungi are called mycofungicides and biofungicides based on antagonistic species of bacteria are called bacteriofungicides. Their antagonistic action can be manifested in the form of various interactions with phytopathogenic fungi and pseudofungi such as parasitism (hyperparasitism), antibiosis, competition, induced resistance etc. The most commonly used antagonistic species of bacteria for the production of commercialized bacteriofungicides are from the genera Bacillus, Pseudomonas and Streptomyces, and the most commonly used antagonistic species of fungi or pseudofungi for the production of commercialized mycofungicides are from the genera Ampelomyces, Coniothyrium, Gliocladium, Chaetomium, Pythium and Trichoderma. Currently, only four biofungicides have been registered in Croatia, namely three bacteriofungicides and one mycofungicide. Bacteriofungicides are Serenade ASO (based on Bacillus amyloliquefaciens), Sonata (based on Bacillus pumilus) and Proradix (based on Pseudomonas sp.). The only mycofungicide in Croatia is Vintec, based on the antagonist fungus Trichoderma atroviride.*

**Key words:** biofungicides, bacteriofungicides, phytopathogenic fungi, mycofungicides