

# **Primjena biopreparata kao alternativa kemijskim fungicidima u zaštiti pšenice**

The Application of Biopreparations as an Alternative to Chemical Fungicides in the Protection of Wheat

**Kristek, S., Jović, J., Martinović, M., Jantoš, J., Popović, B., Lončarić, Z.**

**Poljoprivreda / Agriculture**

ISSN: 1848-8080 (Online)

ISSN: 1330-7142 (Print)

<https://doi.org/10.18047/poljo.29.2.4>



**Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Poljoprivredni institut Osijek**

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Agricultural Institute Osijek

# PRIMJENA BIOPREPARATA KAO ALTERNATIVA KEMIJSKIM FUNGICIDIMA U ZAŠTITI PŠENICE

Kristek, S., Jović, J., Martinović, M., Jantos, J., Popović, B., Lončarić, Z.

Izvorni znanstveni članak  
Original scientific paper

## SAŽETAK

Dvogodišnji pokusi provedeni su na dvama različitim tipovima tla tijekom 2019./20. i 2021./22. godine. Istraživan je utjecaj mikrobioloških pripravaka Mycor-FAZOS, Vitality-FAZOS i Super Green-FAZOS na prinos i elemente kvalitete pšenice sorte Maja (Agrigenetics). Pokus je postavljen prema split-block shemi u četirima ponavljanjima na dvama tipovima tla, na svakome u 12 različitim varijanata. Površina osnovne parcele iznosila je 40 m<sup>2</sup>, dok je obračunska parcela iznosila 24 m<sup>2</sup>. Elementi istraživanja bili su sljedeći: A (tip tla) – A1 - humoglej, A2 - eutrično smeđe tlo; B (tretman sjemena) – B1 – kontrola, B2 – sjeme tretirano biopreparatom; C (zaštita protiv bolesti) – C1 – kontrola, C2 – tretman kemijskim fungicidima, C3 – tretman biopreparatima. Elementi istraživanja bili su prinos zrna (t/ha), sadržaj bjelančevina u zrnu (%), masa 1000 zrna (g), hektolitarska masa (kg) i visina biljke (cm). Najviši prosječni prinos zrna ostvarila je varijanta B2C3, gdje je prinos bio za 17,42 % viši od prinosa dobivenoga varijantom B1C2. Kod sadržaja bjelančevina razlika između navedenih varijanti iznosila je 4,24 %, kod mase 1000 zrna 6,36 %, kod hektolitarske mase 6,35 %, te kod visine biljke 6,87 %. Možemo zaključiti da je tretman sjemena biopreparatom Mycor-FAZOS ubrzao razvoj korijena, te su biljke bile zdravije, više i robustnije, ali i ujednačenoga porasta i tamnije od varijana netretirano sjemena (povećan indeks fotosinteze). Zaštita obavljena biopreparatima Vitality-FAZOS i Super Green-FAZOS (mikroorganizmi koji imaju izrazito fungicidno djelovanje, ali i sintetiziraju hormone rasta) osigurala je da pšenica ostane zdrava, uz postizanje većega prinosa sjemena i dobivanje bolje kvalitete istraživanih parametara.

**Keywords:** korisni mikroorganizmi, pšenica, prinos, elementi kvalitete

## UVOD

Pšenica je u Republici Hrvatskoj najvažnija krušna žitarica. Kako je vrlo često u plodoredu prije ili nakon ostalih strnih žitarica, dolazi do intenziviranja istih bolesti i štetnika, što zahtjeva i adekvatnu zaštitu. S obzirom na to da se uglavnom radi o kemijskim pesticidima koji sadrže teške metale, dolazi do zagađivanja tla, te zbog rezidua utječe i na ljudsko zdravlje. Do istoga problema dolazi kod uporabe mineralnih gnojiva, u prvome redu onih fosfornih (Defarge, i sur., 2018.; Verkleij, 1993.).

Teški metali i metaloidi, uključujući Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Sn, Hg, Pb, među ostalima, mogu djelovati toksično. Koncentracije metala i metaloida u tlu brzo se povećavaju te negativno djeluju na rast biljaka, sigurnost krajnjega proizvoda i mikrobiološki sastav tla.

Pesticide ubrajamo u glavne izvore teških metala u tlu (Marrugo-Negrete i sur., 2017.; Ross, 1994.; Tóth i sur., 2016.; Wei i Yang, 2010.). Pesticidi imaju velik utjecaj na zdravlje (Repetto i Baliga, 1997.), uključujući kardiovaskularne bolesti (Alissa i Ferns, 2011.), na nervni sustav, (Chen i sur., 2016.; Gilani i sur., 2015.), neurološke bolesti kod djece (Yousef i sur., 2013.) autizam kod djece (Blaurock-Busch i sur., 2011., Dodig-Ćurković i sur., 2013., Geier i sur., 2012., Ijomone i sur., 2020.) i niz drugih bolesti.

Jedina od najprihvatljivijih alternativa su biološki preparati i organska gnojiva. Sve više se koriste u pro-

(1) Prof. dr. sc. Suzana Kristek ([skristek@fazos.hr](mailto:skristek@fazos.hr)), doc. dr. sc. Jurica Jović, Marina Martinović, mag. ing., Josipa Jantos, mag. ing., prof. dr. sc. Brigitte Popović, prof. dr. sc. Zdenko Lončarić – Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobio tehničkih znanosti Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska

izvodnji poljoprivrednih kultura mikroorganizmi koji djeluju mikrobicidno na uzročnike bolesti biljaka, kao i mikroorganizmi koji usvajaju plinovit dušik iz zraka, otapaju kamene fosfate te oslobađaju mikro- i makroelemente koji se nalaze u oblicima nepristupačnim biljkama.

U istraživanjima je korišten biopreparat *Mycor-FAZOS*, koji sadrži VAM gljive i nesimbitske dušične bakterije *Azotobacter chroococcum*, te *Vitality-FAZOS*, koji sadrži pet vrsta gljiva roda *Trichoderma*.

Autori u svojim istraživanjima navode da mikorizne gljive, osim što s pomoću svojih hifa biljke opskrbuju hravnim i vodom (Cui i Nobel, 1992., Ruth i sur., 2011.), djeluju mikrobicidno i na uzročnike bolesti biljaka (El-Saadony i sur., 2022., Schouteden i sur., 2015.). Vrste roda *Trichoderma* također djeluju mikrobicidno na

patogene mikroorganizme i vrlo se često koriste u biopreparatima (Tyśkiewicz, 2022., Zin i Badaluddin, 2020.).

Zbog gore navedenih razloga, u zaštiti pšenice korišteni su samo mikrobiološki preparati koji sadrže čiste kulture mikroorganizama izoliranih iz naših tala, čije je djelovanje potvrđeno u laboratorijskim i poljskim uvjetima. Biopreparati su priznati i imaju ekocertifikat (Austria Bio Garantie d.o.o.; br. 2018/848)

## MATERIJAL I METODE

Istraživanja su provedena tijekom 2019./20. i 2020./21. godine na dvama tipovima tla različitih kemijsko-mikrobioloških svojstava (humoglej, eutrično smeđe tlo) (Tablica 1.).

**Tablica 1. Kemijска svojstva tla**

Table 1. Chemical properties of soil

Analizirana svojstva tla – oranični sloj (0 – 30 cm) / Analyzed soil properties – plowing layer (0 – 30 cm)	Tip tla / Soil type	
	Humoglej / Humogley	Eutrično smeđe tlo / Eutric brown soil
pH (H <sub>2</sub> O)	7,36	6,39
pH (KCl)	6,59	5,48
Humus (%) / Organic matter (%)	3,07	2,03
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/ 100 g tla / soil)	26,03	23,20
K <sub>2</sub> O (mg/ 100 g tla / soil)	23,88	21,24

Pokus je postavljen prema *split-block* shemi u četirima ponavljanjima na humogleju i eutrično smeđem tlu. Na svakome tlu bilo je po dvanaest različitih varianata. Površina osnovne parcele iznosila je 40 m<sup>2</sup>

(4 m širine, 10 m dužine), a obračunska parcela iznosila je 24 m<sup>2</sup>.

Nakon žetve uljane repice, kao predkulture, uzeti su uzorci tla za određivanje kemijskih i mikrobioloških svojstava tla (Tablica 2.).

**Tablica 2. Mikrobiološka svojstva tla**

Table 2. Microbiological properties of soil

Tip tla / Soil type	Bakterije / (log cfu g <sup>-1</sup> )	Gljive (log cfu g <sup>-1</sup> )	Aktinomicete (log cfu g <sup>-1</sup> )	<i>Azotobacter chroococcum</i> (% akt. zrn. tla)	Celulolitički mikroorganizmi (% akt. zrn. tla)
Humoglej / Humogley	8,25	4,81	5,99	54,10	53,70
Eutrično smeđe tlo / Eutric brown soil	7,06	5,86	5,14	51,20	50,40

Elementi istraživanja bili su:

A. Tip tla:

- 1) Humoglej
- 2) Eutrično smeđe tlo

B. Tretman sjemena:

- 1) Netretirano sjeme
- 2) Sjeme tretirano biopreparatom

C. Zaštita protiv bolesti:

- 1) Kontrola
- 2) Folijarni tretman kemijskim fungicidima
- 3) Folijarni tretman biopreparatom

Na tlu boljih kemijsko-mikrobioloških svojstava (humoglej) u osnovnoj gnojidbi korišteno je 50 kg ha<sup>-1</sup> N<sub>2</sub>,

50 kg ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i 60 kg ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O na osnovi rezultata analize tla. Prva prihrana dušikom obavljena je KAN-om i iznosila je 30 kg ha<sup>-1</sup> N<sub>2</sub>. Druga prihrana obavljena u količini od 20 kg ha<sup>-1</sup> N<sub>2</sub>. Ukupna količina dušika tijekom vegetacije iznosila je 100 kg ha<sup>-1</sup>.

Na tlu lošijih kemijsko-mikrobioloških svojstava (eutrično smeđe tlo) osnovna gnojidba iznosila je 60 kg ha<sup>-1</sup> N<sub>2</sub>, 80 kg ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 90 kg ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O. Prva prihrana dušikom iznosila je 40 kg ha<sup>-1</sup> N<sub>2</sub>, dok je druga prihrana obavljena u količini od 30 kg ha<sup>-1</sup> N<sub>2</sub>. Ukupna količina dušika u vegetaciji ozime pšenice iznosila je 130 kg ha<sup>-1</sup>.

Sjetva je obavljena u optimalnim rokovima. Na humogleju je pšenica (sorta *Maja AG*) posijana 23. listopada 2019. i 29. listopada 2020., dok je na eutrično smeđem tlu posijano 24. listopada 2019. i 27. listopada

2020. godine. Neposredno prije sjetve sjeme je tretirano mikrobiološkim preparatom *Mycor-FAZOS*, koji je sadržavao sedam vrsta mikoriznih gljiva rodova *Glomus* i *Gigaspora* ( $7 \times 10^8$ ) te dušičnu nesimbiotsku bakteriju *Azotobacter chroococcum* ( $5 \times 10^8$ ) i asocijativnu bakteriju *Azospirillum brasilense* ( $7 \times 10^9$ ) u količini od 0,75 kg po hektaru (varijanta B2).

Prve zaštite od uzročnika bolesti provedene su 20. travnja 2020. te 12. travnja 2021. na obama tipovima tla korištenjem kemijskih sredstava (varijanta C2) *Revistar* (0,6 l/ha) + *Flex* (0,2 l/ha) te mikrobiološkim preparatima (*Vitality-FAZOS* i *Super Green-FAZOS*), koji su sadržavali benefitnu gljivu *Trichoderma harzianum* ( $9 \times 10^8$ , 1 l/ha) te bakteriju *Bacillus subtilis* ( $4 \times 10^9$ ) u količini od 1 l/ha (varijanta C3). Drugi tretman protiv uzročnika bolesti obavljen je 27. svibnja 2020. i 25. svibnja 2021. istim kemijskim odnosno mikrobiološkim preparatima.

Krajem mjeseca lipnja određena je dužina biljaka, a nakon žetve sljedeći parametri istraživanja: prinos, masa 1000 zrna, hektolitarska masa i sadržaj bjelančevina u zrnu. Sadržaj bjelančevina određen je s pomoću Infratec Grain Analyzera (*Near-Infrared Spectroscopic Method*).

Dobiveni podatci obrađeni su statističkim metodom (analiza varijance u statističkom programu SAS 9.3).

## REZULTATI I RASPRAVA

### Prinos zrna (t/ha)

U Tablici 3. vidljivo je da je na humogleju najviši prosječni prinos zrna pšenice dobiven uz tretman sjeme mikroorganizmima i zaštitu od bolesti primjenom mikrobioloških preparata ( $8,38 \text{ t ha}^{-1}$ ). Kod svih ostalih varijanti dobiven je statistički visoko signifikantno niži prinos ( $p < 0,01$ ).

**Tablica 3. Prinos zrna pšenice (t ha<sup>-1</sup>) tijekom dvogodišnjega istraživanja (2020., 2021.)**

Table 3. Wheat grain yield (t ha<sup>-1</sup>) during a two-year research (2020, 2021)

Tretman sjemena / Seed treatment	Zaštita od bolesti / Disease protection	Prinos zrna pšenice / Wheat grain yield (t ha <sup>-1</sup> )						Ukupni projek / Total average	
		Tip tla / Soil type							
		Humoglej / Humogley			Eutrično smeđe tlo / Eutric brown soil				
		2020.	2021.	Prosjek / Average	2020.	2021.	Prosjek / Average		
Netretirano sjeme / Untreated seed	1	5,36	5,70	5,53	4,60	5,27	4,94	5,24	
	2	6,86	7,40	7,13	6,35	6,92	6,64	6,89	
	3	6,79	7,31	7,05	6,38	6,77	6,58	6,82	
<b>Prosjek / Average</b>		<b>6,34</b>	<b>6,80</b>	<b>6,57</b>	<b>5,78</b>	<b>6,32</b>	<b>6,05</b>	<b>6,31</b>	
Primjena biopreparata / Application of biopreparations	1	5,48	5,65	5,57	5,03	5,46	5,25	5,41	
	2	7,49	8,25	7,87	7,19	7,81	7,50	7,69	
	3	8,13**	8,62**	8,38**	7,46*	8,11*	7,79*	8,09**	
<b>Prosjek / Average</b>		<b>7,03</b>	<b>7,51</b>	<b>7,27</b>	<b>6,56</b>	<b>7,13</b>	<b>6,85</b>	<b>7,06</b>	
<b>Ukupni projek / Total average</b>		<b>6,69</b>	<b>7,15</b>	<b>6,92</b>	<b>6,17</b>	<b>6,73</b>	<b>6,45</b>	<b>6,69</b>	
LSD <sub>0,05</sub>		0,21	0,18	0,20	0,16	0,19	0,18	0,19	
LSD <sub>0,01</sub>		0,44	0,34	0,37	0,29	0,36	0,35	0,36	

Zaštita od bolesti: 1. – kontrola; 2 – tretman kemijskim fungicidima; 3 – tretman biopreparatima /

Disease protection: 1 - control; 2 - treatment with chemical fungicides; 3 - treatment with biopreparations

Najviši prosječni prinos kod sjemena koje nije tretirano mikrobiološkim preparatima dobiven je primjenom kemijskih fungicida ( $7,87 \text{ t ha}^{-1}$ ); međutim, nije bilo statistički značajne razlike s varijantom folijarno tretiranom mikrobiološkim preparatima. Najviši prosječni prinos navedenoga parametra, uz tretman sjemena biopreparatom i zaštitu od bolesti primjenom mikrobioloških preparata, bio je za 17,52 % viši u odnosu.

Na eutričnome smeđem tlu u istoj varijanti najviši prosječni prinos ovoga parametra ( $7,90 \text{ t ha}^{-1}$ ) dobiven je također primjenom mikrobioloških preparata, iako nije ostvarena statistički signifikantna razlika ( $p < 0,05$ ) u usporedbi s varijantom u kojoj su primjenjena kemijska sredstva. Preostale varijante ostvarile su statistički visoko signifikantno niže prinose ( $p < 0,01$ ).

Najviši prosječni prinos ispitivanoga parametra na tipu tla humoglej ( $8,62 \text{ t ha}^{-1}$ ) bio je za 11,07 % viši u odnosu na isti na eutričnom smeđem tlu ( $7,79 \text{ t ha}^{-1}$ ).

Dobivena manja razlika između tretmana kemijskim sredstvima i mikrobiološkim preparatima kod varijanata tretiranoga i netretiranog sjemena ukazuje da je razlog znatno niži pH, a samime time i lošija mikrobiološka svojstva tla (Tablice 1. i 2.).

Cvijanović i sur. (2008.) tretirali su sjeme pšenice benefitnim bakterijama *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum lipoferum* i *Klebsiella planticola* te dobili povećanje prinosa pšenice za 10,69 %. Također, korištenjem korisnih bakterija *Azospirillum brasiliense* i *Pseudomonas fluorescens* u tretmanu sjemena pšenice, autori Andersen i sur. (2003.) i Andres i sur. (2009.) dobili su povećanje prinosa pšenice za 16,46 %. Koristeći se u svojim istraživanjima malim koncentracijama više vrsta bakterija (*Azotobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*) i gljiva (*Trichoderma*, *Rhizophagus*), Salmabi i sur. (2018.) ostvarili su povećanje prinosa pšenice za 11,49 %.

Navedena istraživanja dokazuju da biopreparati mogu potaknuti rast i prinos biljaka čak i kada se koriste u malim koncentracijama, pa se velik broj vrsta može koristiti komplementarno.

#### Sadržaj bjelančevina u zrnu pšenice (%)

Najviši prosječni sadržaj bjelančevina (Tablica 4) u zrnu pšenice tijekom dviju vegetacijskih godina i na humogleju i na eutrično smeđem tlu ostvaren je u varijanti sjemena tretiranoga biopreparatima, uz biošku zaštitu od uzročnika bolesti. U svim ostalim varijantama dobiveni su statistički vrlo značajno niži prinosi zrna pšenice ( $p < 0,01$ ).

U navedenoj varijanti prosječni dvogodišnji sadržaj ispitivanoga parametra u zrnu pšenice na tlu boljih kemijsko-mikrobioloških svojstava – humogleju, iznosio je 15,14 % i bio je za 3,22 % viši u odnosu na istu varijantu na eutrično smeđem tlu (14,88 %). Međutim, na humogleju, u odnosu na varijantu sjemena tretiranoga mikrobiološkim preparatima i zaštitu od bolesti kemijskim

sredstvima (14,43 %), razlika je bila 5,13 %. Na tlu lošijih kemijsko-mikrobioloških svojstava (eutrično smeđe tlo) navedena razlika iznosila je 4,39 %. Najviši prosječni sadržaj navedenoga parametra dobiven u varijanti sjemena tretiranoga biopreparatima i uz zaštitu od bolesti primjenom mikrobioloških preparata na humogleju, a bio je za 10,52 % viši u odnosu na varijantu netretiranoga sjemena, također uz primjenu mikrobioloških fungicida (13,70 %). Na eutrično smeđem tlu navedena razlika iznosila je 10,89 %.

U rezultatima istraživanja brojnih autora dobiveni su evidentno veći sadržaji bjelančevina u zrnu pšenice, uz tretman sjemena korisnim mikroorganizmima (Cvijanović i sur., 2008.; Donn i sur., 2015.; Salmabi i sur., 2018.; Moradgholi i sur., 2021.). Koristeći se gljivom *Trichoderma koningii* za zaštitu pšenice od bolesti u Australiji, Kini i Americi, Perelló i sur. (2003.) dobili su povećanje svih istraživanih elemenata prinosa i kvalitete zrna pšenice.

**Tablica 4. Sadržaj bjelančevina u zrnu pšenice (%) tijekom dvogodišnjega istraživanja (2020., 2021.)**

Table 4. Protein content in wheat grain (%) during s two-year research (2020., 2021.)

Tretman sjemena / Seed treatment	Zaštita od bolesti / Disease protection	Prinos zrna pšenice / Wheat grain yield ( $t ha^{-1}$ )						Ukupni prosjek / Total average	
		Tip tla / Soil type							
		Humoglej / Humogley			Eutrično smeđe tlo / Eutric brown soil				
		2020.	2021.	Prosjek / Average	2020.	2021.	Prosjek / Average		
Netretirano sjeme / Untreated seed	1	12,07	12,19	12,13	12,10	12,03	12,07	12,10	
	2	13,46	13,70	13,58	13,08	13,52	13,30	13,44	
	3	13,58	13,81	13,70	13,27	13,49	13,38	13,54	
<b>Prosjek / Average</b>		<b>13,04</b>	<b>13,23</b>	<b>13,14</b>	<b>12,82</b>	<b>13,01</b>	<b>12,92</b>	<b>13,03</b>	
Primjena biopreparata / Application of biopreparations	1	12,10	12,26	12,18	11,89	12,10	12,00	12,09	
	2	14,31	14,55	14,43	14,15	14,29	14,22	14,33	
	3	15,07**	15,21**	15,14**	14,76**	14,99**	14,88**	14,01**	
<b>Prosjek / Average</b>		<b>13,83</b>	<b>14,01</b>	<b>13,92</b>	<b>13,60</b>	<b>13,79</b>	<b>13,70</b>	<b>13,81</b>	
<b>Ukupni prosjek / Total average</b>		<b>13,44</b>	<b>13,62</b>	<b>13,53</b>	<b>13,21</b>	<b>13,40</b>	<b>13,31</b>	<b>13,42</b>	
LSD <sub>0.05</sub>		0,31	0,34	0,32	0,29	0,33	0,32	0,31	
LSD <sub>0.01</sub>		0,57	0,61	0,58	0,57	0,59	0,57	0,57	

Zaštita od bolesti: 1. – kontrola; 2 – tretman kemijskim fungicidima; 3 – tretman biopreparatima /

Disease protection: 1 - control; 2 - treatment with chemical fungicides; 3 - treatment with biopreparations

Dosada se većina istraživanja bazirala na unosu benefitnih mikroorganizama u tlo ili na tretmanu sjemena. Međutim, sve više istraživanja, ali i sama primjena korisnih mikroorganizama, usmjereni su k folijarnoj primjeni radi zaštite od štetnika, bolesti ili intenziviranja fotosinteze.

#### Masa 1000 zrna pšenice (g)

I kod ovoga parametra najbolji rezultati mase 1000 zrna pšenice (g) u dvogodišnjem vegetacijskom periodu na obama tipovima tla dobiveni su u istoj varijanti (tretiranje sjemena biopreparatom i bioška zaštita od bolesti, Tablica 5). Preostale varijante imale su statistički visoko signifikantno niže vrijednosti ispitivanoga parametra ( $p < 0,01$ ).

Prosječna vrijednost ispitivanoga parametra kod navedene varijante na tipu tla humoglej u 2020. i 2021.

godini iznosila je 42,57 g i bila je 4,24 % viša od varijante netretiranoga sjemena, uz mikrobiološke tretmane protiv bolesti (40,84 g), odnosno 15,83 % od kontrolne varijante. Istovjetne razlike na eutrično smeđem tlu iznosile su 6,59 % (varijanta netretiranoga sjemena, uz primjenu biofungicida), odnosno 17,92 % (kontrolna varijanta).

Cvijanović i sur. (2022.) ostvarili su, uz tretman sjemena pšenice korisnim mikroorganizmima (*Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *Lactobacillus plantarum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Streptomyces albus*, *S. griseus*, *L. casei*, *Streptococcus lactis*, *Azotobacter spp.*), povećanje mase 1000 zrna pšenice od 4,73 % do 17,23 % (zavisno od sorte) u odnosu na kontrolnu varijantu. Bhattacharjee i sur. (2008.), Salmabi i sur. (2018.) i Boleta i sur. (2020.) dobili su slične rezultate korištenjem benefitnih mikroorganizama u kulturi pšenice.

**Tablica 5. Masa 1000 zrna pšenice (g) tijekom dvogodišnjega istraživanja (2020., 2021.)**

Table 5. Weight of 1000 wheat grains (g) during a two-year research (2020, 2021)

Tretman sjemena / Seed treatment	Zaštita od bolesti / Disease protection	Prinos zrna pšenice / Wheat grain yield ( $t ha^{-1}$ )						Ukupni prosjek / Total average	
		Tip tla / Soil type							
		Humoglej / Humogley			Eutrično smeđe tlo / Eutric brown soil				
		2020.	2021.	Prosjek / Average	2020.	2021.	Prosjek / Average		
Netretirano sjeme / Untreated seed	1	36,78	36,95	36,87	36,30	36,41	36,36	36,62	
	2	40,25	40,96	40,61	38,91	39,07	38,99	39,80	
	3	40,88	40,80	40,84	39,20	39,72	39,46	40,15	
Prosjek / Average		39,30	39,57	39,44	38,14	38,40	38,27	38,86	
Primjena biopreparata / Application of biopreparations	1	37,12	37,41	37,27	36,18	36,25	36,22	36,75	
	2	41,16	41,80	41,48	40,55	40,93	40,74	41,11	
	3	42,31**	42,83**	42,57**	41,86**	42,30**	42,08**	42,33**	
Prosjek / Average		40,20	40,68	40,44	39,53	39,83	39,68	40,06	
Ukupni prosjek / Total average		39,75	40,13	39,94	38,84	39,12	38,98	39,46	
LSD <sub>0,05</sub>		0,51	0,59	0,57	0,63	0,59	0,62	0,60	
LSD <sub>0,01</sub>		0,95	0,98	0,96	1,03	1,04	1,09	1,07	

Zaštita od bolesti: 1. – kontrola; 2 – tretman kemijskim fungicidima; 3 – tretman biopreparatima /

Disease protection: 1 – control; 2 – treatment with chemical fungicides; 3 – treatment with biopreparations

**Hektolitarska masa (kg)**

U skladu s rezultatima mase 1000 zrna pšenice, i najviša prosječna hektolitarska masa (kg) u objema istraživačkim godinama te na obama tipovima tla ostvarena je u varijanti sjemena tretiranoga mikrobiološkim preparatom i uz zaštitu od bolesti također primjenom mikrobioloških preparata (Tablica 6.). Ostale varijante imale su statistički visoko signifikantnu nižu hektolitarsku masu ( $p < 0,01$ ), izuzev kontrolne varijante na humogleju, koja je folijarno tretirana biopreparatima.

Prosječna hektolitarska masa (kg) kod navedene varijante na humogleju tijekom obiju godina istraživanja iznosila je 81,39 kg i bila je 5,88 % viša od varijante netretiranoga sjemena, uz mikrobiološku zaštitu protiv bolesti (76,87 kg), odnosno od kontrolne varijante 15,74 %. Navedene razlike na eutrično smeđem tlu iznosile su 5,33 % (varijanta netretiranoga sjemena uz primjenu biofungicida), odnosno 15,37 % (kontrolna varijanta).

**Tablica 6. Hektolitarska masa (kg) tijekom dvogodišnjega istraživanja (2020., 2021.)**

Table 6. Hectoliter mass (kg) during a two-year research (2020, 2021)

Tretman sjemena / Seed treatment	Zaštita od bolesti / Disease protection	Prinos zrna pšenice / Wheat grain yield ( $t ha^{-1}$ )						Ukupni prosjek / Total average	
		Tip tla / Soil type							
		Humoglej / Humogley			Eutrično smeđe tlo / Eutric brown soil				
		2020.	2021.	Prosjek / Average	2020.	2021.	Prosjek / Average		
Netretirano sjeme / Untreated seed	1	70,08	70,56	70,32	68,40	69,23	68,82	69,57	
	2	75,30	76,55	75,93	75,03	76,13	75,58	75,76	
	3	76,35	77,38	76,87	76,11	76,05	76,08	76,07	
Prosjek / Average		73,91	74,83	74,37	73,18	73,80	73,49	73,63	
Primjena biopreparata / Application of biopreparations	1	70,31	70,56	70,44	69,25	69,92	69,59	70,02	
	2	77,46	78,98	78,22	76,85	77,94	77,40	77,81	
	3	80,93**	81,85**	81,39**	78,94**	80,54**	79,74**	80,57**	
Prosjek / Average		76,23	77,13	76,68	75,01	76,13	75,57	76,13	
Ukupni prosjek / Total average		75,07	75,98	75,53	74,10	74,97	74,54	75,04	
LSD <sub>0,05</sub>		0,61	0,66	0,65	0,58	0,63	0,62	0,63	
LSD <sub>0,01</sub>		1,19	1,23	1,24	1,07	1,23	1,20	1,23	

Zaštita od bolesti: 1. – kontrola; 2 – tretman kemijskim fungicidima; 3 – tretman biopreparatima /

Disease protection: 1 – control; 2 – treatment with chemical fungicides; 3 – treatment with biopreparations

Koristeći se asocijativnim dušičnim bakterijama *Azospirillum brasilense* u pšenici, u rezultatima svojih istraživanja Denardi Munareto i sur. (2019.) dobili su povećanje svih elemenata istraživanja, pa tako i hektolitarske mase za 7,3 do 11,4 %. Choudhary i sur. (2022.) koristili su se nesimbiotskom dušičnom bakterijom *Azotobacter chroococcum* i ostvarili povećanje hektolitarske mase za 6,53 %. Koristeći se benefitnom gljivom *Trichoderma* spp. Mutlu et al. (2021.) polučili su povećanje svih elemenata prinosa i kvalitete ječma, pa tako i hektalitatske mase za 4,8 do 8,5 %.

### Visina biljke (cm)

Najviša prosječno najvišje biljke pšenice (cm) tijekom 2020. i 2021. godine na tlu humoglej (Tablica 7.) dobivene su uz tretman sjemena i zaštitu od bolesti korištenjem biofungicida (78,66 cm). Sve ostale varijante ostvarile su statistički vrlo značajnu visinu biljke pšenice ( $p < 0,01$ ). Najviša prosječna visina biljke pšenice kod varijante netretiranoga sjemena dobivena je uz zaštitu bopreparatima, iako nije bilo statistički signifikantne razlike s varijantom tretiranom kemijskim preparatima. Najviša prosječna visina biljke pšenice uz tretman sjemena i zaštitu od bolesti s pomoću mikrobioloških preparata bila je za

8,39 % viša u odnosu na varijantu sjemena koje nije tretirano biopreparatima te uz zaštitu kemijskim sredstvima.

Na eutričnome smeđem tlu najviša prosječna visina biljke pšenice (cm) tijekom obiju godina istraživanja dobivena je također uz tretman sjemena biopreparatima i primjenom biofungicida (80,61 cm), dok su sve ostale varijante ostvarile statistički vrlo značajno nižu vrijednost ovoga parametra ( $p < 0,01$ ). Najviša prosječna visina biljke pšenice uz tretman sjemena i zaštitu od bolesti primjenom biopreparata bila je za 5,34 % viša u odnosu na varijantu netretiranoga sjemena uz korištenje kemijskim preparatima.

Tretiranjem sjemena pšenice endomikoriznim gljivama, Al-Karak i sur. (2004.) dobili su povećanje visine biljaka za 1,7 do 4,3 %, zavisno od sorte pšenice. Mahato i sur. (2018.) iznose da su dobili povećanje visine biljaka pšenice za 4,6 % koristeći se benefitnom bakterijom *Trichoderma viride* i tretirajući tlo suspenzijom inokuluma u vodi. Autori navode da su u rezultatima istraživanja najmanje vrijednosti istraživanih parametara dobili u kombinaciji *T. viride* s mineralnim NPK gnojivom, što objašnjavaju jednom vrstom antagonizma ove benefitne gljive i anorganskoga gnojiva.

**Tablica 7. Visina biljke (cm) tijekom dvogodišnjeg istraživanja (2020., 2021.)**

Table 7. Plant height (cm) during a two-year research (2020, 2021)

Tretman sjemena / Seed treatment	Zaštita od bolesti / Disease protection	Prinos zrna pšenice / Wheat grain yield (t ha <sup>-1</sup> )						Ukupni projek / Total average	
		Tip tla / Soil type							
		Humoglej / Humogley			Eutrično smeđe tlo / Eutric brown soil				
		2020.	2021.	Projek / Average	2020.	2021.	Projek / Average		
<b>Netretirano sjeme / Untreated seed</b>	1	73,28	73,37	73,33	73,04	73,25	73,15	73,24	
	2	76,30	76,95	76,63	76,12	76,91	76,52	76,58	
	3	79,55	81,13	80,34	78,30	79,88	79,09	79,92	
<b>Projek / Average</b>		76,39	77,15	76,77	75,82	76,68	76,25	76,51	
<b>Primjena biopreparata / Application of biopreparations</b>	1	73,14	73,39	73,27	73,10	73,06	73,08	73,18	
	2	79,25	81,91	80,58	77,11	78,25	77,68	79,13	
	3	82,30**	83,82**	83,06**	79,49**	81,73**	80,61**	81,84**	
<b>Projek / Average</b>		78,23	79,71	78,97	76,57	77,68	77,13	78,05	
<b>Ukupni projek / Total average</b>		77,31	78,43	77,87	76,20	77,18	76,69	77,28	
<b>LSD<sub>0,05</sub></b>		0,41	0,50	0,47	0,39	0,48	0,43	0,45	
<b>LSD<sub>0,01</sub></b>		0,78	0,96	0,82	0,76	0,93	0,81	0,88	

Zaštitu od bolesti: 1. – kontrola; 2 – tretman kemijskim fungicidima; 3 – tretman biopreparatima /

Disease protection: 1 – control; 2 – treatment with chemical fungicides; 3 – treatment with biopreparations

### ZAKLJUČAK

Na temelju provedenih dvogodišnjih istraživanja (2019./20., 2020./21.) korištenjem kemijskih i bioloških preparata u kulturi pšenice (sorta *Maja*, AG), dobili smo sljedeće rezultate:

1. Najviši prosječni prinos zrna pšenice (t/ha), sadržaj bjelančevina u zrnu pšenice (%), masa 1000 zrna pšenice (g), hektolitarska masa (kg)

i prosječna visina biljke pšenice (cm) tijekom dvogodišnjega istraživanja na humogleju (Tablica 3.) dobiven je uz tretman sjemena mikoriznim gljivama i nesimbiotskim dušičnim bakterijama te zaštitom od bolesti također primjenom biopreparata.

2. Dobivene razlike između elemenata prinosa i kvalitete pšenice između tipova tala (humoglej,

- eutrično smeđe tlo) možemo objasniti različitim pedofizičkim i kemijsko-mikrobiološkim svojstvima tla. Naime, humoglez ima puno bolja navedena svojstva u odnosu na eutrično smeđe tlo.
3. Kemijske fungicide možemo zamjeniti mikrobiološkim, koji uz zaštitno djelovanje sintetiziraju hormone rasta, povećavajući indeks fotosinteze te doprinoseći razvoju biljke, što se očituje u elemetima prinosa. Kao konačan rezultat dobijamo zdravu biljku te tlo bez rezidua pesticida, koje predstavljaju velik zdravstveni i okolišni problem.

## NAPOMENA

Rad je rezultat istraživanja na projektu KK.01.1.1.07.0053 „Primjena inovativnih bioloških pripravaka u održivim tehnologijama biljne proizvodnje (InoBioTeh)”, koji finansira Europska unija u okviru Operativnoga programa *Konkurentnost i kohezija 2014. – 2020.* iz Europskoga fonda za regionalni razvoj.

## LITERATURA

1. Al-Karaki, G., McMichael, B. & Zak, J. (2004). Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. *Mycorrhiza*, 14(4):263-269. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0265-2>.
2. Andersen, J. B., Koch, B., Nielsen, T. H., Sørensen, D., Hansen, M., Nybroe, O. & Givskov, M. (2003). Surface motility in *Pseudomonas* spp. DSS73 is required for efficient biological containment of the root-pathogenic microfungi *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum*. *Microbiology*, 149(1), 37-46. <https://doi.org/10.1099/mic.0.25859-0>
3. Andres, N., Latrónico, A. & García, A. (2009). Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: impact on the production and culturable rhizosphere microflora. *European Journal of Soil Biology*, 45(1):44–51. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.11.001>
4. Bhattacharjee, R. B., Singh, A. & Mukhopadhyay, S. N. (2008). Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges. *Applied microbiology and biotechnology* 80, 199-209. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1567-2>
5. Blaurock-Busch, E., Amin, O. R. & Rabah, T. (2011). Heavy metals and trace elements in hair and urine of a sample of arab children with autistic spectrum disorder. *Maedica*, 6(4), 247-257. <https://doi.org/10.3390/ijerph9124486>
6. Boleta, E. H. M., Shintate Galindo, F., Jalal, A., Santini, J. M. K., Rodrigues, W. L., Lima, B. H. D., ... & Teixeira Filho, M. C. M. (2020). Inoculation with growth-promoting bacteria *Azospirillum brasilense* and its effects on productivity and nutritional accumulation of wheat cultivars. *Frontiers in sustainable food systems*, 4, 607262.
7. Chen, P., Miah, R. & Aschnerb, M. (2016). Metals and Neurodegeneration. *F1000Research*, 5(3), 1-13. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7431.1>
8. Choudhary, R. R., Prajapat, A. L., Yadav, H. L., Gupta, S. & Jat, R. P. (2022). Effect of varieties and nutrient management practices on nutrient content, uptake and quality parameters of wheat (*Triticum aestivum*). *The Pharma Innovation Journal*, 11(6), 1078-1081.
9. Cui, M. & Nobel, P. S. (1992). Nutrient status, water uptake and gas exchange for three desert succulents infected with mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 122(4), 643-649. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb00092.x>
10. Cvijanović, G., Milošević, N., Đalovic, I., Cvijović, M. & Paunović, A. (2008). Nitrogenization and N fertilization effects on protein contents in wheat grain. *Cereal Research Communications*, 36, 251–254. <https://doi.org/10.1556/CRC.36.2008>
11. Cvijanović, V., Cvijanović, G., Rajičić, V., Marinković, J., Đukić, V., Bajagić, M. & Đurić, N. (2022). Influence of different methods of application of effective microorganisms in nutrition of wheat on weight by 1000 grains, yield, and content of crude wheat proteins (*TRITICUM SP.*). *Cereal Research Communications*, 50(4), 1259–1268. <https://doi.org/10.1007/s42976-021-00226-1>
12. Defarge, N., Vendômois, J. S., Séralini, G. E. (2018). Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. *Toxicology Reports*, 5, 156-163. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.025>
13. Munareto, J. D., Martin, T. N., Fipke, G. M., Cunha, V. D. S., & Rosa, G. B. D. (2019). Nitrogen management alternatives using *Azospirillum brasilense* in wheat. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 54. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.00276>
14. Donn, S., Kirkegaard, J. A., Perera, G., Richardson, A. E. & Watt, M. (2015). Evolution of bacterial communities in the wheat crop rhizosphere. *Environmental microbiology*, 17(3), 610–621. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12452>
15. El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Soliman, S. M., Salem, H. M., Ahmed, A. I., Mahmood, M., ... & AbuQamar, S. F. (2022). Plant growth-promoting microorganisms as biocontrol agents of plant diseases: Mechanisms, challenges and future perspectives. *Frontiers in plant science*, 13, 923880. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.923880>
16. Alissa, E. M., & Ferns, G. A. (2011). Heavy metal poisoning and cardiovascular disease. *Journal of toxicology*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/870125>
17. Geier, D. A., Kern, J. K., King, P. G., Sykes, L. K. & Geier, M.R. (2012). Hair Toxic Metal Concentrations and Autism Spectrum Disorder Severity in Young Children. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9(12), 4486-4497. <https://doi.org/10.3390/ijerph9124486>
18. Gianì, F., Masto, R., Trovato, M. A., Malandrino, P., Russo, M., Pellegriti, G., ... & Vigneri, R. (2021). Heavy metals in the environment and thyroid cancer. *Cancers*, 13(16), 4052. <https://doi.org/10.3390/cancers13164052>
19. Ijomone, O. M., Olung, N. F., Akingbade, G. T., Okoh, O.A. & Aschner, M. (2020). Environmental influence on neurodevelopmental disorders: Potential association

- of heavy metal exposure and autism. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 62(10):38-55. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126638>
- 20. Mahato, S., Bhuju, S. & Shrestha, J. (2018). Effect of *Trichoderma viride* as biofertilizer on growth and yield of wheat. *Malaysian Journal of Sustainable Agriculture*, 2(2), 1 – 5. <http://doi.org/10.26480/mjsa.02.2018.01.05>
  - 21. Marrugo-Negrete, J., Pinedo-Hernández, J. & Díez, S. (2017). Assessment of heavy metal pollution, spatial distribution and origin in agricultural soils along the Sinú River Basin, Colombia. *Environmental research*, 154(4):380–388. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.01.021>
  - 22. Moradgholi, A., Mobasser, H., Ganjali, H. (2021.). WUE, protein and grain yield of wheat under the interaction of biological and chemical fertilizers and different moisture regimes. *Cereal Res. Commun.*, 50:1259–1268. <https://doi.org/10.1007/s42976-021-00145-1>
  - 23. Mutlu, A., Kucuk, C. & Cevheri, C. (2021). Effect of *Trichoderma* spp. isolates applications on grain yield and some yield components in organic barley cultivation (*Hordeum vulgare* L.). *Fresenius Environmental Bulletin*, 30(1), 723-730.
  - 24. Perelló, A., Mónaco, C., Simón, M. R., Sistera, M. & Dal Bello, G. M. (2003). Biocontrol efficacy of *Trichoderma* isolates for tan spot of wheat. *Crop Protection*, 22(9), 1099–1106. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(03\)00143-1](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(03)00143-1)
  - 25. Repetto, R. & Baliga, S.S. (1997). Pesticides and Immunosuppression: The Risks to Public Health. *Health Policy and Planning*, 12(2), 97–106. <https://doi.org/10.1093/heapol/12.2.97>
  - 26. Ross, S. M. (1994). Toxic metals in soil-plant systems. *The Journal of Agricultural Science*, 124(1): 155-156. <https://doi.org/10.1017/S0021859600071422>
  - 27. Ruth, B., Khalvati, M., Schmidhalter, U. (2011). Quantification of mycorrhizal water uptake via high-resolution on-line water content sensors. *Plant and Soil*, 342, 459–468. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0709-3>
  - 28. Salmabi, K. A., Lynette, K.A., Bede, S. M., Andrew, S.W., Kadambot, H. M. S., Zakaria, M.S. (2018.). Response of wheat to a multiple species microbial inoculant compared to fertilizer application front. *Plant Sci.*, Vol. 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01601>
  - 29. Santini, J. M. K., Rodrigues, W. L., de Lima, B. H., Carnelo, L. G. L., de Miguez, S. R., Marbán, L. (1997.). Heavy metals input with phosphate fertilizers used in Argentina. *Science of The Total Environment*, 204(3):245–250. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(97\)00187-3](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(97)00187-3)
  - 30. Schouteden, N., Waele, D. D., Panis, B., Vos, C. M. (2015.). Arbuscular Mycorrhizal Fungi for the Biocontrol of Plant-Parasitic Nematodes: A Review of the Mechanisms Involved. *Front Microbiol.*, 6:1-12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01280>
  - 31. Tóth, G., Hermann, T., Da Silva, M. R., Montanarella, L. (2016.). Heavy metals in agricultural soils of the European Union with implications for food safety. *Environment International*, 88(3):299-309. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.12.017>
  - 32. Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., Jaroszuk-Ścisiel, J. (2022.): *Trichoderma*: The Current Status of Its Application in Agriculture for the Biocontrol of Fungal Phytopathogens and Stimulation of Plant Growth. *Int J Mol Sci.*, 23(4):1-28. <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>
  - 33. Verkleij, J. A. (1993). The effects of heavy metals stress on higher plants and their use as bio monitor. In *Plant as Bioindicators: Indicators of Heavy Metals in the Terrestrial Environment*, ed B. Markert (New York, NY: VCH), 415–424. <https://doi.org/10.3390/molecules24152813>
  - 34. Zin, N. A., Badaluddin, N. A. (2020.). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2):168-178. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.09.003>
  - 35. Wei, B. and Yang, L. (2010.). A Review of Heavy Metal Contaminations in Urban Soils - Urban Road Dusts and Agricultural Soils from China. *Microchemical Journal*, 94, 99-107. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2009.09.014>
  - 36. Yousef, S., Eapen, V., Zoubeidi, T., Kosanovic, M., Mabrouk, A. A., Adem, A. (2013.). Learning disorder and blood concentration of heavy metals in the United Arab Emirates. *Asian J Psychiatr.*, 6(5):394-400. <http://doi.org/10.1016/j.ajp.2013.04.005>

## THE APPLICATION OF BIOPREPARATIONS AS AN ALTERNATIVE TO CHEMICAL FUNGICIDES IN THE PROTECTION OF WHEAT

---

### SUMMARY

*Two-year experiments were conducted on two different types of soil during 2021 and 2022, respectively. The influence of microbiological preparations Mycor-FAZOS, Vitality-FAZOS, and Super Green-FAZOS on the yield and quality parameters of wheat the Mura variety (Agrigenetics) was investigated. The experiment was set up according to the split-block scheme in four repetitions on two types of soil, in 12 different variants on each of them. The area of the basic plot amounted 40 m<sup>2</sup>, while the calculated plot amounted to 24 m<sup>2</sup>. The elements of the research were as follows: A (soil type) – A1 – humogly, A2 – eutric brown soil; B (seed treatment) – B1 – control, B2 – seed treated with biopreparation; C (protection against diseases) – C1 – control, C2 – treatment with chemical fungicides, C3 – treatment with biopreparations. The research parameters were grain yield (t/ha), protein content in grain (%), mass of 1,000 grains (g), hectoliter mass (kg), and plant height (cm). The highest average grain yield was obtained by the B2C3 variant, where the yield was 17.42% higher than the yield obtained by the B1C2 variant. In terms of protein content, the difference between the mentioned varieties was 4.24%, in the weight of 1,000 grains 6.36%, in hectoliter weight 6.35%, and 6.87% in plant height. We can conclude that a seed treatment with the Mycor-FAZOS biopreparation has improved root development, so the plants were healthier, taller, and more robust, but it has improved a uniform growth too, so the plants were darker than the untreated seed variants (scoring an increased photosynthesis index). The protection performed with the Vitality-FAZOS and Super Green-FAZOS biopreparations (i.e., the microorganisms that have an extremely fungicidal effect but also synthesize growth hormones) ensured that the wheat remained healthy while achieving a higher seed yield and obtaining a better quality of research parameters.*

**Keywords:** benefit microorganisms, wheat, yield, quality elements

(Primljeno 6. lipnja 2023.; prihvaćeno 7. studenoga 2023. – Received on July 6, 2023; accepted on November 7, 2023)