

VPLIV ANTAGONISTIČNE GLIVE *Trichoderma* sp. NA PRIDELEK VRTNE SOLATE (*Lactuca sativa* L.)

Vesna KOCJAN¹, Katarina KOS², Franci Aco CELAR³, Nina KACJAN MARŠIČ⁴

¹ Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

¹⁻⁴ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

IZVLEČEK

V poljskem poskusu, ki je potekal na polju Biotehniške fakultete v Ljubljani, smo proučevali delovanje antagonistične glive *Trichoderma asperellum* na razvoj sadik in pridelek solate. Uporabili smo 0,35-% vodno suspenzijo spor glive. Rastline smo z glivo tretirali na dva načina: predhodno tretiranje sadik v gojitvenih ploščah (t1); zalivanje sadik po presajanju z 18 ml suspenzije (t2). Kontrolne rastline niso bile tretirane z glivo (k). V poskus smo vključili 2 sorti solate: 'Joliac' in 'Tourbillon'. Ocenjevali smo učinek tretiranja z glivo na rast sadik in tehnološko zrelo solato. Pri sadikah smo tehtali maso korenin, cele sadike, nadzemnega dela sadike in prešteli število polno razvitih listov. Pri tehnološko zreli solati smo izmerili višino in premer rozete, tehtali svežo maso rozete, korenin, maso tržnega dela rozete, suho snov, prešteli število odstranjenih listov ter pomerili višino in širino kocena. Učinek glive na sadike je bil različen. Pri sorti 'Joliac' je bila povprečna masa sadike za 36 % večja, povprečna masa nadzemnega dela pa za 48 % večja od netretiranih sadik. Pri sorti 'Tourbillon' ni bilo razlik. Pri tehnološko zreli solati sorte 'Tourbillon' so bile rozete najnižje pri tretiranju sadik z glivo (t1) in imele najkrajši kocen. Pri zalivanju z glivo po presajanju (t2) je imela sorta 'Tourbillon' za 35 % več odstranjenih in poškodovanih listov od sorte 'Joliac'. Ta pa je imela za 32 % več odstranjenih listov v t1 glede na t2. Jasnih vplivov tretiranja s pripravkom na pridelek solate ni bilo, razen potencialnega kasnejšega uhajanja v cvet pri sorti 'Tourbillon' v t1.

Ključne besede: biostimulanti, biotično varstvo rastlin, antagonistične glive, *Lactuca sativa*, *Trichoderma* sp.

ABSTRACT

THE EFFECT OF THE ANTAGONISTIC FUNGI *Trichoderma* sp. ON THE YIELD OF LETTUCE (*Lactuca sativa* L.)

In the field trial conducted on the field of the Biotechnical Faculty in Ljubljana, the effect of the antagonistic fungus *Trichoderma asperellum* on the development of seedlings and

¹ mag. inž. hort., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

² doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

³ prof. dr., prav tam

⁴ prof. dr., prav tam

the yield of lettuce, was studied. A 0.35-% aqueous suspension of fungal spores was used. The plants were treated with the fungus in two ways: Pre-treatment of seedlings in plug trays (t1); irrigation of seedlings after planting with 18 ml of the suspension (t2). The control plants were not treated with the fungus. Two lettuce varieties were included in the experiment: 'Joliac' and 'Tourbillon'. We evaluated the effect of the fungal treatment on seedling growth and technologically mature lettuce. We evaluated the mass of the seedling roots, the whole seedling, the above-ground part of the seedling and counted the number of fully developed leaves. For technologically mature lettuce, we evaluated the height and diameter of the rosette, the fresh mass of the rosette, mass of the roots, mass of the marketable part, dry matter, the number of removed leaves and the height and width of the stem. The effects of the fungus on the seedlings were different. In the 'Joliac' variety the average weight of the treated seedling was 36 % higher and the average weight of the above-ground part was 48 % higher than untreated seedlings. There were no differences in the 'Tourbillon' variety. In the technologically mature lettuce of the 'Tourbillon' variety, the rosettes were the lowest and had the shortest stem when treated with the fungus (t1). When irrigated with the fungus after transplanting (t2), the 'Tourbillon' variety had 35 % more removed and damaged leaves than the 'Joliac' variety. The latter had 32 % more leaves removed in t1 compared to t2. There were no clear effects of treatment with the preparation on lettuce yield, except for the potential later bolting in the variety 'Tourbillon' in t1.

Key words: antagonistic fungi, biostimulants, biological control, *Lactuca sativa*, *Trichoderma* sp.

388

1 UVOD

Pridelovalci se soočajo z umikanjem kemičnih fitofarmaceutskih sredstev (FFS) s trga, novih registracij učinkovitih kemičnih FFS pa primanjkuje. To otežuje pridelavo zadostnih količin tržnega pridelka. Biotično varstvo rastlin pridobiva na pomenu in se vse bolj spodbuja tudi v praksi z uporabo pripravkov na osnovi biotičnih agensov. Na trgu lahko najdemo biostimulante na osnovi gliv iz rodu *Trichoderma*. Glive tega rodu veljajo za perspektivne biotične agense, saj preko različnih mehanizmov izboljšujejo rast in odpornost rastlin proti patogenom (Fiorentino in sod., 2018). Poskusi s temi glivami so večinoma izvedeni v kontroliranih razmerah, kar pa ne nudi podatka o tem, ali bo pripravek na osnovi teh gliv enako deloval tudi na prostem v tleh, kjer poteka veliko interakcij med talnimi organizmi. To je bil povod za izvedbo poskusa na prostem. Pričakovali smo, da bo tretiranje sadik s pripravkom Trifender® Pro pozitivno vplivalo na razvoj sadik in pridelek tehnološko zrele solate. Predvidevali smo, da bosta 2 načina tretiranja (sajenje že tretiranih sadik in zalivanje rastlin s pripravkom na gredah) različno vplivala na preučevane parametre. Pričakovali smo tudi različno učinkovitost pripravka glede na izbrano sorto.

2 MATERIALI IN METODE

Poskus je potekal na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani od 10. marca do 1. julija 2022. Vzgojili smo sadike dveh rozetastih sort krhkolistne solate 'Tourbillon' in 'Joliac'. Kot vir antagonistične glive smo uporabili pripravek Trifender®

Pro, ki vsebuje spore glive *T. asperellum* sev T34. Pripravek je v obliki močljivega praška (WP). Rastline smo z glivo tretirali na dva načina: z namakanjem sadik v gojitvenih ploščah pred sajenjem (t1) in zalivanje sadik po presajanju (t2). Kontrolne rastline niso bile tretirane z glivo (k). Platoje s sadikami smo potopili v pripravljeno 0,35-% suspenzijo pripravka, kontrolne sadike pa smo potopili v čisto vodo. Potapljanje platojev s sadikami smo izvajali 35 sekund. Do sajenja smo sadike še 2-krat dognajili z 200 ppm dušika (WSF 20:20:20), saj je od tretiranja z glivo do presajanja na prosto preteklo še 18 dni. Pri sadikah smo ocenjevali maso cele sadike (g), maso nadzemnega dela sadike (g), maso korenin (g) in število polno razvitih listov. Skupno smo ocenili 32 sadik. Preostale sadike smo 4. maja posadili na grede. Tla so bila pred namestitvijo namakalnega sistema in polietilenske folije založno pognojena z NPK (15:15:15). Po sajenju solate na grede nismo uporabili nobenih FFS in gnojil. Skupno smo posadili 480 sadik, ocenili pa 144 solat. Dan po sajenju smo sadike v ustreznih obravnavanjih zalili s pomočjo klasične nahrbtnne škropilnice (Solo 475), brez šobe za razpršen curek. Vsako sadiko smo zalili z 18 ml suspenzije (en pritisk na ročaj) z enako koncentracijo pripravka kot pri namakanju sadik. Pobiranje in ocenjevanje tehnološko zrele solate je sledilo 21. junija. Solate smo s pomočjo vrtnih vil skupaj s koreninami izruvali iz tal in s korenin temeljito očistili zemljo. Ocenjevali smo višino (cm) in premer rozete (cm), tehtali svežo maso rozete (g), maso korenin (g), maso tržnega dela rozete (g) in maso vzorca za suho snov (g). Prešteli smo število listov, ki smo jih odstranili zaradi bolezni in ostalih poškodb. Pomerili smo tudi višino (cm) in širino kocena (cm). Hkrati smo ob bonitiranju vzeli tudi 3 vzorce korenin iz vsakega obravnavanja, saj smo želeli preveriti, ali je gliva prisotna na koreninah. V laboratoriju smo naključnih 5 koščkov korenin iz vsakega obravnavanja oprali, jih namakali v vodni raztopini natrijevega hipoklorita z 1 % aktivnega klora, nato pa še v sterilni vodi in jih osušili na sterilnem papirju. Gojišče je bilo pripravljeno po receptu za 1/3 krompirjev dekstrozni agar (PDA) z antibiotikom. Na gojišče smo nacepili očiščene koščke korenin in jih inkubirali 10 dni pri 25 °C. Podatke smo statistično obdelali s programom R in grafičnim vmesnikom R commander. Podatke smo analizirali s pomočjo dvosmerne analize variance (ANOVA). Uporabljena stopnja zaupanja je bila 95-% ($\alpha = 0,05$). Poskusna zasnova za prvi del poskusa s sadikami je bila naključne skupine s 4 obravnavanji. Poskusna zasnova za glavni poskus pa je bila naključni bloki (4 ponovitve) s 6 obravnavanji. Za število odstranjenih listov smo morali analizo ANOVA narediti na logaritmiranih vrednostih spremenljivke št. odstranjenih listov. Nato smo izvedli inverzno transformacijo na rezultatih modela, ter interpretirali razmerja povprečij.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Analiza sadik

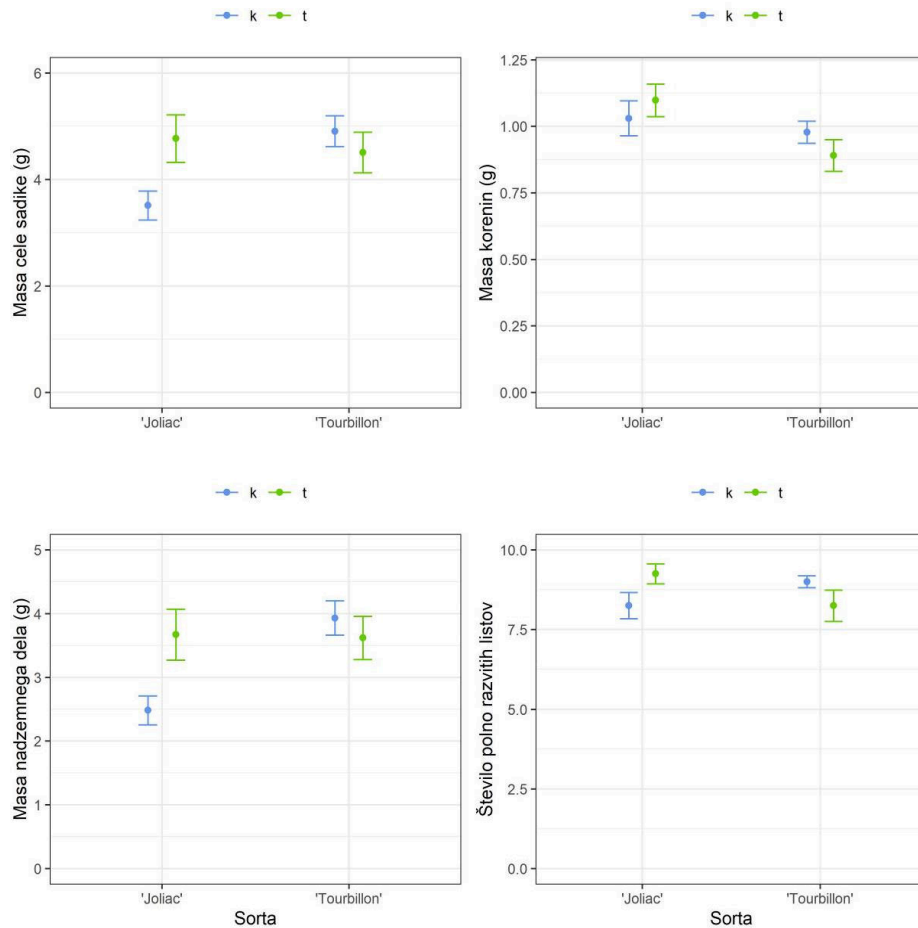
Iz Slike 1 vidimo, da so bile kontrolne (k) sadike sorte 'Joliac' lažje od k sadik sorte 'Tourbillon' z izjemo mase korenin. Pri tretiranih (t) sadikah pa vidimo obraten vzorec. Pri sorti 'Tourbillon' so bile povprečne vrednosti izmerjenih parametrov pri tretiranih sadikah povsod manjše od kontrolnih sadik, vendar razlike niso bile statistično značilne. Z dvosmerno analizo variance smo potrdili statistično značilne razlike med obravnavanji za maso cele sadike ($p = 0.0395$), maso nadzemnega dela sadike ($p = 0.015$) in delno statistično razliko za maso korenin ($p = 0.0976$), ki pa je bila sortno specifična. Tretirane sadike sorte 'Joliac' so bile v povprečju za 1,26 g (36 %) težje od

netretiranih ($p = 0.0613$). Nadzemni del tretiranih sadik sorte 'Joliac' je bil v povprečju za 1,19 g (48 %) težji od netretiranih ($p = 0.0439$).

3.2 Analiza tehnološko zrele solate

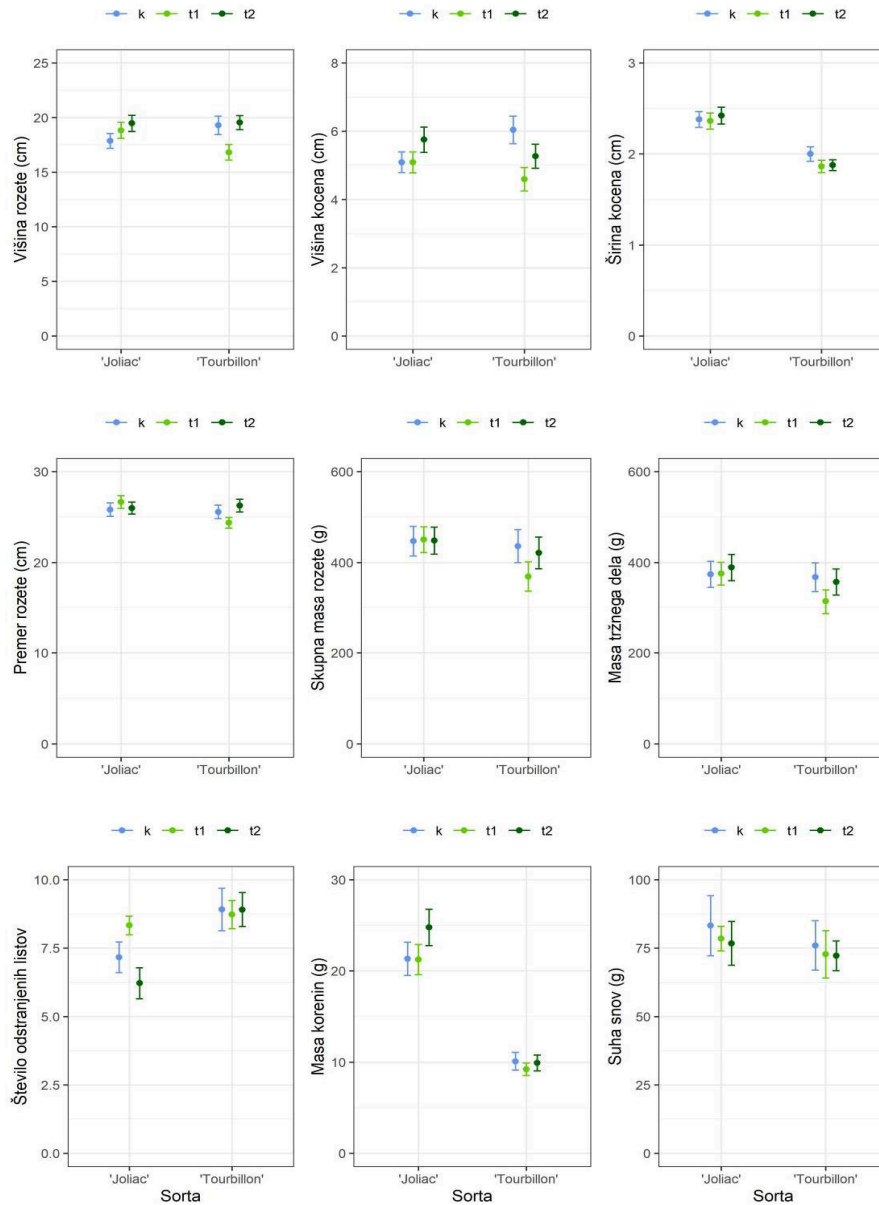
Z dvosmerno analizo variance smo potrdili statistično značilne razlike med obravnavanji pri višini rozete ($p = 0.0054$), višini kocena ($p = 0.0132$), širini kocena ($p < 0,001$), številu odstranjenih listov ($p < 0,001$) in masi korenin ($p < 0,001$). Širina kocena in masa korenin sta bili sortno specifični lastnosti (Slika 2).

390



Slika 1: Povprečja s standardnimi napakami za maso cele sadike (g), maso korenin (g), maso nadzemnega dela (g) in število polno razvitih listov pri sadikah po sortah in obravnavanjih. V legendi sta predstavljeni obravnavanji k (kontrola) in t (tretiranje).

391



Slika 2: Povprečja s standardnimi napakami za višino rozete (cm), višino kocena (cm), širino kocena (cm), premer rozete (cm), skupno maso rozete (g), maso tržnega dela (g), število odstranjenih listov, maso korenin (g) in suho snov (g) pri tehnološko zreli solati. V legendi so predstavljena obravnavanja k (kontrola), t1 (tretiranje sadik) in t2 (tretiranje po sajenju na gredah).

Rozete sorte 'Tourbillon' (Slika 2) so bile najnižje v t1. Rozete solat iz t2 so bile za 2,7 cm (16 %) višje od tistih v t1 ($p = 0.0168$), rozete iz k pa za 2,6 cm (15 %) višje od tistih v t1 ($p = 0.0181$). Dobljena statistično značilna razlika sovпада z zgornjo, saj je bil kocen sorte 'Tourbillon' v kontrolnem obravnavanju za 1,5 cm (31 %) višji od tistega v t1 ($p = 0.00732$). Od solat v t2 je imela sorta 'Tourbillon' za 35 % več odstranjenih listov od sorte 'Joliac' ($p < 0,001$). Pri sorti 'Joliac' pa so imele solate iz t1 za 32 % več odstranjenih listov od tistih v t2 ($p < 0,001$).

3.3 Prisotnost gliv na koreninah

Gliva je bila prisotna na koreninah solate v ustreznih obravnavanjih, kjer smo jo aplicirali, to je v obravnavanjih t1 in t2.

4 RAZPRAVA

Vpliv glive *T. asperellum* na sadike je bil razviden samo pri sorti 'Joliac', na sorto 'Tourbillon' pa gliva ni imela značilnega vpliva. Statistično značilnih negativnih vplivov na rast in razvoj sadik nismo zabeležili. Sadike smo tretirali 18 dni pred sajenjem, da bi zagotovili glivi čas za kolonizacijo korenin. Kasneje smo ugotovili, da je bilo to obdobje verjetno predolgo in bi bilo bolje, da bi sadike tretirali samo 5 dni pred sajenjem. Če glivam *Trichoderma* spp. primanjkuje hrane, lahko negativno vplivajo na rast sadik (Marín-Guirao in sod., 2016). Na to, da so določene sorte bolj dovzetne za tretiranje s *Trichoderma* spp., pišejo tudi avtorji podobnih raziskav (De Souza in sod., 2022). Poskus, kjer smo vrednotili učinek gliv na tehnološko zrelo solato, je potekal v tleh na prostem. Obstoj antagonističnih gliv je v takih tleh odvisen od mnogih interakcij med talnimi mikroorganizmi, s katerimi morajo *Trichoderma* spp. tekmovati za mesto ob koreninah (Philippot in sod., 2013). V tuji literaturi pogosto zasledimo pozitivne učinke gliv *Trichoderma* spp. na pridelek ali druge morfološke lastnosti solate (Moreira in sod., 2022; Promwee in Intana, 2022; Charoenrak in sod., 2019). Vendar so te raziskave izvedli v nadzorovanih rastnih razmerah, solate sadili v optimalno pripravljene sadilne substrate ali pa so uporabili hidroponski način gojenja. Poljskih poskusov je malo, vendar se v njih kažejo določeni pozitivni učinki glive na pridelek (Pereira in sod., 2019). V naši raziskavi se je pozitiven učinek glive odrazil v nižjih rozetah rastlin in krajšem kocenu pri sorti 'Tourbillon' v obravnavanju t1. To bi lahko pomenilo, da imajo pridelovalci daljše okno spravila, saj solata pozneje uide v cvet. *Trichoderma* spp. veljajo za odličen biotični agens v varstvu pred boleznimi, kar je večinoma preučevano v *in vitro* pogojih (Charoenrak in sod., 2019; Promwee in Intana, 2022; Baiyee in sod., 2018). Bolezni v pridelku solate nismo posebej analizirali. Smo pa opazili bolezenske znake sive plesni (*Botrytis cinerea* Pers.), solatne plesni (*Bremia lactucae* Regel), bele gnilobe (*Sclerotinia sclerotiorum* [Lib.] de Bary in *Sclerotinia minor* Jagger) in listnih pegavosti. Zabeležili smo jih tako pri tretiranih kot netretiranih rastlinah pri obeh sortah. Uporaba pripravka bi bila smiselna samo kot dopolnilo k standardni praksi, kar pa predstavlja dodaten strošek. Paziti je potrebno tudi na skladnost s FFS, saj lahko le-ti povzročijo slabšo kalitev konidijev in rast micelija

gliv *Trichoderma* sp. (Silva in sod., 2018; Celar in Kos, 2021). V prihodnje bi bilo smiselno raziskati prisotnost domorodnih vrst *Trichoderma* sp., ker so domači izolati lahko učinkovitejši zaradi prilagojenosti na okolje. Od tipa tal in klime je namreč odvisna prisotnost vrst na nekem območju (Kamala in sod., 2014). Tudi koncentracije, formulacije in načini nanosa pripravkov na osnovi *Trichoderma* spp., lahko pomembno vplivajo na večji delež inokuluma v rizosferi (Marín-Guirao in sod, 2016).

5 SKLEPI

Pričakovali smo, da bo tretiranje sadik s pripravkom Trifender® Pro pozitivno vplivalo na razvoj sadik, vpliv pa je bil viden samo pri sorti 'Joliac'. Tretirane sadike so imele večjo svežo maso. Tretiranje solate s pripravkom Trifender® Pro ni značilno vplivalo na morfološke parametre tehnološko zrele solate. Tretiranje sadik pred sajenjem ni bilo nič bolj učinkovito od tretiranja po sajenju. Potrdili pa smo različno delovanje glive na izbrani sorti solate. Z nadaljnimi poskusi, ki bi trajali skozi daljše časovno obdobje, bi dobili boljši vpogled v to, kako glive *Trichoderma* spp. delujejo in ali je uporaba v tleh na prostem zaradi mnogih okoljskih dejavnikov sploh smiselna.

6 ZAHVALA

Poskus spada v program tehnoloških poskusov Javne službe za vrtnarstvo, ki ga financira Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano.

7 LITERATURA

- Baiyee B., Ito S. I., Sunpapao A. 2018. *Trichoderma asperellum* T1 mediated antifungal activity and induced defense response against leaf spot fungi in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 106, 2019: 96–101, <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.12.009>
- Celar F. A., Kos K. 2021. Compatibility of the commercial biological control agents *Trichoderma asperellum* (ICC 012) and *Trichoderma gamsii* (ICC 080) with selected herbicides. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 129: 85–92, <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00547-7>
- Charoenrak P., Chamswarng C., Intanoo W., Keawprasert N. 2019. The effects of vermicompost mixed with *Trichoderma asperellum* on the growth and Pythium root rot of lettuces. *Geomate Journal*, 17, 61: 215–221, <https://doi.org/10.21660/2019.61.4728>
- De Souza R. R., Moraes M. P., Paraginski J. A., Moreira T. F., Bittencourt K. C., Toebe M. 2022. Effects of *Trichoderma asperellum* on germination indexes and seedling parameters of Lettuce cultivars. *Current Microbiology*, 79, 1: 5, <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02713-4>
- Fiorentino N., Ventorino V., Woo S. L., Pepe O., De Rosa A., Gioia L., Romano I., Lombardi N., Napolitano M., Colla G., Rouphael, Y. 2018. *Trichoderma*-based biostimulants modulate rhizosphere microbial populations and improve N uptake efficiency, yield, and nutritional quality of leafy vegetables. *Frontiers in Plant Science*, 9: 743, <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00743>
- Kamala T., Devi S. I., Sharma K. C., Kennedy K. 2014. Phylogeny and taxonomical investigation of *Trichoderma* spp. from Indian region of Indo-Burma biodiversity hot spot region with special reference to Manipur. *BioMed Research International*, 2015, 285261, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/285261>
- Marín-Guirao J. I., Rodríguez-Romera P., Lupión-Rodríguez B., Camacho-Ferre F., Tello-Marquina J. C. 2016. Effect of *Trichoderma* on horticultural seedlings' growth promotion depending on inoculum and substrate type. *Journal of Applied Microbiology*, 121, 4: 1095–1102, <https://doi.org/10.1111/jam.13245>

- Moreira V. D. A., Oliveira C. E. D. S., Jalal A., Gato I. M. B., Oliveira T. J. S. S., Boleta G. H. M., Giolo V. M., Vitória L. S., Tamburi K. V., Filho, M. C. M. T. 2022. Inoculation with *Trichoderma harzianum* and *Azospirillum brasilense* increases nutrition and yield of hydroponic lettuce. *Archives of Microbiology*, 204, 7: 440, <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03047-w>
- Pereira F. T., Oliveira J. B., Muniz P. H. P., Peixoto G. H. S., Guimarães R. R., Carvalho D. D. C. 2019. Growth promotion and productivity of lettuce using *Trichoderma* spp. commercial strains. *Horticultura Brasileira*, 37: 69–74, <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620190111>
- Philippot L., Raaijmakers J. M., Lemanceau P., Van Der Putten W. H. 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology* 11: 789–799, <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>
- Promwee A., Intana W. 2022: *Trichoderma asperellum* (NST-009): A potential native antagonistic fungus to control. *Cercospora* leaf spot and promote the growth of 'Green Oak' lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivated in the commercial NFT hydroponic system. *Plant Protection Science*, 58, 2: 139–149, <https://doi.org/10.17221/69/2021-PPS>
- Silva M. A. F. D., Moura K. E. D., Moura K. E. D., Salomão, D., Patricio F. R. A. 2018. Compatibility of *Trichoderma* isolates with pesticides used in lettuce crop. *Summa Phytopathologica*, 44, 2: 137–142, <https://doi.org/10.1590/0100-5405/176873>