

**UPORABA ANTAGONISTIČNE GLIVE *Trichoderma* sp. PRI
POMANJKLJIVEM NAMAKANJU VRTNE SOLATE (*Lactuca sativa* L.) IN
VPLIV NA KAKOVOST PRIDELKA**

Nina KACJAN MARŠIČ¹, Aljaž VRABEC², Katarina KOS³, Franci Aco CELAR⁴,
Maja MIKULIČ PETKOVŠEK⁵, Vesna ZUPANC⁶,

¹⁻⁶ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

IZVLEČEK

V lončnem poskusu, ki smo ga izvedli od junija do avgusta 2023, smo ugotavljali kakovost pridelka solate, pri gojenju rastlin z optimalno in pomanjkljivo oskrbo z vodo in tretiranju rastlin z antagonistično glivo *Trichoderma* sp. Imeli smo tri načine tretiranja, namakanje sadik v gojitveni plošči 10 dni pred presajanjem; zalivanje substrata z glivo takoj po presajanju in kombinacijo obeh obravnavanj; kontrolne rastline niso bile tretirane z antagonistično glivo. Vsako obravnavanje smo izvedli v 4 ponovitvah. Imeli smo 32 loncev: 16 rastlin je imelo optimalno oskrbo z vodo (100 % poljska kapaciteta – PK), 16 rastlin pa deficitno namakanje (50 % PK). V tehnološki zrelosti smo izmerili maso cele rastline, tržnega dela, višino kocena, delež suhe snovi v listih in koreninah in vsebnost vitamina C. Tretiranje z glivo ni imelo vpliva na maso rozet, delež in maso tržnega dela, višino kocena in vsebnost suhe snovi. Deficitno namakanje je značilno povečalo vsebnost suhe snovi v koreninah; zalivanje sadik z glivo po presaditvi predhodno tretiranih sadik je značilno povečalo vsebnost vitamina C glede na rastline, kjer smo ali samo zalili po presaditvi ali pa so bile sadike predhodno tretirane z glivo *Trichoderma* sp.

Ključne besede: antagonistična gliva, deficitno namakanje, lončni poskus, *Lactuca sativa* L. *Trichoderma* sp.

ABSTRACT

**THE USE OF THE ANTAGONISTIC FUNGUS *Trichoderma* sp. IN DEFICIENT
IRRIGATION OF LETTUCE (*Lactuca sativa* L.) AND THE EFFECT ON YIELD
QUALITY**

In the pot experiment conducted from June to August 2023, the quantity and quality of the lettuce yield was investigated in plants grown under optimal and deficit water supply

1 prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: nina.kacjan.marsic@bf.uni-lj.si

2 prav tam

3 doc. dr., prav tam

4 prof. dr., prav tam

5 prof. dr., prav tam

6 doc. dr., prav tam

and treated with the antagonistic fungus *Trichoderma* sp: Soaking of seedlings in the seedling tray 10 days before transplanting; irrigation of the substrate with the fungus immediately after transplanting; and a combination of both treatments; control plants were not treated. Each treatment was carried out in 4 replicates. In the study, we had 32 pots (one plant/pot), 16 plants had an optimal water supply (100% field capacity) and 16 plants had a deficient water supply (50% field capacity). At the time of technological maturity, the weight of the whole plant, the marketable part, the height of the stem, the percentage of dry matter in leaves and roots and the vitamin C content were measured. Treatment with the fungus had no effect on the mass of the rosettes and weight of the marketable part, the height of the stem and the dry matter of the leaves. Plants with deficit irrigation had a significantly higher root dry matter content; irrigating the seedlings with the fungus after transplanting the previously treated seedlings significantly increased the vitamin C content compared to the plants where either the irrigation took place after transplanting or the seedlings were previously treated with the fungus *Trichoderma* sp.

Key words: antagonistic fungi, deficit water supply, pot experiment, *Lactuca sativa* L., *Trichoderma* sp.

1 UVOD

396

Eden od pomembnih izzivov kmetijstva do leta 2050 bo zagotoviti 70 % več hrane za dodatnih 2,3 milijarde ljudi (FAO 2009). Hkrati pa je s povečanjem količine pridelane hrane vse tesneje povezana omejena dostopnost vode za namakanje, ki je zlasti v sušnih in polsušnih regijah sveta najpomembnejši omejitveni dejavnik pri pridelavi kakovostne hrane. V sklopu ukrepov za reševanje težav zaradi pomanjkanja vode, je bilo v preteklosti predlaganih več rešitev, ki so bile usmerjene predvsem v izboljšanje tolerance, učinkovitosti in produktivnosti rastlin, ki rastejo v razmerah biotskega in abiotskega stresa. Eden od najbolj sprejetih pristopov za doseganje omenjenih rešitev je uporaba mikroorganizmov, ki spodbujajo rast rastlin (Saghafi et al. 2018). Med pomembnimi antagonističnimi glivami je tudi gliva iz rodu *Trichoderma* sp, ki jo najdemo v puščavskih, gozdnih in kmetijskih tleh. Kolonizira lahko korenine rastlin in proizvaja nekatere metabolite, ki spodbujajo rast rastlin. Poleg tega lahko v neoptimalnih rastnih razmerah izboljšajo obrambne mehanizme rastlin (Harman et al. 2004). Pri tem omogočijo izboljšanje učinkovitosti porabe vode ter zmanjšanje škode, ki jo zaradi stresnih razmer povzročajo reaktivne kisikove vrste (ROS) (Chepsergon et al. 2014).

Uporaba biostimulantov je v vrtnarski pridelavi že precej razširjena tudi v Sloveniji, vendar imajo ti pripravki pravi učinek na rast in razvoj rastlin predvsem v stresnih rastnih razmerah (temperaturni stres, suša, slanost). Pripravke na osnovi antagonistične glive *Trichoderma* sp. naj bi se uporabljalo predvsem za preprečevanje okužb s solatno ali sivo plesnijo, poleg tega pa naj bi rastlinam omogočili učinkovitejšo rast korenin in boljšo dostopnost ter sprejem hranil in vode. Uporaba tovrstnih pripravkov podraži pridelavo hrane, zato je njihova uporaba smotrna res tam, kjer različne stresne razmere omejujejo rast.

Namen raziskave je bil ugotoviti, ali lahko s tretiranjem sadik solate z antagonistično glivo *Trichoderma* sp. izboljšamo rast rastlin, ki rastejo v stresnih rastnih razmerah, ki so posledica deficitnega namakanjem. V lončnem poskusu, kjer smo vzpostavili stres z deficitnim namakanjem substrata, smo proučevali učinkovitost uporabe antagonistične glive *Trichoderma* sp. pri blažitvi posledic stresa s ciljem, da ugotovimo ali se količina in kakovost pridelka solate pri optimalni in deficitni oskrbi z vodo razlikuje glede na tretiranje sadik z antagonistično glivo *Trichoderma* sp.. Domnevali smo, da bo tretiranje sadik z antagonistično glivo *Trichoderma* sp. izboljšalo rast rastlin solate glede na netretirane sadike. Predvidevali smo, da bo učinek na rast rastlin in kakovost pridelka rastlin, tretiranih z a glivo *Trichoderma* sp., večji pri rastlinah z deficitnim namakanjem glede na rastline, ki rastejo ob optimalnem namakanju

2 MATERIALI IN METODE

Lončni poskus je potekal od 28. junija do 3. avgusta 2023, v troločnem rastlinjaku Biotehniške fakulteta Univerze v Ljubljani. Predhodno smo v steklenjaku UL BF vzgojili sadike rozetaste sorte krhkolistne solate 'Joliac', v gojitvenih platojih, napoljenih s šotnim substratom Neuhaus N8. Za vir antagonistične glive smo uporabili pripravek Trifender® Pro. Načini tretiranja rastlin z glivo so bili: namakanje sadik v gojitveni plošči 10 dni pred presajanjem; zalivanje substrata z glivo 2 dni po presajanju in kombinacijo obeh obravnavanj: zalivanje substrata 2 dni po presaditvi tretiranih sadik z glivo; kontrolne rastline niso bile tretirane. Za inokulacijo sadik z glivo pred sajenjem smo gojitvene platoje za 40 sekund potopili v 0,35-% suspenzijo pripravka, kontrolne sadike pa v čisto vodo. Konec junija smo 7,5 L lonce napolnili s substratno mešanico (Preglednica 1). V vsak lonec vmešali mineralna gnojila in sicer 1,8 g KAN/10 kg; 0,6 g Hypercorn/10 kg (0:26:0, TymacAGRO, AT) in s tem obogatili substrat s 50 mg N/kg tal, 15 mg P₂O₅/kg tal, kar bi v primeru gnojenja na njivi odgovarjalo 100 kg N/ha, 30 kg P₂O₅/ha. S kalijevim gnojilom nismo gnojili, ker je pedološka analiza pokazala prekomerno založenost substrata s kalijem.

Preglednica 1. Pedološka analiza substrata za gojenje solate v loncih.

TRZ	pH v CaCl ₂	C _{skupni}	Karbonati	C _{org}	Org. snov	N _{skupni}	C _{org} / N _{skupni}	P ₂ O ₅	K ₂ O
		[%]	[%]	[%]	[%]	[%]		[mg/100g]	[mg/100g]
PI	6.9	1.78	<0,1	1.8	3.1	0.13	13.8	38.6	89.9

Po presaditvi rastlin v lonce, smo rastline zalili z enako količino vode (600 ml/7,5L substrata).

Pred posameznim namakanjem smo s prenosnim merilcem vlage HH2 Moisture Meter (AT Delta-T Device, Cambridge, England) izmerili vsebnost vlage v loncih, tako, da smo sondo potisnili skozi odprtino v sredini lonca in izvedli meritev. Rezultati meritev so prikazani v Sliki 1.

Po dveh dneh po presajanju smo rastline v ustreznih obravnavanjih zalili z 18 ml suspenzije, ki je imela enako koncentracijo pripravka, kot smo jo uporabili pri namakanju sadik. Raziskavo smo zasnovali kot dvofaktorski poskus. Prvi faktor je predstavljala

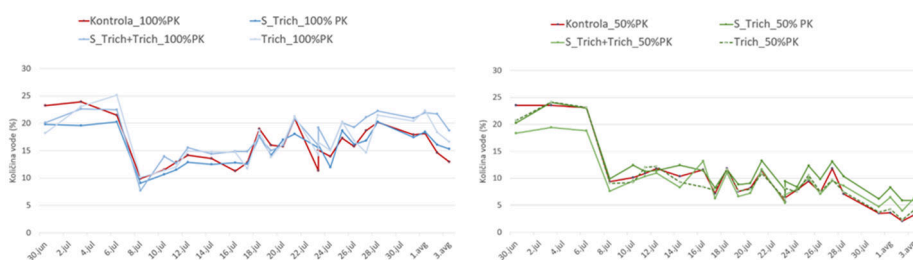
inokulacija z glivo *Trichoderma* sp. (3 načini + kontrola), drugi faktor pa način namakanja: optimalna oskrba z vodo (100 % poljska kapaciteta – PK), deficitna oskrba z vodo (50 % PK). Poskus smo postavili v bločni zasnovi, v 4 ponovitvah (blokih). Znotraj posameznega bloka smo 8 loncev (4 tretiranja z glivo *Trichoderma* sp. × 2 načina namakanja) naključno razporedili. Skupaj smo imeli 32 loncev. Meritve na rastlinah smo izvedli 3. avgusta, ko so bile rozete solate tehnološko zrele. Izmerili smo maso cele rastline, maso tržnega dela in višino kocena. Vzorčili smo rastline za določitev vsebnosti suhe snovi in vsebnosti vitamin C, ki smo ga po predhodni ekstrakciji po metodi Tausz et al. (2003), določili z visokoločljivostno tekočinsko kromatografijo (HPLC). Vitamin C smo iz liofiliziranega vzorca solate ekstrahirali z 2% metafosforno kislino. Ekstrate smo analizirali na HPLC sistemu (Thermo Scientific, Finnigan Spectra System, Waltham, MA, ZDA). Uporabili smo kolono Rezex ROA – organic acid H⁺ (8%) (Phenomenex, Torrance ZDA), segreto na 20 °C. Mobilno fazo je predstavljala 4 mM žveplena kislina, pretok mobilne faze je bil 0,6 ml min⁻¹. Analiza enega vzorca je trajala 30 min. Vsebnost vitamina C smo izračunali s pomočjo internega standarda. Podatke smo statistično obdelali s programom R in grafičnim vmesnikom R commander. Najprej smo v programu naredili model za 2-faktorsko zasnovi in preverili ustreznost modela s sliko ostankov. Sledila je analiza načrtovanih primerjav s kontrasti, da smo lahko primerjali povprečja med tretiranimi rastlinami in kontrolo, za optimalen in deficiten način namakanja. Povprečja so prikazana v preglednicah s ± standardno napako.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

398

3.1 Rezultati meritev vlage v substratu

Iz Slike 1 je razvidno, da smo pri optimalnem namakanju rastlin solate vzdrževali v loncih vlago med 10 vol.% in 20 vol.%, v loncih z deficitnim namakanjem pa med 2,5 vol% in 13 vol%.



Slika 1: Gibanje vlage v substratu pri optimalnem namakanju (levo) in deficitnem namakanju (desno) rastlin solate, glede na tretiranje z glivo *Trichoderma* sp.

Vidimo tudi, da je bil pri optimalnem namakanju rastlin (100% PK) najmanjši odzvem vode v loncih pri obravnavanju S_Trigh+Trigh in Trigh. V loncih, kjer smo rastline oskrbovali z deficitnim namakanjem (50% PK) pa je bilo najmanj odvzete vode prav tako pri obravnavanju S_Trigh+Trigh in obravnavanju S_Trigh. Domnevamo, da so rastline v loncih, kjer smo sadike predhodno namakali s suspenzijo glive *Trichoderma*

sp. in po presajanju substrat zalili s suspenzijo glive *Trichoderma* sp., sprejeto vodo bolje izkoristile pri obeh načinih namakanja, saj se manjši odvzem vode iz lonca tako pri optimalnem kot tudi deifcitnem namakanju ni odrazil v počasnejši rasti rastlin in tudi ne v manjšem končnem pridelku. Domnevamo, da je za bolj učinkovit sprejem in izrabo vode v rastlini odgovoren bolj razvit koreninski sistem rastlin, inokuliranih z glivo *Trichoderma* sp. Povečana tolerance na sušni stres pri rastlinah, inokuliranih z izolati iz rodu *Trichoderma* sp. naj bi bila posledica bolj razvitega koreninskega sistema. Zaradi tega naj bi bili ublaženi negativni fiziološki odzivi rastlin na sušni stres, kot so zaprtje listnih rež, ovirana fotosintetska aktivnost in počasnejša rast rastlin (Contreras-Cornejo et al., 2009; Brotman et al., 2013; Guler et al., 2016). Tudi Raval in sod. (2022) so ugotovili manjši negativni vpliv sušnega streta na fotosintetsko aktivnost in stomatalno prevodnost listnih rež pri paradižniku, inokuliranem z izolati glive *Trichoderma* sp., glede na neinokulirane rastline. V našem poskusu smo najmanjšo vsebnost vlage v substratu oz. največji odvzem vode z rastlinami, pri obeh načinih namakanja, zabeležili v loncih s kontrolnimi rastlinami.

3.2 Rezultati meritev morfoloških lastnosti rastlin solate

Iz preglednice 2 je razvidno, da tretiranje sadik solate z glivo *Trichoderma* sp. ni imelo značilnega vpliva na maso rozet, maso tržnega dela rastlin in na višino kocena.

399

Preglednica 2: Povprečja s standardnimi napakami za maso cele rastline (g), maso tržnega dela (g) in višino kocena (cm) rastlin solate, glede na tretiranje sadik z glivo *Trichoderma* sp. in način namakanja (50 oz. 100% PK)

Obravnavanja	Namakanje (% PK)	Masa cele rastline (g)	Masa tržnega dela (g)	Višina kocena (cm)
Kontrola	50	221±7	182±7	4,3±0,2
	100	242±29	201±25	4,7±0,3
S_Trich	50	202±26	170±25	4,1±0,6
	100	210±4	166±3	4,5±0,9
S_Trich+Trich	50	203±3	163±7	4,1±0,1
	100	190±5	155±9	4,0±0,4
Trich	50	211±7	169±5	4,3±0,6
	100	205±14	162±5	4,1±0,2
ANOVA				
<i>Trichoderma</i>		ns	ns	ns
Namakanje		ns	ns	ns
Trich × Namakanje		ns	ns	ns

Trich... sadike, tretirane z glivo I sp.; Trich – zalivanje substrata 2 dni po presaditvi sadike v lonec; S_Trich+Trich... zalivanje substrata 2 dni po presaditvi sadik, predhodno okuženih z glivo *Trichoderma* sp.; Kontrola – netretirane rastline; ns – ni statistično značilnih razlik

3.3 Rezultati meritev vsebnosti suhe snovi in vitamina C v rastlinah solate

Dvosmerna analiza variance je potrdila statistično značilne razlike med obravnavanji le za vsebnost suhe snovi v koreninah rastlin solate ($p < 0.001$) (Preglednica 3). Rastline solate, ki smo jih oskrbovali z deficitnim namakanjem so imele značilno večjo vsebnost suhe snovi v koreninah glede na rastline, ki smo jih oskrbovali z optimalnim namakanjem. Značilno reakcijo rastlin na sušni stres s pospešenim razvoje korenin so zaznali tudi Kerbiriou in sod (2013). Ugotovili so, da vrsta stresa (vodni deficit ali pomanjkanje hranil), skupaj s prehranskim stanjem rastlin, sproži v rastlini različne morfološke in fiziološke odzive koreninskega sistema, s katerimi se rastlina prilagodi na način, da ohrani nemoteno rast svojega nadzemnega dela. Tretiranje sadik z glivo *Trichoderma* sp. ni imelo značilnega vpliva na vsebnost suhe snovi v rastlinah solate.

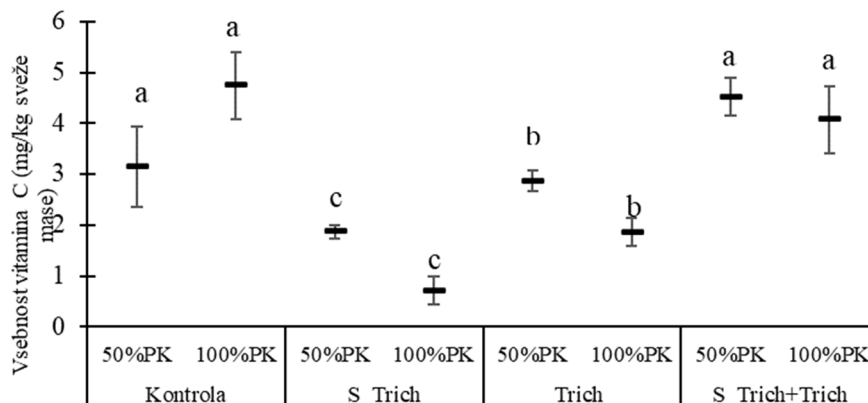
Preglednica 3: Povprečja s standardnimi napakami za delež suhe snovi (ss) v listih in koreninah rastlin solate glede na tretiranje rastlin z glivo *Trichoderma* sp. in način namakanja (50 % PK oz. 100% PK).

Obravnavanja	Namakanje (% PK)	Delež ss v listih (%)	Delež ss v koreninah (%)	
Kontrola	50	14,1±0,7	20,0±0,4	a
	100	13,7±0,8	17,0±0,6	b
S_Trich	50	14,7±1,2	20,4±0,8	a
	100	13,3±0,6	18,4±0,3	b
S_Trich+Trich	50	13,7±0,9	19,7±1,2	a
	100	13,3±0,6	17,3±0,3	b
Trich	50	13,9±0,4	20,9±1,1	a
	100	13,9±0,4	16,7±0,6	b
ANOVA				
Trichoderma		ns	ns	
Namakanje		ns	***	
Trich × Namakanje		ns	ns	

S_Trich... sadike, tretirane z glivo I sp.; Trich – zalivanje substrata 5 dni po presaditvi sadike v lonec; S_Trich+Trich... zalivanje substrata 2 dni po presaditvi sadik, predhodno okuženih z glivo *Trichoderma* sp.; Kontrola – netretirane rastline; ns – ni statistično značilnih razlik

Iz Slike 2 je razvidna značilno večja vsebnost vitamin C v kontrolnih rastlinah in rastlinah, kjer smo z glivo predhodno tretirane sadike zalivali s suspenzijo še po presajanju (S_Trich+Trich), glede na rastline, kjer smo ali samo zalili po presaditvi ali pa so bile sadike predhodno tretirane z glivo *Trichoderma* sp.. Sintezo vitamin C pospešujejo različne rastne razmere, kot so visoka ali nizka temperature, močna jakost osvetlitve, kakor tudi sušni stress (Smirnoff, 2011; Sarker in Oba, 2018). Pri vseh rastlinah, inokuliranih z izolati glive *Trichoderma* sp. smo pri deficitnem namakanju zaznali povečano vsebnost vitamina C, vendar brez statistično značilnih razlik. Med kakovostne parametre solate uvrščamo tudi pojav fizioloških motenj, kot so nekroze listnega roba na solati (TB - 'Tip Burn'). Te so običajno posledica stresnih rastnih razmer, ki jih povzročata visoka temperatura zraka ali visoka relativna vlažnost zraka, kar povzroči motnje v transpiracijskem toku in posledično slabše premeščanje

kalcija po rastlini. V našem poskusu smo v vseh obravnavanjih ugotovili pri 75% rastlin pojav TB, razen pri rastlinah iz obravnavanj Trich in S_Trigh+Trigh (100%PK), kjer je bila prisotnost TB 25% oz 50%. Tudi Pandey in sod., (2016) so z namakanjem sadik riža in koruze v suspenzijo *T. harzianum* Th-56 zmanjšali pojav zvijanja listov in nekroz na listnem robu.



401

Slika 2. Povprečja s standardnimi napakami za vsebnost vitamina C v rastlinah solate, glede na tretiranje rastlin z glivo *Trichoderma* sp. in način namakanja (50 % PK oz. 100% PK)

4 SKLEPI

Ugotavljamo, da uporaba antagonistične glive iz rodu *Trichoderma* pri deficitnem namakanju rastlin solate ni imela pomembnega vpliva na ublažitev posledic vzpostavljenega vodnega stresa, saj v masi rastlin ni bilo razlik med inokuliranimi in kontrolnimi rastlinami. Opazili pa smo manj odvzete vode s substrata pri obeh načini namakanja pri obravnavanju S_Trigh+Trigh. V rastlinah iz omenjenega obravnavanja smo ugotovili tudi večjo vsebnost vitamina C glede na ostali dve obravnavanji (S_Trigh in Trigh). Čeprav inokulacija rastlin solate z izolatom glive *Trichoderma* sp. ni imela izrazitega vpliva na pridelek, je njen pozitiven učinek na kakovostne lastnosti zanimivo izhodišče za nadaljnje raziskave.

5 ZAHVALA

Raziskava je del raziskovalnega programa Javne službe za vrtnarstvo, ki jo financira Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano in Programske skupine Hortikultura (P4-0013-0481), ki jo financira Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost RS. Izvedba raziskave je potekala v objektih Infrastrukturnega centra RRC-AG (IO-0022-0481-001).

6 LITERATURA

Brotman Y., Landau U., Cuadros-Inostroza Á., Takayuki T., Fernie A. R., Che, I. 2013. *Trichoderma*-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of

- the antioxidant machinery for saline stress tolerance. PLoS Pathog. 9:e1003221. doi: 10.1371/journal.ppat.1003221
- Gule, N. S., Pehlivan N., Karaoglu S. A., Guzel S., Bozdeveci A. 2016. *Trichoderma atroviride* ID20G inoculation ameliorates drought stress-induced damages by improving antioxidant defence in maize seedlings. Acta Physiologiae Plantarum 38:132
- Contreras-Cornejo H.A., Macías-Rodríguez L., Cortés-Penagos C., López-Bucio J. 2009. *Trichoderma virens*, a Plant Beneficial Fungus, Enhances Biomass Production and Promotes Lateral Root Growth through an Auxin-Dependent Mechanism in Arabidopsis, Plant Physiology, Volume 149, Issue 3, March 2009, Pages 1579–1592, <https://doi.org/10.1104/pp.108.130369>
- FAO 2009. Declaration of the world summit on food security, WSFS 2009/2, 16 Nov 2009
- Kerbiriou P. J., Stomph T. J., Van Der Putten P. E. L., Lammerts Van Bueren E. T., Struik P. C. 2013. Shoot growth, root growth and resource capture under limiting water and N supply for two cultivars of lettuce (*Lactuca sativa* L.). Plant and Soil, 371, 281-297
- Pandey V, Ansari MW, Tula S, Yadav, Sahoo RK, Shukla N, Bains G. 2016 Dose-dependent response of *Trichoderma harzianum* in improving drought tolerance in rice genotypes. Planta. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2482->
- Rawal R., Scheerens J. C., Fenstemaker S. M., Francis D. M., Miller S. A., Benitez M. S. 2022. Novel *Trichoderma* isolates alleviate water deficit stress in susceptible tomato genotypes. Frontiers in plant science, 13, 869090.
- Saghafi D, Ghorbanpour M, Asgari Lajayer B. 2018 Efficiency of Rhizobium strains as plant growth promoting rhizobacteria on morpho-physiological properties of Brassica napus L. under salinity stress. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 18(1):251–263
- Sarker U., Oba S. 2018. Response of nutrients, minerals, antioxidant leaf pigments, vitamins, polyphenol, flavonoid and antioxidant activity in selected vegetable amaranth under four soil water content. Food chemistry, 252, 72-83
- Smirnoff N. 2011. Vitamin C: the metabolism and functions of ascorbic acid in plants. In Advances in botanical research. 59: 107-177. Academic Press.
- Tausz, M., Wonisch, A., Grill, D., Morales, D., Jiménez, M. S. 2003. Measuring antioxidants in tree species in the natural environment: from sampling to data evaluation. Journal of Experimental Botany, 54(387), 1505-1510.