



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Департман за ратарство и повртарство



Нина Кнежевић, дипл. инж. пољопривреде

АНТИФУГАЛНИ ПОТЕНЦИЈАЛ ИЗОЛАТА
БАКТЕРИЈА ИЗ РОДА *BACILLUS*

МАСТЕР РАД

Нови Сад, 2026.



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Департман за ратарство и повртарство



Кандидат

дипл. инж. Нина Кнежевић

Ментор

проф. др Симонида Ђурић

АНТИФУГАЛНИ ПОТЕНЦИЈАЛ ИЗОЛАТА
БАКТЕРИЈА ИЗ РОДА *BACILLUS*

МАСТЕР РАД

Нови Сад, 2026.

КОМИСИЈА ЗА ОДБРАНУ И ОЦЕНУ МАСТЕР РАДА:

др Симонида Ђурић, редовни професор (избор у звање: 30.09.2021.;

ужа научна област: Микробиологија) – ментор

др Драгана Стаменов, ванредни професор (избор у звање: 26.10.2023.;

ужа научна област: Микробиологија) - председник Комисије

др Марта Лоц, доцент (избор у звање: 24.10.2024.;

ужа научна област: Фитопатологија) - члан Комисије

Садржај

1. УВОД.....	1
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ.....	3
2.1 Микробиолошки пестициди.....	4
2.1.1 Биолошки фунгициди – биофунгициди	4
2.2 <i>Bacillus</i> spp.	6
2.2.1 <i>Bacillus</i> spp. као биофунгицид.....	7
2.3 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	8
2.4 <i>Verticillium</i> spp.	10
3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА	11
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА	12
4.1 Сакупљање узорака земљишта	12
4.2 Изолација бактерија рода <i>Bacillus</i>	13
4.3 Умножавање изолованих <i>Bacillus</i> sp. у течной подлози.....	13
4.4 Умножавање фитопатогених гљива <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> и <i>Verticillium dahliae</i>	14
4.5 Испитивање антимикробне активности (метод двојне културе)	17
5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА	19
5.1 Ефекти <i>Bacillus</i> spp. на раст гљиве <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	19
5.2 Ефекти <i>Bacillus</i> spp. на раст гљиве <i>Verticillium dahliae</i>	23
5.3 Поређење резултата добијених за <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> и <i>Verticillium dahliae</i>	27
5.3.1 Инхибиција раста <i>S. Sclerotiorum</i>	27
5.3.2 Инхибиција раста <i>Verticillium dahliae</i>	29
5.3.3 Компаративна анализа утицаја изолата на раст фитопатогених гљива <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> и <i>Verticillium dahliae</i>	31
6. ЗАКЉУЧАК.....	33
7. ЛИТЕРАТУРА.....	35

Антифугални потенцијал изолата бактерија из рода *Bacillus*

Нина Кнежевић

РЕЗИМЕ

Током 2023. године рађена су испитивања антифугалног потенцијала различитих изолата бактерија из рода *Bacillus* у лабораторији за фитопатологију на Институту од националног значаја, Институту за ратарство и повртарство у Новом Саду на одељењу за сунцокрет, као и у лабораторији за микробиологију на Пољопривредном факултету у Новом Саду. Циљ рада је да се утврди антифугално дејство одређених бактерија из рода *Bacillus* на проузроковачима болести сунцокрета, *Sclerotinia sclerotiorum* и *Verticillium dahliae*. Резултати спроведених у лабораторијским условима указали су на то да одређени сојеви рода *Bacillus* испољавају антифугално дејство на проузроковача беле трулежи сунцокрета и проузроковача вертицилиозног увенућа биљака. Одређени сојеви су остварили антифунгално дејство код оба проузроковача болести, док има и оних који су деловали само на одређеног проузроковача.

Кључне речи: антифунгално дејство, *Bacillus spp.*, болести сунцокрета.

Antifungal potential of bacterial isolates from the genus *Bacillus*

Нина Кнежевић

SUMMARY

During 2023, studies on the antifungal potential of various bacterial isolates belonging to the genus *Bacillus* were conducted in the Phytopathology Laboratory at the Institute of Field and Vegetable Crops in Novi Sad, an institute of national importance, within the Department for Sunflower, as well as in the Microbiology Laboratory at the Faculty of Agriculture in Novi Sad. The aim of this research was to determine the antifungal activity of certain *Bacillus* species against the causative agents of sunflower diseases, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Verticillium dahliae*. The obtained results showed that certain strains of

Bacillus spp. exhibit antifungal effects against the pathogen causing white mold of sunflower and the casual agent of verticillium wilt. Some strains showed antifungal activity against both pathogens, while others were effective only against a specific pathogen.

Keywords: antifungal activity, *Bacillus* spp., sunflower diseases.

1.УВОД

Значајни изазови који прате пољопривредну производњу као што су појава резистентних популација проузроковача болести и штеточина, ризици које са собом носи прекомерна употреба пестицида и штетност по здравље људи, животиња и животну средину у последње време подстиче интензивирање истраживања у области развоја и примене биопестицида. Биопестициди се користе као ефикасна алтернатива у решавању проблема као што су отпорност патогена на хемијске пестициде, загађење земљишта и воде, као и смањење биоразноликости (Agrios, 2005; Lucas, 2020). Биопестициди су препарати који се користе за заштиту гајених врста биљака, еколошки су веома безбедни, брзо се разграђују и показују висок степен селективности и ефикасности у деловању (Јафари и сар., 2020). Коришћењем биопестицида могу се ефикасно контролисати болести биљака на еколошки прихватљив начин, што доприноси одрживом развоју пољопривреде. Последњих неколико година се истиче нарочито потреба тржишта за развојем метода сузбијања које не захтевају примену хемијских препарата. Због све строжих здравствено-безбедносних захтева као и због ограничења примене синтетичких пестицида алтернативни начин борбе против различитих патогена управо се наводи примена биолошких агенаса, а посебно могућност употребе бактерија из рода *Bacillus*.

Управо су позитивни утицаји микроорганизама на биљке и својства земљишта довели до стварања идеје о примени одабраних микроорганизама који су способни да модификују и поправе раст и развој биљака. Тако су настали микробиолошки препарати, који као активну компоненту садрже сојеве високе ефикасности једне или више врста микроорганизама. Важно је истаћи да је микробиолошки препарат производ који је у потпуности еколошки прихватљив, без штетних утицаја на животну средину и њене чланове. Временом су се развиле различите формулације које путем неколико механизма деловања остварују жељени ефекат (Јафари и сар., 2020).

Антифугално дејство бактерија се односи на способност одређених бактерија да инхибирају раст и развој фитопатогених гљива које узрокују болести код биљака (Dean et al., 2012). Бактерије из рода *Bacillus* и *Pseudomonas* производе различите супстанце, укључујући антибиотике, ензиме и друге метаболите који могу деловати

на различите проузроковаче болести. Ова интеракција између бактерија и гљива може се десити на више начина. Разликују се следећи механизми деловања биофунгицида: директна конкуренција, антибиоза, предаторство или паразитизам, индукована отпорност домаћина (Вуковић и Шуњка, 2021; Swain и Ray, 2009). На пример, неке бактерије могу конкурисати за хранљиве материје које су потребне гљивама, док друге могу продуковати супстанце које директно токсично делују на фитопатогене гљиве. Овај природни механизам може бити веома користан у пољопривреди, јер помаже у смањењу употребе хемијских фунгицида и смањењу ризика од развоја отпорности код патогена. Поред тога, употреба биопестицида, коришћење бактерија са антифугалним дејством може побољшати квалитет земљишта и допринети одрживој пољопривреди. Овакав приступ не само да помаже у контроли болести, него може и да побољша принос и квалитет усева (Heydari и Pessarakli, 2010; Vessey, 2003).

Први биофунгицидни препарат на бази *Bacillus* врста произведен је 1994. године, у виду формулације за третирање семена различитих биљака. Бактерије овог рода испољавају различите механизме којима учествују у процесу сузбијања биљних патогена. Једна група механизма директно делује на сузбијање патогена, а друга група делује кроз индуковање системске резистентности биљке. Присуство *Bacillus* spp. у ризосфери активира системску резистентност биљака на различите патогене микроорганизме. Бактерије овог рода активирају системску резистентност код биљака путем сигналних путева које регулишу јасмонат и етилен или директно путем салицилне киселине. Утврђена је и антифугална активност бактерија овог рода, посебно према фитопатогеним гљивама као што су: *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotricum* sp., *Verticillium* sp. Препарати на бази *Bacillus* врста, које су спорогене бактерије, показују највећу ефикасност у производним условима. Добро је преживљавање бактерија током целе вегетације (Јафари и сар., 2020). Идеја да се бактерије користе у производњи различитих микробиолошких препарата произилази из тога да се препарати на бази бактерија из рода *Bacillus* могу користити у пољопривреди као адекватна замена или допуна хемијским препаратима.

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

Биопестициди су препарати који садрже живе ћелије микроорганизама или продукте биљака, а користе се за сузбијање биљних патогена и штеточина. Примењују се уношењем микроорганизама у земљиште непосредно пре сетве као и третирањем семена, корена или надземних делова биљке (Јарак и Чоло, 2007).

Основна подела биопестицида (Табела 1.) је на: микробиолошке, биохемијске и макробиолошке (Вуковић и Шуња, 2021). Светски приручник о биопестицидима најчешће укључује у биопестициде микробиолошке и макробиолошке агенсе, затим природне пестициде и деривате неких организама.

Предности биопестицида су бројне: природно порекло; мања токсичност од конвенционалних средстава за заштиту биља; утицај само на циљану групу штеточина за разлику од конвенционалних, који могу да утичу и на корисне инсекте, птице и сисаре; краћих су каренци и радних каренци; могу се примењивати у разним типовима биљне производње (Вуковић и Шуња, 2021).

Табела 1. Класификација биопестицида (Вуковић и Шуња, 2021)

Микробиолошки пестициди	Биохемијски пестициди	Макробиолошки пестициди
бактерије	компоненте из:	инсекти
гљиве	биљака	гриње
вируси	животиња	нематодe
протозое	минерала	
	инсеката	

Највише се примењују биофунгициди и биоинсектициди. Свега 4-5% глобалног тржишта пестицида чине биопестициди, али се процењује да би овај удео могао да се повећа на око 20% у наредном периоду (Isman, 2015). Осим предности, биопестициди поседују и недостатке као што су: ужи спектар деловања, делују превентивно (биофунгициди), теже се уводе у примену, спорије делују од хемијских средстава, краћи им је рок трајања, поједини су инкомпатибилни са другим

једињењима, вишекратна примена и снижење прагова штетности (Ongena и Jacques, 2008).

2.1 Микробиолошки пестициди

Микробиолошки пестициди садрже различите микроорганизме као што су бактерије, гљиве, вируси и протозое, као активну компоненту. Ови препарати се користе против различитих проузроковача биљних болести које проузрокују фитопатогене гљиве и фитопатогене бактерије, а такође могу имати и инсектицидно деловање остварујући заштиту од штетних инсеката. Специфични су према одређеним проузроковачима болести биљака и према инсектима. Ови корисни организми индукују производњу витамина, ензима и биљних хормона који могу деловати на имуни систем биљака, повећавајући њихову отпорност или представљајући конкуренцију штетним организмима (Вуковић и Шуња, 2021). Њихова ефикасност је мања у односу на конвенционалне пестициде, али се веома брзо разлажу и не загађују околину. Биофунгициди и биоинсектициди су пронашли примену у пољопривреди, нарочито у органској производњи. Микробиолошки пестициди имају широку примену и чине око 30% укупне производње и продаје биопестицида (Raaijmakers и Mazzola, 2016). Специфичан механизам деловања биопестицида на бази микроорганизама заснован је на борби за простор и храну, директном антагонизму у односу на раст циљаног организма и имунизацији биљке домаћина (Whipps, 2001). Микроорганизми у препаратима морају имати изражену моћ конкуренције са аутохтоном микробном популацијом, висок степен способности преживљавања и адаптације на новонастале услове у којима треба да остваре своју најбољу ефикасност (Вуковић и Шуња, 2021).

Од микробиолошких препарата највише се користе биоинсектициди и биофунгициди. Биоинсектициди су препарати који се користе против штетних инсеката, а настају од бактерија, гљива, вируса или протозоа. Микробиолошке препарате који се користе у борби против фитопатогених гљива називамо биофунгицидима (Граховац и сар., 2009).

2.1.1 Биолошки фунгициди – биофунгициди

Биофунгициди се производе од гљива, бактерија, квасаца, који остварују деловање и контролишу развој биљних патогена. Могу да буду и на бази етеричних уља или

биљних екстраката. Што се тиче њихове формулације, могу бити течна или чврста, у виду прашкастих и грануластих форми, у којима се налазе дехидриране споре или мицелије. Примена биофунгицида је превентивна, односи се на коришћење различитих средстава пре настанка инфекција и појаве видљивих обољења. Овакав тип примене се користи ради очувања здравља биљака, повећања приноса, спречавања настанка обољења и смањења потребе за каснијим интервенцијама. Превентивна примена се обавља тако што се препарат наноси на семе пре сетве, фолијарно пре појаве патогена и третирањем корена приликом расађивања на стално место како би се спречио развој фитопатогених гљива (Lahlali et al., 2026).

Разликују се следећи механизми деловања биофунгицида (Граховац и сар., 2009):

- директна конкуренција;
- антибиоза;
- предаторство или паразитизам;
- индукована (изазвана) отпорност биљке домаћина.

Директна конкуренција микроорганизама који се примењују против фитопатогених гљива ослања се на њихову превентивну употребу, која се спроводи пре него што дође до напада патогена. Микроорганизми који делују као конкуренти стварају заштитну баријеру на корену, семену или стаблу биљке, чиме онемогућавају напад патогена. Организам који се примењује у биолошкој контроли мора бити присутан у великом броју ради конкуренције са патогеном.

Што се тиче антибиозе, биолошки агенс производи токсин који успорава раст патогена. Антибиоза може бити индиректна и директна. Индиректна антибиоза је деловање корисних микроорганизама на патогене преко производа метаболизма, најчешће су то антибиотици, киселине и токсини који уништавају фитопатогене гљиве (Јарак и Чоло, 2007). Директна антибиоза представља предаторство и паразитизам. То подразумева да организам који се примењује за биолошку контролу напада патогени организам и њиме се храни или паразитирају на њима. Индукована отпорност се јавља када се у нападнутој биљци активира одбрамбени систем и то не имуни, већ унутрашња борба за успоравање инфекције (Граховац и сар., 2009). Биљка домаћин се намерно инокулише ради изазивања овог типа отпорности. Биолошки фунгицид је окидач за појаву овог типа отпорности (Граховац и сар., 2009).

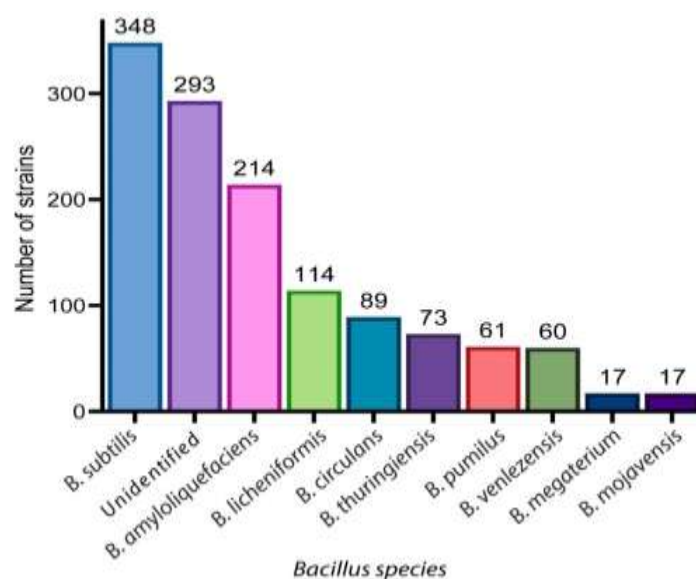
Биолошка активност биофунгицида може се темељити на производњи различитих метаболита који имају антифугално и антибактеријско деловање. На пример, *Bacillus subtilis* се користи за припрему бројих препарата у свету. Продукује антибиотике (bacilysin и fengymycin, dificidin и oxydificidin, bacitracin, bacilin и balilomycin b и iturin) који делују на многе врсте аеробних и анаеробних бактерија (Граховац и сар., 2009).

2.2 *Bacillus* spp.

Bacillus (штап) спадају у групу грам-позитивних, штапићастих бактерија. Термин се такође користи да опише облик бактерија. Бактерије спадају у прокариотску групу микроорганизама. Штапићасте бактерије су у просеку дужине 1,5 μm , а ширине 0,2-1,5 μm . Род *Bacillus* спада у најзаступљеније родове бактерија (Слика 1). Бактерија из рода *Bacillus* учествују у циклусима кружења угљеника, сумпора и фосфора (Ђорђевић и Станковић, 2014).

Систематика *Bacillus* spp. (Ђорђевић и Станковић, 2014)

- Домен: *Bacteria*
- Тип: *Firmicutes*
- Класа: *Bacilli*
- Ред: *Bacillales*
- Породица: *Bacillaceae*
- Род: *Bacillus*

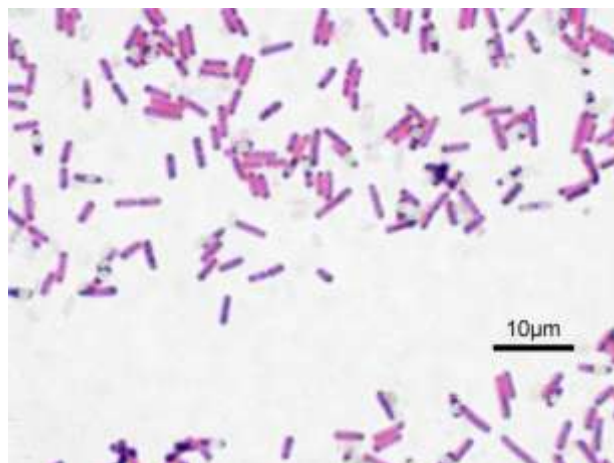


Слика 1. Број сојева *Bacillus* пријављен за сваку врсту (Tran et al., 2022).

Претрага литературе (Слика 1.) открила је да је пријављено 1389 сојева *Bacillus* за антимикробну активност, састављених од 27 различитих врста, такође значајан број *Bacillus* врста није идентификован (Tran et al., 2022).

2.2.1 *Bacillus* spp. као биофунгицид

Bacillus се често користи као биофунгицид због своје способности да производи различите метаболите који имају антифугална својства (Milus и Rothrock, 1997). Ови микроорганизми могу инхибирати раст патогена, побољшати здравље биљака и доприносе биолошкој контроли болести у пољопривреди (Chen et al., 2009). Њихова примена може смањити потребу за хемијским фунгицидима и унапредити одрживу пољопривреду. *Bacillus* врсте, попут *Bacillus subtilis* (Слика 2), често се користе у биолошкој контроли болести због своје способности да се брзо размножавају и стварају споре. Ове споре могу преживети у тешким условима и ослободити биоактивне супстанце које су ефикасне против различитих патогена. Такође неки сојеви *Bacillus* могу стимулирати раст биљака и побољшати њихову отпорност на стрес, што додатно доприноси њиховој улози као биофунгицида (Cawoy et al, 2015, Devi et al., 2019). Бактерије овог рода испољавају различите механизме деловања којима учествују у процесу сузбијања биљних патогена. Једна група механизма директно делује на сузбијање патогена, друга група делује кроз индуковање системске резистентности биљке (Arnaouteli et al., 2021). Први биофунгицидни препарат на бази бацилуса произведен је 1994. године, у виду формулације за третирање семена различитих биљака (Јафари и сар., 2020). На тржишту Републике Србије регистровани су биофунгициди: Ekstrasol F (*Bacillus subtilis* сој Č13), Bacillomix aurum B (*Bacillus subtilis* сој ST1/III), Erwix (*Bacillus subtilis* сој Z3) (Вуковић и Шуња, 2021).



Слика 2. *Bacillus subtilis* (<https://en.wikipedia.org/wiki/Bacillus>)

2.3 *Sclerotinia sclerotiorum*

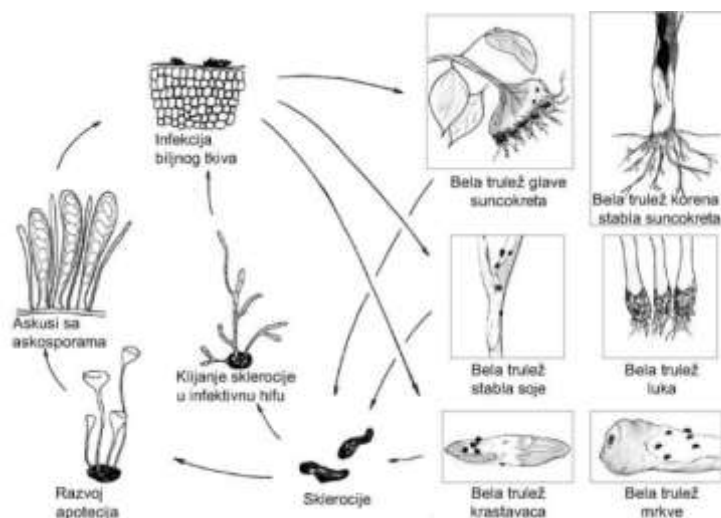
Проузроковач беле трулежи сунцокрета и других биљака припада роду *Sclerotinia*, а породици *Sclerotiniaceae*. Бела трулеж причињава значајне штете у влажнијим климатским регионима, а проузрокује симптоме током свих стадијума развића домаћина. Веома често *S. sclerotiorum* заражава корен гајених биљака проузрокујући трулеж корена и приземног дела стабла, што доводи до већења и пропадања биљака. Уколико су нападнути надземни органи домаћина, јавља се бела трулеж стабла, цветова или цвасти и плодова (Баги и Боднар, 2012). Један од првих уочених симптома јесте појава беле, памучасте мицелијалне превлаке, која се обично развија након формирања светлосмеђих до тамносмеђих лезија на стаблу, у зони додира са земљиштем (Букић и Јовановић, 2018). Мицелија затим прекрива некротично подручје, а када инфекција захвати ксилем, симптоми се шире ка вишим деловима биљке. То обухвата хлорозу (жутило лишћа), венуће, опадање лишћа, и на крају — угинуће целе биљке (Kozub и Huang, 1989).



Слика 3. Колонија гљиве са формираним склероцијама на хранљивој подлози
(<https://lhb.pw/esbvm>)

Животни циклус *Sclerotinia sclerotiorum* (Стојшин и сар., 2008):

- Талус: густа бела вишећелијска мицелија. Анастомозирањем хифа настају склероције, које су у почетку беле и мекане конзистенције, а сазревањем постају тврде и тамне боје.
- Бесполна репродукција: на старијим колонијама може доћи до образовања микроконидија, чија улога у биологији ове гљиве није у потпуности разјашњена.
- Полна репродукција: паразит формира светлосмеђе, пехарасте или тањирасте апотеције на склероцијама. На њима се образују аскуси — цилиндрични, безбојни и са задебљањем на врху. У сваком аскусу налази се по осам једноћелијских, елипсоидних аскоспора.
- Одржавање: паразит се одржава у зараженим биљним остацима, земљишту и семену у облику склероција.



Слика 4. Животни циклус *Sclerotinia sclerotiorum* (<https://lhb.pw/esbvm>).

2.4 *Verticillium* spp.

Врсте рода *Verticillium* припадају реду *Hyphomycetales*, фамилији *Moniliaceae*, и познате су као патогени из земљишта. Размножавају се искључиво бесполним путем, јер немају полну фазу у развоју, па се зато називају и несавршене гљиве (*Fungi imperfecti*) (Lucas, 2020). *Verticillium* spp. изазивају увенуће, које се јавља током вегетације, при чему биљке задржавају зелену боју (Keykhasaber et al., 2017). Због тога се овај тип симптома назива и „зелено увенуће“. Почетни симптоми се уочавају на доњем лишћу заражених биљака у виду благог увенућа. Ткиво лишћа захваћено увенућем омекша и обезбоји се, почев од ивице лиске ка њеном средишњем делу, постепено губи тургор, суши се и на крају опада. Осим лишћа, инфекцијом могу бити захваћене и поједине гране, па чак и целе биљке. На уздужном пресеку корена и приземног дела стабла може се уочити некроза ксилема — оболело ткиво је смеђе боје и јасно се разликује од околног здравог ткива (Fradin и Thomma, 2006).



Слика 5. Вертицилиозно гранање (<https://lhb.pw/esbvm>)

Животни циклус *Verticillium* spp. (Стојшин и сар., 2008):

- Талус: *V. albo-atrum* формира вишећелијску, провидну мицелију која временом постаје сиво-пепељаста, а затим црна. *V. dahliae* формира белу, септирану мицелију и црне микросклероције.
- Репродукција: гљива је добила назив по томе што формира споре (конидије) на пршљенасто и кружно (*verticillus*) распоређеним фијалидама на конидиофори, при чему се на свакој фијалиди налази по једна конидија. Конидије су углавном једноћелијске, елиптичне и провидне.
- Одржавање: *V. albo-atrum* се одржава трајном мицелијом у зараженим биљним остацима и у земљишту, док се *V. dahliae* одржава микросклероцијама у биљним остацима и земљишту.

3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА

Задатак овог рада био је да се испитају ефекти 20 различитих изолата бактерија из рода *Bacillus* на проузроковаче болести сунцокрета, *Sclerotinia sclerotiorum* и *Verticillium dahlia*, *in vitro*.

Циљ рада је да се утврди антифунгално дејство 20 различитих изолата бактерија из рода *Bacillus* на проузроковаче болести сунцокрета, *Sclerotinia sclerotiorum* и *Verticillium dahlia*, како би се утврдили најпотентнији сојеви који могу бити употребљени за формулисање биопестицида за употребу у заштити сунцокрета од доминантних проузроковача обољења.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

Истраживања су спроведена у неколико фаза у току 2023. године на Пољопривредном факултету, у Новом Саду, Департману за ратарство и повртарство, лабораторија за микробиологију. Такође и на Институту за ратарство и повртарство Нови Сад, Институт од националног значаја за Републику Србију, лабораторија за фитопатологију сунцокрета.

4.1 Сакупљање узорака земљишта

Истраживање антифунгалног потенцијала бактерија из рода *Bacillus* спроведено је на изолатима добијеним из ризосфере пољопривредних култура са различитих локалитета: Ртањ, Сува Планина и Сента. Гљиве су изоловане из узорака прикупљених са површина сунцокрета (N: 5019914 E:408138).

Узорци земљишта за изолацију бактерија рода *Bacillus* су узети на три локалитета:

1. Ртањ – 43° 48' 658" северне географске ширине 21° 53' 252" источне географске дужине, на 718 метара надморске висине
2. Сува Планина – 43° 16' 211" северне географске ширине 22° 11' 552" источне географске дужине на 500 метара надморске висине
3. Сента – 45° 53' 45" северне географске ширине и 20° 05' 17" источне географске дужине на 78 метара надморске висине.

Узорци земљишта су узети асептичном техником, ашовом. Узет је узорак са три места на сваком локалитету, са дубине од 0 до 30 cm. У полиетиленске врећице је стављено око 0,5 kg просечног узорка, затим у ручни фрижидер у ком су пренете до лабораторије за микробиологију Пољопривредног факултета у Новом Саду (Јарак и Ђурић, 2006).

4.2 Изолација бактерија рода *Bacillus*

За изолацију бактерија рода *Bacillus* употребљена је хранљива подлога Луриа-агар (LA). Расхлађена стерилисана подлога је преливана преко суспензија узорака земљишта у Петри кутијама, које су потом стављане у термостат на температуру од 28°C у периоду од 48 сати.

Одабир изолата *Bacillus* sp. вршен је из Петри кутија са LA. Морфолошка карактеризација и идентификација изолата изведена је коришћењем светлосног микроскопа (BA210, Motic, Хонг Конг, Кина), док је таксономска припадност утврђена према референтним кључевима за идентификацију бактерија (Holt, 1994). Након одређивања морфолошких карактеристика колоније и ћелије, одабрани изолати су пресејани на косе подлоге у епруветама. Пресејавање је вршено у стерилној комори – ламинатору, у коме је претходно помоћу UV зрака стерилисан ваздух, а радни сто је пребрисан 70% алкохолом. За пресејавање је употребљена еза која је и пре и после преношења микроорганизама фламбирана коришћењем пламеника. На искошену LA подлогу одабрани бактеријски сојеви су пресејавани стерилном езом у облику цик – цак линија. Потом су епрувете затворене стерилним металним запушачима и стављене у термостат на инкубацију. Инкубација је трајала 48 h на температури од 28°C (Јарак и Ђурић, 2006).

4.3 Умножавање изолованих *Bacillus* sp. у течной подлози

Пресејавање изолованих сојева *Bacillus* sp. са LA у течну МРВ (*Meso-Peptide Broth*) подлогу је вршено у стерилној комори – ламинатору, помоћу стерилне езе. Потом су отвори ерленмајер боца и чепови такође стерилисани на пламену. По затварању, ерленмајер боце су стављене у шејкер инкубатор који је подешен на температуру од 28°C и 150 обртаја/мин. Након 24 сати су ерленмајер боце извађене из шејкер инкубатора (слика 6) (Јарак и Ђурић, 2006).



Слика 6. Изолати *Bacillus* sp. у течној култури (фото оригинал)

4.4 Умножавање фитопатогених гљива *Sclerotinia sclerotiorum* и *Verticillium dahliae*

За испитивање антимикуробне активности изолата рода *Bacillus* коришћене су фитопатогене гљиве *Verticillium dahliae* и *Sclerotinia sclerotiorum*, као представници економски значајних проузроковача болести биљака. Гљиве су из трајне колекције лабораторије за микробиологију, Пољопривредног факултета, у Новом Саду.

У лабораторији, сви поступци умножавања гљива обављани су у стерилној комори, уз примену стандардних микробиолошких техника (слике 7 и 8).



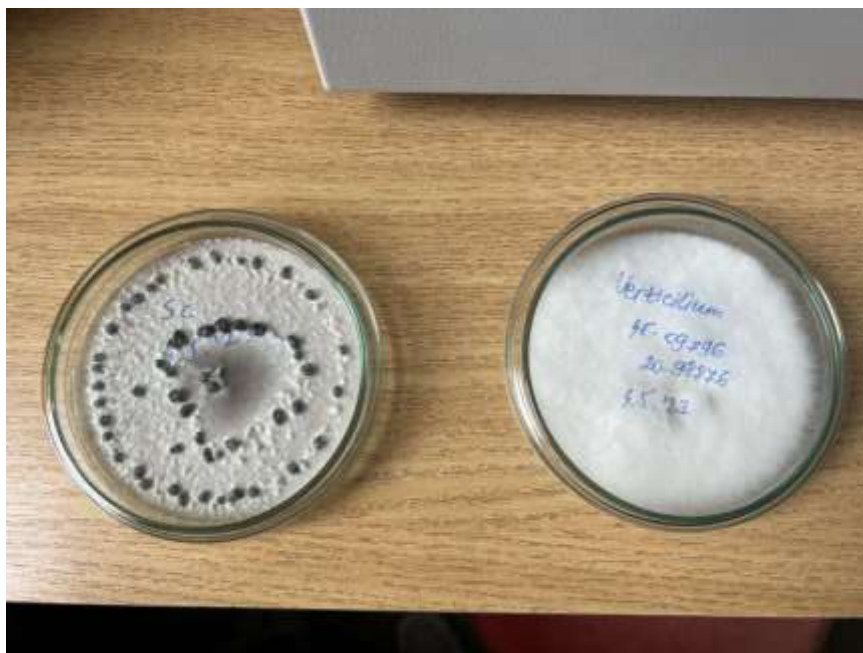
Слика 7. Стерилна комора (фото оригинал)



Слика 8. Филтрација склероција ради припреме за умножавање гљиве (фото оригинал)

За умножавање фитопатогених гљива коришћена је ПДА (Potato dextrose agar) подлога. Петри кутије са инокулисаним узорцима (фрагментом мицелија) остављене су у термостатској комори на 24°C, без присуства светлости, током периода довољног за развој мицелије (7-10 дана). Након формирања колонија, извршено је пресејавање добијене мицелије на нове подлоге ради добијања свежих култура (слика 9).

На тај начин су добијене гљиве *S. sclerotiorum* и *V. dahliae*, које су коришћене као референтни патогени у даљем испитивању антифунгалне активности бактерија из рода *Bacillus*.



Слика 9. *Sclerotinia sclerotiorum* (лево) и *Verticillium dahliae* (десно) у Петри кутији
(фото оригинал)

4.5 Испитивање антимикробне активности (метод двојне културе)

Фитопатогене гљиве *S. sclerotiorum* и *V. dahliae* узгајане су на хранљивој подлози PDA у Петри кутијама и овако засејана подлога инкубирана је на температури од 24 до 25°C током 7–10 дана, до формирања развијених колонија. За испитивање антифунгалне активности коришћено је 20 изолата бактерија рода *Bacillus*. Концентрација бактеријског изолата припремљена је одређивањем оптичке густине на OD600 nm и износила је 1×10^8 CFU/ml.

У циљу утврђивања антимикробног дејства бактеријских изолата према фитопатогеним гљивама, примењен је метод двојне културе на ПДА подлози, у три понављања. Из ивице активно растуће колоније гљиве исечен је фрагмент (пречника 5 mm) и постављен у центар друге Петри кутије (пречник 90 mm) са разливеном и охлађеном ПДА подлогом. Затим је суспензија бактеријског изолата старости 24 h, нанета микропипетом на четири супротне тачке уз ивицу ове Петри кутије. Негативну контролу чиниле су Петри кутије засејане само фитопатогеном гљивом без присуства бактеријских изолата. Контролна варијанта служила је за утврђивање природне динамике раста, односно као основ за поређење степена инхибиције у

варијантама са бактеријама. Укључивање контролних варијанти омогућава упоредивост добијених резултата и разлика у расту фитопатогених гљива.

Петри кутије са засејаним културама фитопатогених гљива и одабраним изолатима инкубиране су у термостату на температури од $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, што представља оптимални услов за раст већине фитопатогених гљива, али и бактерија рода *Bacillus*.

У циљу оцене ефеката корисних бактерија на развој фитопатогених гљива, мерење полупречника колонија гљива и зона инхибиције (зона између ивица колоније гљива и бактеријског изолата) вршена су 3. и 4. дана након постављања огледа. Мерења су вршена у свим варијантама са изолатима, као и у контролној варијанти.

Током читавог експерименталног процеса водило се рачуна о одржавању стерилности радног простора и лабораторијских инструмената, ради спречавања контаминације и обезбеђивања веродостојности резултата.

Добијени резултати су потом обрађени и изражени као средња вредност понављања, што омогућава јасније поређење третираних и контролних варијанти и валоризацију утицаја бактерија на раст гљиве.

5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

За сврху истраживања овог експеримента изоловано је 20 изолата за које је на основу морфолошких карактеристика утврђено да припадају роду *Bacillus*. Изолати који су узети са Ртња означени су бројевима од 1 до 11, из Сенте од 12 до 17, а са Суве планине од 18 до 20.

5.1 Ефекти *Bacillus* spp. на раст гљиве *Sclerotinia sclerotiorum*

У овом поглављу приказани су резултати испитивања антимикробног деловања изолата *Bacillus* spp. на раст фитопатогене гљиве *S. sclerotiorum*. Раст мицелије (полупречник мицелије) мерен је у три понављања, а добијене вредности су искоришћене за израчунавање процента инхибиције у односу на контролу.

На основу резултата приказаних у табели 2., може се уочити да сви изолати *Bacillus*-а показују инхибиторно деловање на раст гљиве *S. sclerotiorum* у поређењу са контролом.

Табела 2. Утицај изолата *Bacillus*-а на раст мицелије гљиве *Sclerotinia sclerotiorum*

	3. дан		4. дан	
варијанте	Полупречник мицелије (cm)	Проценат инхибиције (%)	Полупречник мицелије (cm)	Проценат инхибиције (%)
контрола	2,4	-	3,0	-
изолат 1	1,1	54,17	1,2	60,00
изолат 2	1,3	45,83	2,0	33,33
изолат 3	0	100	0	100
изолат 4	0	100	0	100
изолат 5	0	100	0	100
изолат 6	0	100	0	100
изолат 7	1,9	28,83	2,2	26,67
изолат 8	1,9	28,83	2,2	26,67
изолат 9	2,1	12,50	2,4	20,00
изолат 10	2,1	12,50	2,2	26,67
изолат 11	0	100	0	100
изолат 12	2,2	8,33	2,6	13,33
изолат 13	1,4	41,67	1,9	36,67
изолат 14	1,5	37,50	1,5	50,00
изолат 15	1,2	50,00	1,5	50,00
изолат 16	1,3	45,83	1,6	46,67
изолат 17	1,9	20,83	2,7	10,00
изолат 18	2,0	16,67	2,3	23,33
изолат 19	2,2	8,33	2,3	23,33

БП- бактерија прерасла преко гљиве

У контролној варијанти измерена је највећа ширина мицелије (2,4 cm трећег дана и 3,0 cm четвртог дана), што указује на неометан раст гљиве (Слика 10).

Трећег дана испитивања, потпуна инхибиција раста (100%) утврђена је код изолата 3, 4, 5, 6 и 11, што указује на њихов изразито снажан антагонистички потенцијал. Висок степен инхибиције испољили су и изолати 1, 2, 15 и 16, код којих се проценат

инхибиције кретао у распону од приближно 45% до 55%. Већи број изолата (7-10, 12-14 и 17-20) значајно је смањио ширину мицелије у односу на контролу, што упућује на инхибиторно деловање ових изолата, али је ефекат био слабији у односу на предходно поменуте изолате (Слика 11). Најнижи степен инхибиторног деловања испољили су изолати 12 и 19 (8,33%), што указује на ограничен антагонистички ефекат.



Слика 10. Приказ Петри посуде са засејаном гљивом *Sclerotinia sclerotiorum* – контрола (фото оригинал)



Слика 11. Антифугални потенцијал различитих изолата рода *Bacillus* на *S.sclerotiorum* (фото оригинал)

Четвртог дана мерења, већина изолата задржава или повећава инхибиторни ефекат, што се види кроз мању ширину мицелије у односу на контролу. У варијантама где су примењени изолати 3, 4, 5, 6 и 11 опет је утврђено потпуно одсуство раста мицелије, као и одсуство зоне инхибиције услед прерастања бактерије преко гљиве. У варијантама где је дошло до раста мицелије, највећи антагонистички ефекат постигнут је применом изолата број 1, 14 и 15, где је измерена најмања ширина мицелије гљиве. Слабији степен инхибиције забележен је код изолата 9 (20,00%) и 12 (13,33%). Најслабији ефекат уочен је код изолата 17 (10,00%), што указује на смањење инхибиторног деловања током времена.

Сличне резултате наводе и други истраживачи. Према резултатима које наводи Prasanna и сарадници (2017), сој *Bacillus amyloliquefaciens* VB7 редуковао је раст *S. sclerotiorum* за око 45%, што је у складу са редукцијама забележеним у нашим

условима. У раду Jiang et al. (2024) истиче се да одређени *Bacillus* сојеви могу инхибирати не само мицелијални раст већ и формирање склероција, што представља кључан механизам умањења вирулентности патогена. Добијени резултати су компатибилни са закључцима наведених аутора, јер изолати који су у овом истраживању показали најјачу супресију управо припадају групи сојева познатих по продукцији антимицотичних супстанци — као што су сурфактин, итурин и феназин (Chen et al., 2023).

Сагледавајући добијене вредности, може се закључити да *Bacillus* изолати имају висок потенцијал у биолошкој контроли *S. sclerotiorum*, што је у складу са већином доступне литературе која указује на њихову ефикасност према овом патогену.

5.2 Ефекти *Bacillus* spp. на раст гљиве *Verticillium dahliae*

На основу резултата мерења приказаних у табели 3, може се уочити да сви изолати *Bacillus*-а, осим једног, испољавају инхибиторно деловање на раст гљиве *V. dahliae* у односу на контролу.

Табела 3. Утицај изолата *Bacillus*-а на раст мицелије гљиве *Verticillium dahliae*

	3. дан		4. дан	
	Полупречник мицелије (cm)	Проценат инхибиције (%)	Полупречник мицелије (cm)	Проценат инхибиције (%)
контрола	2,1	-	2,6	-
изолат 1	1,6	23,81	1,7	36,42
изолат 2	0,9	57,14	1,9	26,92
изолат 3	1,8	14,29	1,6	38,46
изолат 4	1,5	28,57	1,6	38,46
изолат 5	0,8	61,90	0,8	69,23
изолат 6	0	100	0	100
изолат 7	1,5	28,57	2,1	19,23
изолат 8	1,6	23,81	1,9	26,92
изолат 9	1,5	28,57	2,0	23,08
изолат 10	1,3	38,10	1,7	34,62
изолат 11	1,6	23,81	2,1	19,23
изолат 12	1,1	47,62	1,1	57,69
изолат 13	2,3	- 9,52	2,3	11,54
изолат 14	1,8	14,29	2,3	11,54
изолат 15	1,4	33,33	2,2	15,38
изолат 16	1,5	28,57	2,1	19,23
изолат 17	1,4	33,33	1,8	30,77
изолат 18	1,5	28,57	1,8	30,77
изолат 19	1,6	23,81	1,9	26,92
Изолат 20	1,6	23,81	2,0	23,08

БП- бактерија прерасла преко гљиве

У контролној варијанти ширина мицелије износи 2,1 cm трећег дана и 2,6 cm четвртог дана, што представља најинтензивнији раст мицелије и указује на неометан развој гљиве (Слика 12). Трећег дана мерења, изузев у варијантама 6 и 13, у свим

осталим варијантама је уочен смањени раст мицелије тестиране фитопатогене гљиве (Слика 13). У варијантама где су примењени изолати 2 и 5, измерене су најмање ширине мицелије гљива у поређењу са контролом, што указује на значајан степен инхибиције. У овом случају, проценат инхибиције био је већи од 50%. У односу на остале изолате, посебно се издваја изолат 6 који је потпуно инхибирао раст мицелије, и то током оба дана мерења. У овој варијанти утврђено је потпуно одсуство раста мицелије (инхибиција је била 100%) и изолат је прерастао преко гљиве. Изолат 13 не показују инхибиторно деловање на раст гљиве, јер је у овом случају ширина мицелије била већа од контроле.



Слика 12. Приказ раста *Verticillium dahlia* на PDA подлози – контроле (фото оригинал)



Слика 13. Антифугални потенцијал различитих изолата рода *Bacillus* на *Verticillium dahliae* (фото оригинал)

Четвртог дана мерења, код већине изолата долази до благог повећања ширине мицелије, али она и даље остаје мања у односу на контролу.

Потпуна инхибиција раста одржана је код изолата 6 (100%). Висок ниво активности задржали су изолати 5 (69,23%) и 12 (57,69%). Умерен инхибиторни ефекат забележен је код изолата 3 и 4 (38,46%), изолата 1 (36,42%) и изолата 10 (34,62%), као и код изолата 17 и 18 (30,77%). Најслабији ефекат испољили су изолати 14 (11,54%) и 15 (15,38%), где је утврђен низак ниво инхибиције. Изолат 13 је четвртог дана показао благ инхибиторни ефекат (11,54%), што указује на промену у односу на претходни дан мерења.

Може се закључити да испитивани изолати имају различит, али углавном инхибиторни ефекат на раст мицелије фитопатогене гљиве *V. dahliae*.

Ови резултати су у сагласности са литературом која указује да је биолошка контрола *V. dahliae* изазовнија због специфичне биологије овог патогена. Према наводима Shen et al. (2024), *Bacillus* изолати могу испољити инхибиторно дејство на *Verticillium spp.*, али је оно често ограничено и условљено специфичним факторима као што су концентрација метаболита, доступност хранљивих материја или комбинација сојева. Gross et al. (2022) констатују да су *Bacillus* сојеви ефикаснији у условима *in planta* него *in vitro*, што може објаснити умерено деловање које је забележено у овом истраживању.

Добијени резултати потврђују да је ефекат *Bacillus* изолата патоген специфичан и да *V. dahliae* реагује знатно слабије на антифугалне метаболите у односу на *S. sclerotiorum*.

5.3 Поређење резултата добијених за *Sclerotinia sclerotiorum* и *Verticillium dahliae*

У овим истраживањима, примена изолата рода *Bacillus* имала је исти ефекат на раст мицелије испитиваних фитопатогених гљива *S. sclerotiorum* и *V. dahlia*, али је тај ефекат био различитог интензитета.

5.3.1 Инхибиција раста *S. Sclerotiorum*

Разлике у ширини мицелије између контролне групе и варијанти са тестираним изолатима приказане су на графиконима 1 и 2.

Изолати који су означени жутом бојом показали су тоталну инхибицију раста гљиве, што указује на изузетно јак антагонистички потенцијал ових изолата *Bacillus*-а. У овим варијантама није забележен раст мицелије, бактерија је у потпуности прерасла гљиву, што указује на снажно антагонистичко дејство, које је вероватно засновано на продукцији антибиотичких једињења, ензима или литификацији мицелијалне структуре. Разлика у ширини радијуса мицелије између контроле и гљива у овим варијантама је највећа (2,4 cm након 3. дана и 3,0 cm након 4. дана).

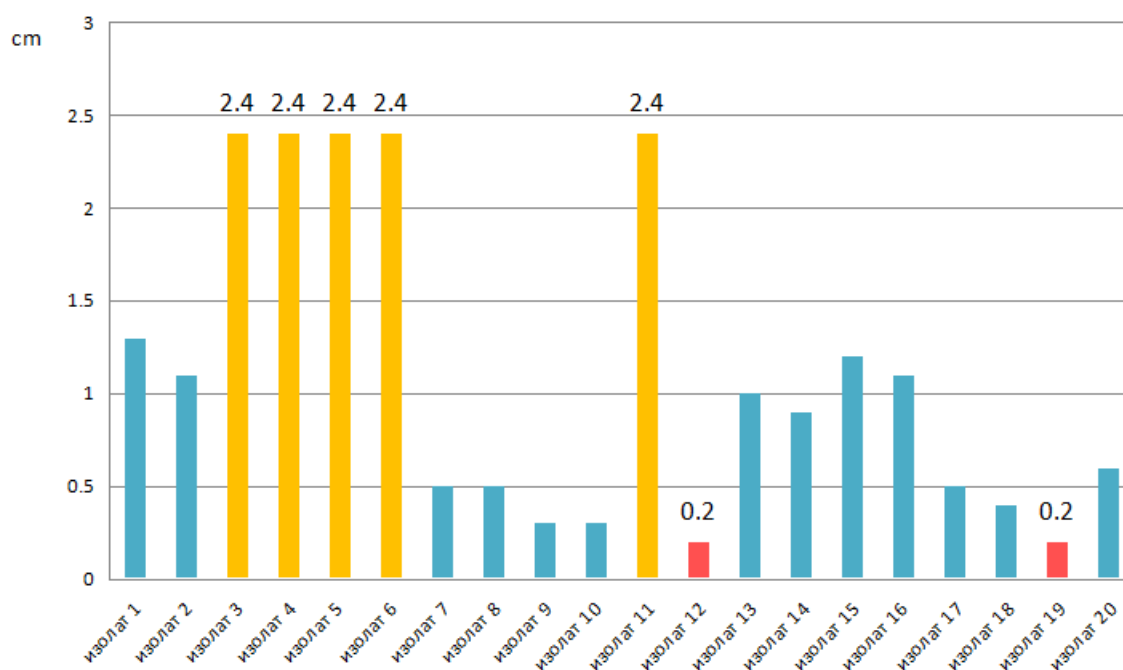


График 1. Инхибиторни утицај испитиваних изолата *Bacillus* spp. на *S. sclerotiorum* након 3 дана (разлика у ширини радијуса мицелије контроле и гљива у варијантама са тестираним изолатима)

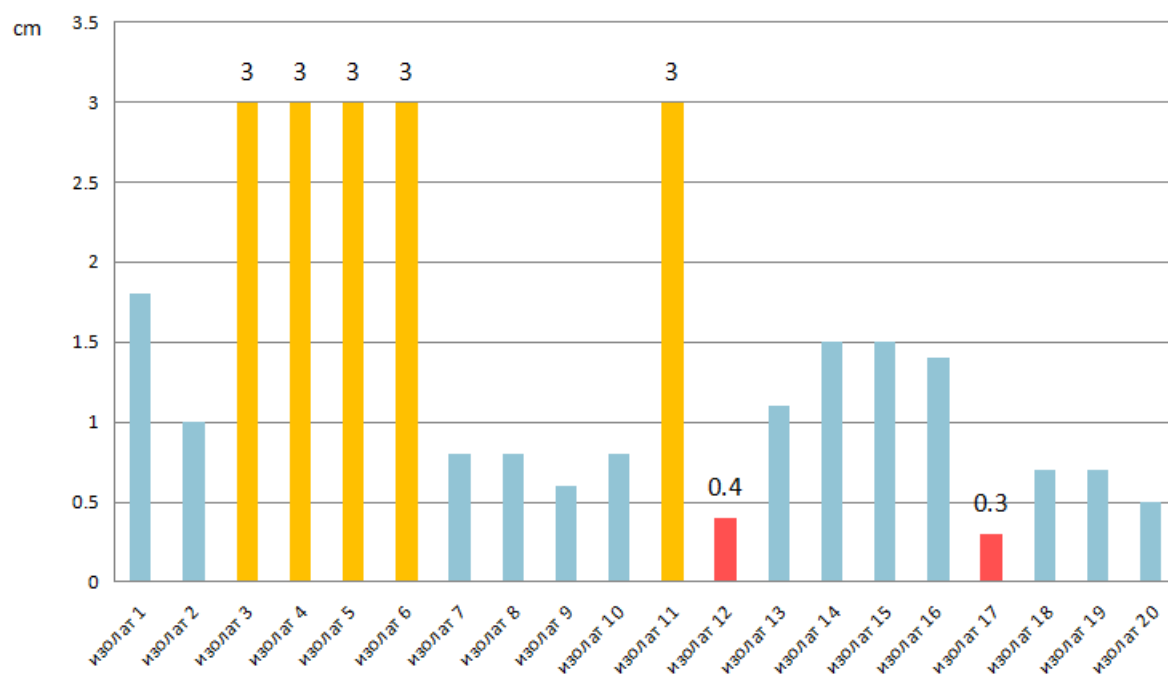


График 2. Инхибиторни утицај испитиваних изолата *Bacillus* spp. на *S. sclerotiorum* након 4 дана (разлика у ширини радијуса мицелије контроле и гљива у варијантама са тестираним изолатима)

Изолати означени црвеном бојом имали су најслабији ефекат на раст мицелије. Ови изолати имали су инхибиторни утицај на раст мицелије, али тај утицај није био велик, тако да је разлика у ширини мицелије у овим варијантама у односу на ширину мицелије контроле мала (у просеку 0,3 cm).

Остали изолати показали су различит степен инхибиторног деловања, од умереног до слабог, што се огледа у мањој разлици у радијусу раста у односу на контролу.

Сви изолати *Bacillus* spp. деловали су инхибиторно на раст *S. sclerotiorum*, што указује да је ова гљива високо осетљива на метаболите бактерија рода *Bacillus*.

5.3.2 Инхибиција раста *Verticillium dahliae*

На графиконима 3 и 4 приказане су разлике у радијусу мицелије између контроле и гљива које су расле са испитиваним изолатима.

Изолати који су означени жутом бојом, испољили су највећи инхибиторни ефекат на раст гљиве, што указује на изузетно јак антагонистички потенцијал ових изолата. Иако је у овим варијантама забележен раст мицелије, тај раст је био вишеструко мањи у односу на раст гљиве у контролној варијанти, што указује на снажно сузбијање патогена. Управо је овде забележена највећа разлика у вредности радијуса колоније контроле и гљива у варијантама (1,3 cm након 3. дана и 1,8 cm након 4. дана).

Изолати означени црвеном бојом показали су најслабији инхибиторни утицај на раст мицелије. Иако је одређени степен инхибиције раста мицелије патогена постојао, тај утицај није био велик, тако да је разлика у ширини мицелије у односу на контролу била мала (0,3 cm).

Изолат означен зеленом бојом (изолат број 13) једини није испољио инхибиторни утицај на раст мицелије *V. dahliae*. Напротив, трећег дана мерења, у овом случају је забележено благо повећање пречника мицелије (за око 0,3 cm) у односу на контролу. Након 4. дана и код овог изолата је утврђен инхибиторни утицај на раст гљиве, али је тај ефекат био слаб.

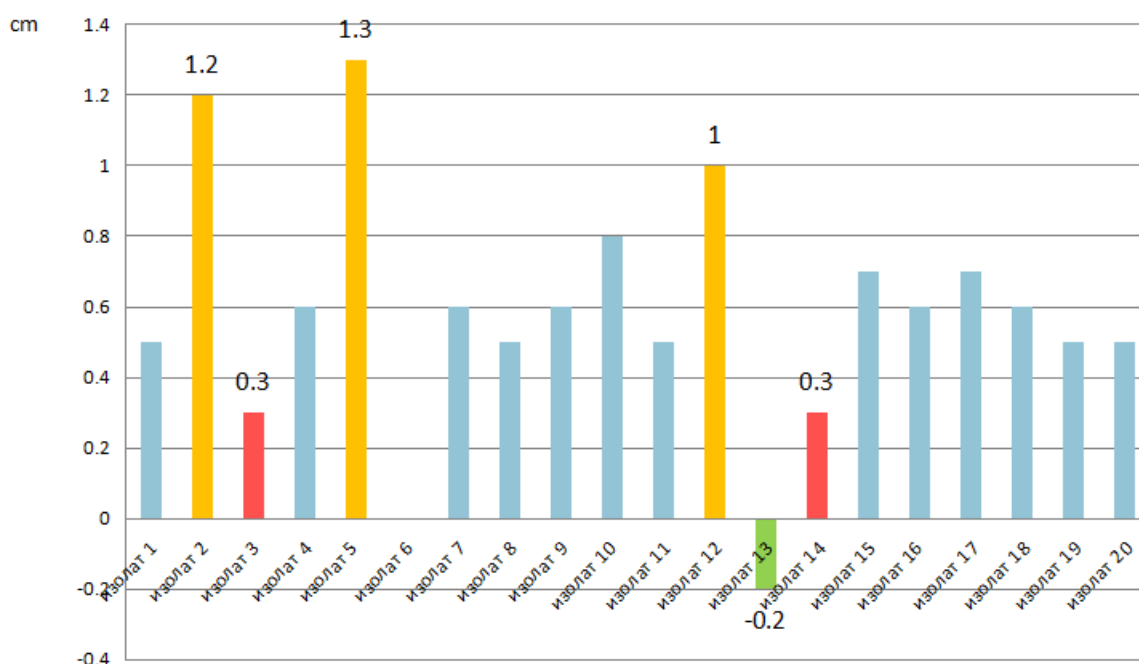


График 3. Инхибиторни утицај испитиваних изолата *Bacillus* spp. на *Verticillium dahliae* након 3 дана (разлика у ширини радијуса мицелије контроле и гљива у варијантама са изолатима)

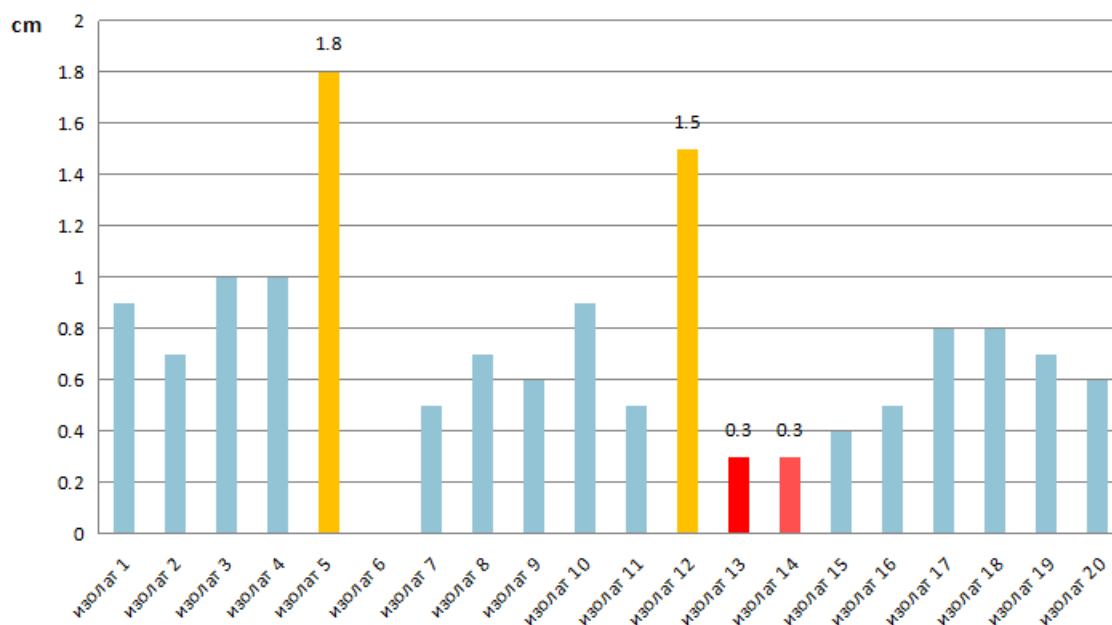


График 4. Инхибиторни утицај испитиваних изолата *Bacillus* spp. на *Verticillium dahliae* након 4 дана (разлика у ширини радијуса мицелије контроле и гљива у варијантама са изолатима)

Остали испитивани изолати показали су различит степен инхибиторног деловања, од умереног до слабог, што се огледа у различитим вредностима разлике радијуса колонија у поређењу са контролом.

Сви изолати *Bacillus* spp., изузев изолата број 13, показали су инхибиторни ефекат на раст *V. dahlia*. Ови резултати указују на значајан потенцијал ових изолати као биоконтролних агенаси у сузбијању овог фитопатогена.

5.3.3 Компаративна анализа утицаја изолати на раст фитопатогених гљива *Sclerotinia sclerotiorum* и *Verticillium dahliae*

Упоредивањем деловања истих изолати *Bacillus* spp. на два различита фитопатогена може се уочити јасна разлика у степену инхибиције. Док је код *S. sclerotiorum* постојала изразита осетљивост на бактеријске метаболите, са чак неколико изолати који су довели до потпуног одсуства раста мицелије, код *V. dahliae* је овај ефекат био умерен.

Оваква разлика може се објаснити биолошким и еколошким карактеристикама патогена. *S. sclerotiorum* је некротроф који зависи од ензима за разлагање биљних ткива, што га чини осетљивијим на антагонисте који ремете интегритет мицелије (Boland и Hall, 1994). Насупрот томе, *V. dahliae* је васкуларни патоген који има спор раст и формира микросклероције дубоко у супстрату, што отежава деловање антифугалних супстанци (Shen et al., 2024).

Резултати истраживања овог рада у потпуности су у складу са претходним радовима, укључујући оне који наводе да је ефикасност биолошке контроле *Verticillium* sp. ограничена и варијабилна (Debode et al., 2007), док је сузбијање *Sclerotinia sclerotiorum* уз помоћ *Bacillus* сојева значајно успешније (Prasanna et al., 2017).

Разлике у осетљивости ова два фитопатогена могу се објаснити на више начина:

1. Биолошка структура гљиве

S. sclerotiorum је гљива која формира обимну, меку, брзорастућу мицелију, високо осетљиву на антибиотичке метаболите бактерија. *V. dahliae* има знатно компактнију мицелијску структуру и изражену толеранцију на стрес, а познато је да је ова врста један од најотпорнијих фитопатогена на биолошку контролу.

2. Механизам деловања *Bacillus* spp.

Антагонистички механизми попут продукције литификујућих ензима (β -1,3-глюканаза, хитиназа), липопептида (сурфактин, итурин, фенгигин), конкуренције за

простор и хранљиве материје, имају јачи ефекат на гљиве са меком и растреситом мицелијом (*S.sclerotiorum*), него на гљиве са гушћом, сегментисаном и успоренијом структуром раста (*V. dahliae*).

3. Потенцијална специфичност бактеријских метаболита

Резултати указују да изолати *Bacillus* spp. који су тестирани вероватно синтетишу метаболите који су специфично ефикаснији против некротрофа као што је *S.sclerotiorum*, док је *V. dahliae* као васкуларни патоген знатно отпорнији на таква једињења.

6. ЗАКЉУЧАК

На основу спроведених лабораторијских испитивања антагонистичког дејства изолата рода *Bacillus* према фитопатогеним гљивама *Sclerotinia sclerotiorum* и *Verticillium dahliae*, може се извући више научних и практичних закључака који доприносе разумевању потенцијала биолошке контроле ових економски значајних патогена.

Резултати истраживања јасно указују да испитивани изолати *Bacillus* spp. испољавају различит степен инхибиторног дејства у зависности од патогена. У случају *Sclerotinia sclerotiorum*, више изолата показало је изражену антагонистичку активност, при чему су изолати 3, 4, 5, 6 и 11 остварили највећи степен редукције раста мицелије где је утврђено потпуно одсуство раста мицелије. Ови резултати потврђују да су одређени *Bacillus* сојеви способни да значајно утичу на раст некротрофних патогена, што је у складу са подацима из литературе који истичу деловање итурина, сурфактина и других антимицотичних метаболита у сузбијању *S. sclerotiorum*. Добијени налази указују да ова група изолата представља обећавајуће кандидате за даљи развој биоконтролних препарата.

Проузроковач болести *V. dahliae* показала је знатно већу толеранцију на присуство бактеријских изолата. Само један од испитиваних изолата (изолат 6) је изазвао потпуну инхибицију мицелијског раста, док су остали изолати довели до умереног смањења развоја мицелије гљиве. Ови резултати су у складу са навођењима других истраживача који потврђују да је *V. dahliae*, као васкуларни патоген, отпорнији на дејство биолошких агенаса у условима *in vitro*. Може се закључити да је за ефикасније сузбијање овог патогена неопходно применити комплексније приступе, који подразумевају *in planta* тестове, комбинацију више корисних микроорганизама или оптимизацију услова производње антифугалних метаболита.

Упоредном анализом добијених резултата за оба патогена потврђено је да ефекат антагониста значајно варира у зависности од биологије и еколошких особина гљиве.

S. sclerotiorum се показала као значајно осетљивији патоген, док *V. dahliae* остаје изазовнији за биолошку контролу у условима лабораторијских *in vitro* тестова. Ови резултати доприносе даљем разумевању селекције ефикасних изолат *Bacillus* spp. у циљу употребе у биолошким препаратима или као део интегрисаних стратегија заштите биља.

У целини, истраживање потврђује да изолати рода *Bacillus* имају значајан потенцијал у сузбијању *S. Sclerotiorum* и *V. dahlia*. Добијени резултати представљају основу за будућа истраживања, додају вредност научним сазнањима у области биолошке контроле и могу послужити као полазиште за развој еколошки прихватљивих и одрживих система заштите биља.

7.ЛИТЕРАТУРА

Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology* (5th ed.). Academic Press.

Arnaouteli, S., Bamford, N. C., Staniewski, M., Whitfield, C., & Kovács, Á. T. (2021). Biosurfactant production in the *Bacillus subtilis* group — characterization, mechanism and regulation. *Microbial Biotechnology*, 14(4), 1243–1257.

Баги, Ф., Боднар, К. (2012). *Фитомедицина*. Нови Сад: Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет.

Букић, Л., Јовановић, Ж. (2018). *Патологија биљака*. Нови Сад: Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет.

Boland, G., Hall, R. (1994). Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 16(2), 93-108.

Вуковић, С., Шуњка, Д. (2021). *Биопестициди*. Нови Сад: Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет.

Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255(2), 571-586.

Cawoy, H., Debois, D., Franzil, L., De Pauw, E., & Ongena, M. (2015). Lipopeptides as main weapons for biocontrol of bacterial and fungal pathogens by *Bacillus subtilis*. *Environmental Microbiology*, 17(5), 1655–1670.

Chen, X. H., Koumoutsis, A., Scholz, R., & Borriss, R. (2009). More than anticipated — production of antibiotics and exoenzymes by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 16, 14–24.

Chen, B., Song, D., Shi, H., Chen, K., Wu, Z., & Chai, H. (2023). Design, synthesis, in vitro antifungal activity and mechanism study of the novel 4-substituted mandelic acid derivatives. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(10), 8898.

Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., et al. (2012). The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414–430.

Debode, J., De Maeyer, K., Perneel, M., Pannecoucque, J., De Backer, G., & Höfte, M. (2007). Biosurfactants are involved in the biological control of *Verticillium microsclerotia* by *Pseudomonas* spp. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 1184–1196.

Devi, S., Kieseewalter, H. T., Kovács, R., Frisvad, J. C., Weber, T., Larsen, T. O., Kovács, Á. T., & Ding, L. (2019). Depiction of secondary metabolites and antifungal activity of *Bacillus velezensis* DTU001. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 4(3), 142–149.

Ђорђевић, В., Станковић, С. (2014). Антагонистички потенцијал *Bacillus* spp. против патогена из земљишта. *Пестициди и фитомедицина*, 29(2), 123–130.

Ђурић, С., Јарак, М. (2006). Практикум из микробиологије. Нови Сад: Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет.

Fradin, E. F., & Thomma, B. P. H. J. (2006). Physiology and molecular aspects of *Verticillium dahliae* diseases. *Annual Review of Phytopathology*, 44, 349–370.

Граховац, М., Инђић, Д., Лазић, С., & Вуковић, С. (2009). Биофунгициди и могућности примене у савременој пољопривреди. *Пестициди и фитомедицина*, 24(4), 245–258.

Heydari, A., Pessarakli, M. (2010). A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. *Journal of Biological Sciences*, 10(4), 273–290.

Holt, J.G. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th Edition, Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore.

Huang, H. C., & Kozub, G. C. (1989). Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Bacillus* spp. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 11(3), 257–263.

Huang, H. C., & Kozub, G. C. (1991). Interaction of *Sclerotinia sclerotiorum* with antagonistic bacteria in vitro. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 13, 89–96.

Isman, B.E. (2015). A renaissance for botanical insecticides? *Annual Review of Entomology*, 60, 233–249

Јафари, Т., Стаменов, Д., & Ђурић, С. (2020). Производња и примена биопрепарата. Нови Сад: Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет.

Јарак, М., Чоло, Ј. (2007). Микробиологија земљишта. Нови Сад: Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет.

Keykhasaber, M., Abdollahzadeh, J., & Sharifi, K. (2017). Biological control of *Verticillium dahliae* using *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Plant Protection Research*, 57(4), 295–303.

Lahlali, R., Kouighat, M., Khadiri, M., Boutagayout, A., Ozer, G., Laasli, S. L., Farhaoui, A. (2026). Biopesticides for a sustainable agriculture: Prospects and challenges in disease management. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 142, 1-10.

Lucas, J. A. (2020). *Plant Pathology and Plant Pathogens* (5th ed.). Wiley-Blackwell.

Milus, E. A., & Rothrock, C. S. (1997). Efficacy of *Bacillus subtilis* for biocontrol of soilborne plant pathogens. *Phytopathology*, 87, 102–110.

Ongena, M., & Jacques, P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, 16(3), 115–125.

Prassana, K., Amruta, N., Manjula, C., Puneeth, M., Teli, K. (2017). Characterisation, screening and selection of *Bacillus subtilis* isolates for its biocontrol efficiency against major rice diseases. *Biocontrol Science and Technology*, 27(4), 581-599.

Raaijmakers, J. M., & Mazzola, M. (2016). Soil microbial communities and disease suppression. *Annual Review of Phytopathology*, 54, 1–27.

Стојшин, В., Баги, Ф., Балаж, Ф. (2008). Практикум из фитопатологије. Микозе и псеудомикозе ратарских и повртарских биљака. Нови Сад: Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет.

Shen, L., Yang, S., Zhao, E., Xia, X., Yang, X. (2024). StoMYB41 positively regulates the *Solanum torvum* response to *Verticillium dahlia* in an ABA dependent manner. *International Journal of Biological Macromolecules*, 263(1), 1-13.

Swain, M. R., & Ray, R. C. (2009). Biocontrol and other beneficial activities of *Bacillus subtilis* isolated from cow dung microflora. *Microbiological Research*, 164, 121–130.

Tran, C., Cock, I. E., Chen, X., Feng, Y. (2022). Antimicrobial *Bacillus*: Metabolites and Their Mode of Action. *Antibiotics*, 11 (1), 88.

Whipps, J. M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52, 487–511.