

## PREDNOSTI IN SLABOSTI MIKOFUNGICIDOV

Franci Celar<sup>1</sup>, Aleš Pajmon<sup>2</sup>

### IZVLEČEK

Biotični fungicidi (mikofungicidi) na osnovi gliv *Trichoderma* spp. so vsekakor dobrodošla novost, vendar pa dosedanje izkušnje kažejo, da z njimi ne moremo nadomestiti klasičnih fungicidov. Čeprav so ekološko sprejemljivejši od dozdaj uporabljenih fungicidov, pa imajo vrsto pomanjkljivosti, ki so predstavljene v tem prispevku. Predstavljene so tudi naše izkušnje o učinkovitosti edinega pri nas registriranega mikofungicida trichodex 25-WP. Mikofungicid v našem poskusu ni imel nobenega učinka na povečanje pridelka oziroma zmanjšanje okužb s sivo plesnijo na vrtnih jagodah. Rezultati tretiranja s trichodexom so zelo podobni (enaki) tistim v kontroli in hkrati slabši kot pri tretiranju z euparenom (diklofluamid).

Ključne besede: mikofungicidi, *Trichoderma* spp., siva plesen, biotično varstvo

### ABSTRACT

#### ADVANTAGES AND DISADVANTAGES OF MYCOFUNGICIDES

Biotic fungicides (mycofungicides) based on fungi *Trichoderma* spp. are a welcomed novelty, but the experiences gathered so far show that they can not replace the classical fungicides. They are ecologically more acceptable compared to the fungicides which are currently being used, but they have some drawbacks which are presented in this contribution. Further on, our experiences with Trichodex 25-WP - the only mycofungicide registered in Slovenia are reported. This mycofungicide exhibited no influence on the strawberry yield or infection with grey mould. The results are very similar or equal to those in the control (untreated) part and inferior to those where Euparen (dichlofluamid) has been applied.

Key words: mycofungicides, *Trichoderma* spp., grey mould, biological control

### UVOD

Razvoj in proučevanje različnih načinov varstva pred rastlinskimi boleznimi so vzpodbudile potrebe kmetijstva. Proučevanje rastlinskih bolezni in njihovo preprečevanje (zatiranje) je privedlo do povečanja kmetijske pridelave in ekonomske stabilnosti kmečke skupnosti. Z razvojem in uporabo fitofarmaceutskih sredstev (FS) s širokim spektrom delovanja so imeli pridelovalci veliko manj skrbi z zdravjem rastlin, tako da so lahko krčili število pridelovanih vrst gojenih rastlin in tudi kolobar. Začelo se je tekmovanje med proizvajalci FS za trg. Učinkovitost FS je postala edini kriterij, po katerem so merili njihovo uporabno (prodajno) vrednost. Proizvajalci pa so hkrati pozabili, da trg poleg kmetovalcev krojijo tudi kupci kmetijskih pridelkov. Proizvajalci FS in pridelovalci kmetijskih pridelkov so si morali začeti prizadevati za sprejemljivost (akceptanco) svojih proizvodov (pridelkov) v najširši javnosti. Poročila o ostankih FS v hrani, tleh, nadzemnih vodah in podtalnici so začela odvracati porabnike (potrošnike) od tako pridelanega živeža. Začelo je prevladovati mnenje, da

<sup>1</sup> Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo, Ljubljana

<sup>2</sup> Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

ima moderen način pridelovanja živeža več negativnih posledic, kot pozitivnih. Dogaja se celo, da nekateri posamezniki zahtevajo popolno prepoved uporabe FS. Taka mnenja pa so največkrat posledica nepoznavanja problema varstva rastlin in "modernosti" teme.

V zadnjem času so se zaradi vse strožjih predpisov pri registraciji FS (toksikološke zahteve) močno povečali stroški izdelave novega sredstva. Poleg tega so nekatere glive postale odporne na nekatera FS, tako da se je precej zožilo število kemičnih učinkovin. Biotično varstvo naj bi bilo možna alternativa za dejanske in zaznavne probleme, ki jih povzročajo FS. Čeprav je ta koncept zelo popularen in sprejemljiv za najširšo javnost, pa je zelo malo biotičnih učinkovin razvitih za komercialno rabo. Po najnovejših podatkih so samo v šestih državah Evropske skupnosti registrirani fungicidi na podlagi mikroorganizmov (največ jih temelji na glivah iz rodu *Trichoderma*). Značilno je tudi, da noben tak pripravek ni razvila večja agrokemična družba.

Večino raziskav, ki so bolj na akademski kot na komercialni ravni, se ukvarja z uporabo antagonističnih gliv proti patogenim talnim glivam. Tudi učinkovitost antagonistov proti patogenom je mnogo večja v tleh kot pa na nadzemnih rastlinskih organih. Dejavniki okolja se mnogo manj spreminjajo v tleh kot nad njimi. Biotični pripravki so v primerjavi s klasičnimi FS močno podvrženi vplivu teh dejavnikov, ker pač gre za žive organizme. Ravno nasprotno pa je z biotično raznovrstnostjo, ki je mnogo večja v tleh. Zaradi tega mora biti vnesen antagonističen organizem zelo prilagojen na določen tip tal in klime. V naravnih tleh namreč ni nekaj praznih ekoloških niš, ki bi jih lahko zasedel antagonist. Bili bi preveliki optimisti, če bi iskali antagonista, ki je zmožen prilagoditve zelo različnim razmeram okolja.

## MOŽNOSTI ZA BIOTIČNE PRIPRAVKE

V nekaj naslednjih stavkih vam bomo prikazali nekaj možnosti, kje in zakaj bi lahko uporabljali biotične pripravke (mikofungicide).

- **Z biotičnimi pripravki bi lahko zatirali bolezni, proti katerim še nismo našli drugega uspešnega načina varstva.** Predvsem gre tu za talne patogene glive, proti katerim fungicidi slabo ali ne delujejo ali pa so problematični zaradi ekoloških in toksikoloških razlogov. Pomembno je tudi, da proizvajalci FS nimajo interesa, da bi razvijali posebne talne fungicide, ker je razvoj teh sredstev zelo drag, tržni delež le-teh pa v primerjavi z drugimi fungicidi izredno majhen. V takih primerih postanejo mikofungicidi izredno privlačni, ker sta njihov razvoj in registracija v primerjavi s klasičnimi fungicidi precej cenejša.
- **Biotični fungicidi naj bi omogočali večji dobiček, ker je njihov razvoj krajši in so zato investicije v primerjavi s klasičnimi FS manjše.** Tako npr. v ZDA stane registracija domačega pripravka na osnovi nemanipuliranega mikroorganizma, ki ne potrebuje nadaljnjih toksikoloških raziskav približno 0.5 milijona dolarjev, v primerjavi s klasičnim FS, kjer je 20 milijona dolarjev. Poleg tega tudi zahteve za toksikološke raziskave niso tako restriktivne, tako da je razvoj biotičnega pripravka precej krajši. V večini primerov traja od odkritja neke kemične aktivne snovi do komercializacije pripravka najmanj osem let, medtem ko je ta pri biotičnih pripravkih tudi manj kot pet let. Vpeljava proizvodnje nekega novega FS zahteva velike začetne investicije, ponavadi postavitve čisto nove tehnološke linije,

medtem ko lahko mikofungicide proizvajamo v istih ali podobnih fermentacijskih enotah. Prodajna niša za mikofungicide je tudi v tem, da je teh pripravkov na trgu zelo malo in ni med njimi velike konkurence, ki je značilna med proizvajalci klasičnih FS.

### **Velika sprejemljivost (akceptanca) biotičnih pripravkov v najširši javnosti.**

Čeprav je zelo težko oceniti korist biotičnega pripravka s termini kot je donos glede na investicijo, pa ne gre zanemariti odziv kupcev na to, da pri varstvu rastlin uporabljamo "zelene" pripravke. Pomembno pa je, da so biotični pripravki vsaj delno učinkoviti in ne rabijo samo za zavajanje javnosti.

## **OVIRE ZA POTENCIALNE BIOTIČNE PRIPRAVKE**

Za sprejemljivost in tržni uspeh biotičnih pripravkov za varstvo rastlin je pomembno, da zagotavljajo nespremenljivo (stabilno) učinkovitost, so cenovno sprejemljivi in enostavni za uporabo. To pomeni, da je organizem genetsko stabilen, se pričakovano obnaša v različnih razmerah okolja in dosega neko ekonomsko sprejemljivo raven pri zatiranju rastlinskih bolezni. Tabela 1 prikazuje prednosti in slabosti biotičnih pripravkov pred klasičnimi FS.

Predvsem je genetska stabilnost mikroorganizmov temeljni problem biotičnega varstva. Tako kot številni patogeni mikroorganizmi izgubijo v čistih kulturah (na umetnih gojiščih) patogenost, je čisto razumljivo, da tudi drugi mikroorganizmi izgubijo svoje "koristne" lastnosti. Zaradi tega moramo imeti vedno na zalogi izhodiščne izolate, poleg tega pa zelo dobro poznati njihove fiziološke lastnosti.

Med pridelovalci gojenih rastlin še vedno prevladuje mnenje, da so biotični pripravki premalo zanesljivi. Vzrok za tako mišljenje je predvsem v nekaterih nespametnih poskusih vpeljave biotičnih pripravkov brez primerne predhodnega razvoja le-teh in kakovostnega predhodnega preverjanja. Na učinkovitost biotičnih pripravkov precej vplivajo različni dejavniki okolja, pa tudi uporabnost le-teh je precej krajša kot pri FS. Vprašanja, kateri nivo varstva rastlin je zadovoljiv, ne gre posploševati, ampak moramo učinkovitost FS dati na tehtnico z njihovim vplivom na okolje, uporabnike le-teh in porabnike (potrošnike). S temi kriteriji lahko kompenziramo razliko v učinkovitosti klasičnih FS in biotičnih pripravkov. Znano je, da je delovanje biotičnih pripravkov počasnejše, predvsem zato, ker rast in razmnoževanje mikroorganizmov zahteva določeno reprodukcijsko dobo.

Skupna ugotovitev je, da moramo do množične proizvodnje biotičnih fungicidov in med njo zagotoviti genetsko stabilnost mikroorganizmov, ker s tem ohranjamo tudi njihovo učinkovitost. Poleg tega moramo s pravilno formulacijo, embalažo in razmerami skladiščenja zagotoviti, da mikroorganizmi ne izgubijo svoje aktivnosti. Klasična FS imajo uporabnost v predpisanih skladiščnih razmerah, ne da bi se jih zmanjšala učinkovitost, dve leti. Za večino biofungicidov pa je ta doba od treh do šestih mesecev. Zaradi tega biotični pripravki zahtevajo določen čas proizvodnje in potrebno logistiko, da dospejo pravočasno do uporabnikov.

**Tabela 1:** Primerjava dejanskih oziroma zaznavnih prednosti uporabe klasičnih fitofarmaceutskih sredstev in biotičnih pripravkov (mikofungicidov) proti talnim patogenim glivam.

**Tab. 1:** Comparison of actual or perceived strenghts of classical pesticides and biological control products (mycofungicides) against soil-borne fungi.

KRITERIJ	KEMIČNO VARSTVO	BIOTIČNO VARSTVO
<b>UČINKOVITOST:</b>		
• trenutna (na kratek rok)	☺	☺
• dolgotrajna (na dolgi rok)		
• hitrost učinkovanja	☺	
• učinek pri velikem pritisku bolezni	☺	
• kurativno varstvo	☺	
<b>ZANESLJIVOST (glede na):</b>		
• okoliške dejavnike	☺	
• vpliv rastlin in tal	☺	
• možnost daljšega skladiščenja	☺	
<b>ENOSTAVNOST UPORABE</b>	☺	
<b>TVEGANJE ZARADI REZISTENCE</b>		☺
<b>ŠKODLJIVI STRANSKI UČINKI</b>		
• na ljudi in živali		☺
• ostanke v hrani		☺
• ostanke v podtalnici		☺
• obstojnost v okolju		☺
<b>SPREJEMLJIVOST ZA JAVNOST</b>		☺
<b>DOBIČKONOSNOST ZA PROIZVAJALCA</b>	☺	
<b>DOBIČKONOSNOST ZA UPORABNIKA</b>	☺	
<b>DOLGOROČNA KORIST ZA DRUŽBO</b>		☺

☺ - pomeni relativno prednost tega načina varstva pred drugim

☺ - means the relative advantage of the control measure

Za neposredne uporabnike je pomembno, da se način aplikacije biotičnih pripravkov ne razlikuje od že uveljavljene aplikacije FS. Tisti biotični pripravki, ki so skladni (kompatibilni) s klasičnimi FS, imajo vsekakor prednost.

Vsekakor je največja težava biotičnega varstva predhodno testiranje možnih naravnih antagonistov. Velikokrat se slednji v laboratorijskih razmerah izkažejo za izredno učinkovite, ko jih prenesemo v naravno okolje pa padejo na prvem izpitu. Ravno zato je potrebno še veliko raziskav in testov, da bi ugotovili, kdaj in v kakšnih razmerah lahko antagonistični fungicidi pokažejo vse svoje zmožnosti. S tem, da so mikroorganizmi vzeti iz narave, pa še ne pomeni, da so za sesalce oziroma za človeka povsem varni. Številni med njimi oblikujejo snovi, ki negativno vplivajo na zdravje.

## NAŠE IZKUŠNJE Z MIKOFUNGICIDI

Edini pri nas registrirani mikofungicid je pripravek trichodex 25-WP, ki ga uporabljamo za zatiranje sive plesni na vinski trti. V letu 1994 smo preizkusili učinkovitost le-tega proti jagodni sivi plesni v enoletnem nasadu vrtnih jagod (vas Javor nad Ljubljano). Učinkovitost mikofungicida smo primerjali z organskim fungicidom na podlagi diklofluanida (euparen). Poskus je vključeval še različne kombinacije obeh sredstev in kontrolo. Razen pri enem obravnavanju smo med cvetenjem opravili tri škropljenja (začetek cvetenja, polno cvetenje, konec cvetenja). Obravnavanja so bila naslednja:

EEE	za vsa tri škropljenja je bil uporabljen euparen
ETE	izmenično; za prvo škropljenje euparen, za drugo trichodex in za tretje euparen
K	3-krat neškropljeno - kontrola
TET	izmenično; za prvo škropljenje trichodex, za drugo euparen in za tretje trichodex
(T+E)2x	prvo škropljenje z mešanico celotnega odmerka euparena, drugo škropljenje smo izpustili, tretje škropljenje enako prvemu
(T+E/2)3x	za vsa tri škropljenja mešanica trichodexa in polovičnega odmerka euparena
TTT	za vsa tri škropljenja je bil uporabljen trichodex

Učinkovitost mikofungicida trichodex 25-WP in euparena smo iz odstotka okuženih plodov na tretiranih oz. netretiranih parcelah izračunali po Abbotovi enačbi. Odstotki učinkovitosti in pripadajoče indeksne vrednosti za šest različnih načinov tretiranja (glede na kontrolo) so prikazani v tabeli 2 in na sliki 1.

**Tabela 2:** Prikaz odstotkov učinkovitosti ter ustreznih indeksnih vrednosti za šest različnih načinov tretiranja (glede na kontrolo).

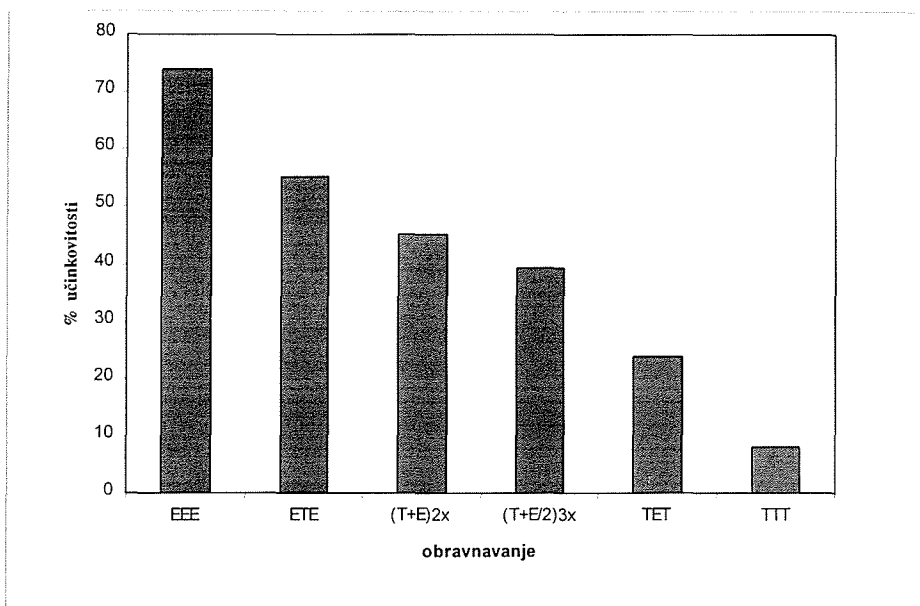
**Tab. 2:** Presentation percents of efficacy and adequate indexes for six different treatments (regarding to control).

Obravnavanje	Čas tretiranja in pripravek			% učinkovitosti	indeks
	30. april	12. maj	21. maj		
EEE	E	E	E	74.0	100
ETE	E	T	E	55.0	74.3
(T+E)2x	T+E		T+E	45.1	60.9
(T+E)3x	T+E/2	T+E/2	T+E/2	39.2	52.9
TET	T	E	T	23.9	32.3
TTT	T	T	T	8.0	10.8

Mikofungicid trichodex 25-WP v našem poskusu ni imel nobenega učinka na povečanje pridelka oziroma zmanjšanje okužb s sivo plesnijo na vrtnih jagodah. Rezultati tretiranja s trichodexom so zelo podobni (enaki) tistim v kontroli in hkrati slabši kot pri tretiranju z euparenom.

Nekateri raziskovalci so odkrili, da je učinkovitost mikofungicidov na različnih gojenih rastlinah različna, pa čeprav jih uporabimo proti istemu patogenu. Tako so na

primer izolati, ki so jih selekcionirali za zatiranje sive plesni na grozdju, pogosto neučinkoviti na jagodah.



**Slika 1:** Grafični prikaz odstotkov učinkovitosti po Abbot-u za šest različnih načinov tretiranja (glede na kontrolo).

**Fig. 2:** Graphic presentation % of efficacy (under Abbot) for six different treatments (regarding to control).

Kljub temu menimo, da je vzrok za neučinkovitost trichodexa potrebno iskati drugod. Izolat glive *Trichoderma longibrachiatum* T-39 (aktivna snov trichodexa) izvira iz Izraela, kjer so ekološke razmere precej drugačne od naših. Zelo različna je tudi obstoječa "listna mikoflora". Tako je skoraj nemogoče, da bi aplicirana antagonistična gliva našla prazno ekološko nišo, kjer bi se lahko (nemoteno) razvijala naprej. Na podlagi rezultatov poskusa ugotavljamo, da mikofungicid trichodex 25-WP v naših ekoloških razmerah (*in vivo*) ni učinkovit za zatiranje sive plesni jagod.

## POGLED V PRIHODNOST

Kljub temu, da javna občila, združenja in posamezniki pritiskajo, da bi varstvo rastlin prešlo na nek bolj naraven način, nimajo niti proizvajalci FS niti pridelovalci kmetijskih pridelkov volje, da bi zagrizli v ta izziv. Vsekakor se morata obe strani udeležiti na tehtnico in izmeriti svoje argumente, jeziček na tehtnici pa bosta (vsaj upamo) premikali zdrava pamet in pravna država.

**LITERATURA**

- International Union of Biological Sciences 1992. New approaches in biological control of soil-borne diseases.- IOBC/WPRS Bulletin, Wageningen, 222 s.
- Becker, J. O., Schwinn F. J. 1993. Control of soil-borne pathogens with living bacteria and fungi: status and outlook.- Pest. Sci., 37: 355-363.
- Ghisalberti, E. L., Sivasithamparan, K. 1991. Antifungal substances produced by *Trichoderma* spp.- Soil. Biol. Biochem., 23: 1011-1020.
- Papavizas, G. C., Lumsden R.D. 1980. Biological control of soilborne fungal propagules.- Ann. Rev. Phytopathol., 18: 389-413.
- Papavizas, G. C. 1981. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol.- Ann. Rev. Phytopathol., 23: 23-54.
- Ricard, J. L. 1981. Commercialization of a *Trichoderma* based mycofungicide. Some problems and solutions.- Biocontrol News Inform., 2: 95-98.
- Chet, I. 1987. Innovative approaches to plant disease control.- John Wiley and Sons, New York, 372 s.