

Pestic. fitomed. (Beograd), 21 (2006) 311-316  
Pestic. Phytomed. (Belgrade), 21 (2006) 311-316

UDC: 632.952:632.3:632.711  
Naučni rad \* Scientific Paper

# Efikasnost biofungicida Polyversum™ u suzbijanju *Botrytis cinerea* Pers. na plodovima maline

Nenad Filajdić<sup>1</sup>, Emil Rekanović<sup>2</sup>, Brankica Tanović<sup>2</sup>, Milan Stević<sup>3</sup> i Petar Vukša<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sumitomo Chemical Agro Europe S.A.S., Lyon

<sup>2</sup>Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Beograd

<sup>3</sup>Poljoprivredni fakultet, Beograd

## REZIME

U toku 2004, 2005. i 2006. godine, na lokalitetima Valjeva, Požege i Šapca, ispitivana je efikasnost biološkog preparata Polyversum™ (*Pythium oligandrum* Drechsler) u suzbijanju prozrokovača sive truleži plodova maline *Botrytis cinerea* Pers. Eksperimenti su izvedeni i podaci obrađeni po metodama EPPO.

Utvrđeno je da je u varijantama primene biofungicida Polyversum™ efikasnost (E=18.0%-53.9%) statistički značajno slabija od standardnog botriticida Ronilan-DF (E=56.6%-90.3%).

Ispoljena efikasnost biološkog preparata Polyversum je značajna, iako slabija od standardnog fungicida Ronilan-DF. S obzirom da je reč o biološkom preparatu koji gotovo da nema toksikoloških i ekotoksikoloških ograničenja, to mu daje značajnu prednost za širu upotrebu u zaštiti bilja.

**Ključne reči:** Polyversum; *Pythium oligandrum*; *Botrytis cinerea*; malina; efikasnost

## UVOD

Malina se u Srbiji gaji na 15.413 ha (Nikolić i sar., 2005). U 2005. godini 84.309 tona maline, uglavnom u smrznutom stanju, izvezeno je u zemlje Evropske unije, tako da je ovo naša najprofitabilnija i najperspektivnija vrsta voća (Nikolić i sar., 2005). Intenzivna proizvodnja podrazumeva obaveznu primenu pesticida koji treba da obezbede adekvatnu zaštitu, visok prinos i kvalitetan plod koji zadovoljava zahteve savremenog tržišta. S druge strane, pooštreni kriterijumi zdravstvene ispravnosti hrane nameću potrebu za smanjenjem i racionalizacijom upotrebe pesticida, kao i za primenu supstanci prirodnog porekla u zaštiti bilja.

Prouzrokovač sive truleži plodova maline *Botrytis cinerea* Pers. je jedan od najdestruktivnijih patogena koji je prisutan u svim područjima gajenja ove vrste voća. Suzbijanje *B. cinerea* korišćenjem fungicida je otežano uglavnom zbog latentnih zaraza koje dugo mogu ostati pritajene, produženog perioda cvetanja i zrenja, eksplozivnog razvoja oboljenja neposredno pre ili u toku berbe i pojave rezistentnih sojeva patogena na fungicide (Coley-Smith, 1980; Sutton, 1990). U našoj zemlji za zaštitu maline od sive truleži najčešće se koriste preparati na bazi iprodiona, pirimetanila, prosimidona, vinklozolina, prochloraza, fenheksamida, dihlouanida, benomila i kombinacije fludioksonil + ciprodinil i flutriafol + karbendazim (Ivanović M. i Ivanović D.,

2001). Međutim, zbog specifične biologije patogena i pojave rezistentnosti s jedne strane, i sve oštrijih zahteva u pogledu zaštite životne sredine s druge strane, nameće se stalna potreba za proučavanjem mogućnosti primene bioracionalnih preparata koji bi se po svojim osobinama uklopili u savremeni koncept primene pesticida i integralne zaštite bilja.

Polyversum™ je novi biofungicid čiji aktivni deo čine oospore gljive *Pythium oligandrum* Drechler. *P. oligandrum* je prvi put opisana 1930. godine (Drechsler 1930; cit. Lutchmeah i Cooke, 1985) kao prouzrokovatelj truleži korena graška. Međutim, u kasnijim istraživanjima otkriveno je da se *P. oligandrum* u prirodi često javlja zajedno sa poznatim patogenima biljaka, *P. debaryanum* i *P. ultimum*, za koje je potvrđeno da su glavni uzročnici truleži semena i propadanja klijanaca. Ta činjenica je ukazala na mogućnost da *P. oligandrum* nije parazit biljaka, nego da je mikopatogen (Drechsler 1943; cit. Davanlou i sar., 1999). Na osnovu brojnih ispitivanja utvrđeno je da *P. oligandrum* parazitira preko 23 vrste patogenih gljiva, među kojima su i *Botrytis cinerea* Pers. (Laing i Deacon, 1991), *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* Ja. et S. (Benhamou i sar., 1999), *Pythium ultimum* (He i sar., 1992), *Rhizoctonia solani* Kühn (He i sar., 1992; cit. Brožova, 2002), *Verticillium albo-atrum* Reinke et Brthold (Benhamou i sar., 1999) i *Verticillium dahliae* (Al-Rawahi i Hancock, 1998). *P. oligandrum* deluje na patogene gljive na dva načina: a) aktivno – direktno parazitiranje i b) pasivno – indukovanje stvaranja morfoloških i fizioloških barijera u biljnom tkivu i stimulacija rasta biljaka putem povećanog usvajanja fosfora (Vesely, 1997; cit. Brožova, 2002).

U našoj zemlji je poslednjih godina vršeno nekoliko nezavisnih ispitivanja biološke efikasnosti preparata Polyversum u usevu paprike za suzbijanje *V. dahliae* (Mijatović i sar., 2003; Rekanović i sar., 2004; Rekanović, 2005), zasadu vinove loze za suzbijanje *B. cinerea* i *Phomopsis viticola* (Miletić i sar., 2003; Filajdić i sar., 2003; Latinović i sar. 2005) i zasadu maline za suzbijanje *B. cinerea* (Tanović i sar., 2005). Svi navedeni istraživači ističu zadovoljavajuću efikasnost pomenutog biofungicida za suzbijanje navedenih patogena i naglašavaju da ona u velikoj meri zavisi od vremena primene, uslova spoljne sredine (pH zemljišta, temperatura i relativna vlažnost vazduha), kao i od osetljivosti sorte ili hibrida.

Cilj ovog rada bio je trogodišnje (2004, 2005. i 2006. godina) ispitivanje efekata mikopatogena *P. oligandrum* i preparata Polyversum™ na *B. cinerea* i procena mogućnosti

njegovih primena za suzbijanje ovog veoma značajnog patogena maline u Srbiji.

## MATERIJAL I METODE

Ispitivanja biološke efikasnosti fungicida i biofungicida izvedena su tokom maja, juna i jula meseca 2003, 2004. i 2005. godine u zasadima maline u Srbiji na tri lokaliteta (Požega, Valjevo i Šabac). Ogledi su postavljeni po modifikovanoj metodi PP 1/16(2) EPPO (1997a), po potpuno slučajnom blok sistemu sa četiri ponavljanja. Veličina elementarnih parcela iznosila je 25 m<sup>2</sup> (90-100 biljaka u redu). Kao osetljiva sorta maline korišćena je Willamette. Biofungicid Poliversum™ (*P. oligandrum* ATCC 38472, 10<sup>6</sup> oospora/g; Biopreparaty) primenjen je četiri puta (BBCH 61, 65, 81, 85) (Meier, 1997), a standardni fungicid Ronilan-DF (vinklozolon, 500 g/kg; BASF) dva puta – na početku cvećanja (BBCH 61) i pred početak zrenja (BBCH 65). Ispitivani preparati primenjeni su pomoću leđne prskalice „Solo 425” uz utrošak 1000 L/ha tečnosti. Kontrolu su predstavljale netretirane biljke. Koncentracije primene preparata prikazane su u tabelama sa rezultatima oglada (Tabele 1, 2 i 3).

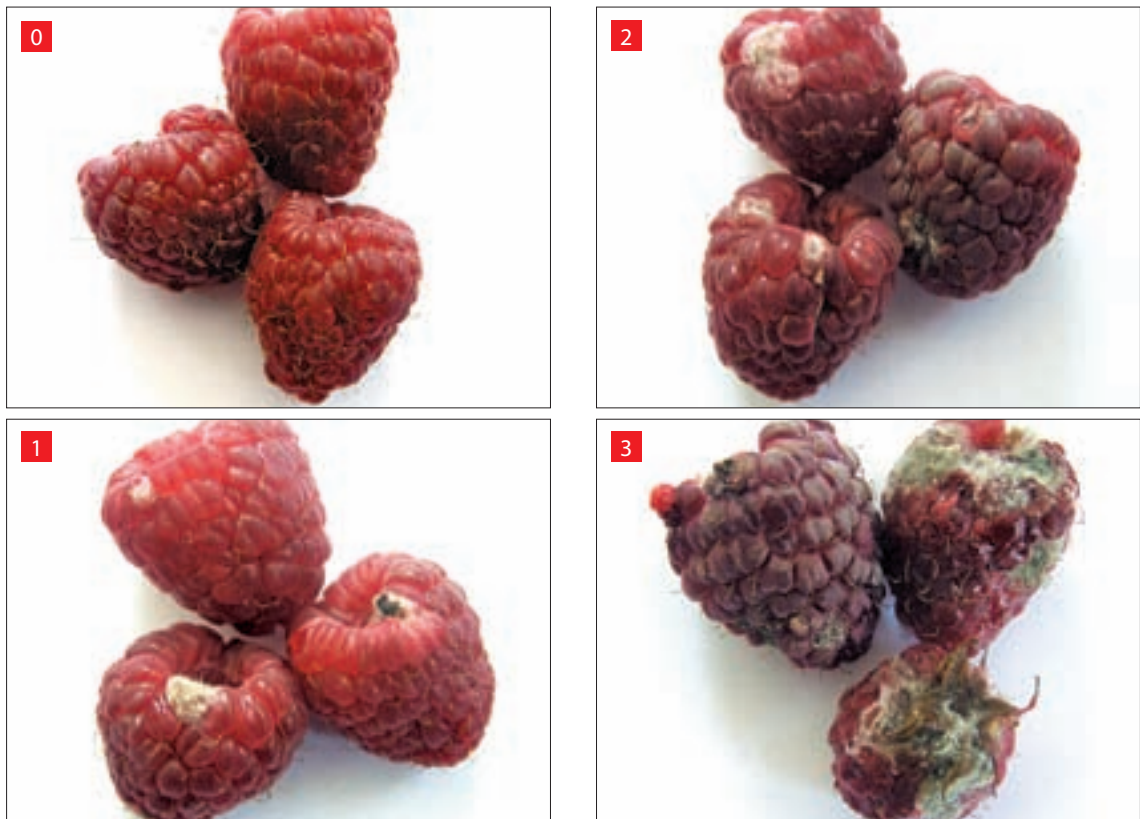
Efikasnost ispitivanih fungicida ocenjena je na osnovu izračunatog indeksa oboljenja zaraženih plodova, ubranih 20 do 30 dana nakon poslednjeg tretmana i inkubiranih dva dana na temperaturi od 7°C. Plodovi su razvrstavani prema skali: **0** = nema simptoma, zdrav plod; **1** = trulež zahvatila jednu orašicu; **2** = trulež zahvatila do 1/3 ploda; **3** = trulež zahvatila preko 1/3 ploda (Slika 1).

Intenzitet oboljenja izračunat je po Townsend-Heuberger-ovoj formuli, efikasnost po Abbott-u, a za obradu rezultata korišćene su standardne statističke metode PP 1/181(2) (EPPO, 1997b), analiza varijanse i Duncan-ov test.

## REZULTATI

U Tabelama 1, 2 i 3 prikazane su srednje vrednosti indeksa oboljenja (0.4, odnosno 1.8 u kontroli) i efikasnosti ispitivanih fungicida. U toku 2004. godine biofungicid Polyversum ispoljio je statistički značajno manju efikasnost (50.3% i 53.9%) u odnosu na standardni preparat Ronilan-DF (61.3% i 66.4%) (Tabela 1).

Indeks oboljenja u tretmanima primene Polyversum-a tokom 2005. godine uglavnom se statistički zna-



Sl. 1. Skala za ocenu intenziteta zaraze plodova maline (0 = nema simptoma, 1 = trulež zahvatila jednu orašicu, 2 = trulež zahvatila do 1/3 ploda, 3 = trulež zahvatila 1/3 ploda)

Fig. 1. Scale for disease severity estimation on raspbeberry fruits (0 = no symptoms, 1 = only one drupelet of a berry is affected, 2 = less than 30% of a berry is affected, 3 = more than 30% of a berry is affected)

Tabela 1. *B. cinerea* - Srednje vrednosti indeksa oboljenja (IO) i efikasnost ispitivanih fungicida (lokaliteti: Dragijejica i Družetić, 2004. godine)

Table 1. *B. cinerea* - Mean values of disease severity index (IO) and efficacy of tested fungicides (localities: Dragijejica and Družetić, 2004)

| Preparati<br>Fungicides | Koncentracija<br>preparata (%)<br>Concentration<br>of fungicides (%) | Dragijejica (Valjevo) |                                | Družetić (Koceljeva) |                                |
|-------------------------|--|-----------------------|--------------------------------|----------------------|--------------------------------|
|                         |  | (IO)*                 | Efikasnost (%)<br>Efficacy (%) | (IO)*                | Efikasnost (%)<br>Efficacy (%) |
| Polyversum              | 0.05   | 0.5 b                 | 53.9                           | 0.2 b                | 50.3                           |
| Ronilan-DF              | 0.15   | 0.4 a                 | 61.3                           | 0.1 a                | 66.4                           |
| Kontrola<br>Untreated   | -  | 1.6 c                 | -                              | 0.4 c                | -                              |

\*Srednje vrednosti obeležene istim slovima ne razlikuju se statistički značajno (LSD test,  $p < 0.05$ )

\*Mean values within columns followed by same letters are not significantly different (LSD test,  $p < 0.05$ )

čajno razlikovao od kontrole, ali je efikasnost zaštite bila uvek nešto slabija u odnosu na Ronilan-DF. Najmanju efikasnost ispitivani biofungicid ispoljio je na lokalitetu Rasna (18.0%), a najveću na lokalitetu Valjevske Kamenice (42.6%) (Tabela 2).

Slični rezultati efikasnosti ispitivanih preparata dobijeni su i tokom 2006. godine. Srednja vrednost indeksa oboljenja na lokalitetu Valjevske Kamenice iznosila je 0.4, odnosno 1.8 na lokalitetu Zlakusa. Pri koncentraciji primene Polyversum-a od 0.05% ispolje-

**Tabela 2.** *B. cinerea* - Srednje vrednosti indeksa oboljenja (IO) i efikasnost ispitivanih fungicida (lokaliteti: Rasna, Majur i Valjevska Kamenica, 2005. godine)**Table 2.** *B. cinerea* - Mean values of disease severity index (IO) and efficacy of tested fungicides (localities: Rasna, Majur and Valjevska Kamenica, 2005)

| Preparati<br>Fungicides | Koncentracija<br>preparata (%)<br>Concentration<br>of fungicides (%) | Rasna<br>(Požega) |                               | Majur<br>(Šabac) |                               | Valjevska Kamenica |                               |
|-------------------------|--|-------------------|-------------------------------|------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------------------|
|                         |  | (IO)*             | Efikasnost<br>Efficacy<br>(%) | (IO)*            | Efikasnost<br>Efficacy<br>(%) | (IO)*              | Efikasnost<br>Efficacy<br>(%) |
| Polyversum              | 0.05   | 1.4 b             | 18.0                          | 0.6 a            | 44.2                          | 0.9 a              | 42.6                          |
| Ronilan-DF              | 0.15   | 0.6 a             | 63.4                          | 0.6 a            | 48.7                          | 0.7 a              | 56.6                          |
| Kontrola<br>Untreated   | -  | 1.8 b             | -                             | 1.1 b            | -                             | 1.6 b              | -                             |

\*Srednje vrednosti obeležene istim slovima ne razlikuju se statistički značajno (LSD test, p<0.05)

\*Mean values within columns followed by same letters are not significantly different (LSD test, p<0.05)

**Tabela 3.** *B. cinerea* - Srednje vrednosti indeksa oboljenja (IO) i efikasnost ispitivanih fungicida (lokaliteti: Valjevska Kamenica i Zlakusa, 2006. godine)**Table 3.** *B. cinerea* - Mean values of disease severity index (IO) and efficacy of tested fungicides (localities: Valjevska Kamenica and Zlakusa, 2006)

| Preparati<br>Fungicides | Koncentracija<br>preparata (%)<br>Concentration of<br>fungicides (%) | Dragijevisa (Valjevo) |                               | Družetić (Koceljeva) |                               |
|-------------------------|--|-----------------------|-------------------------------|----------------------|-------------------------------|
|                         |  | (IO)*                 | Efikasnost<br>Efficacy<br>(%) | (IO)*                | Efikasnost<br>Efficacy<br>(%) |
| Polyversum              | 0.05   | 0.2 b                 | 51.5                          | 1.2 b                | 32.3                          |
| Ronilan-DF              | 0.15   | 0.04 a                | 90.3                          | 0.2 a                | 89.0                          |
| Kontrola<br>Untreated   | -  | 0.4 c                 | -                             | 1.8 c                | -                             |

\*Srednje vrednosti obeležene istim slovima ne razlikuju se statistički značajno (LSD test, p<0.05)

\*Mean values within columns followed by same letters are not significantly different (LSD test, p<0.05)

na je efikasnost od 32.3%, odnosno 51.5%. Međutim, u poređenju sa efikasnošću standardnog fungicida Ronilan-DF (89.0% i 90.3%) primenjenog u koncentraciji od 0.15%, varijanta sa primenom preparata Polyversum je statistički vrlo značajno slabija (Tabela 3).

## DISKUSIJA

U zavisnosti od vremenskih uslova, zaštita maline od *B. cinerea*, prouzrokovana sive truleži, obuhvata jedan do nekoliko tretmana fungicidima godišnje. S obzirom da se protiv ove fitopatogene vrste u praksi uglavnom koriste fungicidi visokog rizika od razvoja rezistentnosti, upotreba biofungicida Polyversum omogućava značajnu dopunu programa zaštite maline. Njegovom upotrebom postiže se i produženi vek trajanja hemijskih botriticida, jer sa povećanjem otpornosti *B. cinerea* dalja upotreba klasičnih fungicida često dolazi u pitanje

(Anonymus, 1998; Filajdić i sar., 2003). Dodatni problem predstavlja nepoštovanje propisanih poslednjih rokova tretiranja pred berbu (karenci). Direktna posledica ovakvog, neadekvatnog korišćenja fungicida, su ostaci u hrani i nepotrebno zagađenje životne sredine.

U našoj zemlji nema dovoljno podataka o biološkoj efikasnosti aktuelnih botriticida i osetljivosti/rezistentnosti populacija *B. cinerea*. Ispitivanja u periodu od 2003. do 2006. godine ukazuju na mogućnost uspešne primene Polyversum-a u kombinaciji sa klasičnim fungicidima. Tako, Tanović i sar. (2005) ističu zadovoljavajuću efikasnost Polyversum-a (60%-90%) ukoliko se primenjuje zajedno sa preparatima na bazi vinklozolina, pirimetanila, fenheksamida i benomila. Takođe, i u eksperimentima Miletića i sar. (2003) utvrđena je zadovoljavajuća efikasnost pomenutog biofungicida (50%-70%) u suzbijanju *B. cinerea*. Isti istraživači ukazuju i da su za uspešno delovanje *P. olygandrum* neophodni odgovarajući uslovi spoljne sredine koji uti-

ču na razvoj ove gljive i uopšte na ispoljavanje mikoparazitskog efekta.

Naši rezultati, kao i rezultati drugih autora, pokazuju da će Polyversum imati značajno mesto u programu integralne zaštite maline kao prihvatljivo rešenje, kako sa aspekta biološke ispravnosti hrane, tako i sa aspekta zaštite životne sredine. S obzirom da je reč o biološkom preparatu koji gotovo da nema toksikoloških i ekotoksikoloških ograničenja, to mu daje značajnu prednost za širu upotrebu u zaštiti bilja.

## LITERATURA

- Al-Rawabi, A.K. and Hancock, J.G.:** Parasitism and Biological Control of *Verticillium dahliae* by *Pythium oligandrum*. Plant Disease, 82: 1100-1106, 1998.
- Anonymous:** Status report & Recommended fungicide resistance management guidelines, <http://www.GCPF.org/FRAC/FRAC.html>, 1998.
- Benhamou, N., Rey, P., Picard, K. and Tirilly Y.:** Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction between the mycoparasite *Pythium oligandrum* and soilborne plant pathogens. Phytopathol., 89: 506-517, 1999.
- Brožova, J.:** Exploitation of the Mycoparasitic Fungus *Pythium oligandrum* in Plant Protection. Plant Protection Science, 38: 29-35, 2002.
- Coley-Smith, J.R.:** The Biology of *Botrytis*, Academic Press, London, 1980.
- Davanlou, M., Madsen, A.M., Madsen, C.H. and Hockenhull, J.:** Parasitism of macroconidia, chlamydospores and hyphae of *Fusarium culmorum* by mycoparasitic *Pythium* species. Plant Pathol., 48: 352-359, 1999.
- EPPO (a):** Guidelines for the efficacy evaluation of fungicides: *Botrytis cinerea* on strawberries – PP 1/16(2), in EPPO Standards: Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products, 2, OEPP, Paris, 1997, pp. 17-19.
- EPPO (b):** Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products: Conduct and reporting of efficacy evaluation trials – PP 1/181(2), in OEPP Standards: Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products, 2, OEPP, Paris, 1997, pp. 52-58.
- Filajdić, N., Vukša, P., Ivanović, M. i Rekanović, E.:** Biološke mere zaštite bilja: problemi i perspektive. Pesticidi, 18: 69-75, 2003.
- He, S.S., Zhang, B.X. and Ge, Q.X.:** On the antagonism by hyperparasite *Pythium oligandrum*. Acta Phytopathol. Sinica, 22: 77-82 1992.
- Ivanović, S.M. i Ivanović, M.D.:** Mikoze i pseudomikoze biljaka. Poljoprivredni fakultet, Beograd, 2001.
- Laing, S.A.K. and Deacon, J.W.:** Video microscopical comparison of mycoparasitism by *Pythium oligandrum*, *P. nunn* and unnamed *Pythium* species. Mycol. Res., 95: 469-479, 1991.
- Latinović, N., Vučinić, Z. i Vukša, P.:** Efikasnost biofungicida Polyversum (*Pythium oligandrum* Drechsler) u suzbijanju crne pjegavosti vinove loze. Pesticidi i fitomedicina, 20: 37-41, 2005.
- Lutchmeah, R.S. and Cooke, R.C.:** Pelleting of seed with antagonist *Pythium oligandrum* for biological control of damping-off. Plant Pathol., 34: 528-531, 1985.
- Meier, U. (Ed.):** Entwicklungsstadien mono- und dikotyle Pflanz, BBCH-Monograph, Blackwell Wissenschaftsverlag Berlin, 1997.
- Mijatović, M., Ivanović, M. i Zečević, B.:** Mogućnost primene nekih preparata u zaštiti paprike od prouzrokovala zelenog uvenuća. Zbornik rezimea Šestog savetovanja o zaštiti bilja, Zlatibor, 2003, 63.
- Miletić, N., Rekanović, E., Stević, M., Latinović, N. i Miladinović, Z.:** Preliminarna ispitivanja biofungicida Polyversum® (*Pythium oligandrum* Drechsler). Zbornik rezimea Šestog savetovanja o zaštiti bilja, Zlatibor, 2003, 113.
- Nikolić, M., Mišić, P., Ivanović, M. and Milivojević, J.:** The state and prospects of raspberry production in Serbia. Book of abstracts of 9th International Rubus and Ribes Symposium, Santiago, Chile, 2005, pp. 22.
- Rekanović, E., Tanović, B., Todorović, B. i Obradović, A.:** Mogućnost zaštite paprike od verticiloznog uvenuća klasičnim i biofungicidima. Zbornik rezimea Petog kongresa o zaštiti bilja, Zlatibor, 2004, 358.
- Rekanović, E.:** Mogućnost biološkog i hemijskog suzbijanja prouzrokovala zelenog uvenuća u početnim fenofazama razvoja paprike. Pesticidi i fitomedicina, 21: 149-160, 2006.
- Rekanović, E.:** *Verticillium* spp. i mogućnost biološke i hemijske zaštite paprike. Magistarska teza, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, 2005.
- Sutton, J.C.:** Epidemiology and management of botrytis leaf blight of onion and grey mould of strawberry: a comparative analysis. Can. J. Plant Pathol., 12: 100-110, 1990.
- Tanović, B., Rekanović, E., Potočnik, I. and Todorović, I.:** Effectiveness of fungicides and biofungicides in the control of grey mould of raspberry in Serbia. Book of abstracts of 9th International Rubus and Ribes Symposium, Santiago, Chile, 2005, pp. 31.

# Efficacy of the Biofungicide Polyversum™ in Controlling *Botrytis cinerea* Pers. on Raspberry Fruits

## SUMMARY

Efficacy of a biological fungicide product, Polyversum™ (*Pythium oligandrum* Drechsler), in controlling grey mould of raspberries *Botrytis cinerea* Pers. was tested at sites around Valjevo, Požega and Šabac in 2004, 2005 and 2006. The experiments were conducted and data processed using EPPO methods.

Efficacy was found to be significantly lower statistically in the experimental variants involving Polyversum™ biofungicide (E = 18.0%-53.9%) than the standard botricide Ronilan-DF (E = 56.6%-90.3%).

Our results show that the biological product Polyversum™ achieved significant efficacy although poorer than the standard fungicide Ronilan-DF. As it is a biological product almost entirely free of any toxicological and ecotoxicological limitations, it offers a significant advantage for widespread usage in plant protection.

**Keywords:** Polyversum; *Pythium oligandrum*; *Botrytis cinerea*; Raspberries; Efficacy