

Pregledni rad
Review Paper
UDK: 632.937

Biološke mere zaštite bilja: problemi i perspektive

Nenad Filajdić¹, Petar Vukša², Mirko Ivanović² i Emil Rekanović³

¹ Bioprotekta LLC, St. Luis, USA, ² Poljoprivredni fakultet, Beograd - Zemun,

³ Institut za istraživanja u poljoprivredi "Srbija", Centar za pesticide i zaštitu životne sredine, Beograd - Zemun

REZIME

Ideja suzbijanja patogena, štetočina i korova biološkim merama nije nova. Međutim, u poslednje vreme, proširuju se saznanja o tom načinu zaštite bilja i raste potreba za novim proizvodima koji bi bili alternativa, ili dopuna hemijskim merama zaštite. Pooštrena regulativa koja se odnosi na pesticide i njihovu primenu, kao i nova saznanja o eventualnoj štetnosti tih proizvoda, smanjuju ponude velikih agrohemijskih kompanija, a time i mogućnosti za uspešnu i ekonomičnu zaštitu bilja. Uz sve ovo prisutna je i opasnost od razvoja rezistentnosti štetnih organizama na klasične pesticide, što daje novu dimenziju problemima sa kojima se industrija hemijskih pesticida susreće.

Najviše interesovanja za biološke preparate do sada je bilo u oblasti kontrole štetnih insekata, i to uglavnom zbog relativnog uspeha proizvoda na bazi *Bacillus thuringiensis*-a. Međutim, tokom poslednje decenije bilo je nekoliko uspešnijih pokušaja razvoja bioloških fungicida, nematicida i herbicida. I pored svega toga, proizvodi za zaštitu bilja na bazi živih organizama, za sada, zauzimaju veoma mali deo ukupne globalne industrije pesticida od oko 32 milijarde dolara godišnje (Warrior, 2000).

Većina živih organizama koji se ispituju u svrhe biološke borbe, pripada kategoriji gljiva, bakterija ili artropoda. Gledano sa komercijalne strane, broj živih organizama koji se koriste u preparatima za zaštitu bilja je mali. Ograničen je uglavnom problemima umnožavanja i stabilnosti organizama tokom skladištenja, kao i teškoćama prilikom formulisavanja preparata.

Ovaj rad ima za cilj da prikaže stanje u primeni bioloških mera borbe, probleme sa kojima se ova oblast suočava kao i perspektive za njen dalji razvoj.

Ključne reči: *Biološki preparati; rezistentnost; problemi; perspektive.*

UVOD

Od četrdesetih godina prošlog veka primena pesticida hemijskog porekla značajno je doprinela očuvanju proizvodnje hrane i drugih proizvoda, pa i danas na njih otpada oko 99% ukupne potrošnje pesticida.

Poslednjih deceniju do dve, u javnosti, pa i u stručnim krugovima, raste zabrinutost, kako zbog smanjenja efikasnosti pesticida usled razvoja rezistentnosti štetnih organizama, tako i zbog novih saznanja o riziku njihove primene po zdravlje ljudi, zagađivanje proizvoda i nepovoljnim efektima na životnu sredinu u celini (Warrior, 2000).

Uz to, povećani troškovi razvoja novih proizvoda hemijskog porekla, smanjenje tržišta i pooštreni uslovi registracije doprineli su porastu interesovanja za alternativne mere suzbijanja štetnih organizama, među kojima posebno mesto pripada biološkim merama zaštite (Cartwright i Benson, 1995a, b, c; Howell i Stipanovic, 1979; Templeton, 1986; Weller, 1983).

Iako interesovanje za biološke mere zaštite raste, broj kompanija i državnih organizacija koje se bave razvojem i komercijalizacijom bioloških preparata se smanjio i prati trend smanjenja proizvodnje u agrohemijskoj industriji (Filajdić, 2002). Na proizvodnju i prodaju bioloških preparata u svetu otpada oko 300 miliona dolara, što je manje od 1% ukupne prodaje pesticida. Od toga oko 94% se odnosi na preparate na bazi *Bacillus thuringiensis*-a.

Malo učešće bioloških preparata u ukupnoj proizvodnji pesticida, i dominantno mesto bakterijskih preparata među njima, dovodi se u vezu sa time što je kod *B.t.* aktivna materija protein čije je formulisanje znatno olakšano u odnosu na proizvode gde je aktivna materija živi organizam.

U poslednje dve decenije istraživanja na polju bioloških preparata su porasla, što je rezultiralo registracijom većeg broja preparata. U njihovom razvoju i komercijalizaciji učestvuju male kompanije, a dok velike, uglavnom, nisu pokazivale adekvatno interesovanje, što se može dovesti u vezu i sa relativno malim i nerazvijenim tržištem.

Rastu proizvodnje bioloških preparata doprinose njihove prednosti u odnosu na klasične pesticide kao što su bezbednost za čoveka, korisne organizme i okolinu u celini, pogodnosti za primenu u

konceptu integralne zaštite zbog specifičnosti delovanja na ciljnu grupu štetnih organizama, a sa komercijalnog stanovišta se ističe da su troškovi njihovog razvoja, registracije i proizvodnje znatno manji u odnosu na pesticide hemijskog porekla.

Imajući u vidu prednosti i mane bioloških mera zaštite, njihovo slabo poznavanje i malu zastupljenost želimo da radovima na ovu temu doprinesemo dobroj praksi zaštite bilja i pomognemo u sagledavanju mesta biopreparata, posebno u konceptu ekološki prihvatljive zaštite bilja.

VAŽNIJI PREDUSLOVI ZA USPEH U RAZVOJU I PRODAJI BIOLOŠKIH PREPARATA

Pronalaženje novih organizama sa perspektivom da se koriste u zaštiti bilja uglavnom se baziralo na slučajnom otkriću, a ispitivani su razni organizmi u laboratoriji i/ili polju i izdvajani su oni od kojih su mogli nastati novi proizvodi. Najveće probleme u razvoju i komercijalizaciji bioloških preparata predstavljali su tehnički faktori kao što su količina primene, formulisanja preparata, postojanost tokom skladištenja i stabilnost posle primene. Problem je bio još veći ako su biopreparati korišćeni izvan laboratorije, staklenika i drugih kontrolisanih uslova.

Problemi proizvodnje i primene

Savladavanje proizvodnog procesa često je bilo nepremostiva prepreka jer je trebalo zadržati pogodnosti odabranih organizama a da proizvodni proces ne bude preterano složen i skup.

Da bi proizvodni proces mikroorganizama bio uspešan trebalo je zadovoljiti nekoliko uslova (Warrior, 2000):

- kontrola proizvodnog procesa od početka gajenja mikroorganizama,
- kvalitetan proces fermentacije,
- oslobađanje mikroorganizama posle fermentacije i
- kvalitetna formulacija, konačnog proizvoda (preparata).

Formulacija bioloških preparata jedan je od najznačajnijih preduslova za uspeh proizvodnje i, u isto vreme, verovatno i najviše ispitivanih. Da bi se održala vitalnost, klijavost i druge prirodne osobine mikroorganizama u preparate se često dodaju različiti sastojci.

Važan faktor je i obezbeđenje postojanosti formulacije prilikom mešanja sa drugim preparatima, a najkritičnija je stabilnost u vodi različite kiselosti, tvrdoće i temperature. Ponekad je neophodno i dodavanje okvašivača, razređivača i zaštitnih faktora za zaštitu mikroorganizama od štetnog delovanja ultravioletnog zračenja.

U nedavnim istraživanjima i optimizaciji formulacije mikroherbicida, Bioprotekta LLC u saradnji sa kompanijom Agricultural Research Initiatives, Inc. ispitivala je relativno novi način formulacije mikroorganizama - mikroinkapsulaciju. Dobijane su kapsule veoma malih dimenzija u kojima su se nalazili mikroorganizmi zajedno sa supstancama koje služe njihovoj zaštiti. Na taj način je povećana stabilnost preparata, kao i njegova postojanost posle primene. Kao nosač je upotrebljavan vosak koji se topi na određenim temperaturama tako da kapsula ostaje stabilna sve dok se u polju ne ostvare povoljni uslovi za oslobađanje mikroorganizama.

Za potrebe zaštite bilja "Bioprotekta" planira da ispita i "priling" - poseban metod mikroinkapsulacije koji je korišćen u farmaceutskoj industriji. Tokom ovog procesa mikrokapsule se stvaraju tako što se parafinski vosak meša sa mikroorganizmom i tečnost dezintegriše u veoma sitne kapi, koje se kasnije hlade formirajući mikrokapsule. U njima ostaje mikroorganizam sa zaštitnim materijalima.

Mnogi materijali se mogu podvrći ovoj metodi u cilju stvaranja mikrokapsula, a najpovoljnijim se pokazao vosak, zbog svojstava koja omogućavaju lako oslobađanje mikroorganizama u prirodi posle primene. Uz to, ovi preparati se dobro skladište i lako primenjuju, a ni troškovi proizvodnje ne bi trebalo da budu ograničavajući.

Ni titanijum dioksid ne bi trebalo da predstavlja problem u stvaranju mikrokapsula, jer su ranija istraživanja pokazala da je on veoma pogodan za ovaj proces (Dr. Kelly Cartwright, ARI, Inc., privatna komunikacija). Veličina kapsula na kraju procesa trebalo bi da iznosi oko 100 mikrometara, što ne bi trebalo da predstavlja teškoću prilikom rastvaranja u vodi kao ni u primeni.

I drugi materijali su, takođe, ispitivani u procesu mikroinkapsulacije i većina se pokazala pogodnim. Među njima je najznačajniji kaolin za produžavanje vitalnosti mikroorganizama. Značajna su i mnoga sredstva koja poboljšavaju hranljive kvalitete preparata, a posebnu pažnju treba posvetiti faktorima koji povećavaju klijavost konidija i drugih struktura inkapsuliranih mikroorganizama.

Iako su istraživanja u cilju pronalazjenja boljih formulacija tek u razvojnoj fazi, već sada se sa sigurnošću može reći da će metode mikroinkapsulacije biti po-

voljnije za formulaciju mikroorganizama u odnosu na starije, često korišćene metode peletizacije (Walker i Konick, 1983) i tečne alginacije (Knudsen, 1990).

Poseban problem predstavlja dužina skladištenja bioloških preparata. Mnogi biološki preparati koji su do sada ispitivani nisu stigli do faze komercijalizacije zbog nestabilnosti. Novija istraživanja pokazuju da se postojanost prilikom skladištenja može poboljšati dodavanjem smese pirinčanog brašna, glutena, gline i ulja (Hebbar, 1999). Norman i Trujillo (1995) su pokazali da upotreba kaolinskih formulacija poboljšava postojanost bioloških herbicida tokom skladištenja, ali samo pri temperaturama ispod 1°C.

Jedan od problema koji do sada nije rešen jeste povećanje klijavosti mikroorganizama posle primene. Ovo se teoretski može rešiti dodavanjem etilena. On je za to veoma pogodan, ali postoje teškoće oko njegove inkapsulacije jer je veoma isparljiv. Bioprotekta LLC i ARI, Inc. su problem isparavanja pokušali da reše dodavanjem raznih prekursora etilena koje je moguće inkapsulirati a da oni kad se nađu na površini biljke mogu da ga otpuste i indirektno pomognu klijavost mikroorganizama koji se koristi za biološku zaštitu bilja.

U gore pomenutom istraživanju, u procesu formulacije dodavane su različite supstance za poboljšanje vitalnosti, stabilnosti posle primene i efikasnosti mikroorganizama. Najvažnije su titanijum dioksid za zaštitu od ultravioletnog zračenja, parafinski voskovi za mikroinkapsulaciju, kaolin i druge supstance za povećavanje hranljivosti formulacije.

Do sada najveći broj formulacija bioloških preparata bio je u obliku prašiva ili granula. Smatra se da će mikroinkap-

sulacija imati velike prednosti nad njima jer je tim metodom moguće prevazići sve važnije probleme u procesu formulacije bioloških preparata, a naročito zaštitu mikroorganizama pre i posle primene, kao i povećanje postojanosti preparata tokom skladištenja.

Kontrola kvaliteta

Uspešno formulisanje i komercijalizacija mikroorganizama podrazumeva i rigoroznu kontrolu kvaliteta preparata. Ovo je jednako ili, možda, još potrebnije nego kod proizvodnje hemijskih pesticida, zbog veće varijabilnosti aktivne materije i kompleksnosti nosača i drugih sastojaka.

Cilj kontrole kvaliteta je da se obezbedi ujednačenost, stabilnost i efikasnost preparata.

Značaj kontrole kvaliteta i standardizacija primenjena na biološke preparate sažet je u dokumentu Svetske zdravstvene organizacije (Cibulsky, 1999).

Protokoli kontrole kvaliteta treba uvek da podležu standardima Dobre laboratorijske prakse (GLP) i Dobre proizvodne prakse (GMP). Specifikacija svakog proizvoda treba da uključi sledeće podatke:

- identifikaciju izolata mikroorganizama,
- tačan opis aktivne materije,
- broj spora ukoliko su ti podaci poznati,
- opis biološke stabilnosti,
- fizičke osobine formulacije (indeks korozivnosti, veličinu čestica, viskozitet, gustinu, boju, miris, vreme okvašivanja, osobine disperzije i rastvaranja).

Iz ovoga se vidi da je kontrola kvaliteta jedna od najtežih prepreka za uspe-

šnu komercijalizaciju bioloških preparata, naročito za manje kompanije koje nemaju uvek potrebna sredstva da bi se ovaj proces besprekorno sprovodio. Svemu tome treba dodati i probleme pakovanja, koji, iako izgledaju lako premostivi, često predstavljaju značajnu prepreku kada su u pitanju manje kompanije sa ograničenim sredstvima.

Problemi plasmana proizvoda

Ukoliko se svi pomenuti problemi uspešno reše još uvek ostaje velika prepreka obrazovanja potrošača o osobinama, prednostima i nedostacima biopreparata.

Proizvodi zasnovani na ovim metodama su relativno novi i nepoznati pa je za njihovu uspešnu komercijalizaciju potrebno veoma pažljivo pripremanje tržišta. Jednu od najvećih prepreka uspešnoj prodaji predstavlja naklonost potrošača da direktno poredi proizvode na bazi bioloških metoda zaštite sa hemijskim pesticidima. Zbog toga biološki preparati treba da prate standarde proizvođača hemijskih pesticida, što nije uvek lako zbog već navedenih problema u formulaciji. Međutim, smatra se da je uspešnu pripremu tržišta i kasnije prodaju moguće izvršiti pažljivim i usmerenim objašnjavanjem svih prednosti koje biološki preparati pružaju.

Jedan od značajnih faktora za uspešan razvoj tržišta je njegova segmentacija. Proizvodi na bazi biološke kontrole neće biti primenjivi za sve proizvođače. Iskustva iz Zapadne Evrope i SAD pokazuju da ovakva sredstva imaju najširu primenu u kulturama većeg ulaganja kao što su voće i povrće. Upotreba bioloških preparata u staklenicima predstavlja značajnu

prednost, jer u kontrolisanim uslovima ne postoje neki od problema koji prate ove preparate u polju, kao što su nepovoljni uslovi životne sredine. Preparati na bazi biološke zaštite su u kontrolisanim uslovima obezbeđeni uslovi vlage i temperature koji im omogućavaju optimalno delovanje. To, često, nije slučaj u polju, kada je ponekad teško održati aktivnost mikroorganizma posle prskanja, a pre nego što on počne da deluje. Takođe, veoma je važno proizvođačima objasniti prednosti i nedostatke svakog biološkog proizvoda, na svakoj kulturi. Time se postiže da proizvođač od početka ima realna očekivanja i da kasnije ostvari realne rezultate.

Neki primeri uspeha bioloških preparata

Pored očigledne dominacije preparata na bazi *B. thuringiensis-a*, veliki broj proizvoda zasnovan je na nekoliko familija, uglavnom gljiva i bakterija. Među bakterijama najviše su ispitivani i primenjivani organizmi iz rodova *Pseudomonas*, *Xantomonas* i *Bacillus*. "Bioprotekta" LLC i ARI, Inc. imali su priliku da ispituju mikroinkapsulaciju jedne bakterije iz roda *Pseudomonas* čija se aktivnost pokazala kao izuzetno dobra. Prepreka kod razvoja ovog mikroorganizma bila je u tome što je druga kompanija imala patent na njegovu primenu a kasnije je odlučila da obustavi razvoj ovog proizvoda, tako da se očekuje da će uskoro prodati prava na njegovo korišćenje.

Među rodovima koji pripadaju gljivama korišćenim za biološke mere zaštite bilja najčešće ispitivane i primenjivane vrste pripadaju porodicama *Trichoderma*, *Phytophthora* i *Pythium*. Među njima

T. harzianum i *T. viridae* predstavljaju mikroorganizme koji sačinjavaju najveći broj bioloških fungicida. U poslednje vreme dosta pažnje se posvećuje novom proizvodu koji pripada češkoj firmi "Biopreparáty" pod imenom *Polyversum*. Ovaj proizvod ima veoma širok spektar delovanja, najčešće na zemljišne patogene, mada kontroliše i neke lisne bolesti, kao što je *Botrytis* na vinovoj lozi. Ovako širok spektar dejstva je pomalo neuobičajen za preparate na bazi biološke kontrole i svakako pruža velike prednosti za proizvođače. *Polyversum* bi trebalo da bude prvi proizvod na bazi biološke kontrole bolesti u našoj zemlji i trenutno je u procesu ispitivanja u kontrolisanim uslovima kao i na polju, u više kultura.

PERSPEKTIVE BIOLOŠKIH PREPARATA

I pored svih navedenih prepreka smatra se da ova grana zaštite bilja ima dobru perspektivu. Zbog svoje specifičnosti proizvodi na bazi biološke kontrole zauzimaju poseban deo poljoprivredne proizvodnje i taj trend će se verovatno nastaviti u budućnosti. Ovi preparati nisu kompletna zamena za hemijske pesticide, ali biopreparati svakako predstavljaju značajnu dopunu i unapređenje celokupne industrije zaštite bilja. Proizvođači hemijskih pesticida ne bi trebalo da vide biološke preparate kao pretnju na tržištu. Naprotiv, ova sredstva predstavljaju veoma koristan metod u borbi protiv razvijanja rezistentnosti štetnih organizama prema hemijskim pesticidima. Upotrebom ovih sredstava postizaće se, između ostalog, i produžen vek trajanja hemijskih pesticida, jer posle razvoja otporno-

sti štetnih organizama dalja upotreba pesticida često dolazi u pitanje.

Smatra se da biološke metode zaštite bilja predstavljaju, uz biotehnologiju, jednu od najzanimljivijih i najboljih alternativa ili dopuna hemijskim pesticidima. Velika prednost bioloških metoda u odnosu na biotehnologiju leži u činjenici da biotehnoški proizvodi nose sa sobom dozu kontroverznosti, što je rezultirao teškoćama oko njihovog prihvatanja u većini svetskih tržišta hrane. Situacija oko neprihvatanja proizvoda na bazi biotehnologije predstavlja još jednu priliku da se biološki preparati približe proizvođačima i da njihove prednosti postanu još jasnije, ne samo proizvođačima već i širokoj javnosti.

LITERATURA

Cartwright, D.K. and Benson, D.M.: Optimization of biological control of Rhizoctonia stem rot of poinsettia by *Paecilomyces lilacinus* and *Pseudomonas cepacia*. Plant Disease, **79**, 301-308, 1995.

Cartwright, D.K. and Benson, D.M.: Comparison of *Pseudomonas* species and application techniques for biocontrol of Rhizoctonia stem rot of poinsettia. Plant Disease, **79**, 309-313, 1995.

Cartwright, D.K. and Benson, D.M.: Biological control of Rhizoctonia stem rot of poinsettia in polyfoam rooting cubes with *Pseudomonas cepacia* and *Paecilomyces lilacinus*. Biological Control **5**, 237-244, 1995.

Cibulsky, R.J.: Environmental Health Criteria 217 - *Bacillus thuringiensis*. International Programme on Chemical Safety (ipcs). World Health Organisation (WHO), Geneva, 1999, pp.105.

Filajdić, N.: Globalizacija i druge promene u agrohemijskoj industriji u poslednjoj deceniji i budućí trendovi. XII simpozijum za zaštitu bilja, Zlatibor, 2002.

Howell and Stipanovic: Control of Rhizoctonia solani on cotton seedlings with *Pseudomonas fluo-*

rescens and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathology*, **69**, 480-482, 1979.

Knudsen, G.R.: Alginate pellet formulation of a *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) isolate pathogenic to cereal aphids. *J. Econ. Entomol.*, **83**, 2225-2228, 1990.

Templeton, G.E.: Mycoherbicide research at the University of Arkansas - Past, Present, and Future, *Weed Sci.*, **34** (Suppl), 35-37, 1986.

Warrior, P.: Living systems as natural crop-protection agents. *Pest Manag. Sci.*, **56**, 681-687, 2000.

Weller, D.M.: Colonization of wheat roots by a fluorescent pseudomonad suppressive to take-all. *Phytopathology* **73**, 1548-1553, 1983.

Warrior, P.: Living systems as natural crop-protection agents. *Pest Manag. Sci.*, **56**, 681-687, 2000.

Biological Control in Crop Protection: Problems and Perspectives

SUMMARY

The idea of fighting pathogenes, pests, and weeds by biological measures is not new. Only recently, however, has the need for this aspect of crop protection and related bioproducts arisen. Increasingly stricter legislation concerning pesticides and new information about their potential harmfulness have narrowed the scope of products, offered by large agrochemical companies, thus reducing the prospects of successful and profitable crop protection. In addition, there has been a high risk of resistance of harmful organisms to classical pesticides which throws new light on problems that the industry of chemical pesticides encounters. The control of harmful insects by bioproducts has been a matter of utmost interest, mainly due to a relative success of products, based on *Bacillus thuringiensis*. However, there has been a few more successful attempts of developing biological fungicides, nematocides, and herbicides in the last decade. Still, crop protection products, based on living organisms, represent a small portion of total pesticide industry which amounts to approximately 32 billion dollars per year (Warrior, 2000).

The majority of living organisms, being investigated with purpose of biological control, belongs to fungi, bacteria, or arthropodes. Commercially, the number of those applied in biopesticides is small, especially because of limitations, imposed on reproduction and stability of organisms in storage and formulation of biopesticides. The aim of this paper is to describe the status of biological control in crop protection, problems encountered, and perspectives of its future development.

Key words: *Biopesticides; Resistance; Problems; Perspectives.*
