

**VPLIV KOMERCIALNIH PRIPRAVKOV NA PODLAGI
ANTAGONISTIČNIH MIKROORGANIZMOV NA PRIDELEK PAPRIKE OB
PRISOTNOSTI PATOGENA *Verticillium dahliae* Kleb. (VERTICILIJSKA
UVELOST)**

Katarina KOS¹, Simona BLAGOTINŠEK², Lara TUREL³, Saša OGOREVC⁴,
Franci Aco CELAR⁵

¹⁻⁵ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

IZVLEČEK

V letu 2023 smo na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete preučevali potencialni vpliv antagonističnih mikroorganizmov na pridelek paprike 'Blondy F1', tipa babura ob prisotnosti/odsotnosti patogene glive *Verticillium dahliae*. Uporabili smo 3 pripravke, in sicer Trifender Pro (gliva *Trichoderma asperellum* sev T34), Prestop (gliva *Gliocladium catenulatum*) in Serenade ASO (bakterija *Bacillus amyloliquefaciens*). Tretiranje s pripravki je bilo izvedeno pred presajanjem sadik na prosto (namakanje sadik 10 dni pred sajenjem) ali po saditvi (zalivanje rastlin 6 dni po presajanju na polje). Pri obravnavanjih s patogenom *V. dahliae*, smo z njim rastline inokulirali tako, da smo platoje s sadikami paprike namakali v suspenziji spor 3 dni pred sajenjem na polje. Poskus z 11 obravnavanji je bil izveden v 4 blokkih in s 6 ponovitvami. Rezultati kažejo, da pripravki z antagonisti lahko malenkost pozitivno delujejo na sam pridelek paprike v primerjavi z negativno kontrolo (brez dodanih pripravkov). V kontrolnem obravnavanju Trifender PRO je bila povprečna masa 7 % večja kot v negativni kontroli, pri Prestopu 2 % in pri Serenade 4 %. Najslabši pridelek (16 in 17 % manjši kot v negativni kontroli) smo zabeležili pri kontroli *Verticillium*, kjer je bil inokuliran le patogen ter v kombinaciji *Verticillium* z naknadnim zalivanjem s pripravkom Trifender, sledi še kombinacija *Verticillium* z naknadnim zalivanjem s pripravkom Serenade (8 %) ter kombinaciji s patogenom s predhodnim namakanjem sadik v pripravka Serenade (6 %) ter Prestop (5 %). Leto ni bilo ugodno za izvajanje poskusa, saj je poleg toče, rastline paprike prizadela tudi povodenj, zato so rezultati zelo različni, čeprav je bil poskus razdeljen v bloke.

591

ABSTRACT

**THE EFFECT OF COMMERCIAL PRODUCTS BASED ON ANTAGONISTIC
MICROORGANISMS ON THE YIELD OF PEPPER IN THE PRESENCE OF THE
PATHOGEN *Verticillium dahliae* Kleb. (VERTICILLIUM WILT)**

¹ doc. dr., Jamnikarjeva ulica 101, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: katarina.kos@bf.uni-lj.si

² prav tam

³ prav tam

⁴ prav tam

⁵ prof. dr., prav tam

In 2023, we investigated the potential effects of antagonistic microorganisms on the yield of 'Blondy F1' babura type pepper in the presence/absence of the pathogenic fungus *Verticillium dahliae* in the Laboratory field of the Biotechnical Faculty. We used 3 commercial microbial products, namely Trifender Pro (fungus *Trichoderma asperellum* strain T34), Prestop (fungus *Gliocladium catenulatum*) and Serenade ASO (bacterium *Bacillus amyloliquefaciens*). Treatment with the microbial products was carried out before planting the seedlings outdoors (soaking the seedlings 10 days before planting) or after planting (watering the plants 6 days after planting in the field). In the treatments with the pathogen *V. dahliae*, the plants were inoculated with it by soaking plateaus with pepper seedlings in a spore suspension 3 days before planting out in the field. The trial with 11 treatments was carried out in 4 blocks and with 6 replicates. The results show that preparations with antagonists can have a slightly positive effect on the pepper yield compared to the negative control (no added microbial products). The average mass of the control treatment Trifender PRO was 7% higher than that of the negative control, Prestop 2% and Serenade 4%. The worst yield (16% and 17% less than the negative control) was recorded for the *Verticillium* control, in which only the pathogen was inoculated, and for the combination of *Verticillium* followed by irrigation with Trifender, followed by the combination of *Verticillium* followed by irrigation with Serenade (8%) and the combination with the pathogen by pre-soaking the seedlings in the suspension of Serenade (6%) and Prestop (5%). The year was unfavorable for conducting the trial, as the pepper plants were affected by hail and flooding, so that the results were very different, although the trial was divided into blocks.

592

1 UVOD

Biotično varstvo rastlin pred rastlinskimi patogeni temelji predvsem na uporabi antagonističnih mikroorganizmov. Ti tekmujejo z drugimi organizmi za prostor in hrano, poleg tega pa mnoge antagonistične glive lahko parazitirajo tudi druge glive (mikoparazitizem). Za nekatere antagoniste je znano, da delujejo stimulatивно na rastline, tako da jim omogočijo prevzem težko dostopnih hranil ali pa v samih rastlinah spodbudijo odpornost proti patogenom (Saldaña-Mendoza, in sod., 2023; Harman in sod., 2004; Hermosa in sod., 2012; Howell, 2003; Kumar in sod. 20217; Monte, 2001). Med pomembnejšimi patogeni, ki v rastline prodirajo predvsem preko korenin so tudi glive iz rodu *Verticillium*. Te v prevodnih tkivih povzročijo nastanek til, kar privede do venenja in lahko tudi do propada rastlin (Inderbitzin in Subbarao, 2014). Gliva *Verticillium dahliae* Kleb je omnivorna in okužuje preko 300 različnih vrst rastlin. Težavna je tudi zaradi tvorbe mikrosklerocijev, preživetvenih struktur, ki se v tleh lahko ohranijo več let, zato tudi širok kolobar ne zagotavlja učinkovite rešitve (Inderbitzin in Subbarao, 2014).

Raziskave tujih raziskovalcev so pokazale, da so bile glive iz rodu *Trichoderma* zelo uspešne in so okuženost z verticilijsko uvelostjo na paradižniku, jajčevcu in papriki zmanjšale za več kot 80 % (Dutta, 1981; Narisawa in sod., 2002; Slusarski in Pietr, 2009), nekatere na paradižniku celo za več kot 90 % (Benouzza in sod., 2020). Prav tako sta dva seva glive *T. asperellum* zmanjšala obseg simptomov zelo virulentne *V. dahliae* na oljkah, značilno povečala pa se je tudi rast preučevanih rastlin (Carrero-Carron in sod., 2016). Pei in sod. (Pei in sod., 2023) so preizkušali na Kitajskem

domorodni sev bakterije *B. amyloliquefaciens* Oj-2.16 in ugotovili, da je uspešno preprečil razvoj verticilijske uvelosti na paradižniku, celo do 89 %, hkrati pa je tudi vzpodbudil rast sadik paradižnika. V raziskavi Liu in sod. (Liu in sod. 2023) so izolirali drugi sev *B. amyloliquefaciens* (YZU-SG146) in ugotovili močno antagonistično delovanje na verticilijsko uvelost na bombažu, zopet pa je bakterija promovirala rast bombaža. Za ravno tako perspektivno pri varstvu pred verticilijsko uvelostjo na paradižniku se je pokazala tudi gliva *C. rosea* (*Gliocladium catenulatum*) s 66,6 % učinkovitostjo, potrdili so tudi ugoden vpliv antagonista na morfološke parametre paradižnika (Čevik in sod. 2022).

Namen našega poskusa je bil preizkusiti potencialno pozitivno delovanje pripravkov na osnovi treh antagonističnih mikroorganizmov na pridelek rastlin paprike in morebitno preprečevanje okužb z dodanim talnim patogenom *V. dahliae*.

2 MATERIALI IN METODE DE LA

Na Laboratorijskem polju BF smo za namen poskusa posadili 264 sadik paprike sorte 'Blondy F1' (sadike iz vrtnarstva Globočnik). Za tretiranje sadik smo uporabili pripravke Trifender Pro (gliva *Trichoderma asperellum* sev T34), Prestop (gliva *Gliocladium catenulatum*) in Serenade ASO (bakterija *Bacillus amyloliquefaciens*). Za kontrolna obravnavanja z mikroorganizmi (3, 4 in 5) ter obravnavanja z namakanjem sadik pred presajanjem (6, 7, 8; namakanje sadik je bilo izvedeno 19.5.2023) in obravnavanja z zalivanjem sadik (9, 10 in 11) teden po presajanju (5.6.2023), smo sadike paprike inokulirali s pripravki MO, in sicer pripravek Trifender v 0,5 %, Prestop 0,5 % in Serenade ASO 5 % koncentraciji. Sadike paprike smo inokulirali s patogeno glivo *V. dahliae* tako, da smo jih namakali v suspenziji spor 3 dni pred presajanjem na prosto. Sadike smo na prosto presadili 30.5.2023. Za zadnji sklop obravnavanj (9, 10 in 11) smo posajene na polju sadike zalili z 20 ml suspenzije pripravkov.

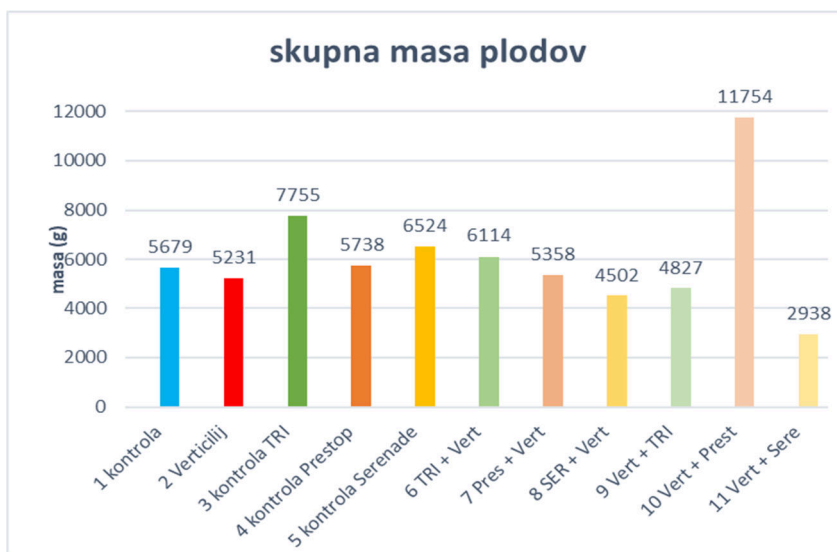
Paprike smo pobirali in ocenjevali večkrat tedensko, odvisno od dozorevanja plodov. Zadnje pobiranje smo opravili 25. septembra 2023. Ocenjevali smo število in maso plodov paprike za vsako rastlino posebej. Statistično analizo smo opravili za posamezne bloke in za celoten poskus, saj je bilo veliko zunanjih dejavnikov, ki so vplivali na poskus (odiranje folije ob močnem vetru in povodenj).

3 REZULTATI Z DISKUSIJO

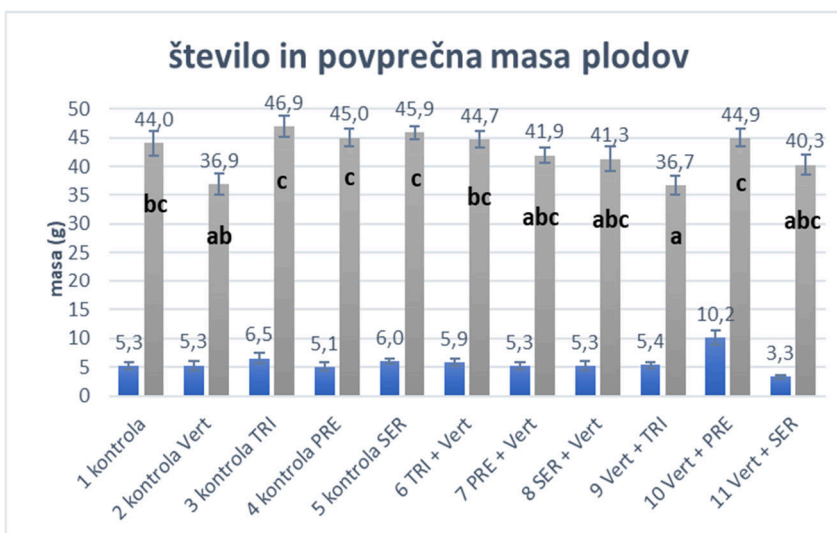
Rezultati so pokazali, da so pripravki z antagonisti pozitivno delovali na sam skupni pridelek paprike (slika 1) v primerjavi z negativno kontrolo (brez dodanih pripravkov). Med kontrolami smo najslabši skupni pridelek zabeležili pri kontroli s patogenom *Verticillium* (5231 g), najboljši pa pri kontroli s Trifenderjem (7755 g). Največje odstopanje je bilo pri obravnavanju s predhodno inokuliranim patogenom in naknadno zalito s pripravkom Prestop (obravnavanje 10 Vert+Pre). Tu je skupni pridelek znašal kar 11754 g, kar lahko sicer pripišemo najugodnejšim razmeram na polju v 1 in 4 bloku (brez zadrževanja vode), medtem ko je bila skupna masa v 2 in 3 bloku bistveno manjša in ni odstopala od mase v kontrolnem obravnavanju pripravka. Najmanjše povprečno število plodov (slika 2) je bilo pri obravnavanju 11 (11 Vert+Ser) in sicer 3,3 plodov na rastlino, največje pa pri obravnavanju 10 (Vert Pre) 10,2 plodov, sledila so še

obravnava kontrola Trifender s 6,5 plodovi, kontrola Serenade s 6 plodovi in obravnavanje 6 (TRI+Vert) s 5,9 plodovi. Največja povprečna masa ploda (slika 2) je bila ugotovljena pri obravnavanju 3 (kont TRI) s 46,9 g/plod, sledilo je obravnavanje 5 (kont SER) s 45,9 g (kont SER) s 45,9 g.

594



Slika 1: Skupna masa plodov (g).

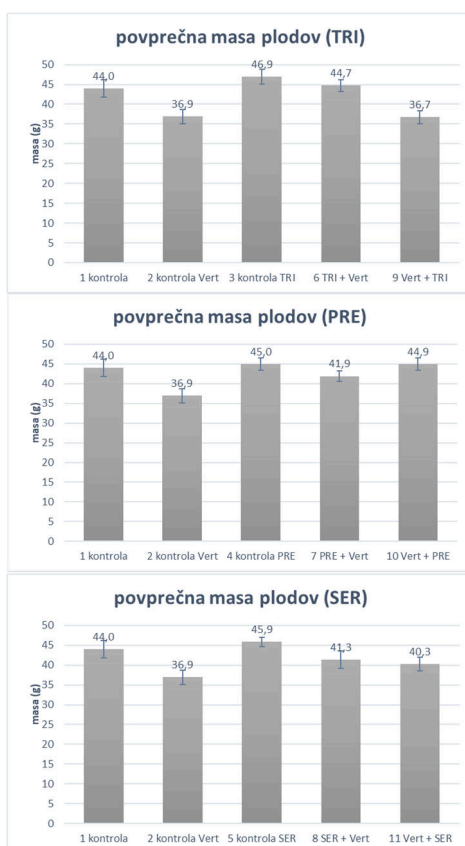


Slika 2: Število ter povprečna masa plodov po obravnavanjih.

Kljub nadpovprečnim rezultatom v skupni masi in številu plodov pri obravnavanju 11 pa je ta zaostajala v povprečni masi ploda, zato gre največjo zaslugo za večji pridelek pripisati večinoma veliko večjemu številu plodov, ki so se na rastlinah oblikovali v ugodnejših razmerah .

Tudi način aplikacije in prisotnost/odsotnost patogena sta vplivala na povprečno maso plodov (slika 3). V kontrolnih obravnavanjih, kjer so bili aplicirali samo pripravki brez patogena, so bile povprečne mase plodov povsod večje kot v negativni kontroli. Sledila so obravnavanja s predhodno namakanimi sadikami in kasneje inokuliranim patogenom, najmanjšo povprečno maso plodov pa smo izmerili v obravnavanjih, kjer smo s pripravki zalivali že presajene rastline, ki so bile predhodno inokulirane s patogenom (če bi izvzeli ekstrema pri 1 in 4 bloku obravnavanja 10 (slika 6) bi to veljalo tudi tu, povprečje bi doseglo 40,7 g).

595



Slika 3: Povprečna masa plodov glede na aplikacijo posameznih pripravkov (g).

Na slikah 4 in 5 je prikaz naključne razporeditve parcel z obravnavanji v 4 blokih ter potencialni vpliv zunanjih dejavnikov na rast rastlin paprike. Kjer je veter folijo odgrnil, se je ta dotikala sadik ali pa jih je prekrila in je nato zaradi vročine prišlo tudi do ožigov sadik. Poleg tega se na sliki 5 opazi tudi depresije po sredini njive in tudi v samih vrstah. Tam je zastajala voda in je prihajalo tudi do občasnega venenja rastlin zaradi presežka vode. Tako smo imeli kar nekaj težav pri samem gojenju paprike, kar se je pokazalo tudi na slabšem pridelku paprike, predvsem na parcelah, kjer je zastajala voda. Ko smo primerjali maso plodov po blokih, smo ugotovili, da so vrednosti na nekaterih parcelah veliko večje od povprečja in to vedno na parcelah, ki so bile najvišje (kjer ni zastajala voda). Te parcele in vrednosti skupne mase plodov so označene na slikah 4 in 6. Zanimiv rezultat je bil tudi pri kontroli patogena (2 - kontrola *Verticillium*), kjer je skupna masa plodov v 1. bloku (2.745 g) preseгла vrednosti tako v vseh negativnih kontrolah (1) in razen 2. bloka s Trifenderjem, tudi v vseh kontrolnih obravnavanjih z antagonisti ter v obravnavanjih z interakcijami (razen zopet pri obravnavanju 10 v 1. in 4. bloku).

596



Slika 4: Naključna razporeditev obravnavanj v 4 blokih.

Pri kontrolnih obravnavanjih s pripravki in tistih z interakcijo antagonistov in patogena je bil pridelok večji kot v kontroli, predvsem pri aplikaciji pripravka z namakanjem (pripravek Prestop v registraciji nima dovoljenja za uporabo z namakanjem sadik, temveč le za zalivanje/škropljenje ali kot dodatek rastnemu substratu!). Kljub temu, da velja sorta Blondy F1' za občutljivo za okužbo z verticilijsko uvelostjo, pa se v našem poskusu niso kazala znamenja okužbe; nobena rastlina ni propadla zaradi prisotnosti patogena, tudi v kontroli s patogenom ne.

597

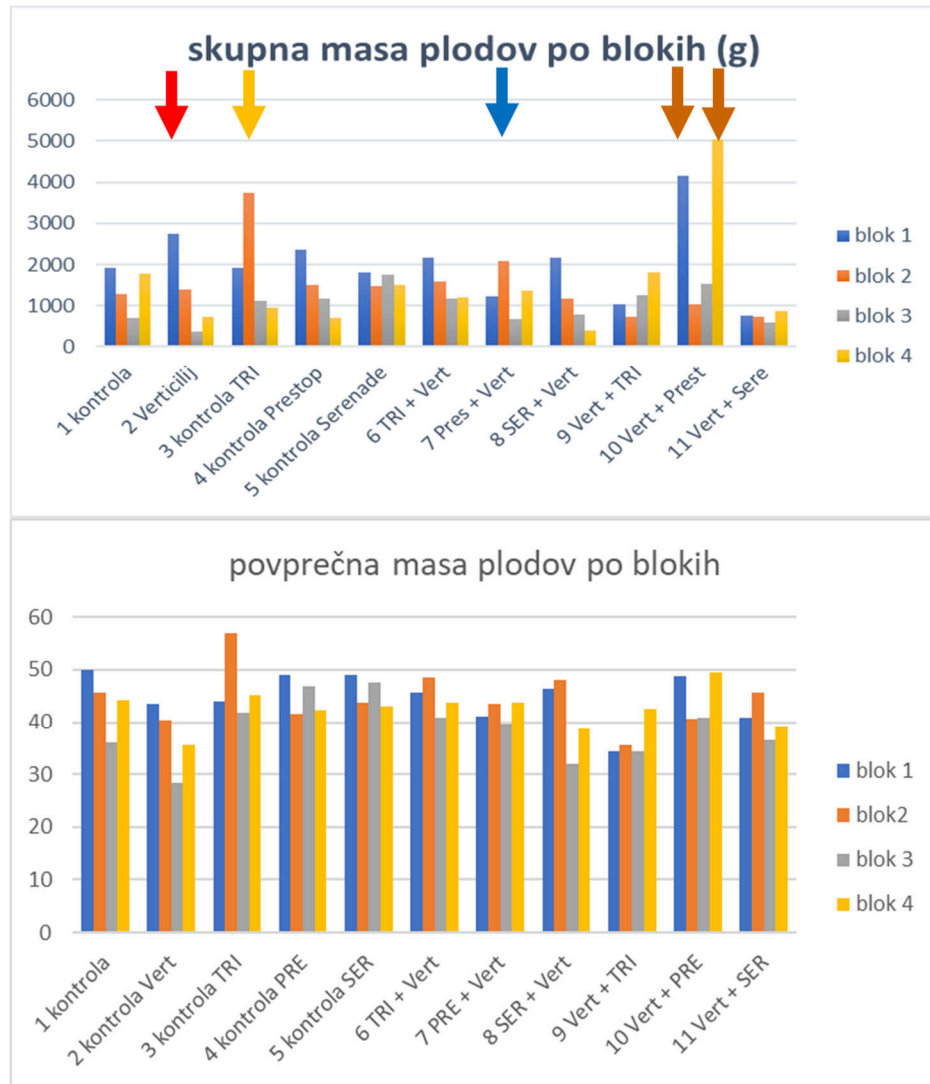


Slika 5: Prikaz zasaditve paprike v treh vrstah na Laboratorijskem polju BF. Vidno je tudi vihanje folije zaradi močnega vetra (ožig sadik) in na sredini njive depresije, kjer je zastajala voda.

Rastline na zunanjih robovih parcele so bile manj podvržene zunanjim dejavnikom (povodenj in vihanje folije zaradi močnega vetra, katere posledica so bile ožgane rastline), zato se nekatere vrednosti v obravnavanjih močno razlikujejo tudi po blokkih (sliki na levi). Močno povečane vrednosti vseh preučevanih parametrov so se kazale predvsem v 1. bloku 2. obravnavanja (kontrola *Vert*), v 3. obravnavanju (kontrola Trifender) v 2. bloku, izrazito pa je izstopalo obravnavanje 10 (*Verticillium* + Prestop) v 1. in 4. bloku, kjer je bila skupna masa plodov tudi 3 do 4-krat večja kot v ostalih dveh blokkih, povprečna masa plodov pa je bila približno za 1/5 večja. Zanimivo je bila zelo majhna povprečna masa pri obravnavanju 9 (*Vert*+*Tri*), celo nižja od kontrole s patogenom.

V naši raziskavi do simptomov okužbe z verticilijsko uvelostjo ni prišlo niti pri kontrolnem obravnavanju s patogenom, zato vpliva antagonistov na patogena nismo mogli ocenjevati. Pokazalo se je, da so antagonisti nekoliko vplivali na boljši skupni pridelek paprike, število plodov in povprečno maso plodov v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem brez pripravkov in kontrolo s patogenom.

598



Slika 6: Skupna masa plodov po blokih (puščice sovpadajo s tistimi na Sliki 4 in prikazujejo ekstreme zaradi boljših pogojev rasti; Slika 7 – povprečna masa plodov po blokih (g)).

4 ZAHVALA

Raziskava je opravljena v okviru programa strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin, ki ga financira UVHVVR. Zahvaljujemo se Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo za izolate glive *Verticillium* sp.

5 VIRI

- Benouzza S., Bellahcene M. in Fortas Z. 2020. Biocontrol of *Verticillium dahliae* by native *Trichoderma* strains isolated from Algeria. *Mycopath* 18(20): 59-70.
- Carrero-Carrón I., Trapero-Casas J., Olivares-García C., Monte E., Hermosa R., Jiménez-Díaz R.M. 2016. *Trichoderma asperellum* is effective for biocontrol of *Verticillium* wilt in olive caused by the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae*. *Crop Protection* 88: 45-52.
- Çevik R., Demir S., Türkölmez S., Boyno G. 2022. The Effect of *Clonostachys rosea* (sch.) Schroers and Samuels Against *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) and Early Blight [*Alternaria solani* (Ell. and G. Martin) Sor.] Diseases in Tomato Plants. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(2), 372-382. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.1080891>
- Dutta, B. K. (1981). Studies on some fungi isolated from the rhizosphere of tomato plants and the consequent prospect for the control of *Verticillium* wilt. *Plant Soil* 63, 209–216. doi: 10.1007/BF02374599
- Harman G., Howell C., Viterbo A. et al. (2004) *Trichoderma* species — opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat Rev Microbiol* 2, 43–56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>
- Hermosa R., Viterbo A., Chet I., Monte E.G. (2012) Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology* 158(1):17–25.
- Howell C.R. (2003) Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87: 4-10.
- Inderbitzin P., Subbarao K., (2014). *Verticillium* systematics and evolution: how confusion impedes *Verticillium* wilt management and how to resolve it. *Phytopathology* 104, 564–574. doi: 10.1094/PHYTO-11-13-0315-IA
- Kumar G., Maharshi A., Patel J., Mukherjee A., Singh H.B., Sarma B.K. (2017) *Trichoderma* : A Potential Fungal Antagonist to Control Plant Diseases. *ATSA Mukhapatra - Annual Technical Issue* 21, https://www.researchgate.net/publication/314946122_Trichoderma_A_Potential_Fungal_Antagonist_to_Control_Plant_Diseases [accessed April 20 2024].
- Liu L., Galileya Medison R., Zheng T., Meng X., Sun Z., Zhou Y. 2023. Biocontrol potential of *Bacillus amyloliquefaciens* YZU-SG146 from *Fraxinus hupehensis* against *Verticillium* wilt of cotton. *Biological control* 183. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105246>
- Monte E. (2001) Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. *Int. Microbiol.* 4:1-4.
- Narisawa, K., Kawamata, H., Currah, R. S., and Hashiba, T. (2002). Suppression of *Verticillium* wilt in eggplant by some fungal root endophytes. *Eur. J. Plant Pathol.* 108, 103–109. doi: 10.1023/A:1015080311041
- Pei D., Zhang Q., Zhu X., Zhang L. 2022. Biological Control of *Verticillium* Wilt and Growth Promotion in Tomato by Rhizospheric Soil-Derived *Bacillus amyloliquefaciens* Oj-2.16. *Pathogens* 12(1):37. DOI:10.3390/pathogens12010037
- Saldaña-Mendoza, S.A., Pacios-Michelena, S., Palacios-Ponce, A.S. et al. *Trichoderma* as a biological control agent: mechanisms of action, benefits for crops and development of formulations. *World J Microbiol Biotechnol* 39, 269 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03695-0>
- Slusarski, C., and Pietr, S. J. (2009). Combined application of dazomet and *Trichoderma asperellum* as an efficient alternative to methyl bromide in controlling the soil-borne disease complex of bell pepper. *Crop Prot.* 28, 668–674. doi: 10.1016/j.cropro.2009.03.016