



УДК 632.937.14

Перспективы совместного использования энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. и химического инсектицида каратэ®зеон против короеда типографа

© Н.Л. Севницкая

Prospects of joint use of the entomopathogenous fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and chemical insecticide karate®zeon against the spruce bark beetle

N.L. Siaunitskaya (Forest Research Institute, Belarus)

Results of studies on joint use of the entomopathogenous fungus *Beauveria bassiana* and chemical insecticide karate®zeon against the spruce bark beetle *Ips typographus* in laboratory conditions are presented. Studied the biological activity of the working solutions of isolate 13–07 of fungus *Beauveria bassiana*, chemical preparation and mixtures of isolate 13–07 with sublethal doses of karate®zeon and the prospects of their use in the forest protection.

Key words: *Ips typographus*, isolate, entomopathogenous fungus *Beauveria bassiana*, chemical insecticide karate®zeon, beetle mortality, biological activity

Перспективы совместного использования энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. и химического инсектицида каратэ®зеон против короеда типографа

Н.Л. Севницкая

Представлены результаты исследований по совместному использованию энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* и химического инсектицида каратэ®зеон против жуков короеда типографа в лабораторных условиях. Изучена биологическая активность рабочих растворов изолята 13–07 гриба *Beauveria bassiana*, химического препарата и смесей изолята 13–07 с сублетальными дозами каратэ®зеон и перспективность их применения в лесозащите.

Ключевые слова: короед типограф, изолят, энтомопатогенный гриб *Beauveria bassiana*, химический инсектицид каратэ®зеон, смертность жуков, биологическая активность

ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»

Адрес: Республика Беларусь, 246001, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71

Телефон: +375 232 74–87–56,

E-mail: n.sevnickaja@tut.by

Короед типограф — наиболее опасный вредитель ели в Европе. Существующие биологические методы борьбы с ним и другими энтомофагами не всегда эффективны. Поэтому необходима дальнейшая разработка и усовершенствование биометода.

Грибные патогены применяют для борьбы со стволовыми вредителями, и один из них — это хорошо известный и широко распространенный гриб *Beauveria bassiana*, который является естественным врагом короеда типографа. Для защиты заготовленной древесины ели от заселения и обработки ловчих деревьев, выкладываемых для контроля за короедом типографом, применяют ряд химических инсектицидов: таких как, каратэ, цимбуш, суми-альфа, циперметрин [2, 3].

Обработка ловчих деревьев ели только одним грибным препаратом боверином может дать низкие результаты, так как успех применения гриба *Beauveria bassiana* зависит от условий окружающей среды. Необходимы наличие высокой влажности (80–100 %), защита от ультрафиолетового излучения и т. д. Добавление пониженных доз химических инсектицидов к грибным биопрепаратам повышает их эффективность [1]. Следовательно, совместное применение боверина с сублетальными дозами химических инсектицидов может быть перспективно. При этом добавление химических препаратов обеспечивает устойчивую эффективность грибного препарата, так как вызывает физиологическое ослабление насекомых, способствующее успешному развитию грибной инфекции и активизации сопутствующей микрофлоры [8].

Исследователями проведено много опытов, в которых сочетание *Beauveria bassiana* с инсектицидами позволило обнаружить синергизм. В качестве тестируемых насекомых были использованы боярышница, яблонная плодожорка, Магалебская моль, майские хрущи, клопы, яблонный плодовый пилильщик, кукурузный мотылек, желтый крыжовниковый пилильщик (личинки), зеленая дубовая листовертка, колорадский жук (личинки) [4, 7, 10–14, 16]. В данных опытах смертность вредителей при обработке инсектицидно-грибной

смесью оказывалась выше, чем при применении грибного препарата или химического инсектицида в отдельности.

Мы в своих опытах использовали химический инсектицид каратэ®зеон, который применяют для защиты картофеля от колорадского жука, капусты и яблони — от белянок, совок, моли, крестоцветных блошек, плодожорки, листовертки, клещей, листовых и хвойных пород — от хвое- и листогрызущих вредителей, в том числе — зеленой дубовой листовертки, непарного шелкопряда, зимней и сосновой пяденицы, хвойных пород — от стволовых и технических вредителей [7].

Цель работы состояла в изучении эффективности энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* и его смесей с сублетальными дозами химического инсектицида каратэ®зеон против короеда типографа — в лабораторных условиях.

Материалом для работы служили жуки короеда типографа, выращенные на отрубках ели в лабораторных условиях. Изначально жуки были привезены в еловой коре из очага, находящегося в Хальчанском лесничестве Жлобинского лесхоза Гомельского ГПЛХО. Отрубки ели и кору помещали в боксы. Для получения достоверного результата опыта старались использовать тест-насекомых одного физиологического состояния. Жуков инфицировали изолятом 13–07 энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana*. Для получения спор изолят 13–07 культивировали на косом агаре на среде Чапека-Докса. Продолжительность инкубации — 28 суток при $t = +24$ °С. Культуру гриба хранили в холодильнике при $t = +4$ °С. Возраст культуры изолята 13–07 составил 6,5 месяцев, продуктивность культуры — $2,14 \cdot 10^9$ спор/мл. Ее определяли при помощи смыва спор в 10 мл стерильной воды, полученных с культуры, выращенной в пробирке на косом агаре. Количество спор подсчитывали в счетной камере Горяева. В эксперименте использовали водную суспензию спор изолята 13–07 со следующими титрами: 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 спор/мл.

В качестве химического инсектицида для проведения опыта применяли каратэ®зеон (50 г/л лямбда-цигалотрина) в виде микрокапсулированной суспензии. Инсектицид исполь-

зовали в следующих концентрациях по препарату: 0,00005 %, 0,00002 %, 0,00001 %. Для выявления синергизма каратэ[®]зеон добавляли в суспензии спор гриба *Beauveria bassiana* со следующими титрами: 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸ спор/мл. Кроме этого испытывали инсектицид и водную суспензию спор гриба в вышеперечисленных концентрациях рабочих растворов отдельно друг от друга. Во все приготовленные растворы в качестве прилипателя добавляли Твин 80.

Полученными растворами обрабатывали кусочки еловой коры площадью 25 см², которые погружали в сосуды с 50 мл рабочего раствора. Обработанные кусочки коры помещали в чашки Петри. В каждую чашку Петри подсаживали по 7 штук жуков короеда типографа. Чашки заворачивали в полиэтилен для сохранения влажности. Контрольных жуков помещали на необработанные кусочки еловой коры. Повторность опыта 5-кратная, т. е. каждый вариант опыта ставили на 35 жуках типографа. Учеты гибели насекомых проводили на 2-е и 9-е сутки опыта. Эксперимент проходил при $t = +26-28$ °С.

Биологическую активность инсектицида каратэ[®]зеон, изолята 13–07 гриба *Beauveria bassiana* и их смесей определяли по формуле Аббота с учетом смертности в контроле [15]. В опыте, кроме смертности жуков короеда типографа, учитывали уровень микоза (процент обрастания погибших в опыте жуков мицелием гриба *Beauveria bassiana*). После каждого учета помещали погибших насекомых в чашки Петри и создавали эффект влажной камеры, где они покрывались белым мицелием гриба *Beauveria bassiana*. Затем подсчитывали количество обросших и не обросших жуков короеда типографа.

В опыте изучали также влияние инсектицида каратэ[®]зеон на прорастание спор гриба *Beauveria bassiana*. Жизнеспособность спор изолята 13–07, находящегося в рабочих растворах вместе с добавками сублетальных доз инсектицида каратэ[®]зеон (0,00001 %, 0,00002 %, 0,00005 %) и в растворах без добавки инсектицида, определяли методом посева суспензии спор на среду Чапека–Докса, разлитую на предметные стекла, которые помещали в чашки Петри и содержали при $t = +26-28$ °С. Процент проросших спор учитывали через сутки [5].

В ходе проведения эксперимента, прежде чем применять изолят 13–07 гриба *Beauveria bassiana* совместно с пестицидом каратэ[®]зеон, исследовали совместимость гриба с химическим препаратом, так как химические инсектициды могут препятствовать прорастанию и росту спор энтомопатогенных грибов. Жизнеспособность чистых спор изолята 13–07 составила 90,7 %, а при добавлении каратэ[®]зеон в концентрациях 0,00005 %, 0,00002 %, 0,00001 % она оказалась равной 96,5; 96,8 и 88,2 % соответственно (табл. 1). Это позволяет сделать вывод, что химический инсектицид не является токсичным для изолята 13–07 энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* в вышеперечисленных концентрациях, поэтому возможно их совместное использование.

Пиретроидный инсектицид каратэ[®]зеон обладает выраженным нокдаун-эффектом, т. е. гибель листогрызущих и сосущих вредителей, в том числе клещей наступает спустя 0,5–3 часа после обработки.

Жуки типографа уже в первые сутки постановки опыта с химическим препаратом и его смесями с изолятом гриба практически не питались и в основном погибали (см. табл. 1), оставшиеся особи начинали питаться, но погибали в последующие сутки. Каратэ[®]зеон испытывали в сублетальных концентрациях, поэтому на 2-е сутки смертность жуков от инсектицида составляла 97,1–100 %, а от смесей каратэ[®]зеона с изолятом гриба равнялась 91,4–100 %, 88,6–97,1 % и 34,3–100 % — в соответствии с концентрациями инсектицидного препарата. При этом биологическая активность в тех же вариантах опыта и на тот же срок учета составила 96,4–100 %; 89,3–100 %, 85,8–96,4 % и 17,9–100 %.

Смертность жуков на 9-е сутки от каратэ[®]зеон (во всех концентрациях) составила 100 %, от смесей инсектицида с изолятом гриба 100 %, 94,3–100 %, 54,3–100 % — в соответствии с испытываемыми концентрациями препарата. В эти же сроки учета биологическая активность каратэ[®]зеона во всех концентрациях достигла 100 %, а для смесей изолята с каратэ[®]зеоном она составила 100 %, 90,5–100 % и 23,8–100 % — соответственно концентрациям инсектицида.

Таблица 1

Влияние изолята 13–07 гриба *Beauveria bassiana*, сублетальных доз инсектицида каратэ®зеон и их смесей на короада типографа

Вариант	Концентрация рабочего р-ра, %, спор/мл	Жизнеспособность спор, %	Смертность жуков, %		Биологическая активность, %		Уровень микоза, %	
			на 2-е сутки опыта	на 9-е сутки опыта	на 2-е сутки опыта	на 9-е сутки опыта	на 2-е сутки опыта	на 9-е сутки опыта
Контроль	–	–	20	40	–	–	14,3	35,7
Каратэ® зеон	0,00005	–	97,1	100	96,4	100	–	–
	0,00002		97,1	100	96,4	100	–	–
	0,00001		100	–	100	–	–	–
Изолят 13–07	10 ⁸	90,7	88,6	100	85,8	100	35,5	37,1
	10 ⁷		94,3	100	92,9	100	6,1	20
	10 ⁶		57,1	71,4	46,4	52,3	20	68
	10 ⁵		48,6	62,9	35,8	38,2	35,3	59,1
Каратэ® зеон + изо- лят 13–07	0,00005 ×10 ⁸	96,5	91,4	100	89,3	100	55,6	54,3
	0,00005 ×10 ⁷		97,1	100	96,4	100	8,8	14,3
	0,00005 ×10 ⁶		100	–	100	–	28,6	28,6
	0,00005 ×10 ⁵		94,3	100	92,9	100	3	25,7
Каратэ® зеон + изо- лят 13–07	0,00002 ×10 ⁸	96,8	88,6	100	85,8	100	3,2	28,6
	0,00002 ×10 ⁷		91,4	94,3	89,3	90,5	3,1	9,1
	0,00002 ×10 ⁶		97,1	100	96,4	100	0	14,3
	0,00002 ×10 ⁵		94,3	97,1	92,9	95,2	9,1	11,8
Каратэ® зеон + изо- лят 13–07	0,00001 ×10 ⁸	88,2	94,3	97,1	92,9	95,2	9,1	11,8
	0,00001 ×10 ⁷		97,1	97,1	96,4	95,2	0	11,8
	0,00001 ×10 ⁶		100	–	100	–	5,7	5,7
	0,00001 ×10 ⁵		34,3	54,3	17,9	23,8	41,7	63,2

В свою очередь, смертность жуков от изолята гриба при титрах рабочего раствора 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 спор/мл составила на 2-е сутки 48,6 %, 57,1 %, 94,3 % и 88,6 % — соответственно, на 9-е сутки — 62,9 %, 71,4 %, 100 % и 100 %. Биологическая активность изолята гриба в те же сроки учета и при тех же титрах оказалась равной 35,8 %, 46,4 %, 92,9 %, 85,8 % и 38,2 %, 52,3 %, 100 %, 100 %.

В контроле также наблюдалась гибель жуков, которая составила 20 % на 2-е сутки опыта и 40 % — на 9-е. Из этого следует, что популяция насекомых была ослабленной. При этом уровень микоза жуков составил 14,3–35,7 %, т. е. популяция короеда типографа имела природное заражение грибом *Beauveria bassiana*.

Уровень микоза в вариантах опыта со смесями изолята гриба с инсектицидом на 9-е сутки оказался равным 5,7–63,2 %, 9,1–28,6 % и 14,3–54,3 % — по испытываемым концентрациям препарата, и 20–68 % — для отдельно взятого изолята. Вышеперечисленные данные подтверждают, что насекомые погибли от белой мускардины — болезни, вызываемой грибом *Beauveria bassiana*.

Таким образом, совместное использование гриба *Beauveria bassiana* (изолят 13–07) с каратэ[®]зеоном во всех вариантах опыта (кроме концентрации инсектицида 0,00001 %, титра рабочего раствора изолята 13–07 10^5 спор/мл) вызывает примерно одинаковую гибель жуков короеда типографа, как от инсектицида без добавок, так и от смесей изолята гриба с инсектицидом.

Смертность жуков от изолята гриба оказалась несколько ниже, чем при применении каратэ[®]зеон на 2-е сутки опыта и сравнялась на 9-е сутки опыта, достигнув 100 % при титрах рабочих растворов 10^8 и 10^7 спор/мл. При совместном применении инсектицида с изолятом гриба смертность жуков оказалась выше на 42,9 %, 45,7 % (0,00005 %, 10^6 , 10^5 спор/мл, 2-е сутки опыта); 40 %, 45,7 % (0,00002 %, 10^6 , 10^5 спор/мл, 2-е сутки опыта); 37,1 % (0,00005 %, 10^5 , 9-е сутки опыта); 28,6 %, 34,2 % (0,00002 %, 10^6 , 10^5 спор/мл, 9-е сутки опыта) и 42,9 % (0,00001 %, 10^6 спор/мл, 2-е сутки опыта), чем при применении только

одного изолята 13–07 при титрах рабочего раствора 10^6 и 10^5 спор/мл.

Биологическая активность смесей каратэ[®]зеон и изолята 13–07 оказалась выше на 53,6 %, 57,1 % (0,00005 %, 10^6 , 10^5 спор/мл, 2-е сутки опыта); 50 %, 57,1 % (0,00002 %, 10^6 , 10^5 спор/мл, 2-е сутки опыта); 61,8 % (0,00005 %, 10^5 , 9-е сутки опыта); 47,7 %, 57 % (0,00002 %, 10^6 , 10^5 спор/мл, 9-е сутки опыта) и 53,6 % (0,00001 %, 10^6 спор/мл, 2-е сутки опыта), чем биологическая активность одного изолята 13–07 при титрах рабочего раствора 10^6 и 10^5 спор/мл.

Для сравнительной оценки биологической активности изолята гриба, взятого отдельно, и его смесей с каратэ[®]зеоном относительно жуков короеда типографа определяли LK_{50} (летальная концентрация). Как известно, этот показатель отражает минимальную концентрацию суспензии или раствора препарата (титр суспензии спор), вызывающую 50 % гибель тест-организмов в опыте. При определении LK_{50} использовали суспензии изолята 13–07 с титрами 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 спор/мл и растворы препарата каратэ[®]зеон с концентрациями 0,00005 %, 0,00002 %, 0,00001 %, обеспечивающие гибель от 10 % до 100 % насекомых. LK_{50} подсчитывали по методу Кербера [9].

В результате определения LK_{50} изолята гриба и его смесей с каратэ[®]зеоном установлено, что наиболее вирулентной является смесь с добавлением химического препарата в концентрации 0,00005 %, так как ее LK_{50} оказалась наименьшей по сравнению с другими вариантами на 2-е и 9-е сутки опыта. Наименее вирулентной оказалась суспензия изолята 13–07 без примеси пиретроида (табл. 2).

Результаты лабораторного опыта показывают, что наиболее эффективно использовать минимальные дозы химического инсектицида (0,00001 %) и грибного изолята (титр 10^6 спор/мл), совместное применение которых вызывает 100 % смертность жуков короеда типографа на 2-е сутки опыта. Биологическая активность данной смеси инсектицида каратэ[®]зеон и изолята 13–07—100 %. Отказ жуков от питания в первые сутки опыта после обработки смесью

Таблица 2

LK₅₀ изолята 13–07 энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* и его смесей с химическим препаратом каратэ[®]зеон для имаго короеда типографа

Вариант	Концентрация препарата каратэ [®] зеон, %	LK ₅₀ , спор/мл	
		2-е сутки	9-е сутки
Изолят 13–07	–	4,07×10 ⁵	1,46×10 ⁵
Изолят 13–07 + каратэ [®] зеон	0,00005	4,79×10 ⁴	3,16×10 ⁴
Изолят 13–07 + каратэ [®] зеон	0,00002	6,17×10 ⁴	3,89×10 ⁴
Изолят 13–07 + каратэ [®] зеон	0,00001	17,78×10 ⁴	9,77×10 ⁴

грибного изолята 13–07 и синтетического препарата каратэ[®]зеон имеет положительный момент в защите заготовленной древесины от короеда типографа. Дальнейшие исследования необходимы для проверки испытываемых концентраций препаратов.

Таким образом, совместное использование энтомопатогенных грибов с химическими инсектицидами приводит к увеличению гибели насекомых и повышению эффективности защитных мероприятий с применением биопрепаратов на основе энтомопатогенных грибов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Бенц Г. Синергизм микроорганизмов и химических инсектицидов // Микроорганизмы в борьбе с вредными насекомыми и клещами. Под ред. М.С. Гилярова. М.: Колос, 1976. С. 260–295.
2. Блинцов А.И., Кухта В.Н. Оценка эффективности некоторых инсектицидов в борьбе с короедом-типографом // Леса Европейского региона — устойчивое управление и развитие: Материалы докладов Международной научно-технической конференции 4–6 декабря 2002 г.; под ред. О.А. Атрошенко, г. Минск: в 2 ч. Мн.: БГТУ, 2002. Ч. 2. С. 131–133.
3. Блинцов А.И., Кухта В.Н., Сазонов А.А. Рекомендации по регулированию численности и снижению вредоносности стволовых вредителей в хвойных насаждениях // Проблемы лесоведения и лесоводства: Сб. научн. трудов ИЛ НАН Беларуси. Вып. 69. Гомель: Институт леса НАН Беларуси, 2009. С. 663–674.
4. Валента В., Гавялис В. Применение микроорганизмов и инсектицидов в борьбе с майским хрущом // Биологический метод борьбы с вредителями растений, под ред. д-р биол. наук, чл.-корр. АН Латв. ССР Я.П. Циновский. Рига: Зинатне, 1968. С. 343–345.
5. Вейзер Я. Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми (Болезни насекомых). Под ред. и с предисл. проф. М.С. Гилярова. М.: Колос, 1972. 640 с.
6. Дополнение к каталогу пестицидов и удобрений, разрешенных для применения в Республике Беларусь / авторы-составители: Р.А. Новицкий [и др.] Минск: Триолета. 2006. 88 с.
7. Каталог пестицидов и удобрений, разрешенных для применения в Республике Беларусь / авторы-составители: Р.А. Новицкий [и др.] Минск: ООО «Инфофорум», 2005. 416 с.
8. Крушев Л.Т. Биологические методы защиты леса от вредителей. М.: Лесная пром-сть, 1973. 192 с.
9. Малый Л.П. Биологические методы борьбы с вредителями леса. Под ред. А.М. Шульгина. Мн.: Ураджай, 1981. 96 с.

10. Примак Т.А. Болезни некоторых представителей отряда чешуекрылых и применение микробиологического метода борьбы с ними: автореф. ... дис. канд. биол. наук; Харьковский ордена Трудового Красного Знамени Государственный университет им. А.М. Горького. Харьков, 1963. 19 с.
11. Романовец З.А. Биоэкологическое обоснование использования биопрепаратов в борьбе с колорадским жуком в Белоруссии: автореф. ... дис. канд. биол. наук: 06.01.11; Белорусский ордена Трудового Красного Знамени научно-иссл. ин-т картофелеводства и плодоовощеводства.
12. Серебров В.В., Ходырев В.П., Гербер О.Н., Цветкова В.П. Перспективы совместного использования энтомопатогенных грибов и химических инсектицидов против колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) // Микология и фитопатология. 2005. т. 39, вып. 3. С. 89–98.
13. Сикура А.И., Ижевский С.С., Трофимова И.Л. Микробиологические средства борьбы с колорадским жуком // Обзорная информация. Всесоюзн. НИИ информации и технико-экономических исследований по сельскому хозяйству. М.: ВНИИТЭИСХ. 1979. 50 с.
14. Сикура А.И., Примак Т.А. Отечественный препарат Боверин. Обзор. Москва: СОНТИ микробио-пром. 1970. 43 с.
15. Abbot W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide // Econ. Entomol. 1925. Vol. 18. P. 265–267.
16. Dobrowolski M., Popowska-Nowak E. Возможность применения спор *Beauveria bassiana* для борьбы с *Aradus cinnamomeus* Panz., *Hemiptera-Heteroptera* // Pr. Inst. Bad. Les. A. 1999. № 866–872. P. 95–118.