

Marek DOBROWOLSKI<sup>1</sup>, Elżbieta POPOWSKA-NOWAK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Badawczy Leśnictwa  
Zakład Ochrony Lasu  
ul. Bitwy Warszawskiej 1920 Roku nr 3, 00-973 Warszawa  
e-mail: M.Dobrowolski@ibles.waw.pl

<sup>2</sup> Instytut Ekologii PAN  
ul. Marii Konopnickiej 1  
01-905 Dziekanów Leśny

## STOSOWANIE ZARODNIKÓW *BEAVERIA BASSIANA* (BALS.) VUILL. DO ZWALCZANIA KOROWCA SOSNOWEGO (*ARADUS CINNAMOMEUS* PANZ., *HEMIPTERA-HETEROPTERA*)

POSSIBILITY OF APPLICATION OF *BEAVERIA BASSIANA* (BALS.) VUILL  
SPORES TO CONTROL THE PINE BARK BUG (*ARADUS CINNAMOMEUS*  
PANZ., *HEMIPTERA-HETEROPTERA*)

**Abstract:** *The synergetic effect of pyrethroid and carbamate insecticides on entomopathogenic fungus Beauveria bassiana was investigated due to pine bark bug (Aradus cinnamomeus) control in forestry. In laboratory study the Fury 100 EC (zetacypermethrin) showed the lower negative influence on B. bassiana development in comparison with the Karate 025 EC (cyhalothrin) and Marshal 250 EC (carbosulfan). Thus it was used in field experiment. The synergetic effect of this preparation on fungus was not so obvious but the entire mortality in insecticide-fungus variant was twice higher than in insecticide variant.*

**Key words:** *Aradus cinnamomeus, Beauveria bassiana, biological control.*

## 1. WSTĘP

Jak wynika z badań BRAMMANIS (1995), korowiec sosnowy może być w okresie zimowym atakowany przez dwa gatunki grzybów pasożytniczych: *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. i *Paecilomyces farinosus* (Dicks. ex. Fr.). Szczególnie przydatny w walce z korowcem wydaje się ten pierwszy gatunek. Badania SMIRNOVA (1954) wykazały, że po opryskaniu drzewostanu opanowanego przez korowca zarodnikami *B. bassiana* ponad 90% populacji szkodnika zostało zainfekowane przez patogena. Również SCHNAIDER (1968) badał zastosowanie tego gatunku grzyba w walce biologicznej z korowcem. Jednak uzyskał znacznie gorsze wyniki niż poprzedni autor. W obu przypadkach nie sprawdzono patogeniczności *B. bassiana* w stosunku do korowca w warunkach laboratoryjnych.

SANDNER (1978) uważa, że w przypadku wspólnego działania dwóch czynników chorobotwórczych efektem może być nasilenie procesów chorobowych żywiciela większe niż w przypadku działania każdego z nich osobno. Synergiczne wobec siebie mogą być na przykład dwa różne gatunki patogenów grzybowych albo grzyb i pestycyd. Ten fakt stał się podstawą do przyjęcia założenia, że dodatek insektycydu chemicznego do mieszaniny zarodników *B. bassiana* powinien poprawić rezultat zabiegu w terenie.

Celem przedstawionych badań było określenie możliwości stosowania gatunku *B. bassiana* do zwalczania korowca sosnowego. Określono patogeniczność grzyba w stosunku do korowca w warunkach laboratoryjnych. Zbadano również wpływ insektycydów z grupy pyretroidów i karbaminianów na takie właściwości biologiczne patogena jak: tempo wzrostu, zarodnikowanie, kiełkowanie i patogeniczność.

## 2. MATERIAŁY I METODY

W celu określenia w warunkach laboratoryjnych działania trzech wytypowanych insektycydów chemicznych na grzyb *B. bassiana* przeprowadzono w laboratorium Zakładu Agrocenologii Instytutu Ekologii PAN doświadczenie z użyciem zarodników wymienionego grzyba i następujących insektycydów: Fury 100 EC, Marshal 250 EC i Karate 025 EC. Grzyb *B. bassiana* wyszczepiono na szalki Petri'ego. Do pożywki standardowej dodawano pojedynczo każdy z insektycydów w stężeniu odpowiednio 0,1%, 0,7% i 1,5%. W każdym z wariantów użyto 30 szalek, a serię kontrolną stanowiło 30 szalek z grzybem wyszczepionym na pożywkę niezawierającą insektycydów. Łącznie grzyb wyszczepiono na 120 szalkach. Wzrost kultury grzyba obserwowano przez 2 tygodnie i w tym czasie mierzono

średnicę kolonii w każdym wariancie. Po upływie następnego tygodnia zbadano zarodnikowanie i kiełkowanie zarodników grzyba. Średnie porównano testem *t*-Studenta.

W tym samym czasie zbadano patogeniczność grzyba. Owadem testowym były gąsienice *Galleria mellonella* L., które opryskano zawiesiną zarodników z poszczególnych wariantów hodowli. W każdym wariancie użyto 100 larw motyla. Łącznie z kontrolą wodną użyto 500 larw. W okresie 3 tygodni liczono martwe i zagrzybione larwy. Wyniki porównano w stosunku do kontroli używając testu Mann–Whitney’a.

W testach terenowych użyto mieszaniny zarodników *Beauveria bassiana* i preparatu Fury 100 EC. Preparat ten wykazał w testach laboratoryjnych najmniej hamujący wpływ na rozwój grzybnicy *B. bassiana*.

W celu określenia patogeniczności *B. bassiana* w stosunku do korowca sosnowego wykonano test laboratoryjny z użyciem zawiesiny zarodników *B. bassiana* w wodzie. Do doświadczenia użyto larw L<sub>4</sub>/L<sub>5</sub> korowca sosnowego zebranych na terenie Nadleśnictwa Skierniewice. W zawieszynie o stężeniu  $1,1 \times 10^7$  zarodników/ml zamoczono odcinki gałęzi sosnowych o długości około 8–9 cm i średnicy 1 cm i umieszczono w szalkach Petri’ego. Dno szalek wyłożono wcześniej bibułą filtracyjną. Do tak przygotowanych szalek wpuszczono po 30 larw korowca. Doświadczenie założono w dwóch wariantach. W pierwszym wariancie krążki bibuły utrzymywano w stałej wilgotności około 80–90%, a w drugim wariancie krążki były całkowicie suche. W każdym wariancie użyto 5 szalek. Kontrolę stanowiło 5 szalek z bibułą zwilżaną i 5 szalek z bibułą suchą, oba warianty z identycznymi gałązkami sosny pospolitej. Począwszy od 3 dnia liczono martwe osobniki korowca sosnowego. Śmiertelność oceniano przez okres 14 dni od początku doświadczenia. Istotność różnic pomiędzy śmiertelnością w wariantach i w kontroli zbadano testem Kruskal–Wallis’a.

Badania terenowe z użyciem *B. bassiana* przeprowadzono na wiosnę 1996 roku na terenie Nadleśnictwa Skierniewice. Wodną zawiesinę grzybnicy wyhodowano w Zakładzie Agrocenologii Instytutu Ekologii PAN. Gęstość zawiesiny wynosiła  $1,1 \times 10^7$  zarodników/ml. Dodatek preparatu Fury 100 EC wynosił 0,05%. Doświadczenie wykonano w trzech wariantach: oprysk zawiesiną zarodników grzyba, oprysk roztworem insektycydu i oprysk zawiesiną zarodników z dodatkiem insektycydu. W każdym wariancie opryskano 15 drzewek. Kontrolę stanowiło 20 drzew nieopryskanych. Przed zabiegiem na drzewach opryskiwanych i kontrolnych wykonano opaski lepowe na pniach tuż nad pierwszym okółkiem (około 30 cm nad ziemią). Oprysk wykonano ręcznym opryskiwaczem plecakowym. Każde drzewo opryskano od wysokości założonej opaski lepowej do szyi korzeniowej. Ponadto opryskano powierzchnię gleby w odległości do 50 cm od drzewka. Po upływie 1 miesiąca od zabiegu przeliczono żywe korowce schwymane na opaski oraz usunięto wierzchnią warstwę kory z drzew traktowanych i kon-

trolnych. Korę przewieziono do laboratorium w celu określenia liczby żywych oraz zagrzybionych korowców sosnowych. Obliczono procent śmiertelności ogólnej oraz wywołanej porażeniem przez grzyba. Średnie śmiertelności porównano testem Kruskal–Wallis’a.

### 3. Wyniki i dyskusja

Zastosowanie insektycydów jako substancji wzmacniających patogeniczność grzybów pasożytniczych wiąże się zawsze z ograniczeniem wynikającym z hamującego oddziaływania pestycydów na wzrost, zarodnikowanie i siłę kiełkowania tych grzybów. Wyniki przedstawione w tabeli 1 wskazują na istnienie takiego oddziaływania insektycydów na grzyb *B. bassiana*. Największe działanie hamujące wykazał preparat Karate 025 EC, w przypadku którego średnica kolonii grzybni po 6 dniach od wyszczepienia była niemal 6 razy mniejsza w porównaniu do kontroli. Po 14 dniach od wykonania posiewu średnica kolonii grzybni była mniejsza niemal 4 razy od średnicy kolonii w kontroli. Dodatek do pożywki preparatu Marshal 250 EC spowodował, że średnica kolonii *B. bassiana* po 6 dniach była ponad 3-krotnie, a po 14 dniach 2-krotnie mniejsza od średnicy w serii kontrolnej.

Najsłabsze działanie hamujące wykazał preparat Fury 100 EC, który zmniejszył siłę wzrostu grzyba około 1,5 raza po 6 i po 14 dniach od daty posiewu.

Dodatek insektycydów do pożywki spowodował lepsze zarodnikowanie grzyba (tab. 2). W przypadku preparatu Fury 100 EC nastąpił 5-krotny wzrost

Tabela 1  
Table 1

**Średnica kolonii grzyba *B. bassiana* (cm) rosnącego na pożywce z dodatkiem insektycydów. Pożywka w kontroli nie zawierała insektycydów.**

Diameter of the *B. Bassiana* colony in relation to the media added insecticide. Control media without insecticide.

Warianty doświadczenia Experimental variant	Dni hodowli Days of cultivation			
	6	9	12	14
Kontrola Control	1.45	2.28	3.13	3.70
FURY 100 EC	0.87*	1.47*	2.0*	2.30*
MARSHAL 250 EC	0.49*	0.92*	1.45*	1.85*
KARATE 025 EC	0.25*	0.40*	0.67*	0.95*

\* istotna różnica od kontroli (test *t*-Studenta,  $p_{\alpha} = 0,05$ )  
significant difference to the control (Student *t*-test  $p_{\alpha} = 0,05$ )

Tabela 2

Table 2

Zarodnikowanie grzyba *B. bassiana* na powierzchni 1 cm<sup>2</sup> grzybni w zależności od rodzaju insektycydu w pożywce (mln zarodników/cm<sup>2</sup>). Pożywka w kontroli bez insektycydów.

Sporulation of the 1 cm<sup>2</sup> *B. bassiana* mycelium in relation to the insecticide in the media. Control-media without insecticide.

Warianty doświadczenia Experimental variant	Zarodnikowanie Sporulation
Kontrola Control	0.77
FURY 100 EC	3.39
MARSHAL 250 EC	1.90
KARATE 025 EC	1.35

liczby zarodników na 1 cm<sup>2</sup> grzybni. Preparat Marshal 250 EC spowodował 2,5-krotny wzrost, a Karate 025 EC niemal 2-krotny wzrost zarodnikowania grzybni.

Negatywny wpływ insektycydów na kiełkowanie zarodników grzyba był nieznaczny i podobny w przypadku każdego badanego związku. W wariancie z dodatkiem insektycydu Fury 100 EC po 20 godzinach wykiełkowało 87% zarodników, w obecności preparatu Marshal 250 EC — 80,5% zarodników, a po dodaniu do pożywki preparatu Karate — 86,7% zarodników. W wariancie kontrolnym skiełkowało po tym samym czasie 94,4% zarodników grzyba.

Patogeniczność grzyba wyrażono jako procent śmiertelności owadów poddanych jego działaniu. Wyniki badania patogeniczności *B. bassiana* wobec larw motyla *Galleria mellonella* przedstawiono w tabeli 3. Pozytywny wpływ insektycydu na patogena jest zauważalny w przypadku dwóch insektycydów: Fury i Karate. Opryskanie owadów zarodnikami grzyba, który rósł na pożywce z dodatkiem preparatu Marshal nie zwiększyło w istotny sposób śmiertelności owadów testowych.

Odsetek korowców porażonych przez *B. bassiana* w 14 dniu od rozpoczęcia testu laboratoryjnego w wariancie wilgotnym wynosił 40,5%, a w wariancie suchym osiągnął 8,3% ogółu testowanych owadów. W doświadczeniach KMITOWEJ i in. (1977) uzyskano maksymalnie 48% porażonych larw stonki ziemniaczanej po 12 dniach od aplikacji zarodników *B. bassiana*. KARPIŃSKI (1950) badał patogeniczność spokrewnionego gatunku *B. tenella* wobec pędraków chrabąszcza majowego i uzyskał śmiertelność dochodzącą do 85%.

Rezultaty doświadczenia terenowego nie wykazały w sposób jednoznaczny synergicznego działania insektycydu Fury 100 EC w stosunku do *B. bassiana*. Wyniki przedstawione na rycinie 1. wskazują, że w wariancie grzyb+insektycyd GI nieznacznie wzmogło się toksyczne działanie preparatu chemicznego w stosunku do wariantu I z samym insektycydem. Odsetek martwych lecz niewykazujących objawów porażenia przez grzyby korowców w wariancie GI

Tabela 3

Table 3

**Śmiertelność larw *Galleria mellonella* opryskanych zawiesiną zarodników *B. bassiana* z dodatkiem różnych insektycydów**

The mortality of *Galleria mellonella* larvae treated with the suspension of *B. Bassiana* spores with admixture of different insecticides

Warianty doświadczenia Experimental variant	Dni po oprysku Days of cultivation				
	7	10	14	17	21
Kontrola <sup>1</sup> Control <sup>1</sup>	49.0	67.0	77.0	83.0	87.0
FURY 100 EC	44.0	70.0	87.0	95.0*	96.0*
MARSHAL 250 EC	62.0	76.0	80.0	87.0	93.0
KARATE 025 EC	68.0	88.0	95.0*	98.0*	98.0*
Kontrola <sup>2</sup> Control <sup>2</sup>	18.0*	22.0*	33.0*	41.0*	42.0*

\* istotna różnica od kontroli (test Mann-Whitney  $p_{\alpha} = 0,05$ )

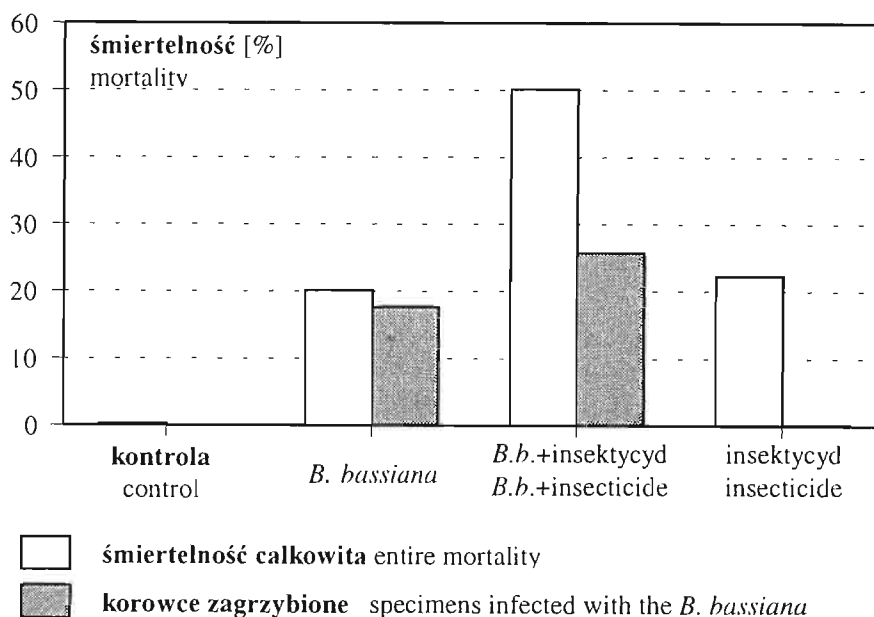
significant difference to the control (Mann-Whitney test  $p_{\alpha} = 0,05$ )

<sup>1</sup> larwy opryskane zawiesiną zarodników *Beauveria bassiana* hodowanego na pożywce bez dodatku pestycydu

larvae sprayed with the suspension of *Beauveria bassiana* spores grown on media without pesticides

<sup>2</sup> larwy opryskane samą wodą

larvae sprayed with pure water



**Ryc. 1. Śmiertelność larw L<sub>5</sub> i imago korowca sosnowego na drzewach opryskanych wodną zawiesiną zarodników *B. bassiana* z dodatkiem insektycydu Fury 100 EC, bez dodatku insektycydu oraz roztworem samego insektycydu.**

Fig. 1. The mortality of L<sub>5</sub> larvae and imago of pine bark beetle on trees sprayed with water suspension of *B. Bassiana* spores with admixture of Fury 100 EC insecticide without insecticide and dilution of insecticide.

wyniósł 24,4%, podczas gdy w wariancie I wynosił 22,2%. W tym samym wariancie GI odsetek owadów porażonych przez grzyb wyniósł 25,8%, a w wariancie z samym grzybem G — 17,6%. W wariancie G prawie 3% liczby badanych owadów było martwych z niewyjaśnionych przyczyn. Sumaryczna śmiertelność korowców była najwyższa w wariancie GI — 50,1%, i różniła się istotnie od śmiertelności w kontroli —  $p=0.0001$ , w wariancie G —  $p=0,0013$  i w wariancie I —  $p=0,0017$ .

SMIRNOV (1954) stosując zawiesinę zarodników *B. bassiana* do oprysków sosen porażonych przez korowce wykrył 80–90% owadów porażonych przez grzyb. SCHNAIDER (1968) nie stwierdził żadnych różnic pomiędzy drzewkami traktowanymi biopreparatem (14,6–28,5% porażonych korowców) a drzewkami kontrolnymi (8,7–28,5% porażonych owadów). Jak wiadomo z badań KMITOWEJ i in. (1972) na stopień porażania owadów przez grzyby patogeniczne ma wpływ gęstość zarodników w stosowanej do oprysku zawieszynie. W cytowanych badaniach Smirnova i Schnaidera nie podano gęstości zarodników w preparatach użytych w doświadczeniach. Fakt ten utrudnia porównanie rezultatów ich badań z wynikami niniejszego eksperymentu. Można jedynie stwierdzić, że zarówno w doświadczeniu Schnaidera, jak i w opisywanym efekty zabiegów znacząco różniły się od efektów uzyskanych przez Smirnova.

Na terenach, gdzie korowiec sosnowy znajduje najkorzystniejsze warunki rozwoju, stosowanie do jego zwalczania wyłącznie biopreparatów opartych na *B. bassiana* nie będzie wystarczające. Wydaje się jednak możliwe łączenie metody chemicznej i biologicznej. Zagadnienie to wymaga dalszych badań z użyciem szczepów *B. bassiana* pasażowanych przez tego owada w warunkach naturalnych. Jak wynika z badań KMITOWEJ (1982) szczepy pasażowane przez danego owada w warunkach naturalnych są w stosunku do niego bardziej patogeniczne niż szczepy wyjściowe.

Praca została przyjęta przez Komitet Redakcyjny 2 grudnia 1998 roku

## LITERATURA

- BRAMMANIS L. 1975: Die Kiefern-rindenwanze, *Aradus cinnamomeus* Panz. (*Hemiptera* — *Heteroptera*). Ein Beitrag zur Kenntnis der Lebensweise und der forstlichen Bedeutung. *Studia Forest. Suec.*, 123.
- KARPIŃSKI J.J. 1950: Zagadnienie walki z chrabąszczem za pomocą grzyba *Beauveria densa* Pic. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, E*, 5: 29-75.
- KMITOWA K. 1982: Preliminary studies on the effect of passaging through the host on pathogenicity of entomopathogenic fungi. *Pol. Ecol. Stud.*, 8, 3-4: 433-441.

- KMITOWA K., BAJAN C., WOJCIECHOWSKA M. 1972: Pathogenicity of fungi — *Paecilomyces farinosus* (Dicks.) Brown et Smith (four forms) and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Ekol. Pol., 31: 413-421.
- KMITOWA K., BAJAN C., WOJCIECHOWSKA M. 1977: Differences in the pathogenicity of entomopathogenic fungi from France and Poland. Pol. Ecol. Stud., 3-2: 115-126.
- SANDNER H. 1978: Łączne stosowanie biologicznych i chemicznych metod zwalczania szkodników. W: Biologiczne metody walki ze szkodnikami roślin (red. J. Boczek, J. J. Lipa). PWN, Warszawa, 541-548.
- SCHNAIDER Z. 1968: Z badań nad korowcem sosnowym (*Aradus cinnamomeus* Panz., *Rhynhota* (*Hemiptera-Heteroptera, Aradidae*). Pr. Inst. Bad. Leś., 356: 91-121.
- SMIRNOV B.A. 1954: Mikrobiologičeskij metod borby s sosnovym podkornym klopom. Lesn. Choz., 12: 72.