

HENRYK MALINOWSKI

Możliwości ochrony lasu przed owadami uszkadzającymi systemy korzeniowe metodą biologiczną z wykorzystaniem grzybów entomopatogennych.

II. Skuteczność bioinsektycydów grzybowych w ograniczaniu liczebności pędraków chrabąszczy (*Melolontha* spp.) i innych szkodników korzeni

Possibility of forest protection against insects damaging root systems with the use of biological method based on entomopathogenic fungi.

II. Effectiveness of fungal bioinsecticides against *Melolontha* spp. white grubs and other pests of roots

ABSTRACT

Malinowski H. 2010. Możliwości ochrony lasu przed owadami uszkadzającymi systemy korzeniowe metodą biologiczną z wykorzystaniem grzybów entomopatogennych. II. Skuteczność bioinsektycydów grzybowych w ograniczaniu liczebności pędraków chrabąszczy (*Melolontha* spp.) i innych szkodników korzeni. Sylwan 154 (1): 15-23.

The paper presents results of various studies on the use of entomopathogenic fungi (*Beauveria brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, and *Verticillium lecanii*) to control pests of roots in forest nurseries and plantations, especially *Melolontha* spp. white grubs.

KEY WORDS

white grubs control, fungal biopreparations, *Beauveria brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium lecanii*

ADDRESSES

Henryk Malinowski – e-mail: H.Malinowski@ibles.waw.pl

Zakład Ochrony Lasu; Instytut Badwaczy Leśnictwa; Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3; 05-090 Raszyn

Wprowadzenie

Grzyby entomopatogenne należą do najwcześniej poznanych mikroorganizmów wywołujących u owadów choroby, zwane mikozami. Grzyby te również najwcześniej wykorzystywano w praktyce do ograniczania liczebności populacji szkodliwych organizmów. Na wstępie należy podkreślić, że termin „entomopatogeny” lub „entomopatogeniczny” nie oznacza rzeczywistej, czy też potencjalnej, chorobotwórczości danego grzyba w stosunku do każdego gatunku owada. Większość tych grzybów charakteryzuje się daleko posuniętą wybiórczością gospodarza czy zakresu zakażanych gospodarzy.

Dynamiczny rozwój wysoco skutecznych chemicznych środków ochrony roślin, zwłaszcza w drugiej połowie ubiegłego wieku, spowodował zmniejszenie zainteresowania biologicznymi metodami, w tym grzybami entomopatogennymi. Dopiero uświadomienie negatywnych skutków stosowania chemicznych insektycydów oraz konieczność ograniczenia ich stosowania przyczyniły się do ponownego zainteresowania się czynnikami biologicznej kontroli owadów.

Pierwsza część niniejszej pracy dotyczyła możliwości wykorzystania grzybów entomopatogennych (*Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium lecanii*) do zwalczania szkodników korzeni [Malinowski 2009]. Zaprezentowano w niej podstawowe informacje na temat złożonego mechanizmu działania czynników biologicznej kontroli owadów, całkowicie odmiennego od działania insektycydów chemicznych. Od momentu zakażenia grzybem do unicestwienia owada musi upłynąć pewien czas, podczas którego owad żeruje i może wyrządzać szkody. Należy brać to pod uwagę przy stosowaniu biopreparatów grzybowych. Ponadto zakażeniu nie ulegają jednocześnie wszystkie osobniki występujące w danym okresie w glebie. Infekcja przebiega stopniowo w ciągu całego cyklu rozwojowego owadów danej populacji. W przypadku pędraków chrabąszczy jest to okres 3 do 4 lat. W związku z tym zarówno zdrowe, jak i porażone grzybem owady żerują przez pewien okres, powodując uszkodzenie upraw. Przy stosowaniu tych biopreparatów należy liczyć się z pewnymi szkodami, co jakby wpisane jest z góry w tę strategię zwalczania owadów. Strategia stosowania biopreparatów grzybowych polega na tym, że w ciągu cyklu rozwojowego chrabąszczy zdecydowana większość pędraków wyginie, a przepoczwarczą się tylko nieliczne osobniki i następna rójka będzie słaba i nie będzie stwarzała istotnego zagrożenia dla szkółek i upraw.

Celem tej pracy jest przedstawienie aktualnej wiedzy odnośnie do skuteczności grzybów w ograniczaniu liczebności szkodników korzeni, zwłaszcza pędraków chrabąszczy.

***Beauveria brongniartii* jako selektywny czynnik owadobójczy przeciwko pędrakom chrabąszczy (*Melolontha* spp.)**

Grzyby entomopatogenne mogą infekować w warunkach naturalnych różne gatunki owadów, zwłaszcza te stadia rozwojowe, które występują w glebie, jak pędraki chrabąszczy i larwy innych szkodników korzeni. Do ograniczania liczebności pędraków chrabąszczy wykorzystuje się biopreparaty zawierające grzyb *B. brongniartii*, który w odróżnieniu od innych grzybów mitosporowych, zakaża stosunkowo wąski krąg żywicieli. Głównymi żywicielami tego grzyba są chrabąszcze: majowy i kasztanowiec. Zakaża on wszystkie stadia rozwojowe chrabąszczy. Badania wykazały, że testowane izolaty *B. brongniartii* były bardziej patogeniczne w stosunku do pędraków chrabąszcza majowego niż w stosunku do pędraków innych gatunków owadów z rodziny *Scarabaeidae*. Hadapad i in. [2005] stwierdzili, że wszystkie testowane izolaty *B. brongniartii*, otrzymane z różnych rejonów geograficznych i wyizolowane z różnych gospodarzy, charakteryzowały się większą patogenicznością w odniesieniu do trzeciego stadium pędraków chrabąszcza majowego niż w odniesieniu do pędraków *Holotrichia serrata*. Należy nadmienić, że – poza chrabąszczami – grzyb ten był stwierdzany w Polsce tylko na kilku gatunkach owadów, np. *Plusia gamma* czy *Pityogenes chalcographus* [Lipa 1967].

Możliwości wykorzystania *B. brongniartii* do ograniczania populacji chrabąszczy (*Melolontha* spp.) jako pierwszy zauważył francuski uczyony Leopold Le Moulte około roku 1880. Niektóre próby terenowe przeprowadzone we Francji na szeroką skalę na początku XX wieku dały obiecujące wyniki. Prawdopodobnie zadecydowało to o podjęciu w tamtym okresie podobnych badań w Szwajcarii, Austrii i Polsce. W doświadczeniach nad zwalczaniem pędraków chrabąszczy przy użyciu *B. brongniartii* (określanego wówczas jako *Beauveria tenella*) przeprowadzonych we Francji, Austrii i Szwajcarii stosowano biopreparat zawierający 5% zarodników grzyba i 95% talku w dawce 20 kg/ha. Biopreparat, zawierający 20×10^6 zarodników/cm³ zawiesiny wodnej, stosowany w wymienionej dawce, powodował 80% śmiertelności pędraków. Przeprowadzone w tym okresie w Polsce próby ograniczania liczebności populacji pędraków chrabąszczy za pomocą *B. brongniartii* nie dały pozytywnych wyników [Karpiniński 1937]. W latach 1934-1935 na

terenie Nadleśnictwa Pożarzyn ponownie przeprowadzono próby nad użyciem wymienionego grzyba przeciwko pędrakom i owadom doskonałym chrabąszczy [Karpiński 1950]. Obserwacje wykonano w laboratorium, gdzie zarodnikami grzyba zakażano pędraki, poczwarki i owady doskonałe chrabąszczy majowego i kasztanowca oraz w terenie, opylając owady w czasie rójki sproszkowanymi kulturami grzyba. Badania nie dały jednak jednoznacznej odpowiedzi odnośnie do możliwości wykorzystania *B. brongniartii* w praktyce leśnej. Porażenie pędraków było niezadowalające, a w przypadku postaci doskonałych chrabąszczy redukcja wynosiła 20% [Karpiński 1937].

W warunkach naturalnych obserwowano w wielu przypadkach redukcję chrabąszczy przez omawiany gatunek grzyba. Występowanie *B. brongniartii* stwierdzono w 1936 roku w Nadleśnictwie Rudka na Białostocczyźnie [Bajer 1937]. Grzyb ten masowo porażał pędraki chrabąszcza kasztanowca, w wyniku czego uzyskano istotne zmniejszenie liczebności owadów doskonałych i osłabienie ich rójki. Powyższy przykład dowodzi, że w naszych warunkach jest możliwe ograniczanie populacji chrabąszczy za pomocą zabiegów przeprowadzonych przy użyciu wymienionego grzyba. Można dodać, że obecnie również wielokrotnie znajdowano tego grzyba w glebach, w różnych częściach Polski. *B. brongniartii* wchodzi w skład naturalnych czynników ograniczających populację chrabąszczy.

Badania wykonane na obszarze gradacji chrabąszcza kasztanowca w Niemczech wykazały, że najważniejszym patogenem pędraków w warunkach naturalnych była *B. brongniartii*, która wywoływała 50% wszystkich stwierdzonych infekcji [Trzebitzky 1996]. Pozostałe patogeny stanowiły *Rickettsiella melolonthae* (około 20%), nicienie (około 15%), *Pleistophora tenua* (około 13%) i *Nosema melolonthae* (2% stwierdzonych infekcji). Owady doskonałe były natomiast zakażane przez *B. brongniartii* w 40%, a przez nicienie – w około 40%, *P. tenua* – w około 12% i *R. melolonthae* – w około 8%. Obserwacje wykonane w Niemczech wykazały również, że w warunkach naturalnych, tylko w przypadku jednoczesnego wystąpienia w populacji pędraków dwóch patogenów (*B. brongniartii* i *R. melolonthae*) może dojść do załamania się gradacji chrabąszczy w ciągu jednego pokolenia. Jeśli jednak populacja nie osiągnie poziomu 80 larw L1/m² lub 30 larw L2/m² presja infekcyjna wydaje się za niska, żeby wywołać szybką epizootcję. Należy nadmienić, że inne patogeny, jak *Pleistophora tenua* i nicienie, aczkolwiek występują w populacji tego chrabąszcza, to jednak mają mały wpływ na dynamikę zamierania owadów.

Skuteczność działania biopreparatu zawierającego *Beauveria brongniartii*

Uaktywnienie się populacji chrabąszczy w latach osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych minionego wieku w różnych krajach Europy spowodowało ponowne zainteresowanie się *B. brongniartii* jako ważnym, naturalnym czynnikiem redukcji wymienionych owadów. W dużej mierze wynikało to z faktu nieuzyskania zgody odpowiednich czynników w krajach zachodniej Europy na stosowanie środków chemicznych. O ile używanie ich w tych krajach w latach pięćdziesiątych minionego wieku, kiedy miała miejsce poprzednia gradacja chrabąszczy, było powszechnie akceptowane, o tyle w czasie obecnie trwającej gradacji tych owadów, nie zaleca się ich stosowania, zwłaszcza przeciwko pędrakom. Wynika to z proekologicznego podejścia administracji w odniesieniu do ekosystemów leśnych oraz z przekonania, że środki chemiczne są kosztowne, pracochłonne i nie dają w pełni pożądanego efektu, chociaż stosowane w dużych dawkach mogą ograniczać szkody.

Pozytywne wyniki badań nad stosowaniem *B. brongniartii* w Szwajcarii [Keller 1983, 1986] były inspiracją do podjęcia prób terenowych z tym patogenem przeciwko pędrakom i owadom

doskonałym chrabąszczy we Włoszech i Niemczech. Określając podatność owadów na zakażenie grzybem opryskiwano w czasie rójki owady doskonale chrabąszczy płynnym biopreparatem zawierającym zarodniki omawianego patogena, a do ograniczania populacji pędraków w glebie stosowano zainfekowane grzybem ziarno zbóż [Zimmermann 1992]. W większości prób nie uzyskano w pełni pozytywnych wyników, jeżeli chodzi o działanie natychmiastowe badanych biopreparatów. W przypadku stosowania biopreparatu przeciwko owadom doskonałym chrabąszczy obserwowano zbyt długi okres czasu między infekcją a śmiercią owadów, pozwalający samicom na złożenie jaj do gleby. Jednakże zainfekowane samice składając jaja przносиły jednocześnie grzyb do gleby, który następnie mógł porażać pędraki. Działanie grzyba objawiało się więc w dłuższym czasie.

W ciągu roku pędraki przemieszczają się w glebie zarówno w kierunku poziomym, jak i pionowym. Przed każdym linieniem wędrują w głąb gleby na głębokość około 20 cm. W okresie zimy osiągają w glebach piaszczystych głębokość około 1 m. *B. brongniartii* był obserwowany na wszystkich poziomach pionowej migracji pędraków w glebie, a infekcja – w ciągu całego roku, co wskazuje na pewną niezależność zakażenia od temperatury. Wszystkie stadia rozwojowe chrabąszczy ulegały zakażeniu tym grzybem podczas pionowej migracji w glebie na różne głębokości. Nowe infekcje wywołane omawianym grzybem następują głównie po wiosennej migracji pędraków ku górze. W czerwcu podczas wylinki wszystkie stadia znajdują się w glebie na głębokości około 20 cm i na tej głębokości stwierdzano najwyższy poziom infekcji.

Bardzo ważnym czynnikiem wpływającym na zakażenie owadów omawianym grzybem jest temperatura. Przy niskiej temperaturze (8-12°C) okres inkubacji grzyba był bardzo długi, a śmiertelność pędraków zbliżona do kombinacji kontrolnej. Jednakże kiełkowanie zarodników na oskórku owadów było możliwe w niskiej temperaturze, chociaż trwało bardzo długo. Po 48 godz. przy temperaturze 7°C kiełkowało tylko 10% zarodników, przy 15°C – od 10 do 50%, a przy 25°C – wszystkie zarodniki kiełkowały w ciągu 36 godzin [Trzebitzky 1996]. Temperatura i wilgotność w okresie zimy są również istotne dla przebiegu infekcji u owadów doskonałych chrabąszczy. Jeżeli zima poprzedzająca rójkę chrabąszczy jest umiarkowana i wilgotna, wówczas postacie doskonałe są wrażliwe na infekcję wywołaną przez *B. brongniartii*. Obejmuje ona duży procent osobników, które zamierają przed wyjściem z gleby. Sytuację taką obserwowano w okresie zimy 1991/1992 w Niemczech, gdzie stwierdzono zamieranie owadów doskonałych chrabąszczy kasztanowca powyżej 60% [Trzebitzky 1996].

Duże znaczenie dla przebiegu zakażenia w warunkach naturalnych ma zjadliwość użytego w biopreparacie szczepu grzyba. Obserwacje wielu autorów wykazały, że zjadliwość różnych szczepów może być bardzo zróżnicowana. Szczepy czy izolaty wyodrębnione z pędraków pochodzących z miejsc o dużym zagęszczeniu owadów i dużym poziomie infekcji nie zawsze charakteryzowały się największą zjadliwością. Największą zjadliwość wykazywały izolaty pochodzące z miejsc o średnim poziomie liczebności pędraków i średnim stopniu ich zainfekowania.

Dla efektywnej ochrony sadzonek sosny przed pędrakami, przy użyciu biopreparatu zawierającego grzyby entomopatogenne, niezwykle ważny jest czas, jaki upływa od momentu zakażenia do śmierci owada. Im jest on dłuższy, tym szkody są większe, gdyż pędraki zainfekowane grzybem żerują. Określenie czasu od zainfekowania do śmierci owada w warunkach naturalnych jest niezwykle trudne. Okres inkubacji *B. brongniartii* w próbach pędraków i postaci doskonałych chrabąszczy kasztanowca zainfekowanych w sposób naturalny w warunkach polowych, a następnie przeniesionych do laboratorium, był następujący: przy temperaturze 19°C połowa osobników zmarła w ciągu 4 tygodni, a około 90% – w ciągu 90 dni [Trzebitzky 1996].

Przy interpretacji tych wyników należy wziąć pod uwagę fakt, że owady przeniesione z pola do laboratorium są poddane różnego rodzaju stresom i w związku z tym mogą być bardziej wrażliwe. Ponadto badania wykonano w temperaturze wyższej od tej, jaka normalnie występuje w glebie. Prawdopodobnie przy niższej temperaturze, w warunkach naturalnych, okres zamierania owadów będzie dłuższy. Należy zdawać sobie z tego sprawę przy stosowaniu tego grzyba do ograniczania populacji pędraków.

Dla efektywnego porażania pędraków biopreparat musi być równomiernie rozprowadzony w glebie. Przeprowadzono wiele testów laboratoryjnych i terenowych z zastosowaniem konidiów i blastospor *B. brongniartii* przeciwko pędrakom chrabąszcza majowego [Jackson, Glare 1992]. Zarodniki były stosowane specjalnym urządzeniem do podlewania gleby. Przy dawce 2×10^{10} konidiów/m² uzyskiwano śmiertelność pędraków na poziomie 38-80%. W glebach Valle d'Aosta (północno-wschodnie Włochy), w których *B. brongniartii* występował z częstotliwością mniejszą niż 0,5%, podjęto badania nad stosowaniem tego patogena do zwalczania pędraków chrabąszcza majowego, określając jego działanie, dystrybucję i trwałość [Ozino, Cravanzola 1994]. Na drugie stadium pędraków zastosowano wysoce wirulentny szczep w dawce 1×10^8 konidiów/m² gleby, co odpowiadało 5×10 konidiów/g suchej masy gleby. Poletka były traktowane grzybem jednokrotnie lub dwukrotnie (po roku od pierwszego zabiegu). Pobrane po 2 latach próbki gleby w celu określenia działania grzyba na drugie i trzecie stadium pędraków wykazały, że średnia śmiertelność owadów wyniosła około 22%. Nie stwierdzono istotnych różnic między poletkami traktowanymi jednokrotnie i dwukrotnie. Dziesięć miesięcy po zabiegu grzyb osiągnął w glebach stężenie od 5×10^4 do 4×10^5 konidiów/g suchej masy gleby. Trzy lata po jednorazowym zabiegu stwierdzono występowanie grzyba na poziomie od $1,2 \times 10^3$ do $4,9 \times 10^4$ konidiów/g suchej masy gleby. Dwa lata po dwukrotnym zabiegu występował on na poziomie od $6,7 \times 10^3$ do $1,2 \times 10^5$ konidiów/g suchej masy gleby. Z badań wynika, że *B. brongniartii* trwale utrzymuje się w badanych glebach i stanowi efektywny czynnik kontroli pędraków *M. melolontha*.

W Szwajcarii i Austrii *B. brongniartii* jest produkowany na ziarnie zbóż i stosowany doglebowo przeciw pędrakom za pomocą siewników zbożowych. Rozsiewanie i umieszczenie tego grzyba na odpowiedniej głębokości w glebie jest trudnym problemem do rozwiązania w rejonach silnego nasłonecznienia. W Stacji Doświadczalnej w Laimburgu (Włochy) opracowano specjalny siewnik umożliwiający umieszczenie zainfekowanego grzybem ziarna na odpowiednią głębokość w glebie. Stosowanie tej techniki nie jest możliwe na dużych powierzchniach i na terenach pagórkowatych. Podjęto więc prace nad ulepszeniem metody rozmieszczania zainfekowanego grzybem ziarna zbóż w glebie, stosując 200 g biopreparatu/m², co odpowiada $6-10 \times 10^{10}$ zarodników/m² [Bondaz, Vallet 1996]. Stwierdzono między innymi, że wysoka trawa, w którą wysiewano rzutowo zainfekowane ziarno, była w stanie ochronić grzybnię przed działaniem słońca do czasu niezbędnego na jej umiejscowienie się w glebie. Ponadto stwierdzono, że grzyb charakteryzuje się zdolnością penetracji w głąb gleby, nawet przy jednorazowym zabiegu.

Badano również wpływ rodzaju gleby na efektywność działania *B. brongniartii* na pędraki, gdyż niektóre próby terenowe wykazały większą jego skuteczność na łąkach niż w sadach. Wyniki Kellera i in. [1996] pozwoliły na stwierdzenie, że nie ma istotnej różnicy w rozwoju grzyba na glebach łąk i sadów. Niewielkie różnice mogą wynikać ze specyficznych zabiegów agrotechnicznych wykonywanych w wymienionych glebach. Zaobserwowano, że wzrost i rozwój grzyba w glebach pasteryzowanych był lepszy niż w glebach niepasteryzowanych. Z tego wynika, że – niezależnie od pochodzenia gleby – występujące mikroorganizmy mogą blokować

rozwój omawianego grzyba. Wcześniej stwierdzono, że występujące w glebach inne grzyby, na przykład *Penicillium* i *Pacilomyces* sp., nie współdziałają z *B. brongniartii* w sensie wirulencji i specyficzności gatunkowej [Keller 1991]. Może natomiast wystąpić synergistyczny efekt, czyli wzmożenie aktywności, przy jednoczesnym oddziaływaniu na pędraki *B. brongniartii* i bakterii *Bacillus popilliae* [Franken i in 1996].

Możliwe są dwie strategie stosowania *B. brongniartii* do zwalczania chrabąszczy:

- 1) wykonywanie zabiegów przeciwko pędrakom przez dogłębne stosowanie konidiów, blastospor, ziarna przerośniętego grzybnią lub strzępek grzybni,
- 2) wykonywanie zabiegów przeciwko owadom doskonałym przez stosowanie z samolotów konidiów lub blastospor i przenoszenie grzyba do gleby przez samice składające jaja.

Celem pierwszej strategii jest redukcja liczebności pędraków do poziomu nieszkodliwego dla chronionych roślin. Cel ten można osiągnąć tylko wówczas, gdy stosuje się odpowiednie formułacje, dobre wymieszanie biopreparatu z glebą oraz występują sprzyjające warunki meteorologiczne (wilgotność, temperatura). Jednorazowe zastosowanie biopreparatu na ogół nie jest wystarczające do obniżenia liczebności populacji pędraków w ciągu jednej generacji szkodnika. Najczęściej stosowaną formacją jest ziarno zbóż przerośnięte grzybnią, które wysiewa się za pomocą siewników zbożowych. Opracowano również do stosowania dogłębowego inne formułacje, jak suche strzępki grzybni czy grzybnia granulowana [Zimmermann 1994]. W ich przypadku infekcyjne konidia są produkowane dopiero po wysianiu biopreparatu do gleby. Celem drugiej strategii jest zainfekowanie owadów doskonałych i przeniesienie grzyba do gleby przez samice składające jaja. Biopreparat aplikuje się techniką samolotową, uzyskując pewną redukcję imagines w stosunkowo krótkim czasie. Ważniejszą sprawą przy stosowaniu tej strategii jest przeniesienie grzyba przez zainfekowane samice do gleby i zakażenie nim pędraków, których populacja powinna stopniowo ulegać zmniejszeniu. Próby zwalczania pędraków chrabąszcza majowego na łąkach przy wykorzystaniu *B. brongniartii* przeprowadzono w regionie Spessart w Bawarii [Benker, Leuprecht 2005]. Stosowano handlową formację grzyba Melocont-Pilzgerste (ziarno zbóż przerośnięte grzybnią) w dawce 50 kg/ha, którą rozsiewano specjalnym siewnikiem. Uzyskane wyniki były pozytywne. W końcowym efekcie śmiertelność pędraków wyniosła 80%.

Podjęto również próby stosowania *B. brongniartii* do zwalczania imagines chrabąszczy używając konidia lub blastosopory do opryskiwania drzewostanów. Porażenie owadów doskonałych było na ogół duże, jednak ostateczny efekt nie był wystarczający, gdyż zainfekowane samice zdążyły – w większości przypadków – złożyć jaja, z których wylęgły się pędraki. Badania nad stosowaniem wymienionego grzyba przeciwko postaciom doskonałym i pędrakom chrabąszczy przeprowadzono m.in. w południowym Tyrolu. W czasie rójki chrabąszczy w 1989 roku opryskano blastosporami obrzeża drzewostanów, uzyskując wysoki poziom porażenia owadów doskonałych. Efektywność zabiegu była jednak zbyt niska, gdyż samice były w stanie złożyć jaja. W innym doświadczeniu stosowano biopreparat do zwalczania pędraków w uprawach sadowniczych. Specjalnym siewnikiem wysiano ziarno jęczmienia przerośnięte *B. brongniartii* w dawce 30 kg/ha, powtarzając zabieg w następnym roku. Działanie inicjalne zastosowanego biopreparatu było nieznaczne. Uwidocznili się natomiast jego działanie długookresowe. Liczebność pędraków zmniejszała się stopniowo i po 2 latach obniżyła się do poziomu nieszkodliwego dla upraw sadowniczych [Zelger 1993].

Badania Kollera i in. [2005] miały na celu określenie czy zarodniki *B. brongniartii* mogą być rozprzestrzenione w populacji chrabąszcza kasztanowca przy wykorzystaniu jako wektorów samców zainfekowanych grzybem w wyniku pasażu przez pułapki feromonowe. W pułapkach

oprócz pylistej formułacji zarodników grzyba (zawierającej 1×10^9 zarodników/g) zastosowano mieszanę feromonu płciowego 1,4-benzochinonu i kairomonu płciowego (Z)-3-hekseno-1-olu. Pułapki zainstalowano w drzewostanach dębowych zasiedlonych przez chrabąszcze. Obie substancje lotne są atraktantami dla samców. Podczas rójki łowiono maksymalnie 261 samców/pułapkę/dzień. Liczba złowionych samców zależała o wysokości zawieszenia pułapki na drzewach (im wyżej, tym więcej łowiło się owadów). Doświadczenie miało dać odpowiedź na pytania o to, czy nastąpi przenoszenie zarodników: a) z pułapki do samców, b) z samców do samic, c) z samic do gleby i d) z gleby do pędraków. Samce pobierały wystarczającą liczbę zarodników, by ulec infekcji i podczas kopulacji zainfekować samice. Jednakże liczba zarodników grzyba w glebie nie zwiększyła się istotnie. Zagadnienie przenoszenia zarodników grzyba do gleby przez samice w celu zainfekowania pędraków pozostaje otwarte [Koller i in. 2005].

Biopreparaty oparte na *B. brongniartii* były zarejestrowane i stosowane do zwalczania pędraków chrabąszczy w Szwajcarii od 1990 roku przez Andermatt Biocontrol GmbH pod nazwą Engerlingspilz® (numer rejestracyjny W 4573) i Eric Schweitzer GmbH pod nazwą Beauveria-Schweitzer® (numer rejestracyjny W 4574). We Francji biopreparat zawierający *B. brongniartii* (pod starym synonimem *B. tenella*) o nazwie handlowej Betel® został zarejestrowany warunkowo w 1995 roku przez firmę Natural Plant Protection (Calliope). W Austrii biopreparat Melocont-Pilzgerste® został zarejestrowany tymczasowo w 1998 roku (numer rejestracyjny 2582) przez firmę F. J. Kwizda GmbH do zwalczania wszystkich stadiów rozwojowych chrabąszczy. Dotychczas jednak *B. brongniartii* jako czynnik aktywny biopreparatów do zwalczania pędraków chrabąszczy nie została wpisana do Załącznika I Dyrektywy 91/414/EEC, co umożliwiłoby stosowanie tego grzyba na szerszą skalę. Z uzyskanych informacji wynika, że prowadzone w tym kierunku działania pozwolą na wpisanie tego grzyba do wymienionego załącznika.

Możliwości wykorzystania *Metarhizium anisopliae* i *Verticillium lecanii* do zwalczania stadiów rozwojowych owadów żyjących w glebie

Do zwalczania owadów występujących w glebie mogą być także wykorzystane biopreparaty zawierające *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin, który występuje dość powszechnie w różnego rodzaju glebach. Zakaża on średnie spektrum owadów żyjących w glebie i może być ważnym czynnikiem ich regulacji [Rodrigues i in. 2005]. Grzyb ten poraża między innymi pędraki chrabąszczy i ogrodnicy niszczylistki (*Phyllopertha horticola*) oraz drutowce (*Elateridae*).

Badania prowadzone w Austrii [Pernfuss i in. 2005], w których stosowano w latach 2002 i 2003 granulowaną formułację *M. anisopliae* w dawce 50 kg/ha, jednokrotnie i dwukrotnie, wykazały po ośmiu tygodniach po zabiegu 14-16% redukcję populacji larw ogrodnicy niszczylistki. Występowanie tego grzyba w glebie, w ilości odpowiedniej do infekowania larw ogrodnicy, zarówno po jednokrotnym, jak i dwukrotnym zabiegu, spowodowało w dłuższym okresie czasu dalszą redukcję populacji tego owada. W 2004 roku nie obserwowano szkód na powierzchniach traktowanych, natomiast na powierzchniach nietraktowanych wystąpiły one w stopniu znacznym. Badania wykazują, że *M. anisopliae* może być uważany jako odpowiedni czynnik biologiczny do zwalczania pędraków ogrodnicy, podobnie jak *B. brongniartii* – do zwalczania pędraków chrabąszczy. Wyizolowanie z drutowców unikatowych szczepów *M. anisopliae* dało możliwość przeprowadzenia czteroletnich badań w celu określenia ich potencjału jako czynników biologicznej kontroli tych owadów [Kabaluk i in. 2005]. Badania wykazały, że drutowce szybko ulegały infekcji, a LT50 wynosiło 8 dni przy zastosowaniu 10^6 konidiów/g gleby. Owady doskonale były również bardzo wrażliwe na infekcję *M. anisopliae*. Z danych wynika, że drutowce można ograniczać za pomocą biopreparatów zawierających omawiany gatunek grzyba.

Verticillium lecanii poraża znaczny krąg żywicieli i jest stosowany do zwalczania szkodników ssących w biopreparatach, takich jak Mycotal – przeciwko mączlikowi szklarniowemu (*Traialeurodes vaporariorum*) i Vertalec – przeciwko mszycom. Badania Hirte i in. [1994] oraz Sermana i Kastnera [1994] wykazały, że grzyb ten może być wykorzystany do zwalczania stadiów rozwojowych owadów żyjących w glebie, jak na przykład larw wciornastka zachodniego (*Frankiniella occidentalis*). Nie prowadzono badań nad wykorzystaniem wymienionego grzyba do zwalczania szkodników korzeni.

Podsumowanie

Do zwalczania pędraków chrabąszczy preferowane są biopreparaty zawierające strzępki grzybni, zarodniki konidialne lub blastospory *Beauveria brongniartii*. Najczęściej były stosowane biopreparaty oparte na ziarnie zbóż przerośniętym grzybnią, na przykład Melocont-Pilzgerste® firmy Kwizda GmbH (Austria). Pędraki zakażają się grzybem stopniowo i w ciągu cyklu rozwojowego chrabąszczy następuje redukcja ich populacji do poziomu nieszkodliwego dla roślin. W związku z tym następna rójka będzie słabsza. Przy stosowaniu tej metody należy liczyć się z pewnymi stratami, gdyż chore owady żerują przez pewien czas zanim padną. Do zwalczania pędraków ogrodnicy niszczylistki skuteczne są biopreparaty zawierające grzyb *Metarhizium anisopliae*. Grzyb ten może być również wykorzystany przeciwko drutowcom. Natomiast *Verticillium lecanii* jest stosowany w biopreparatach do zwalczania szkodników ssących, również ich stadiów żyjących w glebie.

Literatura

- Bajer J. 1937. Chrabąszcz kasztanowiec w Nadleśnictwie Rudka. Las Polski 4.
- Bondaz F., Vallet S. 1996. Essai d'épandage à la vole de graines enrobées de *Beauveria brongniartii*, insertion et pénétration dans le sol. IOBC/WPRS Bulletin 19 (2): 65–68.
- Benker U., Leuprecht B. 2005. Field experience in the control of common cockchafer in the Bavarian region Spessart. IOBC/WPRS Bulletin 28 (2): 21–24.
- Franken E., Krieger L., Schnetter W. 1996. *Bacillus popilliae*: a difficult pathogen. IOBC/WPRS Bulletin 19 (2): 40–45.
- Hadapad A. B., Reinecke A., Zebitz W. 2005. Screening and selection of virulent isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch for the control of scarabs. IOBC/WPRS Bulletin 28 (2): 63–69.
- Hirte W., Triltsch H., Sermann H. 1994. Growth and survival of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* in the soil. IOBC/WPRS Bulletin 17 (3): 226–229.
- Jackson T. A., Glare T. R. (eds). 1992. Use of pathogens in scarab pest management. Intercept, Andover.
- Kabaluk T., Goettel M., Erlandson M., Ericsson J., Duke G., Vernon B. 2005. *Metarhizium anisopliae* as a biological control agent for wireworms and a report of some other naturally-occurring parasites. IOBC/WPRS Bulletin 28 (2): 109–116.
- Karpiński J. J. 1937. Próba walki z chrabąszczem (*Melolontha* spp.) za pomocą grzyba *Beauveria densa* Pic. Roczn. Nauk Roln. i Leśn. 41.
- Karpiński J. J. 1950. Zagadnienie walki z chrabąszczem za pomocą grzyba *Beauveria densa* Pic. Ann. Uniw. MCS Lublin-Polonia 2: 29–68.
- Keller S. 1983. Die mikrobiologische Bekämpfung des Maikafers (*Melolontha melolontha* L.) mit dem Pilz *Beauveria brongniartii*. Mitt. Schweiz. Landw. 31: 61–64.
- Keller S. 1986. Ein grobversuch zur Bekämpfung des Maikafers (*Melolontha melolontha* L.) mit dem Pilz *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. Mitt. Schweiz. Ent. Ges. 59: 47–56.
- Keller S. 1991. Pilzkrankheiten bei Schädlingen und ihre praktische Bedeutung. Landwirtschaft Schweiz Band 4: 219–230.
- Keller S., Parli B., Jacober C. 1996. The influence of soils on the growth of *Beauveria brongniartii*. IOBC/WPRS Bulletin 19 (2): 74–78.
- Koller R., Jung K., Scheu S., Zimmermann G., Ruther J. 2005. Biocontrol of the forest cockchafer (*Melolontha hippocastani*): Experiment on the applicability of the "Catch and Infect" – Technique using a combination of attractant traps with the entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii*. IOBC/WPRS Bulletin 28 (2): 37–46.
- Lipa J. J. 1967. Zarys patologii owadów. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.

- Malinowski H. 2009. Możliwości ochrony lasu przed owadami uszkadzającymi systemy korzeniowe metodą biologiczną z wykorzystaniem grzybów entomopatogennych. I. Mechanizm zakażenia owadów grzybami entomopatogennymi i czynniki wpływające na infekcję. Sylwan 153 (12): 795-804.
- Ozino O. I., Cravanzola F. 1994. Action of *Beauveria brongniartii* against *Melolontha melolontha* and its persistency in Valle d' Aosta. IOBC/WPRS Bulletin 17 (3): 240.
- Pernfuss B., Zelger R., Kron-Morelli R., Sytrasser H. 2005. Control of the garden chafer *Phyllopertha horticola* with GranMet-P, a new product made of *Metarhizium anisopliae*. IOBC/WPRS Bulletin 28 (2): 47-50.
- Sermann H., Kastner U. 1994. Effectiveness of a soil application of *Verticillium lecanii* on soilborne stages of *Frankliniella occidentalis*. IOBC/WPRS Bulletin 17 (3): 230-233.
- Trzebitzky C. 1996. Strain selection and epizootic in microbial grub control with *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. IOBC/WPRS Bulletin 19 (2): 54-58.
- Zimmermann G. 1992. Maikafer – Tagung 21-23 November 1991. Versuchszentrum Laimburg/Italien. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutz 44: 91-93.
- Zimmermann G. 1994. Strategies for the utilization of entomopathogenic fungi. Proc. 6th Intern. Colloq. Invert. Pathol. and Microbial Control. 1: 64-73.
- Zelger R. 1993. Maikäfer. Versuchbericht 1992. Schriftenreihe Laimburg 3: 126-142.

SUMMARY

Possibility of forest protection against insects damaging root systems with the use of biological method based on entomopathogenic fungi.

II. Effectiveness of fungal bioinsecticides against *Melolontha* spp. white grubs and other pests of roots

Beauveria brongniartii is preferred to control *Melolontha* spp. white grubs in the form of bioinsecticides containing fungal hyphae, conidia or blastospores. Bioinsecticides such as Melocont-Pilzgerste® (Kwizda GmbH, Austria) based on barley grain with fungal hyphae were the most frequently used. White grubs are infected progressively and the reduction of their populations below harmful level may be reached during one development cycle. Using this method some losses are predicted, because mycosed white grubs feed by some time damaging plant roots. Bioinsecticides containing *Metarhizium anisopliae* may be used to control *Phyllopertha horticola* grubs. This fungus may also be effective in control of *Elateridae*. *Verticillium lecanii* is used to control sucking insects, also their development stages living in soil, but not against insect pests of roots in forest nurseries and plantations.