

Barbara Głowacka, Jadwiga Ziemnicka, Jerzy J. Lipa,
Józef Chłodny

**LABORATORYJNA I TERENOWA OCENA SKUTECZNOŚCI
BIOPREPARATU VIROX W ZWALCZANIU BORECZNIKA
RUDEGO (NEODIPRION SERTIFER GEOFFR.)
(HYMENOPTERA: DIPRIONIDAE)**

I. WSTĘP

Borecznik rudy (*Neodiprion sertifer* Geoffr.) jest poważnym szkodnikiem młodników i upraw sosny (*Pinus* spp.) w Europie i Ameryce Północnej. W Polsce w ostatnich latach wyraźnie wzrosło zagrożenie upraw tym szkodnikiem. O ile w roku 1983 powierzchnia zaatakowanych upraw i młodników sosnowych wynosiła 1160 ha, to w 1984 — 4236 ha, w 1985 — 8507 ha a w 1986 — 27 584 ha. Odpowiednio też wzrastały powierzchnie drzewostanów poddawanych ochronnym zabiegom chemicznym z 33 ha w 1983 r. i 200 ha w 1984 r., do 929 ha w 1985 r. i 6900 ha w 1986 r. Takie insektycydy jak Decis 2.5 EC i Ripcord ULV 35 zapewniają dobrą skuteczność zwalczania szkodnika w Polsce, którą w 1984 r. oceniono na 80—97% a w 1985 r. na 65—100%.

Jednakże względy ochrony środowiska niejednokrotnie uniemożliwiają stosowanie chemicznych pestycydów. Stąd już od dawna istnieje duże zainteresowanie biologicznym zwalczaniem borecznika za pomocą wirusa jądrowej jelitowej poliedrozy (*Baculovirus sertifer* Krieg).

Głowacka-Pilot (1967, 1972, 1973) omówiła przydatność tego wirusa w zwalczaniu borecznika w Polsce oraz przedstawiła wyniki swoich badań nad wykorzystaniem przygotowanego we własnym zakresie biopreparatu wirusowego w zwalczaniu tego szkodnika w kilku rejonach Polski.

W niniejszej pracy przedstawiamy wyniki badań przeprowadzonych w 1986 r. nad zwalczaniem borecznika handlowym biopreparatem wirusowym Virox produkowanym przez firmę Microbial Resources Ltd.

II. MATERIAŁY I METODY

Biopreparat

Virox jest płynnym biopreparatem, którego składnikiem czynnym jest wirus jądrowej poliedrozy jelitowej (*Baculovirus sertifer*) przeznaczony do zwalczania larw borecznika rudego *Neodiprion sertifer*. Jest on wytwarzany przez Microbial Resources Ltd. Theale Technology Centre, Theale, Berkshire RG74JW, Anglia. W 1 ml preparatu znajduje się 5×10^7 poliedrów wirusowych.

Doświadczenia laboratoryjne

Do testów laboratoryjnych użyto larw borecznika w stadium L_2 w liczbie 120 (3×40) na każde pięć koncentracji: 1×10^2 , 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 i 1×10^6 poliedrów/ml.

Larwy nanoszono na bukiety jednorocznych pędów sosny zwyczajnej (*Pinus silvestris* L.) umieszczonych w 2-litrowych zlewkach szklanych (rys. 1) i opryskanych przy pomocy małego opryskiwacza i zużyciu 1 ml wodnej zawiesiny biopreparatu o wymienionej koncentracji z dodatkiem 0,5‰ Sandowitu.

Zlewki po szczelnym nakryciu gazą (ryc. 2) umieszczono w pokoju o temp. $23 \pm 2^\circ\text{C}$, wilgotności względnej powietrza 40—60‰ i 18-godzinnym fotoperiodzie.



Ryc. 1. Młode pędy sosny (*P. silvestris*) przygotowane do oprysku i nałożenia larw *N. sertifer* (fot. W. Adamczyk)

Fig. 1. Young shoots of *P. silvestris* prepared for spraying and exposition to larvae of *N. sertifer*



Ryc. 2. Ogólny widok doświadczenia z różnymi koncentracjami Viroxu (fot. W. Adamczyk)

Fig. 2. General view of experiment with various concentrations of Virox

Pierwszą kontrolę śmiertelności larw wykonano na 4. dzień po zabiegu a następnie codziennie aż do 9. dnia po infekcji. Obecność poliedrów wirusowych w jelicie zamierających larw badano na rozmazach w mikroskopie świetlnym.

Uzyskane dane analizowano statystycznie wyznaczając wartość LC_{50} i LT_{50} według metod opisanych przez Lipę i Śliżyńskiego (1973) oraz Śliżyńskiego i Lipę (1973).

Doświadczenie terenowe

Doświadczenie w warunkach terenowych wykonano na 5- i 7-letnich uprawach sosny zwykłej (*P. silvestris*) w nadleśnictwie Gidle, OZLP Katowice, kiedy sosny były zaatakowane przez larwy borecznika w stadium L_1 .

Wydzielono 3 powierzchnie doświadczalne: na powierzchni A (uprawa 7-letnia — 0,8 ha) było zaatakowanych 64%, na powierzchni B (uprawa 5-letnia — 0,5 ha) — 52%, a na powierzchni C (uprawa 5-letnia — 0,5 ha) — 40% drzew. Liczba kolonii borecznika na zasiedlonych drzewach wynosiła od 2 do 7 na jednym drzewie, a w jednej kolonii było średnio 35,3 larw.

Powierzchnie A i B opryskano w dniu 8 V 1986 r. wodną zawiesiną preparatu Virox (0,1 l/ha) z dodatkiem 20 ml Citowettu. Opryskiwanie wykonano opryskiwaczem plecakowym Solo przy zużyciu 40 l cieczy na 1 ha.

Na powierzchni A 4 godziny po zabiegu spadł deszcz, a na powierzchni B — 1,5 godziny po zabiegu.

Kontrolę śmiertelności larw wykonano w dniu 28 V 1986 r. na 50 wybranych losowo zasiedlonych drzewkach na powierzchniach A, B i C, licząc kolonie oraz oceniając zdrowotność larw.

III. WYNIKI

Wyniki doświadczeń laboratoryjnych przedstawiono w tabelach 1, 2 i 3. Znacząca śmiertelność larw miała miejsce począwszy od 4. dnia od rozpoczęcia ich żerowania na igłach potraktowanych biopreparatem Virox. Przy wyższych stężeniach 1×10^5 i 1×10^6 poliedrów/ml na 7. dzień od infekcji śmiertelność wynosiła 95,8% (tab. 1), a na 9. dzień śmiertelność larw wynosiła 100% przy wszystkich koncentracjach.

Tabela 1

Śmiertelność larw L_2 borecznika *N. sertifer* po zastosowaniu różnych koncentracji preparatu Virox

Mortality of 2nd instar larvae of *N. sertifer* exposed to various concentrations of Virox

Koncentracja w % i liczba poliedrów/ml Concentration in % and polyhedra/ml	Liczba gąsienic No. of larvae	Kumulatywny procent śmiertelności larw w dniu Cumulative % of larval mortality on day					
		4	5	6	7	8	9
Virox 0,0002% (1×10^3)	120	10,0	27,5	42,5	62,5	78,3	100,0
0,002% (1×10^3)	120	14,2	30,8	52,5	67,5	82,5	100,0
0,02% (1×10^4)	120	19,2	42,5	57,5	78,3	87,5	100,0
0,2% (1×10^5)	120	19,2	49,2	68,3	95,8	95,8	100,0
2% (1×10^6)	120	20,0	48,3	72,5	96,7	96,7	100,0
Kontrola Untreated	120	0,0	0,0	0,0	0,8	1,7	1,7

Wartość LC_{50} dla larw L_2 (średnie dla trzech powtórzeń) wynosiła $6,9 \times 10^2$ poliedrów/ml (tab. 2).

Wartość LT_{50} dla larw L_2 wynosiła przy wyższych dawkach 5 dni a przy najniższych 5,9—6,2 dni (tab. 3).

Przy ocenie skuteczności zabiegów na uprawach sosnowych wyróżniono kolonie larw martwych, zamierających i zdrowych. Za kolonie martwe

Tabela 2

Wartości LC_{50} wirusa jądrowej poliedrozy dla larw L_2 borecznika rudego (*N. sertifer*)
 LC_{50} values of nuclear polyhedrosis virus for 2nd instar larvae of *N. sertifer*

Liczba larw testowanych No. of larvae tested	Powtórzenie Replicate	LC_{50} (poliedrów/ml) (PIB/ml)	Przedział ufności 95% Fiducial limit 95%	Równanie regresji Regression equation $y = bx + a$	Współczynnik regresji Regression coefficient
120	a	$2,7 \times 10^2$	$0,4 \times 10^2 - 15,9 \times 10^2$	$y = 0,122x + 4,704$	0,976
120	b	$6,7 \times 10^2$	$0,4 \times 10^2 - 11,6 \times 10^2$	$y = 0,222x + 4,372$	0,941
120	c	$10,7 \times 10^2$	$2,8 \times 10^2 - 40 \times 10^2$	$y = 0,247x + 4,252$	0,988
360	a+b+c	$6,9 \times 10^2$	$2,3 \times 10^2 - 20 \times 10^2$	$y = 0,198x + 4,438$	0,991

Tabela 3

Wartość LT_{50} dla larw L_2 borecznika rudego (*N. sertifer*) przy różnych koncentracjach poliedrów wirusa jądrowej poliedrozy

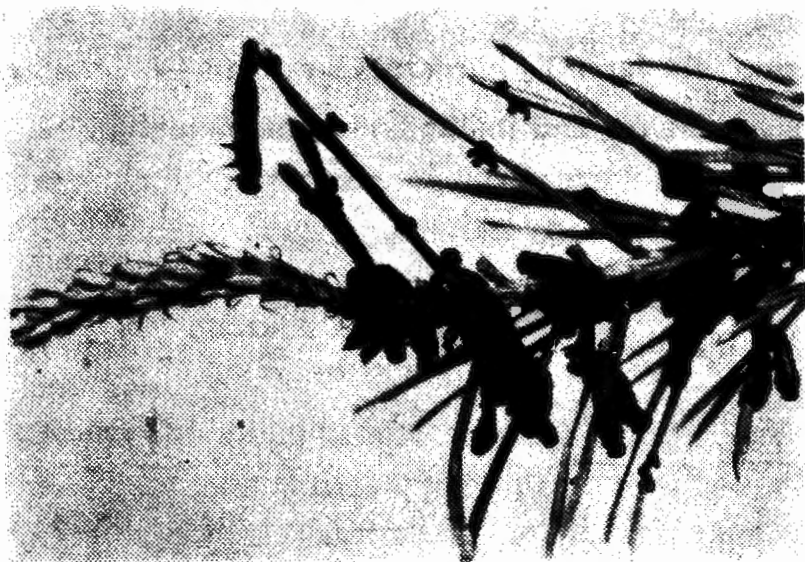
LT_{50} values for 2nd instar larvae of *N. sertifer* at various concentrations of polyhedral bodies of nuclear polyhedrosis virus

Liczba poliedrów/ml Polyhedra/ml	Liczba owadów testowanych No. of larvae tested	LT_{50} (dni, days)	Przedział ufności 95% Fiducial limit 95%	Równanie regresji Regression equation $y = bx + a$
1×10^2	120	6,2	± 0	$y = 6,732x - 0,348$
1×10^3	120	5,9	± 0	$y = 6,625x - 0,096$
1×10^4	120	5,4	± 0	$y = 6,714x + 0,073$
1×10^5	120	5,0	4,5-5,6	$y = 9,321x - 1,529$
1×10^6	120	5,0	4,4-5,6	$y = 9,679x - 1,734$

uznawano te kolonie, w których wszystkie larwy nie wykazywały oznak życia (ryc. 3). Za kolonie zamierające uznawano te, w których ponad 70% larw było martwych i około 30% nieruchliwych o zmienionej barwie (ryc. 4). Za kolonie zdrowe uznawano te, w których wszystkie larwy były żywe i reagowały podniesieniem głowy na zbliżanie ręki (ryc. 5).

Jak przedstawia tabela 4, na powierzchniach A i B opryskanych biopreparatem Virox nie znaleziono ani jednej kolonii zdrowej. Natomiast 93,7% zdrowych kolonii stwierdzono na powierzchni kontrolnej C.

Wysoki procent martwych kolonii na powierzchni A (91,4%) i na powierzchni B (81,3%) oraz kolonii zamierających (odpowiednio 8,6 i 18,7%) wskazuje na wysoką skuteczność Viroxu w warunkach naturalnych mimo deszczu, który spadł po 4 (pow. A) i 1,5 godziny (pow. B) od zabiegu.



3



4



5

Ryc. 3—5. Rodzaje kolonii borecznika *N. sertifer* przyjęte dla oceny skuteczności zabiegu: 3 — kolonia martwa; 4 — kolonia zamierająca; 5 — kolonia zdrowa (ryc. 3, fot. mgr inż. W. Brodzikowski; 4, 5 — W. Adamczyk)

Fig. 3—5. Types of larval colonies of *N. sertifer* recognized at evaluation of treatment effectiveness: 3 — dead colony; 4 — sick colony; 5 — healthy colony

Tabela 4

Wyniki zwalczania borecznika rudego (*N. sertifer*) biopreparatem Virox w dawce 5×10^9 poliedrów/ha

Results of treatment against *N. sertifer* using Virox at a dose 5×10^9 polyhedra/ha

Powierzchnia traktowania Area treated	Liczba kontrolowanych drzew Number of inspected trees	Liczba kontrolowanych kolonii larw Number of inspected larval colonies	Procent kolonii Percent of colonies		
			martwych dead	zamierających sick	zdrowych healthy
A (0,8 ha)	50	198	91,4	8,6	0,0
B (0,5 ha)	50	166	81,3	18,7	0,0
C (0,5 ha)	50	127	0,0	6,3	93,7

IV. DYSKUSJA

Naturalne epizootcje wirusowe w populacjach borecznika rudego (*N. sertifer*) obserwowano wielokrotnie w świecie i w Polsce (Głowacka-Pilot 1972, 1973). Jednakże epizootcje te rozwijają się nie we wszystkich populacjach borecznika i na ogół to sprawia, że larwy mają możliwość długiego żerowania i wyrządzania znacznych szkód.

Wywołanie lub przyspieszenie rozwoju epizootcji można uzyskać przez wprowadzenie wirusa do populacji borecznika opryskując zaatakowane przez niego drzewa.

Głowacka-Pilot (1972, 1973) stosując przygotowaną we własnym zakresie wodną zawiesinę wirusa o stężeniu 5×10^7 poliedrów/ml stwierdziła 100% śmiertelność larw w okresie 14 dni od zabiegu.

Planując wprowadzenie metody mikrobiologicznej do programu ochrony sosny przed borecznikiem rudym (*N. sertifer*) konieczny jest handlowy biopreparat spełniający wszystkie wymagania związane ze skutecznością, rejestracją i dopuszczeniem do stosowania w praktyce. Z powyższych względów do badań zastosowaliśmy handlowy biopreparat Virox (Microbial Resources, Ltd.).

Jak wynika z doświadczeń laboratoryjnych, Virox odznacza się wysoką skutecznością, gdyż już w 4. dniu po infekcji śmiertelność larw sięgała 19—20% przy dawkach 1×10^4 — 1×10^6 poliedrów/ml. Przy wyższych dawkach już na 6.—7. dzień wynosiła ona 42,5—96,7%, a na 9. dzień wynosiła 100% dla wszystkich dawek. Wartość LC_{50} wynoszącą $6,9 \times 10^2$ poliedrów/ml należy uznać za w pełni zadowalającą z praktycznego punktu widzenia.

Powyższe dane świadczą o wyższej infekcyjności szczepu wirusa jądrowej poliedrozy użytego do produkcji Viroxu w porównaniu do wyizolowanego w Polsce szczepu użytego w badaniach Głowackiej-Pilot (1972). Krajowy szczep powodował 100% śmiertelność larw przy wysokich stężeniach 5×10^6 i 5×10^7 poliedrów/ml i osiągał poziom 100% dopiero po 15 dniach. Natomiast w przypadku biopreparatu Virox śmiertelność taką obserwowano już po 7 dniach. Dane te potwierdzają znaną prawidłowość, że szczepy wirusów są bardziej infekcyjne dla obcych populacji owadów niż dla tych z których zostały wyizolowane.

Drzewa sosny tolerują względnie dobrze umiarkowany żer larw borecznika i regenerują igliwie. Dzięki temu, mimo że okres zamierania zakażonych larw jest wydłużony w stosunku do działania preparatów chemicznych, skuteczność biopreparatu Virox jest zadowalająca.

Terenowe doświadczenia wykazały wysoką skuteczność Viroxu użytego w zalecanej przez producenta dawce 0,1 l/ha, gdyż w 21 dni po zabiegu na opryskanych dwóch powierzchniach (0,8 i 0,5 ha) upraw sosnowych nie stwierdzono żadnych zdrowych kolonii larw borecznika. Nawet opady deszczu nie zmniejszyły istotnie skuteczności preparatu ani na powierzchni B, gdzie deszcz spadł po 1,5 godzinie, ani na powierzchni A, gdzie spadł po 4 godzinach od wykonanego zabiegu. W obu bowiem wypadkach 100% kolonii larw było zainfekowanych przez wirusy. Natomiast na powierzchni kontrolnej liczba zdrowych kolonii wynosiła 93,7%.

Powyższe dane wyraźnie wskazują, że Virox w dawce 0,1/ha jest wysoce skuteczny w zwalczaniu larw L_1 i L_2 *N. sertifer* i może być zarejestrowany do zwalczania tego szkodnika w lasach na terenie Polski.

LITERATURA

1. Głowacka-Pilot B. — 1967 — Spostrzeżenia nad poliedrozą borecznika rudego (*Neodiprion sertifer* Geoffr.) w Polsce. Sylwan nr 2, s. 85—86.
2. Głowacka-Pilot B. — 1972 — Zastosowanie wirusa poliedrozy w zwalczaniu borecznika rudego (*Neodiprion sertifer* Geoffr.). Prace Inst. Bad. Leśnictwa 425, s. 65—78.
3. Głowacka-Pilot B. — 1973 — Wrażliwość larw L_2 borecznika rudego (*Neodiprion sertifer* Geoffr.) na infekcję wirusem poliedrozy. Sylwan nr 7, s. 45—52.
4. Lipa J. J., Śliżyński K. — 1973 — Wskazówki metodyczne i terminologia do wyznaczania średniej dawki śmiertelnej (LD_{50}) w patologii owadów i toksykologii. Prace naukowe Inst. Ochr. Roślin 15, s. 59—83.
5. Śliżyński K., Lipa J. J. — 1973 — Wskazówki metodyczne do wyznaczania średniego czasu zamierania (LT_{50}) w patologii owadów i toksykologii. Prace nauk. Inst. Ochr. Roślin 15, s. 85—98.

Б. Гловацка, Я. Земницка, Е. Ю. Липа, Ю. Хлодны

ЛАБОРАТОРНАЯ И ПОЛЕВАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВИРОКСА
В БОРЬБЕ С СОСНОВЫМ РЫЖИМ ПИЛИЛЬЩИКОМ
(HYMENOPTERA : DIPRIONIDAE)

РЕЗЮМЕ

Микробный инсектицид вирокс, содержащий полиэдрические включения вируса ядерного полиэдроза, оказался высоко эффективным в лабораторных и полевых испытаниях против личинкам первого и второго возраста *N. sertifer*. Смертность личинок при всех использованных дозах (1×10^2 — 1×10^6 полиэдров/мл) составлялся 100% на 9-тый день лабораторного опыта. Значение $ЛК_{50}$ составляло $6,9 \times 10^2$ полиэдров/мл, а значение $ЛТ_{50}$ составляло 5—6 дней в зависимости от дозы.

На молодых деревьях обыкновенной сосны (*Pinus silvestris*), опрыснутых 8 V 86 вироксом в дозе 0,1 л/га не наблюдалось 28 V 86 никаких живых колоний пилильщика, а на необработанных деревьях 93,7% колоний было в полни живых.

В. Głowacka, J. Ziemnicka, J. J. Lipa, J. Chłodny

LABORATORY AND FIELD EFFICACY OF VIROX IN CONTROL
OF THE EUROPEAN PINE SAWFLY (*NEODIPRION SERTIFER* GEOFFR.)
(HYMENOPTERA: DIPRIONIDAE)

SUMMARY

A microbial insecticide Virox containing polyhedral inclusions bodies (PIB) of the nuclear polyhedrosis virus was very effective in laboratory and field tests against 1st and 2nd instar larvae of *N. sertifer*. The mortality of larvae at all doses used (1×10^2 — 1×10^6 PIB/ml) reached 100% on the 9th day of the laboratory test. The LC_{50} value was 6.9×10^2 PIB/ml and the LT_{50} value ranged from 5.0 to 6.2 days depending on doses.

On young pine trees (*Pinus silvestris*) sprayed on 8 V 86 with Virox at a dose 0.1 l/ha no living larval colonies were observed on 28 V 86, while on untreated trees 93.7% of living colonies were present.