

A. BŁOŃSKA

Dział Badania Stonki Ziemniaczanej IOR w Poznaniu

Badania nad florą grzybów owadobójczych występujących na stonce ziemniaczanej

Doniesienie tymczasowe

Głównym celem przy opracowywaniu niniejszego zagadnienia było wyodrębnienie aktywnych pasożytów stonki i przebadanie ich zjadliwości w stosunku do stonki w warunkach laboratoryjnych i polowych.

Materiał do badań był dostarczany z różnych miejsc występowania ognisk stonki, punktów sygnalizacyjnych oraz z ogólnej hodowli laboratoryjnej. W skład materiału laboratoryjnego wchodziły:

- 1) chrząszcze zimujące, zróżnicowane na szereg grup fizjologicznych;
- 2) okazy larw i chrząszczy podejrzane o chorobę, napotykaną w hodowli w ciągu całego okresu wegetacyjnego stonki.

Po wykonaniu szeregu analiz mikroskopowych, fragmenty grzybów posiewano na sztuczne podłoża w celu wyizolowania czystych kultur. Otrzymane kultury były podstawowym materiałem do badań morfologiczno-biologicznych szczepów patogenicznych, ich wirulencji i aktywności w infekcji stonki.

Na podstawie wykonanych analiz można stwierdzić, że w naszych warunkach powszechnie występującym pasożytem stonki jest grzyb rodzaju *Beauveria*.

W poszukiwaniach innych szczepów zjadliwych dla stonki wykonano także izolację kultur grzyba *Beauveria* z *Melolontha melolontha*, *Aporia crataegi*, *Diprion* sp., *Ips typographus* (okazy krajowe), *Tanymericus dilaticollis*, *Bothynoderes punctiventris* i *Formica* sp. (okazy zagraniczne z Bułgarii i Czechosłowacji).

W wyniku przeprowadzonych badań określono następujące gatunki grzybów rodzaju *Beauveria*: *Beauveria bassiana*, *Beauveria globulifera* i *Beauveria* sp. (izo-

lowana ze stonki), które użyto do doświadczeń laboratoryjnych nad infekcją stonki.

Gatunki, względnie szczepy, które wykazywały w doświadczeniach laboratoryjnych największą zjadliwość, zastosowano następnie w doświadczeniach polowych.

W doświadczeniach laboratoryjnych badano wszystkie stadia rozwojowe stonki (100 szt. w każdym $\times 3$ powtórzenia), jaja, larwy L_1 , L_2 , L_3 , L_4 i chrząszcze (oddzielnie samce i samice).

Infekcję wykonywano przez opylanie, bądź opryskiwanie liści ziemniaka (umieszczonych w fiolkach na sterylnym piasku w słoikach Wecka) zarodnikami wymienionych grzybów.

Wypróbowano różne rozcieńczenia: 1:5, 1:10, 1:20, 1:50 (w ilości 0,01 g zarodników na 50 larw), przy czym przy opylach jako rozcieńczacz używano talku, przy opryskach — wody. Następnie na zainfekowane liście ziemniaka wykładano poszczególne stadia. W kontroli użyto normalnych liści ziemniaka i liści opylonych talkiem.

Zainfekowany pokarm podawano jednorazowo a po upływie 24 godzin, w ciągu których stonka poruszała się po nim i żerowała, zastąpiono go pokarmem normalnym nie infekowanym. Obserwacje prowadzono codziennie, temperaturę i wilgotność mierzono 3 razy dziennie.

Doświadczenia te dały następujące wyniki: rozcieńczenie 1:20 powodowało 100% śmiertelności larw w tym samym czasie co rozcieńczenie 1:10, rozcieńczenia większe od 1:20 przedłużały znacznie okres choroby. Przy tym lepszą infekcję uzyskiwano przy opylaniach, dlatego też z dalszych prób wyeliminowano opryski. Wil-

gotność ciała larw była zupełnie wystarczająca dla rozwoju grzyba na zewnątrz, a następnie zaatakowania żywiciela (średnia wilgotność względna w komorach hodowlanych wynosiła 60%, temp. + 24°C).

Przy obserwowaniu zachorowań nie da-

ło się zauważyć infekcji jaj, larwy wylęgały się z nich w 85%, a do stadium imago dochodziło 75%. Larwy L_1 i L_2 na trzeci dzień po infekcji ciemniały i ginęły w 95%. Wyraźny przebieg choroby obserwowano u larw L_3 (tabela 1).

Tabela 1

Przebieg choroby u larw L_3

G r z y b	Pierwsze objawy choroby	Śmiertelność do 10 dni (w procentach)	Końcowa śmiertelność	
			w %	za dni
<i>Beauveria bassiana</i>	3 4 dni	85	98	20
<i>Beauveria Globulifera</i>	3—4 dni	72	85	20
<i>Beauveria sp.</i>	2 dni	86	90	20
Kontrola — normalne	—	4,5	5	20
Kontrola liści opyl. talkiem	—	5	5	20

Jak widać z tabelki 1, mimo że *Beauveria sp.* szybciej wywoływała pierwsze objawy choroby, bo już po upływie 48 godzin, to jednak większą śmiertelność końcową uzyskano przy infekcji grzybem *Beauveria bassiana*.

Średni procent śmiertelności larw L_3 z 3 powtórzeń wynosił:

<i>Beauveria bassiana</i>	95	98	100
„ <i>globulifera</i>	68	72	75
„ <i>sp.</i>	86	88	90

W doświadczeniach z infekcją larw L_4 grzybem *Beauveria bassiana* średni procent śmiertelności z trzech powtórzeń wynosił 85%, w doświadczeniach z *Beauveria globulifera* i *Beauveria sp.* 70%.

W doświadczeniach z chrząszczami nie zaobserwowano różnic infekcyjnych między poszczególnymi gatunkami stosowanych grzybów. Chrząszcze ginęły w 50%, lecz dopiero po upływie 30 dni.

W kontroli, gdzie podawano liście opylone talkiem, nie stwierdzono ujemnego wpływu talku.

Z uwagi na niewielkie różnice patogeniczności stonki w infekcji grzybem *Beauveria bassiana* i *Beauveria sp.* doświadczenia polowe przeprowadzono już tylko z grzybem *Beauveria bassiana*. Wzięto tu

także pod uwagę słabe zarodnikowanie grzyba *Beauveria sp.* w sztucznej kulturze przy otrzymywaniu materiału zarodnikowego.

Doświadczenia polowe pod izolatorami

W doświadczeniach tych stosowano opylanie roślin ziemniaków grzybem *Beauveria bassiana* w ilości 1 kg zarodników na 1 hektar rozcieńczonych w 20 kg talku. Przy 62 000 roślin na powierzchni jednego hektara na jedną roślinę przypadało około 300 mg mieszaniny. Poszczególne rośliny pod izolatorami opylano opylaczem ręcznym, a następnie wykładano na nie poszczególne stadia stonki.

Pierwsze doświadczenie założono na larwach L_1 , L_2 , L_3 , L_4 po 100 szt. każdego stadium w 1 izolatorze i na chrząszczach również po 100 sztuk (oddzielnie samice i samce). Wykonano 5 powtórzeń zawierających 3 600 osobników.

Obserwacje były prowadzone w odstępach 3-dniowych, przy czym notowano ilość osobników: martwych, chorych i zdrowych. Osobniki martwe przy każdorazowej obserwacji odkładano do szalek Petriego, które były umieszczone w poszczególnych izolatorach. W doświadczeniu z

larwami L_1 i L_2 powierzchnia ziemi w izolatorze była pokryta bibułą, celem łatwiejszej kontroli chorych i martwych larw.

Doświadczenie kontrolne obejmowało po 100 szt. każdego stadium i było oddalone od roślin opylonych o 300 metrów. Temperatura i wilgotność była mierzona 3 razy w ciągu dnia na wysokości 0,5 m wewnątrz krzaków ziemniaczanych. Średnia temperatura w ciągu trwania doświadczenia wy-

nosiła 24°C (wahania od 18,1 — 29,8). Średnia wilgotność w ciągu trwania doświadczenia wynosiła 87,7% (wahania od 69 — 94,6).

Tabela 2 ilustruje procent śmiertelności larw poszczególnych stadiów po 3, 6 i 9 dniach oraz ostateczny, otrzymany po zlikwidowaniu doświadczenia, gdy w kontroli wychodziły chrząszcze.

Tabela 2

Procent śmiertelności larw

Stadium	Powtórzenie	Procent śmiertelności				
		po 3 dniach	po 6 dniach	po 9 dniach	ogólny po zlikw. doświadczeń	średni z 5 powtórzeń
L_1	I	50	100	—	100	100
	II	69	100	—	100	
	III	59	100	—	100	
	IV	72	100	—	100	
	V	60	100	—	100	
	Kontr.	10	12	14	14	14
L_2	I	49	72	85	92	86
	II	28	56	79	93	
	III	24	34	68	80	
	IV	50	58	60	85	
	V	62	70	72	80	
	Kontr.	12	15	16	20	20
L_3	I	10	35	+ 50	82	84
	II	12	49	58	89	
	III	8	34	60	95	
	IV	16	40	72	89	
	V	10	50	55	75	
	Kontr.	2	4	11	11	11
L_4	I	12	24	++ —	54	60
	II	8	38	—	64	
	III	15	42	—	78	
	IV	14	32	—	60	
	V	20	39	—	55	
	Kontr.	2	8		10	10

+ larwy zaczęły schodzić do ziemi

++ po 8 dniach wszystkie larwy zeszły do ziemi

Tabela 3 przedstawia procent śmiertelności chrząszczy po 5, 10, 20 i 30 dniach oraz średni procent otrzymany z 5 powtórzeń.

Tabela 3

Procent śmiertelności chrząszczy

Stadium	Powtórzenie	P r o c e n t ś m i e r t e l n o ś c i				
		po 5 dn.	po 10 dn.	po 20 dn.	po 30 dn.	średni
♀	I	—	5	11	25	24
	II	10	11	12	30	
	III	—	7	12	22	
	IV	4	4	8	18	
	V	12	14	22	26	
	Kontr.	4	6	11	11	
♂	I	—	10	24	35	23
	II	4	18	28	40	
	III	2	15	32	33	
	IV	8	8	9	13	
	V	—	11	14	14	
	Kontr.	5	8	8	12	

Drugie doświadczenie założono z larwami L_3 i L_4 , ponieważ okazało się w doświadczeniu pierwszym, że larwy L_1 i L_2 są zbyt małe do obserwacji rozwoju choroby w warunkach polowych. Doświadczenie to obejmowało 10 izolatorów w ilości 100 sztuk larw L_3 i L_4 w jednym izolatorze, larwy kontrolne w ilości 100 sztuk umieszczone na oddzielnym poletku w odległości 200 m. Średnia temperatura w ciągu trwa-

nia doświadczenia wynosiła $19,7^{\circ}\text{C}$ (wahania od $15,1$ — $24,6^{\circ}\text{C}$). Średnia wilgotność względna w ciągu trwania doświadczenia wynosiła $85,6\%$ (wahania od 82 — 100%).

Tabela 4 przedstawia procent śmiertelności larw po 3, 6 i 9 dniach oraz ostateczny, otrzymany po zlikwidowaniu doświadczenia, gdy w kontroli zaczęły z ziemi wychodzić chrząszcze.

Tabela 4

Procent śmiertelności larw po 3, 6 i 9 dniach oraz ostateczny

Po dniach	P r o c e n t ś m i e r t e l n o ś c i l a r w										
	p o w t ó r z e n i a										kontr.
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	
3	12	8	4	6	9	3	10	5	7	4	4
6	32	47	28	30	48	39	27	37	40	38	6
9	54	53	48	64	56	61	43	63	57	59	10
po zlikw. dośw.	72	68	80	84	68	79	67	85	85	81	10

Dyskusja wyników

W badaniach nad grzybami owadobójczymi stonki ziemniaczanej wyodrębniono 3 gatunki grzybów rodzaju *Beauveria*,

a mianowicie: *Beauveria bassiana* izolowaną z *Formica*, *Beauveria globulifera* izolowaną z *Ips typographus* i *Beauveria* sp. izolowaną z *Leptinotarsa decemlineata*.

Wymienione gatunki zostały użyte w pierwszych próbach doświadczeń laboratoryjnych nad infekcją stonki, w wyniku których okazało się, że zupełnie zadowalające rezultaty infekcji dały dwa szczepy: *Beauveria bassiana* i *Beauveria sp.* Ponadto kultura *Beauveria bassiana* w hodowli na sztucznym podłożu przy wytwarzaniu materiału zarodnikowego dawała lepsze plony niż *Beauveria sp.* Z uwagi na to do dalszych badań polowych używano już tylko gatunek *Beauveria bassiana*.

Szczep *Beauveria globulifera* został uznany jako najmniej patogeniczny dla stonki i dlatego zaniechano stosowania jego w dalszych badaniach.

Zgodnie z wzmiankami podawanymi w literaturze fachowej, zaobserwowano, że wyniki doświadczeń laboratoryjnych na ogół były lepsze niż wyniki badań polowych. Poza tym infekcja stonki w doświadczeniach laboratoryjnych przebiegała szybciej niż w doświadczeniach polowych. W przeprowadzonych doświadczeniach laboratoryjnych i polowych nie zauważono infekcji jaj stonki. W infekcji larw L_1 i L_2 grzybem *B. bassiana* tak w doświadczeniach laboratoryjnych jak i polowych procent śmiertelności wynosił od 85 do 100%.

Pewne różnice otrzymano w badaniach z infekcją larw L_3 i L_4 grzybem *B. bassiana*. W doświadczeniach laboratoryjnych

pierwsze objawy choroby obserwowano na 3 dzień po zakażeniu. Śmiertelność w ciągu 12 dni wynosiła od 95 do 100% (średnio 85%).

W doświadczeniach polowych wyraźne objawy choroby notowano począwszy od 5 dnia po infekcji. Do 9 dni zamierało około 50% larw, pozostałe z objawami choroby schodziły do ziemi, z których w stadium poczwarki notowano około 20%. Do stadium imago dochodziło $\pm 5\%$, wylęgle chrząszcze były zazwyczaj niedorozwinięte. Śmiertelność larw L_3 i L_4 wynosiła od 54 do 95% (średnio 71%).

W doświadczeniach z chrząszczami otrzymane wyniki należy uznać raczej za negatywne. Nie zaobserwowano różnic patogeniczności wśród samic i samców. Samice infekowane w porównaniu z kontrolnymi składały obficie jaja w pierwszych dniach po infekcji, podczas gdy kontrolne miały ten okres znacznie przedłużony.

W stosunku do imago przypuszczalnie mogłoby dać lepsze wyniki zwalczanie kombinowane, tj. stosowanie zarodników grzyba wraz ze środkami chemicznymi; bowiem znany jest fakt, że owady osłabione truciznami znacznie łatwiej ulegają wszelkiego rodzaju infekcjom. Doświadczenia w tym kierunku będą nadal prowadzone.