

ВИКОРИСТАННЯ ЕНТОМОПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ДЛЯ ЗАХИСТУ ЛІСОПАРКОВИХ ТА САДОВИХ НАСАДЖЕНЬ ВІД АМЕРИКАНСЬКОГО БІЛОГО МЕТЕЛИКА

Дніпропетровський національний університет

Представлено результати лабораторних та польових досліджень біологічної активності мікробного інсектицидного препарату «Бактофунгін», виготовленого на основі змішаної культури ентомопатогенних бактерій *Bacillus thuringiensis* і грибів *Beauveria bassiana* проти американського білого метелика. Технічна ефективність 1%-ного розчину препарату, який містить $9,2 \cdot 10^7$ спор та кристалів ендотоксину *B. thuringiensis* та $4,7 \cdot 10^7$ бластоспор *B. bassiana*, в 1 мл становила 81,3 % при обробці яблуневого саду і 85 % при обробці лісосмуги. Зроблено висновки про доцільність застосування бактофунгину для захисту лісопаркових та садових насаджень від американського білого метелика.

Ключові слова: мікробний інсектицидний препарат, *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*, захист лісів та садів, американський білий метелик.

O. A. Dregval, N. V. Cherevach, A. A. Tymchuk, A. I. Vinnikov

Dnepropetrovsk National University

USAGE OF THE ENTHOMOPATOGENIC MICROORGANISMS IN A PROTECTION OF FORESTS AND GARDENS FROM THE AMERICAN WHITE BUTTERFLY

In the article are given the results of laboratory and field researches of biological effectiveness of microbe insecticide preparation «Bactofungin» which is generated on the base of mixed culture of entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* and fungi *Beauveria bassiana* against American white butterfly. Technical effectiveness of 1 % preparation solution which contains $9,2 \cdot 10^7$ /ml of endospores and crystals of δ -endotoxin *B. thuringiensis* and $4,7 \cdot 10^7$ /ml blastospores *Beauveria bassiana* was 81,3 % for the apple-tree garden treatment and 85 % for the forest belts. The conclusions about appropriateness of the use of «Bactofungin» for garden and forest protection from the American white butterfly were made.

Key words: microbe insecticide preparation, *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*, garden and forest protection, American white butterfly.

Найбільшої шкоди плодовим, ягідним та лісопарковим культурам завдають плодожерки, шовкопряди, листовертки, молі тощо. Усього до шкідників відноситься понад 90 видів комах, з них 30 видів – Лускокрилі. Надзвичайно агресивним і небезпечним шкідником є американський білий метелик, який ушкоджує близько 300 видів деревних, чагарникових і трав'янистих рослин. Основне середовище існування – насадження в населених пунктах, деревна і чагарникова рослинність уздовж доріг, водоймищ, лісосмуг, сади. Рідше він ушкоджує дерева на узліссях невеликих гаїв. Віддає перевагу шовковиці, клену американському, яблуні, груші, сливі, айві, черешні, в'язу, бузині, волоському горіху.

Цього карантинного шкідника завезено в Європу з Північної Америки в 1940 році. На території України вперше виявлений у 1952 році в Закарпатській області. Потім він поширився в Молдавії та степових районах України. Зараз американський білий метелик на європейській частині фактично зайняв свій потенційний ареал. Повільне поширення на північ відбувається в зв'язку із загальним потеплінням клімату. Основний шлях розповсюдження американського білого метелика – з транспортними засобами при перевезенні сільськогосподарської продукції і промислових вантажів. У пошуках статевого партнера і місць відкладання яєць метелик може активно перелітати на відстані до 250 метрів. Можливе пасивне перенесення на значні відстані повітряними потоками. Середня швидкість розповсюдження при первинному зальоті – 30–40 км на рік (Дядечко, 2001).

В Україні метелик розвивається в двох генераціях на рік. Краще виживають і більш плодючими є метелики, гусениці яких живились шовковицею, кленом ясенелистим, яблунею, сливою, черешнею. При зменшенні листового апарату в плодових культур на 20 % урожай знижується на 5–10 %, при зменшенні на 50 % зниження урожаю складає 50–55 %, при об'їданні листя дерев на 75 % урожай практично відсутній (Гулий, 1982; Дядечко, 2001).

Боротьба з американським білим метеликом ведеться переважно хімічними методами, шкода від застосування яких іноді більша, ніж користь. До того ж застосовувати хімічні препарати для захисту лісів не можна, оскільки поряд із шкідниками вони гублять корисних комах і

є небезпечними для птахів та інших мешканців лісу. Обмеження чисельності метелика можливе завдяки застосуванню природних ентомофагів. Вивченню природних паразитів та хижаків цього шкідника присвячена значна кількість робіт закордонних та вітчизняних учених (Дядечко, 2001; Бровдій, 2003). Ефективним засобом боротьби з метеликом є застосування ентомопатогенних мікроорганізмів, особливо збудників грибних та бактеріальних хвороб. У незначній кількості використовуються вірусні препарати. Серед бактеріальних найбільш ефективними виявилися біопрепарати на основі *Bacillus thuringiensis*, серед грибних – на основі *Beauveria bassiana* (Огарков, 1999; Navon, 2000; Бровдій, 2003). В Україні застосування таких препаратів вкрай обмежене, оскільки обсяги власного виробництва дуже малі і не можуть задовольнити потреби сільського та лісового господарства, закордонні ж препарати коштують надто дорого.

Виходячи з вищесказаного, актуальним є створення екологічно безпечних мікробних інсектицидних препаратів, високоефективних по відношенню до широкого кола шкідників, зокрема до американського білого метелика. На кафедрі мікробіології та вірусології Дніпропетровського національного університету розроблено новий мікробний інсектицидний препарат «Бактофунгін» на основі змішаної культури ентомопатогенних бактерій *B. thuringiensis* та грибів *B. bassiana*. Цей препарат показав високу ефективність проти багатьох видів шкідливих комах, представників рядів Жорсткокрилих, Лускокрилих, Бахромчатокрилих, Двокрилих, Попелиць, Жужелиць та Кліщів (Дрегваль, 2003, 2004, 2007). Метою даної роботи було визначення біологічної ефективності бактофунгіну проти американського білого метелика в лабораторних та польових умовах.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Біопрепарат отримували шляхом сумісного вирощування бактерій та грибів на рідкому поживному середовищі з патокою та кукурудзяним екстрактом (Дрегваль, 2007). Інокуляцію здійснювали споровою культурою *B. thuringiensis* та бластоспорами *B. bassiana*. Культивували на мікробіологічних качалках (200 об/хв при $t=28^{\circ}\text{C}$ протягом 5 діб. Визначали титр спор та кристалів δ -ендотоксину *B. thuringiensis* та бластоспор *B. bassiana* підрахунком під мікроскопом за методом Виноградського-Бріда (Руководство ..., 1983).

Дослідження біологічної ефективності препарату в лабораторних умовах

Перевірку інсектицидної активності в лабораторних умовах проводили на личинках тест-об'єкта – гусеницях вошинної молі *Galleria mellonella* L. I-II та III-IV віку за стандартною методикою (Азизбекян, 1990). По 25 особин гусені поміщали в чашку Петрі. Корм для личинок змочували розчинами препарату різної концентрації (1, 5, 10, 100 %). Корм для контрольних комах змочували водою. Інкубували в темному приміщенні при $t=27-28^{\circ}\text{C}$ та вологості 70–75 % протягом 5 діб. Досліди проводили в 5-разовій повторності.

Для зараження гусені американського білого метелика *Nyphantaria cunea* використовували листя американського клена, яке обробляли 1%- та 5%-ними розчинами біопрепарату. Комах розміщували по 15 особин у склянки, закриті марлею. Інкубували при кімнатній температурі та вологості 65–75 %. Кількість загиблих комах визначали протягом 5 діб. Контрольних комах годували листям, обробленим стерильною водою. Усі досліди проводили в 3-разовій повторності. Біологічну ефективність препарату визначали в процентах загибелі комах за формулою Аббота, що враховує загибель особин у контролі:

$$X = \frac{M_o - M_k}{100 - M_k} \times 100,$$

де M_o – кількість загиблих особин у досліді при зараженні їх біопрепаратом (середньоарифметичне), %; M_k – кількість загиблих особин в контролі (середньоарифметичне), %.

Дослідження технічної ефективності препарату в польових умовах

Визначали технічну ефективність біопрепарату проти личинок американського білого метелика на садових насадженнях карликових яблунь площею 1 га та на лісосмузі площею 25 га. Визначення ефективності проводили шляхом обробки крони дерев 1%-ним розчином препарату (концентрація спорокристалічного комплексу *B. thuringiensis* $9,2 \cdot 10^7$ /мл, бластоспор *B. bassiana* – $4,7 \cdot 10^7$ /мл при обробці саду і $1,5 \cdot 10^7$ /мл та $0,5 \cdot 10^7$ /мл при обробці лісосмуги відповідно). Облік чисельності проводили до обробки та на сьому добу після обробки.

Дерева на контрольних ділянках обробляли водою. Результати обліку реєстрували у відомостях. Технічну ефективність біопрепарату визначали за стандартною методикою. Процент смертності (С) личинок обчислювали з поправкою на контроль та на міграцію з моменту обліку до і після зрошення за формулою Франца (Практикум ..., 1984):

$$C = 100 \times \left(1 - \frac{B_2 \Gamma_1}{B_1 \Gamma_2} \right),$$

де B_1 – кількість живих особин в досліді до зрошення; B_2 – кількість живих особин в досліді після зрошення; Γ_1 – кількість живих особин в контролі до зрошення; Γ_2 – кількість живих особин в контролі після зрошення.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Комплексний мікробний інсектицидний препарат «Бактофунгін» розроблений на основі природних штамів ентомопатогенних мікроорганізмів: бактерій *Bacillus thuringiensis* та грибів *Beauveria bassiana* шляхом багатоступінчатої селекції. Поєднання в одному препараті двох мікроорганізмів з різним механізмом інсектицидної дії забезпечує його високу ефективність по відношенню до широкого кола комах – шкідників рослин (Дрегваль, 2004, 2007). Завдяки наявності у складі препарату великої кількості факторів патогенності (спор, δ -ендотоксину, екзотоксину та комплексу ферментів *B. thuringiensis*, а також бластоспор, екзотоксину та ферментів *B. bassiana*) препарат ефективний проти шкідників, які належать до різних систематичних груп.

Враховуючи величезну шкоду, яку завдає садовому та лісовому господарству американський білий метелик, нами було поставлено завдання визначити біологічну ефективність бактофунгину проти цього шкідника в лабораторних та польових умовах з метою розробки рекомендацій щодо широкого застосування препарату для захисту рослин. Оскільки лабораторним тест-об'єктом для визначення біологічної ефективності біопрепаратів до комах ряду *Lepidoptera* (Лускокрилі) є личинки вошинної молі, перша серія дослідів була поставлена саме на цьому тест-об'єкті. Було досліджено дію 1, 5, 10 та 100%-ної концентрації вихідного препарату, який містив $2,6 \cdot 10^8$ /мл спор і кристалів δ -ендотоксину *B. thuringiensis* та $1,85 \cdot 10^8$ /мл бластоспор *B. bassiana*. Проводилися щоденні підрахунки загибелі тест-об'єкта.

Як видно з наведених даних (табл. 1), найвища смертність личинок I-II віку спостерігалась при застосуванні 5%-ної концентрації препарату (79,16 %), 1%-ний препарат виявився менш ефективним. Загибель личинок від дії 10%- та 100%-ної концентрації не перевищувала рівень, отриманий при застосуванні 5%-ної концентрації.

Таблиця 1

Інсектицидна активність біопрепарату «Бактофунгін» проти личинок *Galleria mellonella* L.

| Концентрація біопрепарату | Вік личинок | % загиблих личинок | | | | | | | | Смертність з урахуванням контролю, % на четверту добу |
|---------------------------|-------------|--------------------|----------|------------|----------|------------|----------|---------------|----------|---|
| | | Перша доба | | Друга доба | | Третя доба | | Четверта доба | | |
| | | дослід | контроль | дослід | контроль | дослід | контроль | дослід | контроль | |
| 1 % | I-II | - | - | 28 | - | 48 | - | 48 | - | 48 |
| | III-IV | 20 | 1 | 72 | 1 | 80 | 2 | 80 | 2 | 78,26 |
| 5 % | I-II | 16 | - | 76 | - | 92 | - | 80 | 1 | 79,16 |
| | III-IV | 20 | - | 92 | 1 | 92 | 1 | 100 | 2 | 91,39 |
| 10 % | I-II | 16 | - | 48 | - | 52 | - | 72 | 2 | 69,56 |
| | III-IV | 48 | 1 | 76 | 1 | 92 | 2 | 96 | 2 | 91,66 |
| 100 % | I-II | 16 | - | 68 | 1 | 72 | 1 | 80 | 1 | 79,07 |
| | III-IV | 165 | - | 52 | 1 | 64 | 2 | 100 | 2 | 60,87 |

Найвищу смертність (91,3 %) личинок III-IV віку теж було отримано при застосуванні 5%-ної концентрації препарату, яка містила $1,3 \cdot 10^7$ /мл спор та параспориальних кристалів і $9,25 \cdot 10^6$ /мл бластоспор. Личинки цього віку виявились високочутливими також до дії 1 та 10%-ної концентрації препарату (78,26 та 91,66 % з урахуванням смертності в контролі).

Висока інсектицидна активність біопрепарату по відношенню до вошинної молі свідчила, що бактофунгін повинен бути високоефективним і по відношенню до американського білого метелика. Тому наступним етапом нашої роботи було визначення біологічної ефективності препарату відносно *Nurphantaria cunea* в лабораторних умовах (табл. 2). При дії 1- та 5%-ного розчину біопрепарату вже на другу добу спостерігалась загибель гусені. Від дії 1%-ного розчину смертність становила 53,3 %, 5%-ного – 82,2 %. На шосту добу після зараження інсектицидна активність була однаково високою для обох концентрацій біопрепарату. В усіх варіантах дослідів смертність складала 100 %. Усі личинки в контролі залишилися живими. Таким чином, отримані результати свідчать про високу ефективність бактофунгину як до вошинної молі, так і до американського білого метелика в дослідженнях, проведених у лабораторних умовах.

Таблиця 2

Інсектицидна активність біопрепарату «Бактофунгін» по відношенню до *Nyrophantaria cunea* в лабораторних дослідженнях

| Концентрація біопрепарату | Час після обробки, доба | Кількість загинувших личинок | | | | Середнє значення | Смертність з урахуванням контролю, % |
|---------------------------|-------------------------|------------------------------|----|----|------|------------------|--------------------------------------|
| | | Досліди | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | | | |
| 1 % | 2 | 12 | 7 | 5 | 8,0 | 53,3 | |
| | 6 | 15 | 15 | 15 | 15 | 100 | |
| 5 % | 2 | 13 | 11 | 13 | 12,3 | 82,2 | |
| | 6 | 15 | 15 | 15 | 15 | 100 | |

Метою наступної серії досліджень було визначення технічної ефективності біопрепарату проти *Nyrophantaria cunea* в польових умовах. Випробування ефективності бактофунгіну проводилося на карликових деревах маточного яблуневого саду та на лісосмузі, ураженій американським білим метеликом.

Крони дерев обробляли 1%-ним розчином препарату (концентрація спор та параспоральних кристалів *B. thuringiensis* $9,2 \cdot 10^7$ /мл, бластоспор *B. bassiana* – $4,7 \cdot 10^7$ /мл). Норма витрат – 6 л/га (600 л робочого 1%-ного розчину). Крони дерев на контрольних ділянках обробляли водою. В результаті робіт, проведених в яблуневому саду, було встановлено (табл. 3), що через 7 днів після обробки біопрепаратом кількість личинок метелика на дослідній ділянці знизилось з 286,4 особин на 1 дерево до 53,5 особин, у той час як на контрольній ділянці вона збільшилась з 279,8 до 298. Технічна ефективність препарату, визначена за формулою Франца, складала 81,3 %.

При обробці лісосмуги 1%-ним розчином препарату (концентрація спорокристалічного комплексу $1,5 \cdot 10^7$ /мл, бластоспор – $0,5 \cdot 10^7$ /мл) підрахунок чисельності личинок американського білого метелика на 7 добу після обробки показав зниження чисельності личинок I та II віку на 85 %, личинок III та IV – на 63 %.

Таблиця 3

Технічна ефективність біопрепарату «Бактофунгін» проти американського білого метелика на яблунях маточного саду

| № дерева | Дослідна ділянка | | Контрольна ділянка | |
|-------------------------------|-------------------|---------------|--------------------|---------------|
| | Кількість личинок | | | |
| | До обробки | Після обробки | До обробки | Після обробки |
| 1 | 254 | 49 | 235 | 258 |
| 2 | 301 | 55 | 316 | 346 |
| 3 | 283 | 53 | 307 | 312 |
| 4 | 302 | 52 | 294 | 324 |
| 5 | 247 | 49 | 246 | 278 |
| 6 | 326 | 61 | 267 | 259 |
| 7 | 305 | 60 | 324 | 334 |
| 8 | 298 | 56 | 302 | 298 |
| 9 | 308 | 55 | 234 | 275 |
| 10 | 240 | 45 | 273 | 296 |
| Усього | 2864 | 535 | 2798 | 2980 |
| Середня кількість на 1 дерево | 286,4 | 53,5 | 279,8 | 298 |

Результати проведених польових випробувань свідчать про ефективність та доцільність застосування бактофунгіну для захисту садових та лісопаркових насаджень від американського білого метелика. Враховуючи те, що бактофунгін є високоефективним проти листовійок, дубового та непарного шовкопрядів, молей, попелиць, трипсів, павутинного кліща тощо, його можна рекомендувати для захисту дерев та кущів від широкого кола шкідників.

ВИСНОВКИ

1. Мікробний біопрепарат «Бактофунгін» проявляє інсектицидну активність проти личинки вошиної молі. Так, на четверту добу смертність личинок I-II віку становила 79,16 %, III-IV віку – 91,66 %.

2. Смертність личинок американського білого метелика в лабораторних умовах досягає 100 % від дії 1%-ного розчину біопрепарату на шосту добу після зараження.

3. Технічна ефективність біопрепарату «Бактофунгін» у польових умовах проти личинок американського білого метелика на садових насадженнях карликових яблунь становила 81,3 %, на лісосмузі зниження чисельності личинок I-II віку складало 85 %, III-IV віку – 63 %.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Азизбекян Р. Р.** Микробные инсектициды: достижения и перспективы // Генетика промышленных микроорганизмов и биотехнология. – М., 1990. – С. 172-187.
- Бровдій В. М.** Біологічний захист рослин: Навч. посібник / В. М. Бровдій, В. В. Гулий, В. П. Федоренко. – К.: Світ, 2003. – 352 с.
- Гулий В. В.** Микробиологическая борьба с вредными организмами / В. В. Гулий, В. В. Иванов и др. – М.: Колос, 1982. – 272 с.
- Дрегваль О. А.** Біоінсектициди. Перспективи виробництва та застосування / О. А. Дрегваль, Н. В. Черевач, Н. В. Черваток та ін. // Біотехнологія. Освіта. Наука. – К., 2003. – С. 46-47.
- Дрегваль О. А.** Новий ентомопатогенний препарат / О. А. Дрегваль, Н. В. Черевач, А. І. Вінніков // Карантин і захист рослин. – 2004. – № 11. – С. 29-30.
- Дрегваль О. А.** Визначення біологічної ефективності біопрепарату «Бактофунгін» проти шкідників рослин в теплицях / О. А. Дрегваль, Н. В. Черевач, А. І. Вінніков // Матеріали 3-й Міжнарод. науч.-практ. конф. «Умение и нововведения – 2007». – 2007. – Т. 12. – С. 25-28.
- Дядечко М. П.** Біологічний захист рослин / М. П. Дядечко, М. М. Падій, В. С. Шелестова та ін. – Біла Церква, 2001. – 312 с.
- Огарков Б. Н.** Комплексное применение микробиологических препаратов / Б. Н. Огарков, Г. Р. Огнаркова // Защита и карантин растений. – 1999. – № 7. – С. 15-16.
- Практикум** по биологической защите растений / Под ред. Н. В. Бондаренко. – М.: Колос, 1984. – 284 с.
- Руководство** к практическим занятиям по микробиологии / Под ред. Н. С. Егорова. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983. – 215 с.
- Navon A.** Bacillus thuringiensis insecticides in crop protection – reality and prospects Crop Protection 19 (2000). – P. 669-676.

Надійшла до редколегії 03.09.08