

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

СИБИРСКИЙ ВЕСТНИК СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ НАУКИ

УЧРЕДИТЕЛЬ СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК

ВЫХОДИТ ЕЖЕМЕСЯЧНО

ОСНОВАН В ЯНВАРЕ 1971 г.

2007, апрель



№ 4 (172)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Академик Россельхозакадемии *А.С. Донченко* (главный редактор), член-корреспондент Россельхозакадемии *В.В. Альт*, академик Россельхозакадемии *А.Н. Власенко*, академик Россельхозакадемии *Г.П. Гамзиков*, академик Россельхозакадемии *П.Л. Гончаров*, *О.Н. Жителева* (зам. главного редактора), доктор сельскохозяйственных наук *В.К. Каличкин*, академик Россельхозакадемии *Н.И. Кашеваров*, доктор ветеринарных наук *Н.М. Кольчев*, доктор технических наук *А.Ф. Кондратов*, доктор технических наук *Н.М. Иванов*, член-корреспондент Россельхозакадемии *К.Я. Мотовилов*, академик Россельхозакадемии *П.М. Першукевич*, академик Россельхозакадемии *В.А. Солошенко*, академик Россельхозакадемии *Н.А. Сурин*, доктор сельскохозяйственных наук *В.И. Усенко*, член-корреспондент Россельхозакадемии *И.Ф. Храпцов*, доктор технических наук *Н.В. Цугленок*, академик РАН *В.К. Шумный*, академик Россельхозакадемии *В.З. Ямов*

Редакторы *Т.А. Никитина*, *Г.Н. Ягупова*
Художник *К.А. Сафонова*
Художественный редактор *А.Б. Новиков*
Корректор и оператор электронной верстки *В.Е. Селянина*
Переводчик *М.Е. Роговлькина*

Зарегистрирован в Министерстве печати и массовой информации РСФСР
19 декабря 1991 г., свидетельство № 1431

Адрес редакции: 630501, пгт Краснообск, Новосибирский р-н, Новосибирская обл., здание
президиума СО Россельхозакадемии, к. 456, а/я 441. Тел./факс (383)348-37-62
E-mail: vestnik.nsk@ngs.ru, vestnik.nsk@sorashn.ru

Сдано в набор 23.03.07. Подписано в печать 06.04.07. Формат 70 × 108 1/16. Бумага
тип. № 1. Печать офсетная. Усл. печ. л. 12. Уч- изд. л. 13. Тираж 750 экз. Заказ № 92

Отпечатано в ООО ИПФ "Агрос"
630501, пгт Краснообск, Новосибирский р-н, Новосибирская обл.

© Сибирский вестник сельскохозяйственной науки, 2007 г.



УДК 632.9(574)

В.Ю. КРЮКОВ, кандидат биологических наук,
В.В. СЕРЕБРОВ, кандидат биологических наук,
А.А. МАЛЯРЧУК*, Б.К. КОПЖАСАРОВ**, Н.С. МУХАМЕДИЕВ**,
А.К. ОРЫНБАЕВА*, В.П. ХОДЫРЕВ, кандидат биологических наук

*Институт систематики и экологии животных СО РАН,
Новосибирский государственный аграрный университет

***Научно-исследовательский институт защиты растений Республики Казахстан*

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГИФОМИЦЕТОВ (DEUTEROMYCOTA, HYPHOMYCETES) ПРОТИВ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА В УСЛОВИЯХ ЮГО-ВОСТОЧНОГО КАЗАХСТАНА

Впервые изучена возможность использования энтомопатогенных гифомицетов для контроля численности колорадского жука в условиях сухого климата.

Для защиты пасленовых растений от колорадского жука крайне необходим широкий арсенал средств, в том числе микробиологических. В 1980-х гг., с появлением синтетических пиретроидов, интерес к использованию энтомопатогенных грибов для контроля численности колорадского жука значительно снизился. Однако применение химических инсектицидов для подавления жука привело к появлению резистентных рас насекомых [1]. В настоящее время рекомендуется схема последовательного использования инсектицидов с различным механизмом действия [2], в которую включаются и микробиологические средства защиты. В комбинированной системе защиты растений от колорадского жука используется Боверин, изготавливаемый на основе гриба *Beauveria bassiana* [3, 4]. При этом большинство авторов отмечают, что по причине медленного развития мускардиноза Боверин в чистом виде следует применять лишь в качестве профилактической меры, направленной на поддержание численности вредителя на невысоком уровне. Однако эффективность этого препарата в значительной степени зависит от условий влажности и существенно снижается в районах с сухим климатом.

В Юго-Восточном Казахстане воздействие энтомопатогенных грибов на колорадского жука практически не исследовано. Имеются указания о находках в горных районах Алматинской области личинок и имаго *Leptinotarsa decemlineata*, пораженных белой мускардиной [5], а также некоторые данные лабораторных испытаний *B. bassiana* на личинках жука (устное сообщение Е.Ж. Баймагамбетова).

Исходя из вышеизложенного, цель наших исследований – изучить возможность использования энтомопатогенных гифомицетов для контроля чис-

ленности колорадского жука в Юго-Восточном Казахстане. Для этого поставлены эксперименты по оценке вирулентности различных штаммов грибов *Metarhizium anisopliae* и *Beauveria bassiana* в лабораторных и полевых условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены в июле–августе 2005 г. в окрестностях г. Алматы на опытном участке лаборатории биотехнологии Научно-исследовательского института защиты растений (НИИЗР) Республики Казахстан.

Для заражения насекомых использовали культуры из коллекции микроорганизмов Института систематики и экологии животных СО РАН. Испытаны штаммы *B. bassiana*: КЖ-4 (выделен из колорадского жука в Татарстане), САР-31 (выделен из кубышек итальянского пруса в Карасукском районе Новосибирской области в 2000 г.), СШ-01 (выделен из лабораторной популяции сибирского шелкопряда в Институте органической химии СО РАН в 2001 г.) и штаммы *M. anisopliae*: Р-72 (выделен из личинок колорадского жука на территории Латвии в 1972 г.), 85-69р-I (выделен из имаго реликтового усача на территории Приморского края в 1969 г.).

Кроме указанных культур использовали морфоварианты штамма Р-72, полученные при изучении спонтанной изменчивости путем моноспоровых расщепов исходной культуры на агаризованные среды и последующего отбора изолятов. Было выделено два морфоварианта: Р-72-I (вагообразные колонии, цвет воздушного мицелия оливково-зеленый, титр конидий при выращивании на пшене $8 \cdot 10^9 - 1 \cdot 10^{10}/г$) и Р-72-II (порошистые колонии, цвет воздушного мицелия темно-зеленый, титр конидий на пшене $4-6 \cdot 10^9/г$). Исходный штамм характеризуется порошистыми колониями, зеленым цветом мицелия и титром конидий на пшене $4-6 \cdot 10^9/г$.

Грибы нарабатывали на стерильном пшене в чашках Петри диаметром 15 см. После 18–25 дней культивирования препараты просушивали при 30–35 °С в течение 1,5–2 нед и затем перемалывали.

В экспериментах использовали личинок II возраста. Водные суспензии с титром $1 \cdot 10^7$ или $5 \cdot 10^7$ конидий/мл наносили кисточкой на кутикулу личинок и на листья картофеля. Жуков помещали в пластиковые стаканы объемом 700 мл, накрытые сверху тканью. Для предотвращения высыхания листьев их черешки помещали в пробирки Эппендорф (1,5 мл), тампонируемые влажной ватой. Стаканы располагались на опытном участке под навесом. Одновременно опыты закладывали непосредственно на делянках в садках из сетки (диаметр ячейки 1 мм), привязанных к растениям картофеля. Обработку проводили в вечерние часы путем опрыскивания растений и насекомых пульверизатором до появления стекающих капель.

Каждый вариант закладывали в четырех повторностях по 9–11 особей на каждую. Смену корма и учет смертности проводили каждый день в течение 15 сут (до стадии предкуколки).

Погибших насекомых подсушивали в течение 7 дней и хранили в холодильнике. Долю трупов, проросших мицелием гриба, определяли после 2,5 мес хранения. Насекомых раскладывали по чашкам Петри на влажную

фильтровальную бумагу или на среду Ваксмана с добавлением молочной кислоты (концентрация 0,4 %).

В период проведения экспериментов среднесуточные температуры составляли 25–30 °С, влажность 30–40 %, погода преимущественно безоблачная, на 9–10-е сутки опыта прошли дожди ливневого характера.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методом дисперсионного анализа [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В условиях полевой лаборатории наиболее вирулентными оказались штаммы САР-31 (*B. bassiana*) и Р-72-1 (*M. anisopliae*). К средневирulentным отнесены КЖ-4 (*B. bassiana*) и 85-69р-1 (*M. anisopliae*), к слабовирulentным – СШ-01 (*B. bassiana*). Между этими группами выявлены достоверные различия ($p > 95 \%$), тогда как внутри групп они оказались несущественными (рис. 1).

При инфицировании наиболее активными штаммами с титром рабочей суспензии $5 \cdot 10^7$ конидий/мл начало гибели отмечается на 3-и сутки опыта; 25%-й уровень смертности достигается на 4-е сутки, а 50%-й – на 6-е. В это время (5–7-е сутки эксперимента) появляются достоверные различия в биологической активности между сильно-, средне- и слабовирulentными культурами. Гибель 95 % особей отмечена лишь при заражении штаммом САР-31 на 15-е сутки.

При более низком титре суспензии ($1 \cdot 10^7$ конидий/мл) в вариантах с наиболее вирулентными культурами происходит сдвиг в сторону задержки 25- и 50%-го летального времени на 2–3 сут, а в вариантах с менее активными штаммами (КЖ-4, 85-69р-1) – на 5–6 сут. Гибель становится менее выров-

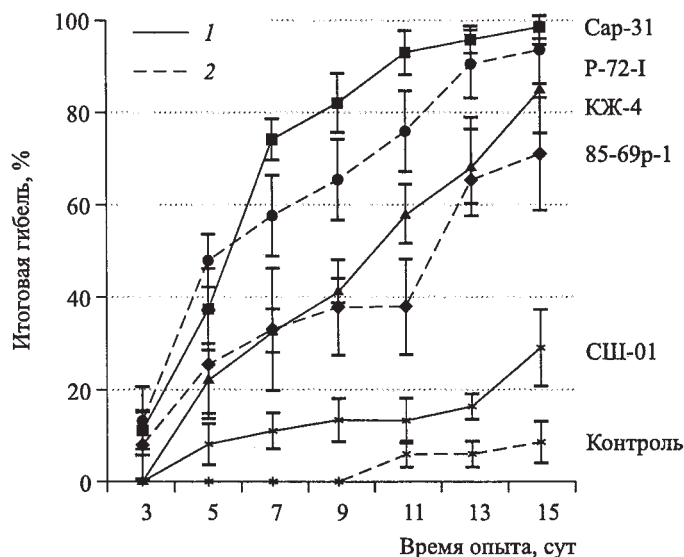


Рис. 1. Динамика гибели колорадского жука при инфицировании штаммами *B. bassiana* (1) и *M. anisopliae* (2) (титр $5 \cdot 10^7$ конидий/мл)

ненной по повторностям, увеличивается ошибка опыта, итоговая гибель снижается на 5–10 (высоковирулентные штаммы) или на 25–35 % (средневирулентные штаммы). При этом соотношения между активностью изолятов сохраняются как и при более высоком титре.

При инфицировании личинок морфовариантами штамма P-72 достоверные различия выявлены между активностью P-72-I (ватобразные колонии) и P-72-II (порошистые колонии), а также между исходным штаммом P-72 и морфовариантом P-72-II. При титре $5 \cdot 10^7$ конидий/мл существенные различия в активности изолятов отмечаются на 10–11-е и последующие сутки опыта (рис. 2), а при титре $1 \cdot 10^7$ конидий/мл – на 13-е и последующие. Между P-72 и P-72-I значимых различий в активности не выявлено. Сходные результаты получены нами при заражении личинок колорадского жука на делянках картофеля, в лабораторных и полевых опытах на личинках жука в Верхнем Приобье и Среднем Поволжье, а также в опытах на большой вошинной моли (Серебров, Ходырев, неопубл. данные). Следовательно, использование спонтанной изменчивости энтомопатогенных грибов может служить одним из существенных способов для повышения их вирулентности.

Сравнение результатов, полученных в полевой лаборатории и непосредственно на опытном участке, показало значительное различие в смертности. В естественных условиях итоговая гибель жука ниже в 1,5–2 раза для наиболее агрессивных штаммов и почти в 30 раз – для слабых (СШ-01). Наблюдается задержка 25- и 50%-го летального времени на 4–9 сут, а максимальная итоговая гибель составляет лишь 59 % (штамм P-72-I). При этом динамика гибели при заражении *Metarhizium* в полевых и лабораторных условиях сход-

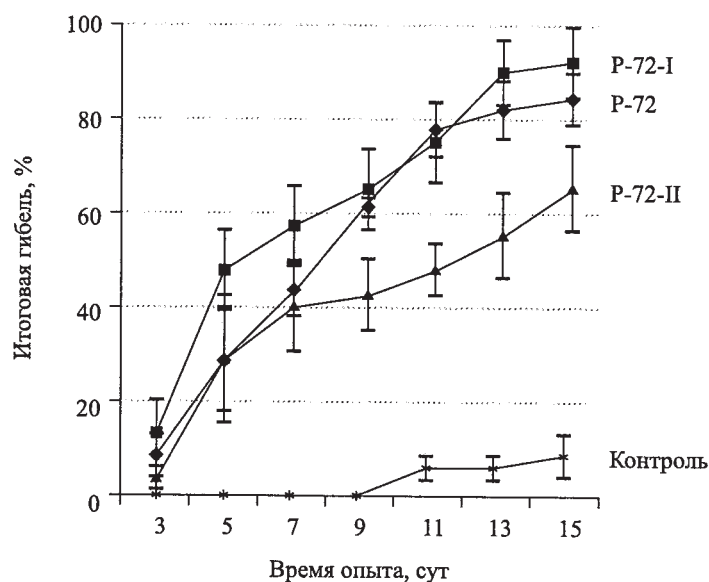


Рис. 2. Динамика гибели колорадского жука при инфицировании конидиями морфовариантов штамма P-72 (титр $5 \cdot 10^7$ конидий/мл)

на, тогда как при инфицировании *Beauveria* кривые смертности почти зеркальны друг другу (в лабораторном опыте скачок смертности наблюдается в начале эксперимента, в полевом опыте – в конце) (рис. 3).

Важно отметить, что при невысокой биологической активности грибов в полевых условиях часть выживших личинок переходит в стадию предку-

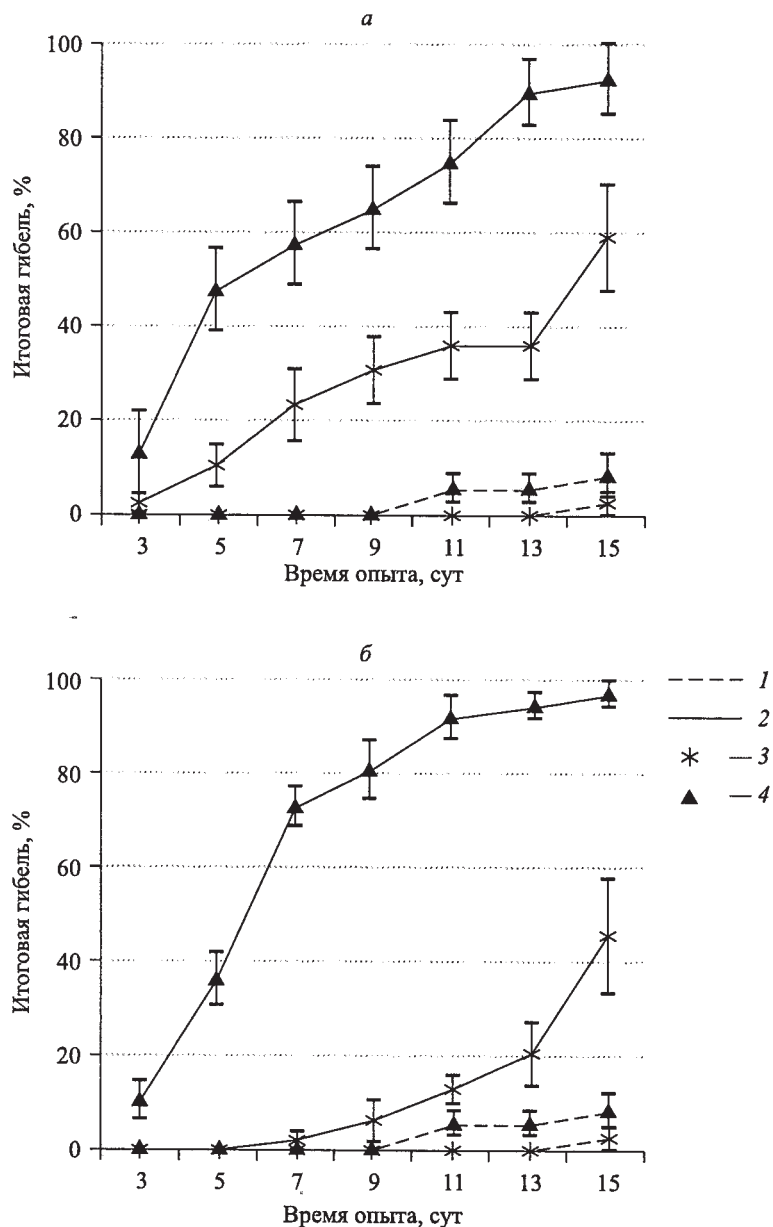


Рис. 3. Динамика гибели колорадского жука при инфицировании гифомицетами в лабораторных и полевых условиях (титр $5 \cdot 10^7$ конидий/мл): а – *M. anisopliae* (P-72-I), б – *B. bassiana* (Cap-31). 1 – контроль; 2 – опыт; 3 – полевые условия; 4 – лабораторные условия

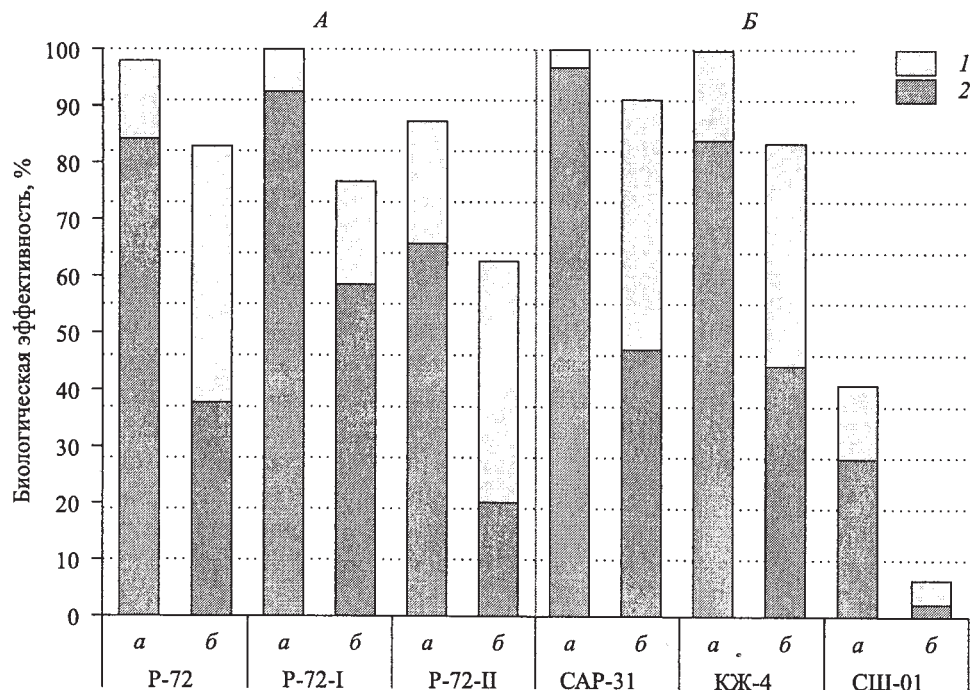


Рис. 4. Биологическая эффективность штаммов *M. anisopliae* (А) и *B. bassiana* (Б) по отношению к колорадскому жуку в лабораторных (а) и полевых (б) условиях (15-е сутки после заражения):

Особи: 1 – достигшие стадии предкуколки с симптомами микоза, 2 – погибшие

колки с характерными симптомами микоза – меланистическими пятнами на кутикуле. Доля таких личинок может составлять более 80 % от числа выживших (рис. 4). По предварительным оценкам не менее 60 % жуков, доживших до предкуколки с симптомами микоза, гибнет в период метаморфоза. Следовательно, суммарная биологическая активность исследуемых культур достигает 70–90 %, а это значит, что грибная инфекция может значительно снизить численность последующего поколения жука.

Установлено, что доля насекомых, проросших мицелием, зависит от вида гриба, условий заражения и времени гибели личинок. Ни одна особь, зараженная *M. anisopliae*, не обросла мицелием. В вариантах с *B. bassiana* частота обрастания оказалась довольно высокой. В опытах со штаммами КЖ-4 и CAP-31 количество проросших особей составило 60–100 %. Степень прорастания насекомых, погибших в первые 6 сут, во всех случаях оказалась ниже, чем в последующие, т.е. чем дольше течение болезни, тем больше вероятность прорастания насекомого (рис. 5). Соответственно в вариантах с высоким титром степень прорастания на 5–15 % меньше из-за ранней гибели личинок, а в полевых опытах из-за длительности микоза доля проросших особей больше, чем в лаборатории, на 10–20 %.

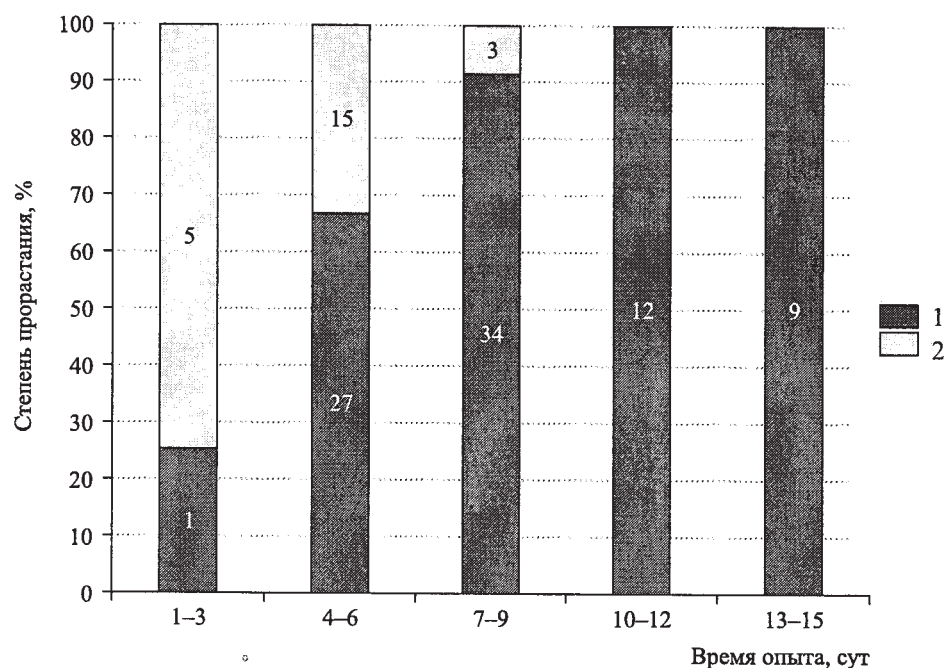


Рис. 5. Прорастание трупов личинок колорадского жука грибом *B. bassiana* в зависимости от времени гибели:

Прорастание: 1 – есть, 2 – нет. Значения на столбцах – число экземпляров

ОБСУЖДЕНИЕ

Снижение гибели в естественных условиях по сравнению с лабораторными, на наш взгляд, связано с пониженной влажностью и воздействием солнечной инсоляции. Некоторыми авторами [7–9] установлено, что после 2–3-часового действия прямого или рассеянного солнечного света конидии *B. bassiana* полностью теряют жизнеспособность. Следовательно, инфекционная нагрузка в полевых условиях сохраняется значительно меньший период времени, чем в условиях лаборатории.

Наибольшая вирулентность штамма САР-31 среди изолятов *B. bassiana*, по-видимому, обусловлена повышенной засухоустойчивостью (данный штамм изолирован в степной зоне Новосибирской области). Причина меньшей активности *B. bassiana* по сравнению с *M. anisopliae* в полевых условиях остается невыясненной. Возможно, конидии *M. anisopliae* более ксерофитны и толерантны к действию солнечных лучей.

Полученные результаты сопоставимы с данными полевых испытаний грибов на колорадском жуке в других регионах. Значительно больший эффект от применения *B. bassiana* и препарата Боверин отмечен в Европе [10], на территории Украины [4, 11], Азербайджана [12], в лесостепной зоне Новосибирской области [13]. При инфицировании жука конидиями *M. anisopliae* в верхнеобской лесостепи и Юго-Восточном Казахстане получены сходные данные. Гибель личинок в обоих регионах составила около 20 % на 6-е сутки.

Однако данные по *B. bassiana* сильно разнятся. Если в Приобье гибель на 6-е сутки достигала 50 %, то в окрестностях г. Алматы – 0 %. Вероятно, в районах с сухим климатом предпочтительнее использование *Metarhizium*, а не *Beauveria*.

Таким образом, в условиях Юго-Восточного Казахстана грибные патогены могут снижать численность колорадского жука, но экономически это малоэффективно по причине длительности течения мускардинозов. Однако грибные инфекции могут приводить к значительному сокращению численности последующего поколения насекомого, что не исключает возможности их использования в комбинированной защите пасленовых. Большую биологическую эффективность в полевых условиях проявляет *M. anisopliae*, а не *B. bassiana*, тогда как в лабораторных опытах различия в активности этих видов нивелируются и даже могут быть противоположными. Следовательно, при отборе высоковирулентных штаммов обязательно проведение полевых испытаний. Для повышения общей эффективности биопрепаратов и сокращения сроков патогенного действия необходим поиск микроорганизмов – синергистов грибов. Возможно повышение биологической эффективности энтомопатогенных грибов путем поиска и испытания местных штаммов, более адаптированных к сухому климату. Кроме того, одним из способов для повышения вирулентности грибов может быть использование их спонтанной изменчивости.

За помощь в организации экспериментов авторы искренне признательны Е.Ж. Баймагамбетову, Е.М. Макарову и А.А. Стамбекову (Научно-исследовательский институт защиты растений Республики Казахстан), а также кандидату биологических наук Г.Р. Ледневу (Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений РАН) за ценные замечания и предложения при оформлении рукописи.

Работа поддержана фондом Интеграция СО РАН (грант № 100).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Рославцева С.А. О резистентности колорадского жука к инсектицидам / С.А. Рославцева // Агрохимия. – 2001. – № 8. – С. 54–55.
2. Сухорученко Г.И. Резистентность / Г.И. Сухорученко // Защита и карантин растений. – 1998. – № 5. – С. 20–21.
3. Вайзер Я. Техническая характеристика и стандартизация микробных энтомоцидных препаратов / Я. Вайзер, Е. Виденова, Н.В. Кандыбин, О.В. Смирнов // Информ. бюл. ВПС МОББ. – 1986. – № 16. – С. 44–59.
4. Лаппа Н.В. Применение боверина для защиты растений в СССР / Н.В. Лаппа, В.М. Гораль // Информ. бюл. ВПС МОББ. – 1985. – № 12. – С. 47–51.
5. Гештовт Н.Ю. Энтомопатогенные грибы (биотехнологические аспекты) / Н.Ю. Гештовт. Алматы, 2002. – 288 с.
6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
7. Ованесян Т.Т. Некоторые биологические особенности возбудителя мускардины тутового шелкопряда в Грузинской ССР / Т.Т. Ованесян // Микробиология. – 1952. – Т. 26, вып. 4. – С. 38–41.
8. Суздальская М.В. Белая мускардина вредной черепашки / М.В. Суздальская // Тр. ВИЗР. – 1958. – Вып. 9. – С. 314–368.

9. Громовых Т.И. Энтмопатогенные грибы в защите леса / Т.И. Громовых – Новосибирск: Наука, 1982. – 80 с.
10. Баян Ц.. Экспериментальное использование биопрепарата в борьбе против колорадского жука / Ц. Баян, А. Федорко, К. Кмитова // Информ. бюл. ВПС МОББ. – 1987. – № 18. – С. 32–34.
11. Тронь Н.М. Боверин против колорадского жука / Н.М. Тронь // Защита растений. – 1967. – № 4. – С. 29–30.
12. Ахмедов Р.М. Результаты применения боверина против колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) в условиях Кусарского района Азербайджанской ССР / Р.М. Ахмедов // Использование микроорганизмов для борьбы с вредителями насекомых в сельском и лесном хозяйствах. – Иркутск, 1981. – С. 131–138.
13. Серебров В.В. Перспективы использования энтмопатогенных грибов и химических инсектицидов против колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) / В.В. Серебров, В.П. Ходырев, О.Н. Гербер, В.П. Цветкова // Микология и фитопатология. – 2005. – Т. 39, вып. 3. – С. 89–98.

Поступила в редакцию 04.07.06

V.YU. KRYUKOV, V.V. SEREBROV, A.A. MALYARCHUK,
B.K. KOPZHASAROV, N.S. MUKHAMEDIYEV, A.K. ORYNBAYEVA,
V.P. KHODYREV

**PROSPECTS TO USE ENTOMOPATHOGENIC FILAMENTOUS FUNGI
(DEUTEROMYCOTA, HYPHOMYCETES) AGAINST COLORADO
BEETLE UNDER CONDITIONS OF SOUTH-EASTERN KAZAKHSTAN**

For the first time, there was studied the potentiality to use entomopathogenic filamentous fungi for controlling the number of Colorado beetles under conditions of dry climate.
