

KAZIMIERZ ŻUKOWSKI, CECYLIA BAJAN¹⁾

BADANIA PRZYDATNOŚCI *BEAUVERIA BASSIANA* DO ZWALCZANIA
PRUSAKÓW (*BLATTELLA GERMANICA* L.)

THE STUDY OF THE USEFULNESS OF *BEAUVERIA BASSIANA* IN ERADICATION
OF COCKROACHES (*BLATELLA GERMANICA*)

Zakład Zwalczania Skażeń Biologicznych, Państwowy Zakład Higieny
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24

p.o. Kierownik: dr H. Krzywicka

¹⁾ Zakład Agrocenologii, Instytut Ekologii PAN

Kierownik: prof. dr hab. C. Bajan

05-092 Łomianki, Dziekanów Leśny

Dokonano oceny zdolności porażania prusaków (Blattella germanica L.) przez różne szczepy grzyba Beauveria bassiana; również przez szczepy otrzymane drogą pasażu. Badano prusaki dojrzałe, zróżnicowane pod względem wieku, płci i pochodzenia (laboratoryjne i tzw. terenowe). Testowane szczepy wykazały zróżnicowany poziom patogeniczności w stosunku do badanych populacji prusaków, a procent śmiertelności owadów zależał od właściwości patogenicznych danego szczepu, ilości zarodników grzyba w pokarmie oraz obu płci tych owadów. Z badanych szczepów najbardziej skuteczny w redukcji liczebności prusaków okazał się szczep Beauveria bassiana oznaczony w kolekcji szczepów Instytutu Ekologii PAN pod numerem Bb 23.

WSTĘP

Wśród biologicznych czynników regulujących liczebność owadów, swoje miejsce zaznaczają owadobójcze grzyby z klasy grzybów niedoskonałych (*Fungi imperfecti*).

Gatunek grzyba *Beauveria bassiana* jest czynnikiem chorobotwórczym, wywołującym u owadów chorobę zwaną białą muskardiną. Z grzybów niedoskonałych jest on gatunkiem o dużym zasięgu występowania i dużej liczbie żywicieli. Poraża owady z *Lepidoptera*, *Coleoptera*, *Hemiptera*, a także owady z *Diptera* i *Hymenoptera*. W glebie występuje jako saprofit.

Celem niniejszej pracy było zbadanie właściwości patogenicznych kilku szczepów grzyba owadobójczego *Beauveria bassiana* w stosunku do prusaków (*Blattella germanica* L.).

MATERIAŁ I METODYKA

W badaniach uwzględniono prusaki (*Blattella germanica* L.) oraz różne szczepy grzyba *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

Testowane w warunkach laboratoryjnych szczepy grzyba pochodziły z Zakładu Agrocentologii Instytutu Ekologii PAN. Badano je w stosunku do dojrzałych form *B. germanica* L., zróżnicowanych pod względem wieku i płci. Prusaki pochodziły z hodowli laboratoryjnej, prowadzonej w Państwowym Zakładzie Higieny oraz z pomieszczeń jednego ze szpitali z terenu Warszawy.

Pośród szczepów *B. bassiana* 12 testowano na prusakach z hodowli laboratoryjnej oraz 4 na prusakach odłowionych na terenie szpitala.

Druga część doświadczenia dotyczyła wpływu pasażowania na badane szczepy *B. bassiana*. Doświadczenie prowadzono na 3 wybranych szczepach *B. bassiana* (szczepy: Bb 14, Bb 23 i Bb 34) izolowanych z porażonych w poprzednim doświadczeniu owadów *B. germanica* L.. Otrzymane po pasażu szczepy zastosowano do prusaków z hodowli laboratoryjnej i prusaków terenowych. Owady doświadczalne przebywały w litrowych słojach *Wecka*, w temperaturze pokojowej. Podawano im wodę do picia i rozdrobniony pokarm (mieszanka LSK używana powszechnie do karmienia zwierząt laboratoryjnych), wymieszany z określonym szczepem *B. bassiana* w stosunku: 1 g preparatu na 4 kg pokarmu i 0,125 g preparatu na 4 g pokarmu.

Ogółem doświadczeniu poddano 2260 osobników, w tym 1840 karmiono pokarmem z dodatkiem odpowiedniego szczepu grzyba, a 420 osobników stanowiło kontrolę, którym podawano czysty pokarm LSK i wodę do picia.

WYNIKI BADAŃ

Otrzymane wyniki (tab. I) świadczą o zróżnicowanym poziomie patogeniczności wybranych szczepów *B. bassiana* w stosunku do badanych populacji prusaków. Procent śmiertelności owadów niekiedy zależał od właściwości patogenicznych danego szczepu (szczep Bb 23), niekiedy zaś od ilości zarodników grzyba w pokarmie (szczep Bb 58). Wrażliwość prusaków na porażenie grzybem zróżnicowana była również w zależności od płci. W większości przypadków wyższy procent śmiertelności stwierdzono wśród samców (tab. I).

Śmiertelność wśród samic przy mniejszej ilości zarodników, po 30-tu dniach obserwacji, wahała się w zależności od badanego szczepu *B. bassiana* i wynosiła od 0 do 66,7%, przy większej ilości zarodników – od 0 do 60%. Natomiast po upływie 50-ciu dni kontaktu z grzybem, śmiertelność wśród samic przy dawce niższej grzyba, wahała się w zależności od szczepu – od 0 do 100%, a przy większej ilości zarodników – od 23,3 do 94,0%. Śmiertelność zaś samców po 30-tu dniach przy niższej zawartości grzyba wynosiła od 0 do 83,3%, przy wyższej od 0 do 96,6%. Na uwagę zasługuje szczep 34 *B. bassiana*, który przy niższej ilości zarodników w 1 g pokarmu nie porażał samic w trakcie trwania eksperymentu (po 30 i 50 dniach), nie porażał również samców w ciągu 30 dni obserwacji, po czym, po upływie 50 dni śmiertelność samic wzrosła i osiągnęła 94%.

W tym samym czasie i przy tych samych ilościach zarodników poszczególnych szczepów stwierdzono, że przy mniejszej ilości zarodników grzyba w 1 g pokarmu, po 30 dniach śmiertelność samców wahała się od 0 dla szczepu Bb 14 do 83,3% dla szczepu Bb 58. Natomiast w wariancie zawierającym pożywienie z większą ilością zarodników grzyba, śmiertelność samców wahała się między 0 dla szczepu Bb 55, a 96% dla szczepu Bb 34. Po 50 dniach kontaktu prusaków ze skażonym pożywieniem śmiertelność przy niższej dawce wynosiła od 3,3 dla szczepu Bb 14 i 100% dla szczepu Bb 58, przy wyższej dawce grzyba – od 13,3 dla szczepu Bb 55 do 100% dla szczepów Bb 14 i Bb 34.

Tabela. I. Śmiertelność prusaków *B. germanica* L. (w %) pochodzących z hodowli laboratoryjnej, potraktowanych różnymi szczepami *Beauveria bassiana*
 The mortality of cultured cockroaches *B. germanica* L. (in %) treated with different *B. bassiana* strains

Szczep grzyba <i>Beauveria bassiana</i>	Gęstość zarod. 10 ⁶ w pokarmie	% śmiertelności po:			
		30 dniach		50 dniach	
		M	Ż	M	Ż
Bb 14	1,5	0	0	0	3,3
	20,0	50,0	88,0	94,0	100,0
Bb 23	0,5	45,0	82,0	91,0	97,0
	5,0	0	13,3	23,3	73,3
Bb 34	2,5	0	0	0	53,3
	40,0	60,0	96,0	94,0	100,0
Bb 49	11,0	10,0	0	10,0	10,0
	30,0	13,3	6,7	33,3	56,7
Bb55	15,0	10,0	4,0	24,0	28,0
	132,0	16,7	0	30,0	13,3
Bb 58	15,0	66,7	83,3	100,0	100,0
	21,0	16,0	60,0	30,0	80,0
Bb 75	27,0	44,0	68,0	70,0	96,0
Bb 77	21,0	20,0	44,0	32,0	72,0

Wyniki doświadczenia dotyczące pasażowania szczepów *B. bassiana* przedstawia tab. II. Na laboratoryjnej populacji prusaków przepasażowano 3 szczepy (Bb 14, Bb 23 i Bb 34), a na osobnikach zebranych z terenu – 2 szczepy (Bb 23 i Bb 34). W doświadczeniu tym uwzględniono szczep Bb 23, stosunkowo dobrze porażający prusaki laboratoryjne po upływie 30 dni (tab. I) oraz szczep Bb 34, który po upływie 30 dni trwania eksperymentu nie poraził samic, ani samców z populacji prusaków laboratoryjnych (tab. I). Szczep Bb 23, zastosowany po pasażu w dawce niższej, po dodaniu do pokarmu prusaków z hodowli laboratoryjnej, nie zwiększył patogeniczności w porównaniu z patogenicznością przed pasażem, a nawet zaobserwowano nieznaczne jej obniżenie (tab. I, II). Zastosowany natomiast w wyższej gęstości zarodników był bardziej skuteczny zarówno w stosunku do samic jak i samców (tab. I, II). Pasażowanie szczepu Bb 34 podniosło jego aktywność. W niższej dawce zarodników w pokarmie, śmiertelność samic po 30 dniach wyniosła 35,0%, samców 67,5%, a przed pasażowaniem śmiertelność ta równa była 0 (tab. I). Na szczególną uwagę zasługuje wzrost patogeniczności szczepu Bb 34 w stosunku do samic po 50 dniach obserwacji przy niższej dawce zarodników grzyba w pokarmie. Śmiertelność prusaków osiągnęła tu aż 85%, w porównaniu z 0% przed pasażem (tab. I, II). Przepasażowany szczep Bb 14, użyty tylko w stosunku do prusaków z hodowli laboratoryjnej, podobnie jak szczep Bb 34, charakteryzował się wyższą skutecznością działania w porównaniu z tym szczepem przed pasażem (tab. I, II).

Tabela II. Wpływ pasażu na patogeniczność badanych szczepów *B. bassiana*
The effect of passaging on pathogenicity of *B. bassiana* strains

Szczep grzyba <i>Beauveria bassiana</i>	Zawartość zarodników grzyba w 1g preparatu	% śmiertelności w dniach obserwacji			
		30 dniach		50 dniach	
		M	Ż	M	Ż
Bb 14	38×10^5	13,7	10,0	50,0	26,7
Bb 23	5×10^5	17,5	40,0	72,5	90,0
	53×10^5	36,7	26,7	70,0	100,0
Bb 34	25×10^5	70,0	56,7	93,3	100,0
	4×10^7	35,0	67,5	85,0	90,0

Z przytoczonych danych wynika, że pasażowanie jest szczególnie ważne dla szczepów *B. bassiana* o niskiej patogeniczności pierwotnej w stosunku do badanych owadów (*B. germanica* L.).

Porównując wrażliwość samic i samców prusaków hodowlanych i terenowych na działanie szczepu 23 *B. bassiana* zaobserwowano, że niższa koncentracja zarodników grzyba w 1 g pożywienia ($0,5 \times 10^6/g$) powodowała po upływie 30 i 50 dni mniejszy procent śmiertelności prusaków pochodzących z terenu. Tendencja ta, choć mniej zróżnicowana, stwierdzona została również po 50 dniach kontaktu owadów z grzybem (tab. III). Zwiększenie dawki szczepu *B. bassiana* w 1 g pożywienia nie powodowało wzrostu śmiertelności wśród prusaków laboratoryjnych, jak i prusaków pochodzących z terenu, w porównaniu z dawką niższą (tab. III).

Z powyższego wynika, że w przypadku szczepu Bb 23, zwiększenie gęstości zarodników tego grzyba w pokarmie nie musi prowadzić wprost do zwiększenia śmiertelności badanych owadów. Spostrzeżenie to może być wykorzystane w praktyce.

Szczep 34 *B. bassiana* w koncentracji zarodników $2,5 \times 10^6/g$ pokarmu, po 30 i 50 dniach kontaktu z samicami z hodowli laboratoryjnej, nie porażał ich w ogóle. Porażone były tylko samce po upływie 50 dni kontaktu z tym grzybem (tab. III). Znacznie większa koncentracja zarodników tego szczepu ($40 \times 10^6/g$ pokarmu) spowodowała dużą śmiertelność wśród badanych prusaków laboratoryjnych. Stwierdzono

Tabela III. Porównanie wrażliwości prusaków z terenu i hodowli laboratoryjnej
Sensitivity comparison for cockroaches derived from environment or laboratory cultures

Szczep grzyba <i>Beauveria bassiana</i>	Zawartość zarodników grzyba w 1g preparatu	dni obserwacji							
		30 dniach				50 dniach			
		M	Ż	M	Ż	M	Ż	M	Ż
Bb 23	5×10^5	45,0	82,0	17,5	40,0	91,0	97,0	72,5	90,0
	53×10^5	0	13,3	36,7	26,7	23,3	73,3	70,0	100,0
Bb 34	25×10^5	0	0	70,0	56,7	0	53,3	93,0	100,0
	4×10^7	60,0	96,0	35,0	67,5	94,0	100,0	85,0	90,0

różnice we wrażliwości na infekcję grzybową w obu okresach obserwacji u samców i samic. Bardziej wrażliwe na porażenie grzybem były samce niż samice, niezależnie od tego czy były to owady pochodzące z hodowli laboratoryjnej czy odłowione w terenie.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone dotychczas badania z *B. bassiana* jako biologicznym czynnikiem zwalczającym owady z różnych grup systematycznych pokazały, że gatunek ten zawiera szereg szczepów o odmiennych właściwościach biologicznych, takich jak wirulencja i patogeniczność. *Fargues* [8] wyróżnia 7 biotypów tych grzybów. Natomiast *Duriez-Vaucelle* i inni [7] mówią o odmianach różniących się wewnątrz i zewnątrzkomórkowymi enzymami.

Rozpiętość wrażliwości różnych gatunków owadów na zakażenie owadobójczymi grzybami jest duża. Pozytywne wyniki uzyskano w zwalczaniu niektórych szkodników roślinnych. *Bajan* i *Kmitowa* [2, 3] mówią o możliwości zastosowania grzybów do biologicznego zwalczania owadów oraz o owadobójczych grzybach izolowanych z zimujących form dojrzałych stonki ziemniaczanej (*Leptinotarsa decemlineata*). O grzybach towarzyszących obumieraniu stonki ziemniaczanej w glebie donosi też *Majchrowicz* [13], a *Błońska* [6] mówi o grzybach stonki ziemniaczanej z rodzaju *Beauveria*. *Bajan* i *Kmitowa* [4] prowadziły także obserwacje nad wpływem grzybów *Paecilomyces farinosus* i *B. bassiana* dotyczące ilości tempa składania jej przez samice stonki ziemniaczanej oraz nad wpływem tych grzybów na larwy wylęte z jaj złożonych przez samice narażone na kontakt z grzybami owadobójczymi w okresie zimowania. *Bajan* [1] zajmowała się również wpływem zakażeń następczych powodowanych przez dwa gatunki grzybów owadobójczych należących do jednego rodzaju.

Kmitowa i *Bajan* [11] prowadziły badania patogeniczności dla stonki ziemniaczanej szczepów gatunku *B. bassiana* pochodzących z różnych krajów. Stwierdzono, że najbardziej patogeniczne dla populacji tego szkodnika są miejscowe szczepy grzyba. Natomiast wpływem pasażowania przez żywiciela na zmiany patogeniczności grzybów owadobójczych zajmowała się *Kmitowa* [10]. Autorka ta podaje, że różnice w patogeniczności szczepu wyjściowego, uzyskanego przez jednorazowy pasaż w warunkach laboratoryjnych, są na ogół nieuchwytnie i tylko niektóre z badanych szczepów reagowały nieznacznym podniesieniem patogeniczności po pasażu. Przy porównaniu wyników śmiertelności larw stonki ziemniaczanej opryskanych zawiesiną zarodników pochodzących ze szczepów pasażowanych przez żywiciela w warunkach polowych ze szczepami wyjściowymi stwierdzono, że szczepy pasażowane cechowały się większym tempem zabijania larw stonki w stosunku do szczepu wyjściowego i wyższą śmiertelnością końcową.

Bajan i wsp. [5] omawiając pierwszy polski owadobójczy preparat grzybowy na tle światowych osiągnięć w dziedzinie produkcji mikrobioinsektycydów podaje, że poziom śmiertelności stonki wywołanej zabiegiem w warunkach naturalnych był zróżnicowany w poszczególnych latach i rejonach kraju. Na zróżnicowanie to miały wpływ, poza jakością preparatu, zagęszczenie szkodnika, jego struktura wiekowa oraz warunki atmosferyczne w czasie eksperymentu. Najskuteczniejsze, istotne ekonomicznie działania preparatu obserwowano wówczas, gdy obsada szkodnika była niska i gdy prze-

wagę liczebną miały larwy młode (stadium L_2), natomiast gdy większość populacji stonki stanowią larwy stare (L_3 i L_4) – najaktywniej żerujące, zmniejszało to szanse ochrony plantacji przed stratami, gdyż zanim nastąpiła śmierć szkodników, dochodziło do znacznego uszkodzenia roślin.

Zróżnicowany poziom patogeniczności wybranych szczepów *B. bassiana* zaobserwowano również w stosunku do badanych populacji prusaków. Stwierdzono, że śmiertelność tych owadów zależała od podawanego z pokarmem szczepu grzyba, zawartości jego w pokarmie oraz od płci owadów. Ze szczepów *B. bassiana* stosowanych w doświadczeniu z prusakami pochodzącymi z hodowli laboratoryjnej najbardziej skuteczny okazał się szczep Bb 23. Wywołał on wysoką śmiertelność wśród badanych owadów. Zwiększenie dawki nie powodowało wzrostu śmiertelności, tak prusaków laboratoryjnych, jak i pochodzących z terenu.

Wyniki dotyczące wpływu pasażu na patogeniczność badanych szczepów *B. bassiana* wskazują, że pasażowanie jest ważne dla szczepów o niskiej patogeniczności pierwotnej w stosunku do badanych owadów, gdyż charakteryzują się one wyższą skutecznością działania w porównaniu ze śmiertelnością prusaków potraktowanych tymi szczepami przed pasażem.

Grzyby wykorzystywane są także do zwalczania innych gatunków owadów. Np. w zwalczaniu mszyc (*Trialeurodes vaporariorum* Westw.) stosowany jest na znaczną skalę grzyb *Verticillium lecani* Zimm. [12]. Znaczne są również zakażenia grzybami larw komarów [9] oraz wzajemne powiązania między owadobójczymi grzybami (*Metarhizium anisopliae* i *B. bassiana*), a pchłami *Ceratophyllus fasciatus* Bosc. (*Siphonaptera*) [14].

WNIOSKI

Uzyskane wyniki działania różnych szczepów grzyba *Beauveria bassiana* na prusaki (*Blattella germanica* L.) wykazały, że:

1. Zdolności porażania prusaków przez badane szczepy *B. bassiana* są zróżnicowane,
2. Odpowiednio dobrany szczep *B. bassiana* jest w stanie regulować liczebność populacji prusaków,
3. Spośród badanych szczepów *B. bassiana* na uwagę zasługuje szczep oznaczony w kolekcji szczepów Instytutu Ekologii PAN pod numerem Bb 23 powodujący wysoką śmiertelność owadów.

K. Żukowski, C. Bajan

THE STUDY OF THE USEFULNESS OF *BEAUVERIA BASSIANA* IN ERADICATION OF COCKROACHES (*BLATTELLA GERMANICA*)

Summary

The ability of killing cockroaches (*Blattella germanica* L.) by various strains of the mushroom *Beauveria bassiana* was studied, including also strains obtained by passaging. The study was conducted using adult insects, of varying age and sex, derived from laboratory cultures or caught in hospital rooms. The obtained results pointed out differences in the pathogenicity of *B. bassiana* strains for the studied populations of insects. The per cent of mortality among the insects depended on the pathogenic properties of *B. bassiana* strains, the density of mushroom spores in the food and on the sex of the insects. Passaging was found to be useful in case of strains with low pathogenicity for the insects since the passaged strains were more effective in

their action on the insects than before passaging. Out of the studied strains the 23th strain was most effective in reducing the number of the insects.

PIŚMIENICTWO

1. Bajan C.: The successive infection of insect pathogenic fungi. Ekol. Polska, 1973, 21, 715.
- 2. Bajan C., Kmitowa K.: Możliwość zastosowania grzybów owadobójczych do biologicznego zwalczania owadów. Post. Nauk. Roln., 1968, 111, 21.
- 3. Bajan C., Kmitowa K.: Pathogenicity of entomogenous fungi isolated from hibernating imagines of the Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). Ekol. Polska, 1969, 24, 409.
- 4. Bajan C., Kmitowa K.: The effect of entomogenous fungi *Paecilomyces farinosus* (Dicks) Bronne et Smith and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. on the oviposition by *Leptinotarsa decemlineata* Say females and on the survival of larvae. Ekol. Polska, 1972, 20, 424.
- 5. Bajan C., Fedorko A., Kmitowa K., Mierzejewska E.: Polish fungal insecticide against the background of the worldwide achievements in mycobiointsecticide productions. Post. Nauk Roln., 1994, 3, 13.
- 6. Błońska A.: Patogeniczne grzyby stonki ziemniaczanej – *Leptinotarsa decemlineata* Say z rodzaju *Beauveria*. Roczn. Nauk Roln., (a), 1957, 74, 359.
- 7. Duriez-Vaucelle T., Fargues J., Robert P. H., Popeye R.: Etude enzymatique compare de champignons entomopathogenes des genres *Beauveria* et *Metarhizium*. Mycophatologia, 1981, 75, 101.
- 8. Fargues J.: Etude des conditions d'infection des larves de *Doryphore*, *Leptinotarsa decemlineata* Say par *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (*Fungi Imperfecti*). Entomophaga, 1972, 17, 319.
- 9. Ghosh S. M., Hati A. K.: Actinomycetes infection in *Anopheles* and *Culex* mosquito larvae. Bull. Calcuta Sch. Trop. Med., 1962, 10, 171.
- 10. Kmitowa K.: Preliminary studies on the effect of passaging through the host on pathogenicity of entomopathogenic fungi. Pol. Ecol. Stud. 1983, 8, 433.
11. Kmitowa K., Bajan C.: Pathogenicity level of various strain of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Pol. Ecol. Stud., 1983, 8, 409.
- 12. Lipa J. J.: Odporność argofagów na chemiczne pestycydy, a efektywność biologicznego zwalczania i odporność entomofagów na chemiczne pestycydy, a efektywność biologicznego zwalczania. Matr. XXIX Sesji Nauk. Inst. Ochr. Roślin w Poznaniu. Cz. I, Referaty 1989, 13.
- 13. Majchrowicz J.: Badania nad grzybami towarzyszącymi obumieraniu stonki ziemniaczanej (*Leptinotarsa decemlineata* Say) w glebie. Zesz. Probl. Postęp. Nauk Roln., 1962, 35, 255.
14. Nelzina E. H., Mironov H. P., Sorokina L. Ja., Bachtinova H. Z.: Charakter parasito-chodijajnych otnosenij entomopatogennyh gribov, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin i *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (*Fungi imperfecti*) s blochami *Ceratophylus fasciatus* Bosc. (*Siphonaptera*). Med. Parasit. 1978, 4, 86.

Otrzymano: 1995.11.20