

KAZIMIERZ ŻUKOWSKI, CECYLIA BAJAN¹⁾, ELŻBIETA POPOWSKA-NOWAK¹⁾

WPLYW INFEKCJI MIESZANYCH *BEAUVERIA BASSIANA* I *PAECILOMYCES FARINOSUS* NA REDUKCJĘ LICZEBNOŚCI DOŚWIADCZALNYCH *BLATTELA GERMANICA* L.

THE EFFECT OF INFESTATION BY MIXED CULTURE OF *BEAUVERIA BASSIANA* AND *POECILOMYCESS FARINOSUS* ON REDUCTION IN NUMBERS OF EXPERIMENTAL CULTURES OF *BLATELLA GERMANICA* L.

Zakład Zwalczania Skażeń Biologicznych
Państwowy Zakład Higieny
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24
Kierownik: dr K. Kanclerski

¹⁾ Zakład Agrocenologii, Instytut Ekologii PAN
05-092 Łomianki, Dziekanów Leśny
Kierownik: prof. dr hab. C. Bajan

Praca dotyczy oceny wpływu zakażeń mieszanych Beauveria bassiana i Paecilomyces farinosus (szczyepy Ł i P) na redukcję liczebności dojrzałych Blattela germanica L. pochodzących z hodowli laboratoryjnej. Grzyby stosowano w określonej kolejności i w różnym czasie od podania owadom pierwszego patogena.

WSTĘP

Zakażenia mieszane u owadów są słabo poznane. Szczególnie mało wiemy o ich wpływie na redukcję łączonego stosowania grzybów *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. i *Paecilomyces farinosus* (Dics) Brown et Smith (szczyepy Ł i P) na możliwość redukcji liczebności dojrzałych *Blattela germanica* L. Grzyby te nie są w stosunku do siebie organizmami antagonistycznymi, a jak wynika z wcześniejszych prac [4, 5] cechuje je znaczna patogeniczność w stosunku do żywiciela. Oprócz działania bezpośredniego powodującego śmiertelność szkodnika grzyby te oddziałują na populację pośrednio powodując np. zmniejszanie ilości składanych jaj czy obniżenie żywotności wylęganych larw [3]. Tak więc ważnym czynnikiem, który należy wziąć pod uwagę, jest długofalowe oddziaływanie, a nie tylko uzyskany bezpośrednio wynik śmiertelności.

Za pomocą środków chemicznych można utrzymać populację owadów na niskim poziomie, ale wymaga to powtórnych zabiegów chemicznych, co prowadzi do nadmiernej chemizacji środowiska, jest kosztowne i nie zapobiega masowemu pojawianiu owadów szkodliwych, gdyż po zabiegu takim następuje szybka odbudowa populacji. Należy zaznaczyć, że szerokie i stałe stosowanie środków chemicznych nie może być prowadzone ze względu na stałe zatrucie najbliższego otoczenia człowieka oraz na toksyczność ich dla ludzi i innych organizmów.

W związku z tym postanowiono zbadać w warunkach laboratoryjnych wpływ zakażeń mieszanych na śmiertelność prusaków (*Blattella germanica* L.) stosując owadobójcze grzyby *B. bassiana* i *P. farinosus* (szczep B) i *P. farinosus* (szczechy Ł i P) w określonej kolejności i w różnym czasie od zakażenia pierwszym grzybem.

MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na prusakach (*Blattella germanica* L.) i owadobójczych grzybach *B. bassiana* i *Paecilomyces farinosus*. Zastosowano jeden szczep grzyba *B. bassiana* izolowany z gleby w miejscowości Browsk (szczep B) i dwa szczepy *P. farinosus* pochodzące z Łagowa (szczep Ł) i Puław (szczep P). Uwzględnione grzyby izolowano i namnażano w Zakładzie Agrocenologii Instytutu Ekologii PAN. Wpływ zakażeń mieszanych tych grzybów na liczebność doświadczalnych prusaków prowadzono na owadach dojrzałych, pochodzących z hodowli laboratoryjnej Państwowego Zakładu Higieny.

W infekcjach mieszanych dwugatunkowych stosowano zarodniki grzyba *B. bassiana* (szczep B) łącznie z zarodnikami poszczególnych szczepów *P. farinosus* (Ł i P) w odstępach czasu 24, 48 i 72 godziny od zakażenia pierwszym grzybem.

Zastosowano również infekcję mieszaną jednogatunkową owadów stosując tylko zarodniki szczepów Ł i P grzyba P w odstępach czasu podanych powyżej.

W pierwszej części doświadczenia prusaki zakażano najpierw zarodnikami typu *P. farinosus* – szczepy Ł i P (przy infekcjach mieszanych dwugatunkowych) lub zarodnikami grzyba *P. farinosus* – szczep P (przy infekcjach jednogatunkowych) uwzględniając tylko odstępy czasu 24 i 72 godziny od zakażenia pierwszym grzybem.

Uwzględniono tylko podstawowe gęstości zarodników każdego z badanych grzybów, które podawano owadom wraz z pokarmem w ilości 1 g grzyba na 4 g pokarmu. Owady doświadczalne przebywały w temperaturze pokojowej w odpowiednio przygotowanych litrowych słojach *Wecka*. Każdy ze słoików, oprócz bibuły wyścielającej dno, zawierał wewnątrz także poidelko z wodą oraz zwinięty w harmonijkę (7 x 25) pasek bibuły.

Ogółem zbadano 1310 prusaków: 950 żerowało na pokarmie z dodatkiem odpowiednich grzybów, a 360 stanowiło kontrolę. Pokarm owadów w kontroli zawierał zawsze jeden z grzybów wymienionych w tabelach na pierwszym miejscu.

WYNIKI

Uzyskane wyniki przedstawiono w tabelach I i II. Pierwsza z nich zawiera dane, gdzie w pierwszej kolejności podawano prusakom w pokarmie grzyby *B. bassiana* lub *P. farinosus* szczep Ł, natomiast po okresie 24, 48 i 72 godzin pokarm tych samych owadów zakażono także drugim grzybem, tj. szczepem Ł lub *P. farinosus*. Przedstawione w tabeli I wyniki wskazują, że po 30 dniach doświadczenia najwyższą śmiertelność prusaków zanotowano, gdy zakażenie ich pokarmu drugim grzybem nastąpiło w 48 godzin po zakażeniu grzybem pierwszym (Tabela I). Śmiertelność owadów w kontroli, żerujących na pokarmie zakażonym tylko jednym, pierwszym grzybem, wyniosła od 6,6 do 40% (Tabela I). Po 30 dniach najwyższy wskaźnik śmiertelności prusaków zanotowano po podaniu grzybów *B. bassiana* i *P. farinosus* (Ł) – 53,3% u samic i 80% u samców (Tabela I).

Po 50 dniach trwania doświadczenia, wysoka śmiertelność u prusaków wystąpiła już we wszystkich trzech stosowanych połączeniach grzybów (Tabela I). Niższą śmiertelność stwierdzono tylko u samic żerujących na pokarmie zakażonym drugim grzybem po 72 godzinach w przypadku infekcji jednogatunkowej zarodnikami szczepów Ł i P grzyba

Tabela I. Śmiertelność (%) *B. germanica* L. żerujących na pokarmie skażonym grzybami *B. bassiana* i *P. farinosus*.

Szczep grzyba	Gęstość zarodników $\times 10^6$ w pokarmie	po 30 dniach						po 50 dniach									
		Śmiertelność (%) prusaków żerujących na pokarmie zakażonym drugim grzybem po:						Kontrola		Śmiertelność (%) prusaków żerujących na pokarmie zakażonym drugim grzybem po:						Kontrola	
		24 godz.		48 godz.		72 godz.		♂♂	♀♀	24 godz.		48 godz.		72 godz.		♂♂	♀♀
		♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂			♀♀	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀		
<i>B. bassiana</i> (B)	272																
<i>P. farinosus</i> (Ł)	646	16,7	43,3	53,3	80,0	13,3	26,6	6,6	20,0	90,0	96,6	66,8	83,3	80,0	83,3	30,0	50,0
<i>B. bassiana</i> (B)	272																
<i>P. farinosus</i> (P)	229	16,7	20,0	40,0	76,6	26,6	40,0	6,7	10,0	56,7	63,3	83,3	80,0	56,7	100,0	36,7	53,3
<i>P. farinosus</i> (Ł)	646																
<i>P. farinosus</i> (P)	229	20,0	30,0	33,3	46,7	13,3	26,6	33,3	40,0	78,8	56,7	53,3	66,7	33,3	66,7	33,3	46,7

Objaśnienia:

- B – Browsk
 Ł – Łagów
 P – Puławy

Tabela II. Śmiertelność (%) *B. germanica* L. żerujących na pokarmie skażonym grzybami *P. farinosus* i *B. bassiana*.
brak tytułu ang.

Szczep grzyba	Gęstość zarodników x 10 ⁶ w pokarmie	po 30 dniach						Kontrola	po 50 dniach								
		Śmiertelność (%) prusaków żerujących na pokarmie zakażonym drugim grzybem po:							Śmiertelność (%) prusaków żerujących na pokarmie zakażonym drugim grzybem po:								
		24 godz.		48 godz.		72 godz.			24 godz.		48 godz.		72 godz.				
		♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂		♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂			
<i>P. farinosus</i> (Ł)	646																
<i>B. bassiana</i> (B)	272	33,3	26,6	-	-	50,0	33,3	26,6	30,0	36,6	80,0	-	-	83,3	83,3	53,3	60,0
<i>P. farinosus</i> (P)	229																
<i>B. bassiana</i> (B)	272	53,3	36,7	-	-	26,6	26,6	36,3	40,0	60,0	83,3	-	-	90,0	100,0	36,7	63,3
<i>P. farinosus</i> (P)	229																
<i>P. farinosus</i> (Ł)	646	26,6	16,7	-	-	40,0	20,0	23,3	23,0	53,3	60,0	-	-	26,7	56,7	40,0	60,0

P. farinosus. W pozostałych przypadkach śmiertelność prusaków była znacznie wyższa od ilości notowanej w kontroli, tzn. gdy owady żerowały na pokarmie z dodatkiem jednego tylko grzyba (Tabela I). Wzrost śmiertelności prusaków wystąpił tu najprawdopodobniej na skutek łącznego działania stosowanych grzybów.

W tabeli II natomiast przedstawiono wyniki uzyskane po zmianie kolejności stosowania grzybów. W tym przypadku w pierwszej kolejności podano prusakom w pokarmie grzyby *P. farinosus* (P) *P. farinosus* (Ł), a grzyby *B. bassiana* i *P. farinosus* (Ł) zastosowano jako drugie i tylko w dwóch odstępach czasu – 24 i 72 godzin po zakażeniu pokarmu pierwszymi grzybami. Po 30 dniach najwyższa śmiertelność u samic wyniosła 53,3%, a najniższa 26,6%. U samców zanotowano w tym czasie odpowiednio: 36,7 i 16,7%. Śmiertelność owadów w kontroli, których pokarm zakażony był tylko jednym, pierwszym ze stosowanych grzybów (Tabela II), wyniosła u samic 36,3% i 23,3%, a u samców 40 i 23,0%. Po 50 dniach doświadczenia śmiertelność u tych owadów znacznie wzrosła; najwyższa u samic wyniosła 90%, najniższa 26,7%, po 72 godz. od wprowadzenia pierwszego grzyba; u samców wyniosła odpowiednio: 100,0 i 56,7%. W tym samym czasie w grupie owadów kontrolnych, którym podawano pokarm zakażony tylko jednym grzybem (zawsze pierwszym z podanych w tabelach I i II), śmiertelność u samic wyniosła 36,7% u samców zaś odpowiednio: 63,3 i 60%.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone spostrzeżenia wskazują, że wpływ zakażeń mieszanych, wywołanych owadobójczymi grzybami, na śmiertelność prusaków ma charakter zróżnicowany i zależy głównie od patogeniczności stosowanych grzybów, chociaż inne czynniki mogą też odgrywać pewną rolę (Tabela I i II). Po 30 dniach doświadczenia obserwowano znaczną śmiertelność prusaków przy infekcjach dwugatunkowych, w których jako pierwszy zastosowano gatunek *B. bassiana*, a zakażenie drugim grzybem nastąpiło po 48 godzinach (Tabela I).

W okresie 50 dni śmiertelność u owadów doświadczalnych, była już wysoka padło 90% samic, gdy zakażenie drugim grzybem nastąpiło po 24 godzinach, a 100% śmiertelności uzyskano u samców, gdy zakażenie pokarmu drugim grzybem odbyło się po 72 godzinach (Tabela I). Odsetek padłych owadów jest tu prawie dwu lub trzykrotnie wyższy jak w grupie kontrolnej co może sugerować, że wspólne działanie badanych grzybów jest bardziej skuteczne.

Po zmianie kolejności stosowania patogenów, grzyby *B. bassiana* i *P. farinosus* podane prusakom uprzednio jako pierwsze (Tabela I), zastosowano obecnie w drugiej kolejności (Tabela II). Zwiększona śmiertelność, głównie u samic, wystąpiła po 30 dniach w grupach prusaków po zakażeniu ich pokarmu grzybami *P. farinosus* (szczepy Ł i P), a w drugiej kolejności *B. bassiana*. W obu tych przypadkach śmiertelność u samic była wyższa niż u owadów w kontroli (Tabela II). Okres drugi, tj. po 50 dniach charakteryzował się znaczną śmiertelnością prusaków, za wyjątkiem samic, które zakażono *B. bassiana* i *P. farinosus* (szczep Ł) po 24 godz. od wprowadzenia pierwszego grzyba. W tych przypadkach śmiertelność była niższa od śmiertelności w grupie kontrolnej (Tabela II). Porównując wyniki doświadczeń zawarte w tabelach I i II należy stwierdzić, że zmiana kolejności stosowania badanych grzybów nie wpłynęła w zasadniczy sposób na proces śmiertelności doświadczalnych owadów. Stosowane w eksper-

mencie grzyby, jak wykazały wcześniejsze badania [3, 4] są patogeniczne dla prusaków, a równocześnie ich stosowanie może tylko wzmocnić ich działanie.

Bajan i Kmitowa [2] porównując wyniki otrzymane z badania infekcji następnych dwóch gatunków owadobójczych grzybów *P. farinosus* i *B. bassiana* w stosunku do stonki ziemniaczanej (*Leptinotarsa decemlineata*) stwierdziły, że niezależnie od czasu jaki upłynął od zastosowania jednego grzyba do czasu zakażenia tych owadów drugim patogenem, liczba osobników martwych była większa od ilości notowanej w kontroli, gdy owady opryskano tylko jednym gatunkiem patogena. Największą śmiertelność zanotowano w kombinacji, gdy odstęp czasu opanowywania żywiciela mieścił się w granicach 24–48 godzin. Oceniono też udział badanych grzybów w zakażeniu owadów. Po upływie tygodnia na wyrosniętej na pożywce przeszczepionej grzybni z zarodnikami z zakażonych owadów, określano procentowy udział patogenów w infekcji następnej. Okazało się, że w części doświadczenia, w której jako pierwszy zasiedlał stonkę *P. farinosus*, bez względu na odstęp czasu w jakim stosowano drugiego patogena, dominował zawsze *P. farinosus*. Natomiast w doświadczeniu w którym jako pierwszy zasiedlał stonkę grzyb *B. bassiana*, a po 24 godzinach jako drugi *P. farinosus*, także dominował *P. farinosus*. Przy odstępach dłuższych między zakażeniem patogenem pierwszym (*B. bassiana*), a drugim (*P. farinosus*) – dominował w reizolacjach grzyb *B. bassiana*, chociaż dominacja ta nie była tak wyraźna jak u *P. farinosus* [2].

Bajan [1] stwierdziła w warunkach laboratoryjnych, że ze stadiów postembrionalnych najmniej podatne na zakażenie grzybami były chrząszcze stonki, a najwyższa śmiertelność zaznaczyła się u larw. Najkorzystniejszym zaś odstępem czasu między zakażeniem pierwotnym, a podaniem drugiego grzyba jest dla poszczególnych stadiów rozwojowych stonki okres 48 godzin. Spostrzeżenia dotyczące wrażliwości prusaków na podawane im grzyby potwierdzają dane uzyskane wcześniej przez *Bajan* [1] oraz *Bajan i Kmitową* [2] dla imago stonki ziemniaczanej.

WNIOSKI

Z oceny wpływu zakażeń mieszanych na śmiertelność prusaków wynika że:

1. Zakażenia mieszane wywołane owadobójczymi grzybami powodują znaczną śmiertelność u testowanych owadów.
2. Najkorzystniejszym odstępem między zakażeniem pierwotnym a zakażeniem drugim grzybem był okres 48 godzin.
3. Zmiana kolejności stosowania badanych grzybów nie wpłynęła zasadniczo na śmiertelność prusaków.
4. Śmiertelność owadów zakażonych grzybami należącymi do dwóch odrębnych gatunków była wyższa niż u prusaków zakażonych grzybami reprezentującymi tylko jeden gatunek.
5. W większości przypadków działanie patogenów powodowało wyższą śmiertelność prusaków w porównaniu z kontrolą tzn. u owadów zakażonych tylko jednym gatunkiem grzyba.

K. Żukowski, C. Bajan and E. Popowska-Nowak

THE EFFECT OF INFESTATION BY MIXED CULTURE OF *BEAUVERIA BASSIANA* AND *POECILOMYCES FARINOSUS* ON REDUCTION IN NUMBERS OF EXPERIMENTAL CULTURES OF *BLATELLA GERMANICA* L.

Summary

In this paper results of infestation of *Blattella germanica* L with mixed culture of insecticidal fungi belonging to one two species are presented. In the first stage of experiment the insects were infested first with *B. bassiana* spores and later with *P. farinosus* spores (strains Ł and P) was used as first and *B. bassiana* as second with time sequence of only 24 and 72 hours. Out of one species cultures tests were done alternately with strains Ł and P of *P. farinosus*. The control insects were always infested with fungi applied to cockroach in the first place.

From comparison of data it results that irrespective of the time that elapsed from application of the first pathogen to the time of application of the second pathogen the number of dead individuals was always higher in experimental series than in control i.e. when only one pathogen was applied. After 30 days of experiment the highest mortality in females amounted to, 3,3% and in males – 80,0% whereas in the control it amounted 6,6% and 20,0% . Respectively , after feeding on diet infested only with one pathogen. After 50 years the highest mortality amounted to 20% in females and 100% in males with control of 30% and 53,3% in meals and females, respectively. When the sequence of pathogen application was reversed, mortality after 30 day amounted to 53,3% in females and 36,7% in meals with corresponding numbers in controls being 26,6% and 26,6%, respectively. After elapse of 50 days the highest mortality in females was 90% and in males – 100% with control showing mortality of 36,7% and 63,3% respectively.

From comparison of numerical data compiled in Table 1 it results that most advantageous time span between first and second infestation with fungi is 48 h. Mortality of cockroaches infested with fungi of two different species was higher than in insects infested with one species of fungi.

PIŚMIENICTWO

1. Bajan C.: The sucesive infection of insect patogenic fungi. Ekol. Polska, 1973, 21, 715–729
2. Bajan C., Kmitowa K.: Succesive infection, Ekol. Polska, 1972, 20, 433–440.
3. Bajan C., Federko K., Kmitowa K.: Factors responsible for efectives of microbial control of numbers of plant pests as exemplified by Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). Pol. Ecol. Stud., 1982, 8, 363–407.
4. Żukowsk K., Bajan C.: Badania przydatności *Beauveria bassiana* do zwalczania prusaków (*Blattella germanica* L.) Roczn. PZH, 1986, 47, 343–349.
5. Żukowski K., Bajan C.: Badana labolatoryjne aktywności szczepów owadobójczego grzyba *Paecilomyces farinosus* w redukcji liczebności prusaków *Blattella germanica*. Roczn. PZH, 1997, 48, 133–138.

Otrzymano: 1998.11.25