

УДК: 632.727/.937.14(574)

Дуйсембеков Б.А., Успанов А.М., Утепов Д.К., Каменова А.С.,
Нусипбекова А.А., Алимкулова М.К.**ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ШТАММОВ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ
ДЛЯ РЕГУЛЯЦИИ ЧИСЛЕННОСТИ ВРЕДНЫХ САРАНЧОВЫХ В КАЗАХСТАНЕ**

(Казахский НИИ защиты и карантина растений)

В результате проведенных исследований, была проведена предварительная оценка казахстанских штаммов гриба, показавших высокую вирулентность в отношении личинок саранчовых. Отобран перспективный штамм BVes₃-06, для создания на его основе нового отечественного микоинсектицида.

Разработка и применение микробиологических биопрепаратов для регуляции численности саранчовых является одним из приоритетных направлений в области защиты растений от представителей данной группы вредителей. В этом отношении наибольшее внимание исследователей привлекает ряд видов энтомопатогенных грибов из анаморфных родов, в частности, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. [1,2].

В отличие от химических инсектицидов биопрепараты обладают выраженной избирательностью действия, признаны безвредными для человека, теплокровных животных, пчел, птиц, рыб. Они быстро разлагаются в почве, воде, под воздействием солнечных лучей, не вызывают в сравнении с химическими препаратами привыкания к ним насекомых [3, 4, 5, 6, 7].

Создание высокоэффективных препаративных форм биопрепаратов на основе местных штаммов, оптимизация их наработки и использования являются необходимыми условиями для широкого внедрения энтомопатогенных микроорганизмов в практику защиты растений в Казахстане и обеспечат получение экологически чистой сельхозпродукции, как одного из ключевых компонентов здоровья населения и безопасности нации.

В настоящее время в странах дальнего зарубежья для контроля численности саранчовых применяются 11 препаративных форм на основе энтомопатогенных грибов [8]. Из них восемь на основе *Beauveria bassiana* и три - *Metarhizium anisopliae* (Sorok.)

В «Списке пестицидов (ядохимикатов) разрешенных к применению на территории Республики Казахстан» нет ни одного микоинсектицида. В течение последних десяти лет благодаря тесному сотрудничеству трех институтов: ВИЗР РАСХН (С-Петербург), ИСиЭЖ СО РАН (Новосибирск) и КазНИИЗиКР (Алматы) достигнуты определенные успехи в создании новых микоинсектицидов и разработке стратегии их применения [9].

Однако, хорошо известно, что при отборе перспективных штаммов продуцентов биопрепаратов его необходимо вести, кроме целевой активности, еще по целому ряду ценных признаков [10]. Важнейшими из них являются экологическая пластичность и продуктивность при культивировании на искусственных питательных средах.

В связи с этим нами были проведены исследования, направленные на оценку термического преферендума конидий *B. bassiana* и оценку биологической активности казахстанских штаммов гриба в отношении личинок вредных саранчовых.

Материалы и методы

В работе были использованы три местных штамма (BVes₃-06, BC₀₆-07, BC₂-06) энтомопатогенных гриба *B. bassiana* из коллекции лаборатории биотехнологии КазНИИЗиКР. Штамм BVes₃-06 выделен из семейства ос (Vespidae) отряда перепончатокрылых; BC₀₆-07 выделен из отряда жесткокрылых (Coleoptera) и BC₂-06, выделенный из тлевой коровки (Coccinellidae).

Определение термического оптимума для прорастания конидий *B. bassiana* проводили в капле воды при следующих температурах воздуха: 20, 25, 30⁰С. Для получения полупрепаративных форм микоинсектицидов грибы культивировали на сыпучем зерновом субстрате (пшеница) в стеклянных колбах объемом 50 мл. Засыпали 10 г зернового субстрата, доливали 5 мл дистиллированной воды и стерилизовали в режиме 0,8 атм. 30 минут. Затем в колбы наливали 1 мл водной суспензии гриба с титром 1x10⁵ и помещали в термостат с температурой 25⁰С. Каждый день колбы тщательно встряхивали. После определенного времени зерновые субстраты просушивались и перемалывались, затем применялись для оценки биологической эффективности против личинок саранчовых.

В ходе мелкоделяночных полевых опытов насекомых обрабатывали на площадках площадью 100 м² при помощи моторного опрыскивателя (WFB-18 АС, Китай).

Обработка проводилась в вечерние часы перед заходом солнца. Через 12 часов (рано утром) насекомых собирали энтомологическим сачком. После обработки саранча была собрана в садки и привезена в лабораторию биотехнологии КазНИИ защиты и карантина растений; личинок саранчовых помещали в пластиковые контейнеры по 5 особей в 10 стаканов на вариант.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследований был проведен эксперимент, направленный на определение термического преферендума конидий *B. bassiana*.

Анализ полученных данных выявил высокую гетерогенность испытуемых культур по данному показателю. Итоговая доля проросших спор (через 72 часа) варьировала в пределах от 4,2 до 72,7% (таблица 1).

Таблица 1 - Жизнеспособность конидий природных изолятов гриба *B. bassiana*, выделенных в 2006-07 гг., при разных температурах воздуха

Изолят	Температура, °С	Доля проросших конидий, %					
		12 ч.	24 ч.	36 ч.	48 ч.	60 ч.	72 ч.
BVes ₃ -06	20	37,6±4,2	44,1±6,01	62,5±6,9	65,9±6,6	71,2±2,8	72,7±3,6
	25	38,8±11,4	35,0±6,9	41,2±2,2	54,6±3,5	58,8±6,2	68,5±1,2
	30	38,4±3,4	42,3±3,1	43,9±3,4	40,6±2,5	46,4±1,3	53,0±4,7
BCo ₆ -07	20	4,2±1,3	5,53±1,5	5,66±1,1	7,13±1,2	7,2±1,4	11,5±2
	25	4,83±2,5	3,3±0,5	4,06±0,8	6,16±1,5	8,5±1,5	13,4±2
	30	4,3±0,1	3,7±0,6	5,86±1,1	5,43±0,7	8,1±1,3	9,43±0,7
BC ₂ -06	20	33,2±2,6	30,8±5,9	43,3±7,5	48,0±8,4	60,0±13	58,3±8,4
	25	41,2±8,3	27,5±3,7	38,6±0,9	40,4±4,9	44,7±4,7	49,2±5,15
	30	5,4±3,8	2,46±1,4	7,4±4,02	14,1±6,9	16,5±6,8	19,4±7,04

Для трех культур максимальный уровень прорастания конидий наблюдается при температурах 20 и 25⁰С. При 30⁰С уровень прорастания конидий для всех испытуемых культур составлял от 9,43 до 53%, причем только одна культура (BVes₃-06) проявила высокую жизнеспособность при данном температурном режиме.

В целом, выявлены различия между изучаемыми изолятами гриба по признаку термотолерантности. При этом была отобрана одна культура - BVes₃-06, обладающая повышенную термофильность к абиотическим факторам среды.

На втором этапе определяли оптимальные титры для рабочей суспензии, а также оценивали биологическую эффективность штаммов на личинках пустынного пруса (*Calliptamus barbarus* Costa).

Тестирование трех штаммов энтомопатогенных грибов проводили на саранче в лабораторных условиях. В результате, самым вирулентным в отношении личинок пустынного пруса оказался штамм гриба *B. bassiana* BVes₃-06 (таблица 2).

При использовании данного штамма при титре 2x10⁷ на 5 сутки смертность насекомых достигла 100%. При титре 1x10⁷ на 5 сутки погибло 82,5%, а на седьмые сутки отмечена гибель всех личинок.

Более низкую вирулентность показали два других штамма (BC₂-06 и BCo₆-07): при титре 1x10⁷ смертность составила 85%, а при титре 2x10⁷ она достигала 95,5 и 97%. На 7 сутки после перкутантного заражения все три протестированных штамма грибов вызывали 50%-ную и более смертность саранчи.

Таблица 2 – Биологическая активность штаммов энтомопатогенных грибов против младших возрастов личинок пустынного пруса.

Штамм	Смертность, % (сутки)			
	3	5	7	10
титр 1x10 ⁷ спор/мл				
BC ₂ -06	15,0±5,0	20,0±7,0	60,0±9,1	85,0±5,0
BVes ₃ -06	32,5±4,7	82,5±7,5	100±0,0	100±0,0
BCo ₆ -07	30,0±8,1	40,0±5,7	60,0±10,8	85,0±6,4
Контроль	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	2,5±2,5
HCP ₀₅	16,4	18,2	21,7	13,1
титр 2x10 ⁷ спор/мл				
BC ₂ -06	7,5±4,78	22,5±16,1	67,5±13,1	95,5±9,46
BVes ₃ -06	67,5±4,7	100±0,0	100±0,0	100±0,0
BCo ₆ -07	12,5±9,46	35±8,66	57,5±8,53	97,0±2,88
Контроль	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	2,5±2,5
HCP ₀₅	18,7	24,3	20,2	19,1

По данному опыту хотим обратить внимание на штамм BVes₃-06, который показал лучший результат в отношении личинок пустынного пруса. Следовательно, он представляет наиболее значительный интерес для дальнейшей работы по созданию микроинсектицида на его основе.

В настоящее время основной препаративной формой микоинсектицидов, применяемых для контроля численности саранчовых, является масляная суспензия конидий грибов. В связи с этим нами был проведен ряд опытов, направленных на оценку биологической активности данной препаративной формы на основе конидий гриба *B. bassiana* в условиях Юго-Восточного Казахстана.

Полевой опыт был проведен в Южном Прибалхашье, вблизи поселка Караозек, против младших возрастов личинок азиатской саранчи (*Locusta migratoria migratoria* L.). В опыте в качестве рабочей жидкости было использовано растительное масло объемом 1 литр на 100 м² (вместо воды) со штаммом BVes₃-06, при норме 5x10¹² спор на гектар. По результатам полевого опыта в отношении личинок азиатской саранчи штамм гриба *B. bassiana* – BVes₃-06 на шестые сутки показал высокую вирулентность, - гибель составила 72,0% (таблица 3).

Таблица 3 – Биологическая активность штамма энтомопатогенного гриба против личинок младших возрастов азиатской саранчи

Штамм	Смертность, % (сутки)				
	5	6	7	8	9
BVes ₃ -06+масло	0,0±0,0	72,0±5,3	94,0±3,1	100,0±0,0	100,0±0,0
Масло	0,0±0,0	4,0±2,7	6,0±3,1	8,0±4,4	10,0±4,5
Контроль	2,0±2,0	8,0±4,4	10,0±5,4	10,0±5,4	10,0±5,4

На 8 сутки гибель личинок азиатской саранчи достигла 100%. Кроме того, при тех же условиях провели обработку чистым маслом, при этом гибель личинок азиатской саранчи на 8 сутки составила 8,0%, а в контроле (без обработки) – 10,0%.

Важно отметить, что само растительное масло не оказывало никакого токсического действия на личинок саранчи. Смертность в данном варианте была на уровне контроля и не превышала 10%.

В результате проведенного опыта можно заключить, что штамм BVes₃-06 является высоковирулентным в отношении личинок перелетной азиатской саранчи. Подобные полевые опыты в дальнейшем должны быть продолжены для выявления высоковирулентных штаммов в отношении других видов вредных саранчовых.

В целом, оценивая полученные данные нужно отметить, что использование новых микоинсектицидов на основе гриба в форме масляной суспензии может быть вполне эффективно для контроля численности саранчовых. Особенно это касается территорий, где использование химических инсектицидов законодательно запрещено (водоохранные зоны, заповедные территории и другие).

Эти исследования проводятся авторами в рамках бюджетной программы 055 «Программа фундаментальных исследований», финансируемого Комитетом науки МОН РК.

Литература

- 1 Lomer C. J., Bateman R. P., Johnson D. L., Langewald J., Thomas M. B. *Biological control of locusts and grasshoppers*. // *Ann. Review Entomol.* 2001. V. 46. P. 667-702
- 2 Штерниус М.В., Цветкова В.П. *Микробиологический метод контроля саранчовых*. // *Защита и карантин растений*. 2002. № 6. С. 26-27.
- 3 *Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты* / Под ред. В.В.Глунова. – М.: Круглый год. - 2001. – 736 с.
- 4 Лукина А.В., Леднев Г.Р., Дүйсембеков Б.А., Левченко М.В., Слямова Н.Д., Смагулова Ш.Б. *Поиск и выделение новых штаммов энтомопатогенных грибов в юго-восточном Казахстане* // I-я Межд. научн. конф. молодых ученых и аспирантов «Актуальные проблемы защиты и карантина растений». – Алматы. - 2006. – С.99-101.
- 5 Евлахова А.А. *Энтомопатогенные грибы*. – Л.: Наука. - 1974. - 260 с.
- 6 *Биологическая защита растений: Учеб. пос. для ВУЗов. Под ред. Штерниус М.В.* – М.: КолосС. – 2004. - 264 с.
- 7 *Промышленная микробиология: Учеб. пос. для ВУЗов. Под ред. Егорова Н.С.* – М.: Высш. шк. -1989. - 688 с.
- 8 Faria, M., Wraight, S.P. *Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types*. *Biological Control*. 2007. P. 43:237-256.
- 9 Крюков В.Ю. и др. *Перспективы применения энтомопатогенных гифомицетов (Deuteromycota, Нурфотомыцетес) для регуляции численности насекомых* // *Евразийский энтомологический журнал*. 2007. Т. 6. № 2. С. 195-204.
- 10 Борисов Б. А. *Проблемы создания и использования микоинсектицидных препаратов*. // *Изучение энтомопатогенных микроорганизмов и разработка технологий производства и применения. Научн. раб. симп. СЭВ. Бухарест, 1990. С. 8 - 23.*

Тұжырым

Шөл және азиялық шегірткелердің дернәсілдеріне қатысы жоғары уыттылық көрсеткен зерттеулер нәтижесінде қазақстандық саңырауқұлақ штамдарына алдын-ала бағалау жүргізілді. Жаңа отандық микроинсектицид жасау үшін келешегі бар BVes₃-06 штаммы іріктеліп алынды.

Summary

As a result of the spent researches, the tentative estimation Kazakhstan isolates a fungi, shown high infections in the relation locusts has been spent. It is selected perspective isolates BVes₃-06, for creation on its basis new domestic microinsectecids.