

UČINKOVITOST SLOVENSКИH IZOLATOV ENTOMOPATOGENIH GLIV IZ RODOV *Beauveria* IN *Metarhizium* NA DVEH TESTNIH ORGANIZMIH

Katarina KOS¹, Tanja KOPINŠEK², Franci Aco CELAR³

¹⁻³Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

IZVLEČEK

V raziskavi smo preizkušali učinkovitost gliv iz rodov *Beauveria* in *Metarhizium*. Uporabili smo izolate gliv iz cele Slovenije, izoliranih iz tal z različno namensko rabo, na dveh testnih organizmih, gosenicah voščene vešče (*Galleria mellonella*) in ličinkah mokaarja (*Tenebrio molitor*). Po pričakovanjih je bila smrtnost večja pri bolj občutljivih ličinkah voščene vešče kot pri mokaarju. Največja smrtnost po 4. dnevu po inokulaciji ličink je bila pri voščeni vešči 75 % pri 3 izolatih, pri mokaarju pa le 45 % pri enem izolatu. Vrsta *Metarhizium guizhouense* je okuževala le ličinke voščene vešče, medtem ko so vse ličinke mokaarja preživele.

Ključne besede: entomopatogene glive, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium* sp., *Galleria mellonella*, *Tenebrio molitor*

474

ABSTRACT

THE EFFICACY OF SLOVENE ENTOMOPATHOGENIC FUNGI (*Beauveria* spp. AND *Metarhizium* spp.) ISOLATES ON TWO TEST ORGANISMS

The efficacy entomopathogenic fungi from two common genera *Beauveria* and *Metarhizium* was tested in our research. Isolates of the soil from different locations in Slovenia and with different usage were tested on larvae of the greater wax moth (*Galleria mellonella*) and of the mealworm (*Tenebrio molitor*). As expected, higher mortality was shown at more sensitive larvae of the greater wax moth than at the larvae of mealworm. The highest mortality after 4 days reached up to 75% mortality (3 isolates), meanwhile only 45% at mealworm (only one isolate). Entomopathogenic fungus *Metarhizium guizhouense* was successful infesting the larvae of the greater wax moth, but failed to infest the larvae of the mealworm.

Key words: entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium* sp., *Galleria mellonella*, *Tenebrio molitor*

¹ doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000, Ljubljana, e-pošta: katarina.kos@bf.uni-lj.si

² študentka

³ izr. prof., dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000, Ljubljana

1 UVOD

Biotični agensi na podlagi mikroorganizmov, kot so virusi, bakterije in glive, predstavljajo okolju prijazno alternativo kemičnim insekticidom (Chandler in sod., 2011, Lacey in sod., 2015). Entomopatogene glive so splošno razširjene v različnih tipih tal in različnih habitatih (Ibrahim in sod., 2016; Meyling in Eilenberg, 2006). Najpogosteje izolirane vrste v agroekosistemih so *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin, *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Luangsa-ard in sod. in *Isaria farinosa* (Holmsk.) Fr. Entomopatogena gliva *B. bassiana* je najbolj preučevana in najpogosteje uporabljena vrsta, ki se pojavlja v komercialno dostopnih biotičnih pripravkih, mikroinsekticidih, sledi pa ji vrsta *M. anisopliae*. Glede na generalistično naravo obeh gliv, je bila virulentnost obeh gliv preizkušena na različnih škodljivih organizmih, predvsem na žuželkah (*Galleria mellonella* L., *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier, A.G., *Eurygaster integriceps* Puton,...) pa tudi na pršicah (*Varroa destructor* (Anderson and Trueman)) (Rodriguez in sod. 2009).

V raziskavi smo želeli preizkusiti virulentnost slovenskih izolatov dveh najpogostejših in v biotičnem varstvu najbolj uporabljenih rodov entomopatogenih gliv. Poskuse smo izvedli na ličinkah voščene vešče, ki veljajo za izredno občutljive gostitelje in na ličinkah mokaarja, ki niso tako občutljivi in se pogosto uporabljajo v podobnih laboratorijskih poskusih.

475

2 MATERIALI IN METODE

V poskusu smo uporabili 14 izolatov 4 vrst entomopatogenih gliv (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *M. robertsii*, *M. guizhouense*). Izolate smo izolirali iz tal z različno rabo (njiva, travnik, vinograd, sadovnjak itd.) iz cele Slovenije. V poskusu smo ličinke mokaarja in voščene vešče inokulirali z glivami tako, da smo po 20 osebkov vsake vrste prelili z suspenzijo spor posamezne entomopatogene glive z dodatkom detergenta TWIN (0,1 %). Število spor v suspenziji se je gibalo od 2,4 do 12,73 spor/10 µl suspenzije. Inokulirane ličinke smo nato razporedili v 4 ponovitve po 5 osebkov. Dali smo jih v steklene petrijevke, katere smo zaprli s parafilmom. Le te smo nato dali v rastno komoro na optimalne razmere za ličinke, v temo na 25 °C. Ličinke smo nato opazovali prvi, drugi, tretji, četrti, osmi, deveti, deseti, enajsti in šestnajsti dan po inokulaciji. Vsak dan smo opazovali spremembe na ličinkah v posamezni petrijevki. Poleg okuženosti in smrtnosti smo opazovali tudi število bub in razvitih žuželk ter razlike med okuženimi ličinkami voščene vešče in ličinkami mokaarja. Slike 1 do 4 prikazujejo smrtnost ličink mokaarja po 16. dneh, saj v kontrolnem obravnavanju ni poginila nobena ličinka mokaarja in smrtnost ličink voščene vešče po 8. dneh, ko je bila v kontrolnem obravnavanju ugotovljena 15 % smrtnost.

Preglednica 1: V poskusu uporabljeni izolati entomopatogenih gliv (EPG) izolirani iz tal z različno rabo.

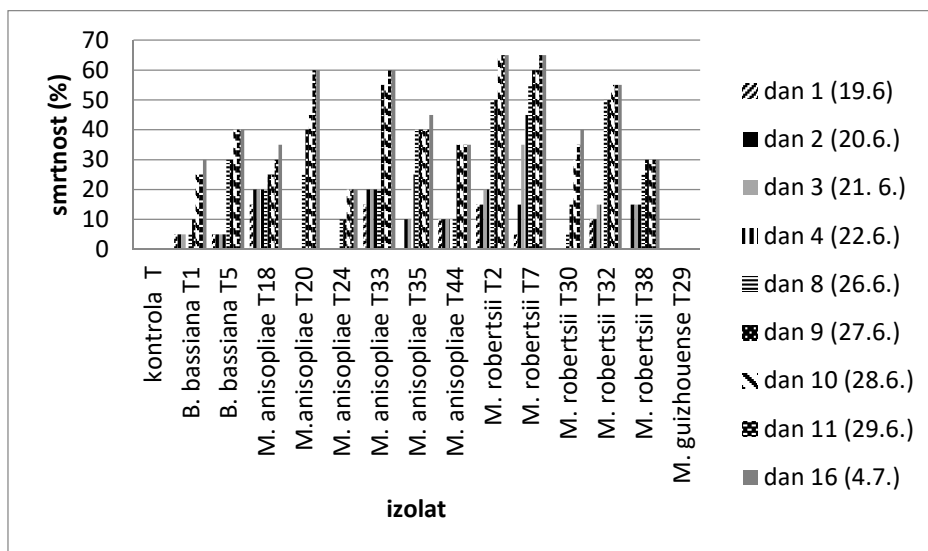
Vrsta in izolat EPG	Raba tal
<i>B. bassiana</i> T1	njiva (strune)
<i>B. bassiana</i> T5	koruzišče

<i>M. anisopliae</i> T18	travnik-ekstenziven
<i>M. anisopliae</i> T20	njiva
<i>M. anisopliae</i> T24	njiva
<i>M. anisopliae</i> T33	vinograd
<i>M. anisopliae</i> T35	matičnjak trte
<i>M. anisopliae</i> T44	sadovnjak
<i>M. robertsii</i> T2	njiva (strune)
<i>M. robertsii</i> T7	trta
<i>M. robertsii</i> T30	matičnjak trte
<i>M. robertsii</i> T32	ječmen
<i>M. robertsii</i> T38	njiva-koruza
<i>M. guizhouense</i> T29	vrt

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

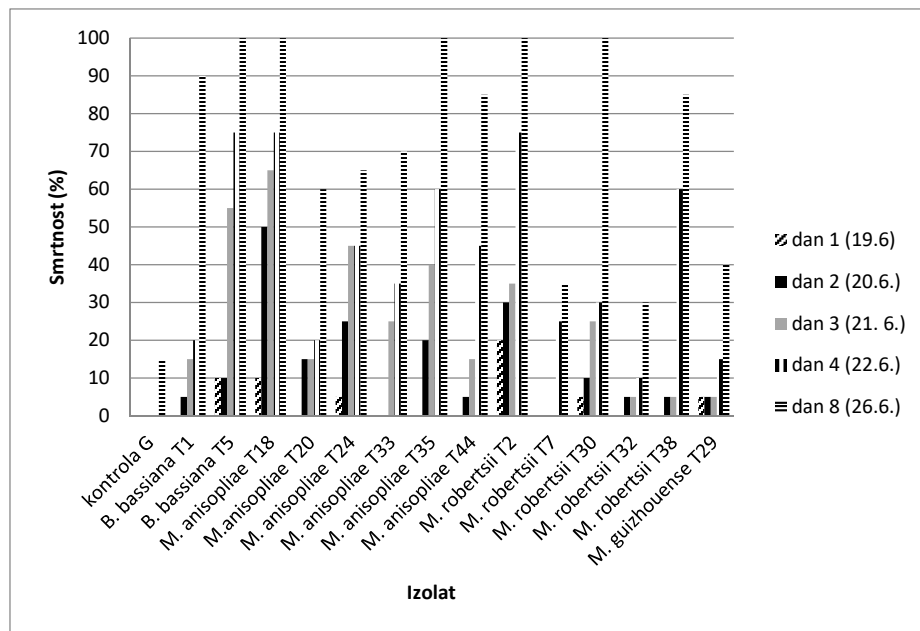
Zanimivo je, da je le izolat glive *M. robertsii* T2 (izoliran iz njivski tal v Bukovici, kjer so bile zastopane strune) povzročil veliko smrtnost pri obeh preučevanih žuželkah. Ostali izolati so delovali bodisi na ličinke voščene vešče bodisi na mokaerja, edino vrsta *M. guizhouense* ni imela nikakršnega učinka na ličinke mokaerja tudi po 16. dneh (slika 1).

476



Slika 1: Smrtnost ličink mokaerja po inokulaciji z izolati različnih entomopatogenih gliv po 16. dneh.

Največjo smrtnost mokarja po 10 dneh so povzročili izolati gliv *M. robertsii* T2 in T7 (65 %) ter *M. anisopliae* T20 in T33 (60 %), medtem ko je bila pri izolatih glive *B. bassiana* po 10. dneh ugotovljena največ 40 % smrtnost (slika 1). Pri kontrolnem obravnavanju in vrsti *M. guizhouense* so tudi po 16. dneh poskusa preživelii vsi osebki, medtem ko je pri voščeni vešči 8. dan po obravnavanju poginilo 15 % osebkov v kontrolnem obravnavanju.

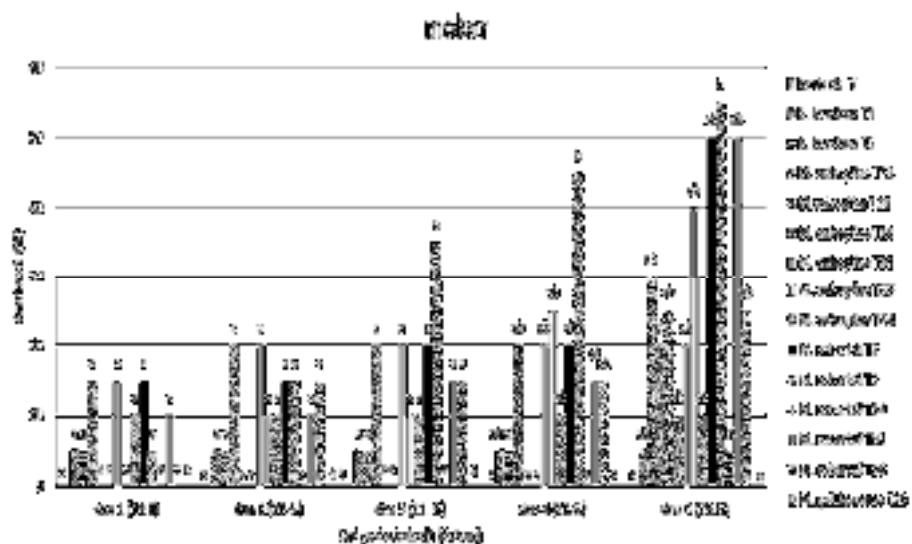


Slika 2: Smrtnost ličink voščene vešče inokuliranih z izolati različnih entomopatogenih gliv po 8. dneh.

Ličinke voščene vešče so bile veliko bolj občutljive za okužbo z entomopatogenimi glivami (slika 2). Pri izolatu T2 (*M. robertsii*) je bila smrtnost že 1. dan po okužbi 20 %, 8. dan po okužbi pa že 100 %. Vse ličinke so poginile po 8. dneh tudi pri izolatih T5 (*B. bassiana*), T18 in T35 (*M. anisopliae*), ter T30 (*M. robertsii*).

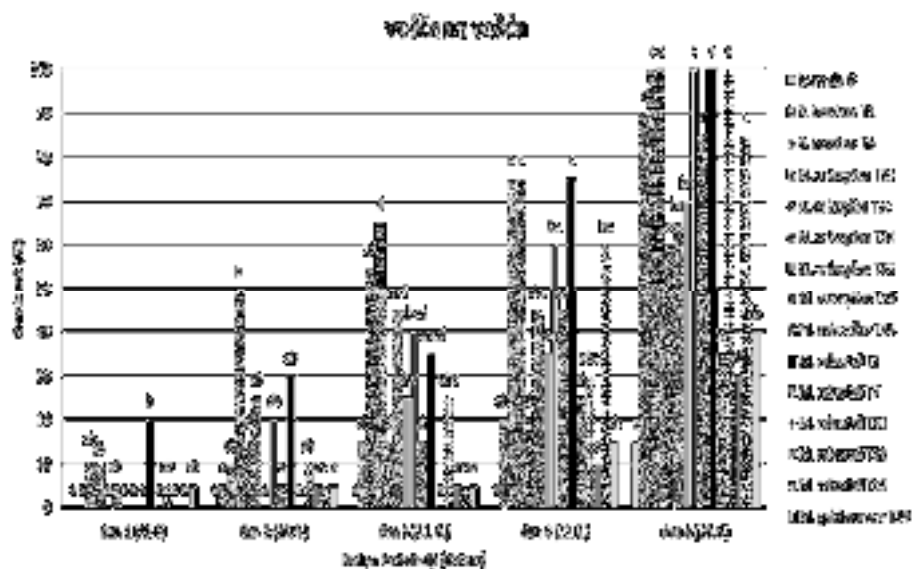
Pri mokarju smrtnost ličink dan po inokulaciji pri nobenem izolatu ni dosegla 20 %, potem pa se je v naslednjih dneh pri določenih izolatih le počasi večala in po 8. dneh preseгла 50 % le pri treh izolatih glive *M. robertsii* (T7, T2 in T32), statistično značilno razlika pa smo potrdili le pri izolatu T7.

Smrtnost ličink voščene vešče pa je bila prvi dan po inokulaciji pri večini izolatov zelo majhna ali nična, drugi dan pa je pri izolatu T18 poskočila že na 50 %, četrti dan pa je preseгла 70 % že pri treh izolatih (T5, T18 in T2). 100 % smrtnost po 8. dneh smo ugotovili pri 5 izolatih (T5, T18, T35, T2 in T30) treh vrst entomopatogenov *B. bassiana*, *M. anisopliae* in *M. robertsii*.



Slika 3: Smrtnost ličink mokarja po inokulaciji z izolati različnih gliv po posameznih dnevih.

478



Slika 4: Smrtnost ličink voščene vešče po inokulaciji z izolati različnih gliv po posameznih dnevih.

Vrsta *B. bassiana* (izolat T5) pri mokarju ni povzročila niti 50 % smrtnosti po 16. dneh, medtem ko je pri bolj občutljivem gostitelju (voščeni vešči) dosegla 90-100 % smrtnost že po 8. dneh, kar sovpada s podatki o dovzetnosti gosenic za okužbo s to glivo pri drugih raziskovalcih (Ibrahim in sod., 2016; Oreste in sod., 2012). Oreste in sod. (2012) so ugotovili, da smrtnost ličink mokarja pri izolatih glive *B. bassiana* variira od 30 do 100 %, medtem ko so preučevani izolati glive *M. anisopliae* dosegali nad 80 % smrtnost. Zanimivo je, da najbolj učinkovit izolat pri mokarju (*M. robertsii* -T7) ni bil učinkovit pri voščeni vešči in je dosegel le 35 % smrtnost.

5 SKLEPI

Virulentnost variira glede na vrsto glive in tudi med izolati posameznih vrst entomopatogenih gliv ne glede na rabo tal, iz katerih je bila gliva izolirana. Potencialno zanimivi za nadaljnje preučevanje bi bili poleg izolatov *M. robertsii* (T7, T2) in *B. bassiana* (T5) tudi nekateri izolati vrste *M. anisopliae* (T33 in T35).

5 ZAHVALA

Raziskava je opravljena v okviru programa strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin, ki ga financira UVHVVR.

6 VIRI

- Chandler D1, Bailey AS, Tatchell GM, Davidson G, Greaves J, Grant WP. 2011. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2011 Jul 12;366(1573):1987-98
- Gindin, G., Levski, S., Glazer, I., Soroker, V., 2006. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus*. *Phytoparasitica* 34: 370-379.
- Ibrahim, A.A., Mohamed H., El-Naggar S.E.M., Swelim M.A., Elkhawaga. 2016. Isolation and Selection of Entomopathogenic Fungi as Biocontrol Agent against the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *Egyptian journal of pest control* 26 (2): 249-253.
- Kivan, M. 2007. Pathogenicity of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var *anisoplia* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scutelleridae). *Entomologia Generalis*, 30 (1): 63-69.
- Lacey L.A., Grzywacz D., Shapiro-Ilan D.I., Frutos R., Brownbridge M., Goettel M.S. 2015. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. *J Invertebr Pathol.* 132:1-41
- Oreste M., Bubici G., Poliseo M., Triggiani O., Tarasco E. 2012. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin against *Galleria mellonella* L. and *Tenebrio molitor* L. in laboratory assays. *Redia* 95: 43-48
- Meyling, N. V. and Eilenberg, J. 2006. Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic agroecosystem. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 113, 336-341.
- Rodriguez, M.; Gerding, M., France, A. 2009. Selection of Entomopathogenic Fungi to Control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Chilean J. Agric. Res.* 69,(4): 534-540