

Received: 01.04.2016 / Accepted: 27.06.2016

The effect of selected pesticides approved for use in organic farming on the growth of entomopathogenic fungi

Wpływ wybranych środków ochrony roślin dopuszczonych do stosowania w uprawach ekologicznych na wzrost grzybów owadobójczych

Cezary Tkaczuk*, Anna Majchrowska-Safaryan, Bożena Głuszczyk

Summary

The aim of the study was to evaluate the impact of selected plant protection products permitted to use in organic farming on the growth of entomopathogenic fungi *in vitro*. Based on the survey, it was found that the impact of tested plant protection products varied and depended on the product type, a concentration in the culture medium and fungal species. The fungicides Timorex Gold 24 EC and Miedzian 50 WP, added to the culture medium at the recommended field dose, most strongly inhibited the growth of the tested entomopathogenic fungi. Fungicide Siarkol Extra 80 WP slightly limited the growth of fungal colonies, and at lower concentrations showed even a stimulating effect. Based on spinosad, insecticide SpinTor 240 SC, applied at the recommended field dose showed low toxicity in relation to the studied fungal species. Its inhibitory effect was weaker than fungicides used in the experiment. *Isaria fumosorosea* was the most resistant fungus to the presence of the tested plant protection products in the culture medium, while the least was *Beauveria bassiana*.

Key words: organic farming; entomopathogenic fungi; fungicides; insecticides; colony growth

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu wybranych środków ochrony roślin, dopuszczonych do stosowania w uprawach ekologicznych, na wzrost grzybów owadobójczych w warunkach *in vitro*. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż wpływ testowanych w doświadczeniu środków ochrony roślin był zróżnicowany i zależał od rodzaju zastosowanego preparatu, jego stężenia w podłożu hodowlanym oraz gatunku grzyba. Testowane w doświadczeniu fungicydy Timorex Gold 24 EC oraz Miedzian 50 WP, dodane do podłoża hodowlanego w zalecanej dawce polowej, najsilniej hamowały wzrost badanych grzybów owadobójczych. Fungicyd Siarkol Extra 80 WP w nieznacznym stopniu wpłynął na ograniczenie wzrostu kolonii testowanych grzybów, a w niższych stężeniach, preparat ten wykazał działanie stymulujące. Oparty na spinosadzie insektycyd SpinTor 240 SC w zalecanej dawce polowej wykazał mało toksyczne działanie w stosunku do badanych gatunków grzybów. Jego działanie inhibicyjne było słabsze, niż zastosowanych w doświadczeniu fungicydów. Największą odpornością na obecność badanych środków ochrony roślin w podłożu hodowlanym odznaczał się grzyb *Isaria fumosorosea*, natomiast najmniejszą *Beauveria bassiana*.

Słowa kluczowe: rolnictwo ekologiczne; grzyby owadobójcze; fungicydy; insektycydy; wzrost kolonii

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach
Zakład Ochrony i Hodowli Roślin
Prusa 14, 08-110 Siedlce

*corresponding author: tkaczuk@uph.edu.pl

Wstęp / Introduction

Rolnictwo ekologiczne jest systemem produkcji rolnej, które w ostatnich latach wykazuje dynamiczny rozwój. Głównym założeniem ochrony roślin w tym systemie jest ograniczenie występowania organizmów szkodliwych poprzez wykorzystanie wszystkich metod niechemicznych, opierających się na wiedzy o organizmach, określeniu optymalnych terminów dla podejmowania działań zwalczających te organizmy, a także tworzeniu odpowiednich warunków do rozwoju naturalnych wrogów szkodników (Stachowicz i Pomykała 2008). W szczególnych warunkach zezwala się jednak na zastosowanie zabiegów interwencyjnych przy użyciu naturalnych środków ochrony roślin (Bryk 2007).

Jedną z grup pożytecznych mikroorganizmów, które mogą być wykorzystywane do ochrony upraw ekologicznych przed szkodnikami są grzyby entomopatogeniczne (Karg i Bałazy 2009). Pełnią one istotną rolę w procesach biocenotycznej regulacji populacji wielu gatunków owadów i roztoczy. Grzyby te należą do grupy mikroorganizmów, które licznie zasiedlają środowisko glebowe i wywołują w nich naturalne mikozyzy stawonogów (Tkaczuk 2008; Sosnowska 2013; Tkaczuk i wsp. 2013, 2014). Występowanie oraz aktywność biologiczna grzybów owadobójczych uzależniona jest od wielu czynników związanych z procesami zachodzącymi w środowisku glebowym, m.in.: rodzaju gleby, temperatury, wilgotności, pory roku, dostępności gospodarzy, struktury oraz sposobu użytkowania (Vänninen i wsp. 2000; Krysa i wsp. 2012; Tkaczuk i wsp. 2012, 2013, 2014, 2016).

Biopreparaty produkowane na bazie grzybów owadobójczych znajdują zastosowanie głównie w ochronie upraw pod osłonami, na łakach podlegających użytkowaniu wypasowemu oraz w ogrodnictwie i sadownictwie (Goettel i wsp. 1995; Bałazy 2004; Sosnowska 2013). Mikoinsektycydy w porównaniu do preparatów chemicznych odznaczają się wolniejszym działaniem, jednak należy podkreślić, iż ich skuteczność w ograniczaniu liczebności szkodników ma miejsce nie tylko w momencie zastosowania preparatu, ale przenoszona jest także na następne generacje (Bajan i Kmitowa 1972). Obecnie ponad 100 gatunków grzybów z tej grupy stanowi przedmiot badań ukierunkowanych na ich wykorzystanie do ograniczania liczebności szkodliwych stawonogów, a szczepy około 30 gatunków stanowią czynniki aktywne bioinsektycydów produkowanych na świecie na skalę komercyjną, gdzie najszersze zastosowanie mają wirulentne izolaty anamorf workowców (*Ascomycota*, *Hypocreales*) z rodzajów: *Beauveria*, *Isaria*, *Lecanicillium* czy *Hirsutella* (Bałazy 2006; Faria i Wraight 2007; Malinowski 2009; Sosnowska 2013).

Grupa preparatów pochodzenia biologicznego coraz częściej w Polsce i Europie znajduje zastosowanie nie tylko w ekologicznej, ale także integrowanej ochronie roślin, co związane jest z wejściem w życie Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/128/WE (Dyrektywa 2009), w którym stwierdza się, że w integrowanej ochronie roślin priorytetowo należy traktować niechemiczne oraz naturalne rozwiązania alternatywne (Tomalak 2010).

Doniesienia wielu autorów (Vänninen i Hokkanen 1988; Miętkiewski i wsp. 1997; Tkaczuk 2008; Fiedler i Sosnowska 2011) wskazują, że substancje chemiczne zawarte w środkach ochrony roślin, mogą oddziaływać na naturalne występowanie, zarodnikowanie, wzrost kolonii oraz potencjał infekcyjny grzybów owadobójczych. Istnieje zatem potrzeba poznania zależności między procesami życiowymi tych mikroorganizmów a substancjami czynnymi środków ochrony roślin stosowanymi w rolnictwie i ogrodnictwie. Dotyczy to również środków dopuszczonych do stosowania w rolnictwie ekologicznym.

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu wybranych środków ochrony roślin, stosowanych w uprawach ekologicznych, na wzrost trzech gatunków grzybów owadobójczych w warunkach *in vitro*.

Materiały i metody / Materials and methods

W warunkach laboratoryjnych zbadano wpływ trzech fungicydów: Siarkol Extra 80 WP (substancja czynna – s.c.z. siarka), Miedzian 50 WP (s.c.z. tlenochlorek miedzi), Timorex Gold 24 EC (zawierający wyciąg z drzewa herbacianego) oraz jednego insektycydu SpinTor 240 SC (s.c.z. spinosyn A i D) na wzrost kolonii trzech gatunków grzybów entomopatogenicznych: *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* i *Lecanicillium lecanii*. Izolaty badanych grzybów zostały oznaczone do gatunku na podstawie cech morfologicznych (Goettel i Ingelis 1997) i pochodziły z kolekcji Zakładu Ochrony i Hodowli Roślin Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach, a ich charakterystykę zamieszczono w tabeli 1.

W trakcie doświadczenia izolaty grzybów hodowano na podłożu Sabourauda z dodatkiem wyżej wymienionych środków ochrony roślin. Fungicydy dodawano do podłoża w trzech dawkach: A – zalecanej dawce połowej, B – dawce 10-krotnie niższej od zalecanej, C – dawce 100-krotnie niższej od zalecanej dawki połowej. Insektycyd SpinTor 240 SC dodawano do pożywki w stężeniu 10-krotnie wyższym od zalecanej dawki połowej (A), zalecanej dawce połowej (B) oraz dawce 10-krotnie niższej od dawki połowej (C).

Tabela 1. Charakterystyka izolatów grzybów wykorzystanych w doświadczeniu

Table 1. Characteristics of fungal isolates used in the experiment

Gatunek grzyba – Fungal species	Pochodzenie grzyba – The origin of the fungus
<i>Beauveria bassiana</i>	izolat pochodził z biopreparatu komercyjnego – Naturalis isolate originated from commercial biopreparate – Naturalis
<i>Isaria fumosorosea</i>	wyzolowany z gleby uprawnej za pomocą larw barciaka większego (<i>Galleria mellonella</i>) isolated from arable soil by means of greater wax moth (<i>Galleria mellonella</i>)
<i>Lecanicillium lecanii</i>	wyzolowany z mszycy maliniaki (<i>Amphorophora rubi</i>) isolated from the large blackberry aphid (<i>Amphorophora rubi</i>)

Środki ochrony roślin w odpowiednich stężeniach dodawano do schłodzonego do temperatury 50°C podłoża hodowlanego. Kontrolę stanowiły kultury grzybów rosnące na pożywce bez dodatku środków ochrony roślin. Podłoża inokulowano po 24 godzinach fragmentami grzybnii pochodzącymi z 2-tygodniowych kultur. Po inokulacji podłoża, szalki Petriego umieszczono w inkubatorach, w temperaturze około 22°C. Każdą kombinację wykonano w czterech powtórzeniach, a obserwację wzrostu kolonii prowadzono w odstępach 5-dniowych, aż do dwudziestego dnia, mierząc średnicę kolonii. Wyniki przedstawiono jako wielkość średnicy kolonii wyrażoną w milimetrach w stosunku do kontroli.

Na podstawie uzyskanych wyników obliczono odchylenie standardowe. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie wykorzystując analizę wariancji dla doświadczenia trzyczynnikowego, gdzie czynnikami dla badanych fungicydów były: a – rodzaj zastosowanego preparatu, b – dawka zastosowanego preparatu, c – termin obserwacji; dla insektycydu SpinTor 240 SC: a – gatunek grzyba, b – dawka zastosowanego preparatu, c – termin obserwacji. O istotności wpływu czynników doświadczalnych na wartość badanych cech wnioskowano na podstawie testu Fishera-Snedecora, a wartość NIR przy $p = 0,05$ wyliczono testem Tukeya. Do obliczeń wykorzystano program Analwar-5FR. Dla 20. dnia obserwacji wzrostu kolonii badanych grzybów przeprowadzono analizę grup jednorodnych dla doświadczenia jednoczynnikowego przy wartości $\alpha = 0,05$ testem Tukeya, wykorzystując program STATISTICA v. 12.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Grzyby pasożytnicze stanowią jedną z większych i najlepiej dotychczas rozpoznanych grup mikroorganizmów

powodujących choroby infekcyjne owadów i pajęczaków. Od ponad 150 lat trwają próby ich wykorzystania do biologicznego zwalczania ważnych dla gospodarki rolnej i leśnej szkodników. Bardzo istotną rolę w poznaniu mechanizmów działania grzybów odgrywają badania nad interakcjami zachodzącymi w układzie: pasożyt-żywiciel-środowisko, pasożyt-entomofagi, pasożyt-środek ochrony roślin, itd. Poznanie tych zależności pomaga w opracowaniu metod skutecznego stosowania grzybów owadobójczych w ochronie roślin (Sosnowska 2013).

Przeprowadzone badania wykazały, iż wpływ testowanych w doświadczeniu środków ochrony roślin na grzyby entomopatogeniczne był zróżnicowany i uzależniony od rodzaju zastosowanego preparatu, jego stężenia w podłożu hodowlanym i gatunku badanego grzyba oraz terminu obserwacji.

Z dotychczas przeprowadzonych w warunkach *in vitro* badań wynika, że poszczególne gatunki grzybów, a niekiedy nawet poszczególne szczepy w obrębie danego gatunku, charakteryzują się zróżnicowaną wrażliwością na środki ochrony roślin (Vänninen i Hokkanen 1988; Bajan i Kmitowa 1997; Sapięha-Waszkiewicz i wsp. 2010; Tkaczuk 2008; Tkaczuk i wsp. 2012).

Testowane w doświadczeniu fungicydy Timorex Gold 24 EC i Miedzian 50 WP dodane do podłoża hodowlanego w zalecanej dawce połowej silnie ograniczały wzrost kolonii grzyba *B. bassiana* (tab. 2). W 20. dniu obserwacji kolonie grzyba rozwijające się na podłożach z tymi fungicydami w dawce A, osiągnęły odpowiednio wielkość 6,3 oraz 15,7 mm, podczas gdy w kombinacji kontrolnej ich średnica wynosiła 42,3 mm. Timorex Gold 24 EC i Miedzian 50 WP w niższych dawkach (dawka B i C) w niewielkim stopniu ograniczały wzrost kolonii *B. bassiana*.

Tabela 2. Wielkość kolonii grzyba *Beauveria bassiana* na pożywkach z dodatkiem badanych fungicydów [wyrażona w mm]
Table 2. *Beauveria bassiana* colony size on media supplemented with investigated fungicides [expressed in mm]

Nazwa fungicydu Fungicide	Dawka Dose	Dni obserwacji – Days of observation			
		5	10	15	20
Timorex Gold 24 EC	A	b.w.	b.w.	b.w.	*6,3±0,6
	B	9,5±0,57	20,5±1,73	29,3±1,15	*38,7±0,6
	C	7,4±0,94	18,0±1,00	27,7±1,52	*37,5±0,7
Miedzian 50 WP	A	b.w.	s.w.	10,0±2,00	*15,7±0,6
	B	8,8±0,82	21,5±1,29	31,5±2,08	39,5±0,6
	C	9,1±0,62	18,5±1,91	28,0±2,94	41,5±0,7
Siarkol Extra 80 WP	A	9,5±0,57	22,0±0,00	32,5±2,12	44,0±0,0
	B	7,6±0,94	19,3±1,25	31,5±1,29	44,0±1,7
	C	7,8±0,95	18,0±1,41	28,0±0,00	*37,0±0,0
Kontrola – Control		8,0±0,00	19,4±1,49	31,3±2,06	42,3±2,0

NIR (0,05) dla: – LSD (0.05) for:

a (rodzaj fungicydu – type of fungicide) – 0,774

b (dawka fungicydu – dose of fungicide) – 0,774

c (termin obserwacji – time of observation) – 0,983

A – zalecana dawka połowa – recommended dose, B – dawka 10-krotnie niższa od zalecanej – dose 10 times lower than recommended, C – dawka 100-krotnie niższa od zalecanej – dose 100 times lower than recommended, ± – odchylenie standardowe – standard deviation, b.w. – brak wzrostu – no growth, s.w. – ślady wzrostu – sinus of growth, *istotność $\alpha = 0,05$ w stosunku do kontroli – significance of $\alpha = 0.05$ compared to the control

Bajan i wsp. (1992) podają, iż fungicydy zawierające związki miedzi charakteryzują się silnym oddziaływaniem fungistatycznym w stosunku do szczepów *B. bassiana* oraz *L. lecanii*. Z kolei Miętkiewski i Sapięha-Waszkiewicz (1995) stwierdzili, że zastosowany przez nich w doświadczeniu Miedzian 50 WP w niewielkim stopniu ograniczał rozwój grzybów owadobójczych, jedynie w dawce zalecanej uniemożliwił wzrost *Metarhizium flavoviride*.

Na pożywkach z zalecaną dawką połową fungicydu Siarkol Extra 80 WP w 20. dniu obserwacji kolonie grzyba osiągnęły wielkość wynoszącą 44,0 mm, czyli większą niż w kombinacji kontrolnej. Stymulację wzrostu kolonii *B. bassiana* zaobserwowano również w przypadku koncentracji Siarkolu Extra 80 WP w podłożu odpowiadającej dawce 10-krotnie niższej od zalecanej dawki połowej. Z pracy Machowicz-Stefaniak (1980) wynika, iż Siarkol Extra 80 WP był preparatem silnie stymulującym wzrost grzybów *B. bassiana*, *Metarhizium anisopliae* i *L. lecanii*.

Timorex Gold 24 EC w zalecanej dawce połowej (A) najsilniej ograniczał wzrost kolonii grzyba *I. fumosorosea* spośród wszystkich badanych fungicydów (tab. 3). Po 5. dniu obserwacji odnotowano całkowity brak wzrostu kolonii badanego grzyba, a po 10. dniu tylko ślady wzrostu. W 20. dniu hodowli kolonie grzyba osiągnęły wielkość zaledwie 14,3 mm, czyli o 74,3% mniejszą niż w kontroli. Środek ten zarówno w stężeniu (B), jak i (C) nie wykazywał działania toksycznego w stosunku do grzyba *I. fumosorosea*, a wręcz stymulował jego wzrost. Fungicyd Miedzian 50 WP w żadnej z zastosowanych dawek nie wpływał w istotny sposób na ograniczenie wzrostu kolonii *I. fumosorosea* w porównaniu z kontrolą. Po dodaniu tego fungicydu do podłoża hodowlanego w koncentracji 10- i 100-krotnie niższej od zalecanej dawki połowej obserwowano wręcz stymulację wzrostu kolonii tego grzyba. W przypadku fungicydu Siarkol

Extra 80 WP, we wszystkich zastosowanych stężeniach (A, B i C) kolonie grzyba po 20. dniu obserwacji przekroczyły rozmiary kolonii kontrolnych, a ich wielkości wynosiły odpowiednio 70,0, 69,3 i 68,0 mm.

Podobnie, jak w przypadku pozostałych grzybów, fungicyd Timorex Gold 24 EC w zalecanej dawce połowej (A) najsilniej hamował wzrost kolonii grzyba *L. lecanii* (tab. 4). W 20. dniu hodowli kolonie grzyba osiągnęły wielkość 13,0 mm, podczas gdy w kontroli 51,2 mm. W stężeniu (B) i (C) preparat Timorex Gold 24 EC wykazał się niewielką toksycznością względem badanego grzyba, ponieważ jego kolonie w 20. dniu obserwacji osiągnęły średnicę odpowiednio 46,5 i 49,5 mm. Drugim fungicydem, który zastosowany w zalecanej dawce połowej w istotny sposób hamował wzrost kolonii grzyba *L. lecanii*, był preparat Miedzian 50 WP. Kolonie grzyba na pożywkach z tym preparatem w dawce A w 20. dniu hodowli osiągnęły 36,8 mm, czyli 71,8% wielkości kultur kontrolnych. W pozostałych dawkach fungicyd Miedzian 50 WP wykazywał znacznie mniejszą toksyczność w stosunku do badanego grzyba.

Spośród wszystkich testowanych entomopatogenów to grzyb *L. lecanii* okazał się najbardziej wrażliwy na obecność w podłożu hodowlanym fungicydu Siarkol Extra 80 WP. Nie zaobserwowano stymulacji wzrostu. Na pożywkach z tym preparatem kolonie *L. lecanii* we wszystkich zastosowanych stężeniach w 20. dniu obserwacji osiągnęły zbliżone rozmiary, które były istotnie mniejsze od wariantu kontrolnego (tab. 4).

Insektycyd SpinTor 240 SC, oparty na spinosadzie, jest produktem fermentacji bakteryjnej bakterii *Saccharopolyspora spinosa* (Actinomycetes) należących do promieniowców. Wykazuje on działanie wgłębne na roślinach, jako substancja owadobójcza działa kontaktowo i przede wszystkim żołądkowo (Tkaczuk i wsp. 2013). Testowany

Tabela 3. Wielkość kolonii grzyba *Isaria fumosorosea* na pożywkach z dodatkiem badanych fungicydów [wyrażona w mm]
Table 3. *Isaria fumosorosea* colony size on media supplemented with investigated fungicides [expressed in mm]

Nazwa fungicydu Fungicide	Dawka Dose	Dni obserwacji – Days of observation			
		5	10	15	20
Timorex Gold 24 EC	A	b.w.	s.w.	8,3±0,50	*14,3±0,5
	B	14,5±0,57	32,9±0,25	48,2±1,75	60,0±0,0
	C	18,3±1,15	38,8±1,89	55,5±2,12	*70,0±0,0
Miedzian 50 WP	A	13,5±3,69	27,8±8,53	41,0±11,83	50,0±9,6
	B	17,9±0,25	36,3±2,06	54,0±1,00	66,3±1,1
	C	18,9±1,03	35,3±0,57	53,5±0,70	59,0±0,0
Siarkol Extra 80 WP	A	17,9±0,85	37,0±0,81	55,7±2,30	*70,0±0,0
	B	18,1±0,85	38,5±0,57	55,3±0,50	*69,3±1,2
	C	18,5±1,08	36,8±2,06	55,5±0,70	*68,0±0,0
Kontrola – Control		18,8±0,50	36,3±0,95	51,0±0,81	55,5±4,2

NIR (0,05) dla: – LSD (0.05) for:

a (rodzaj fungicydu – type of fungicide) – 0,925

b (dawka fungicydu – dose of fungicide) – 0,925

c (termin obserwacji – time of observation) – 1,174

A – zalecana dawka połowa – recommended dose, B – dawka 10-krotnie niższa od zalecanej – dose 10 times lower than recommended, C – dawka 100-krotnie niższa od zalecanej – dose 100 times lower than recommended, ± – odchylenie standardowe – standard deviation, b.w. – brak wzrostu – no growth, s.w. – ślady wzrostu – sinus of growth, *istotność $\alpha = 0,05$ w stosunku do kontroli – significance of $\alpha = 0.05$ compared to the control

Tabela 4. Wielkość kolonii grzyba *Lecanicillium lecanii* na pożywkach z dodatkiem badanych fungicydów [wyrażona w mm]
 Table 4. *Lecanicillium lecanii* colony size on media supplemented with investigated fungicides [expressed in mm]

Nazwa fungicydu Fungicide	Dawka Dose	Dni obserwacji – Days of observation			
		5	10	15	20
Timorex Gold 24 EC	A	b.w.	5,3±0,57	9,0±2,64	*13,0±4,7
	B	11,0±0,40	24,0±1,41	35,3±0,94	46,5±1,3
	C	13,5±0,57	25,5±0,57	37,3±0,95	49,5±1,7
Miedzian 50 WP	A	5,8±1,04	14,0±1,73	24,8±0,76	*36,8±1,3
	B	13,4±1,10	25,0±1,41	35,9±1,65	*45,8±1,5
	C	13,0±0,81	25,8±2,21	38,0±1,63	*50,3±1,5
Siarkol Extra 80 WP	A	11,4±0,47	23,8±1,50	32,0±0,81	*41,8±2,2
	B	11,8±0,86	21,8±0,95	32,3±0,50	*42,3±0,5
	C	12,5±0,57	24,0±1,41	35,0±1,41	*45,0±0,0
Kontrola – Control		14,3±0,51	27,3±1,03	40,0±0,89	51,2±1,0

NIR (0,05) dla: – LSD (0.05) for:

a (rodzaj fungicydu – type of fungicide) – 0,919

b (dawka fungicydu – dose of fungicide) – 0,919

c (termin obserwacji – time of observation) – 1,166

A – zalecana dawka połowa – recommended dose, B – dawka 10-krotnie niższa od zalecanej – dose 10 times lower than recommended, C – dawka 100-krotnie niższa od zalecanej – dose 100 times lower than recommended, ± – odchylenie standardowe – standard deviation, b.w. – brak wzrostu – no growth, *istotność $\alpha = 0,05$ w stosunku do kontroli – significance of $\alpha = 0.05$ compared to the control

Tabela 5. Wielkość kolonii grzyba *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea*, *Lecanicillium lecanii* na pożywkach z dodatkiem insektycydu SpinTor 240 SC [wyrażona w mm]

Table 5. *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea*, *Lecanicillium lecanii* colony size on media supplemented with insecticide SpinTor 240 SC [expressed in mm]

Gatunek grzyba Species of fungus	Dawka Dose	Dni obserwacji – Days of observation			
		5	10	15	20
<i>Beauveria bassiana</i>	A	7,5±0,40	16,5±0,57	26,5±1,00	*34,3±0,9
	B	7,1±1,03	17,5±1,29	30,0±1,41	39,3±1,5
	C	9,3±0,95	20,3±2,51	33,0±1,00	43,0±1,0
Kontrola – Control		8,0±0,00	19,4±1,49	31,3±2,06	42,3±2,0
<i>Isaria fumosorosea</i>	A	17,1±0,25	34,8±2,75	50,5±0,70	*63,5±2,1
	B	17,9±0,85	35,3±0,57	50,5±0,70	61,0±0,0
	C	18,8±1,04	38,3±0,57	54,0±2,64	*70,0±0,0
Kontrola – Control		18,8±0,50	36,3±0,95	51,0±0,81	55,5±4,2
<i>Lecanicillium lecanii</i>	A	10,6±0,47	20,8±1,25	30,8±0,95	*39,5±0,6
	B	11,9±0,25	23,0±1,63	35,3±1,25	*45,8±1,5
	C	14,5±0,57	26,3±0,95	39,8±1,25	49,8±1,0
Kontrola – Control		14,3±0,51	27,3±1,03	40,0±0,89	51,2±1,0

NIR (0,05) dla: – LSD (0.05) for:

a (gatunek grzyba – species of fungus) – 0,683

b (dawka insektycydu – dose of fungicide) – 0,683

c (termin obserwacji – time of observation) – 0,867

A – dawka 10-krotnie wyższa – dose 10 times higher than recommended, B – zalecana dawka połowa – recommended dose, C – dawka 10-krotnie niższa – dose 10 times lower than recommended, ± – odchylenie standardowe – standard deviation, *istotność $\alpha = 0,05$ w stosunku do kontroli – significance of $\alpha = 0.05$ compared to the control

w doświadczeniu insektycyd SpinTor 240 SC jedynie w koncentracji 10-krotnie wyższej od zalecanej dawki połowej w istotny sposób ograniczał wzrost kolonii grzyba *B. bassiana* (tab. 5). W przypadku grzyba *I. fumosorosea* we wszystkich zastosowanych stężeniach odnotowano działanie stymulujące preparatu SpinTor 240 SC na wzrost

jego kolonii w 20. dniu w porównaniu z kontrolą. Jak wykazał w swoich badaniach Tkaczuk (2008) owadobójczy grzyb *I. fumosorosea* był najbardziej odporny na działanie syntetycznych środków ochrony roślin – spośród badanych czterech gatunków grzybów entomopatogenicznych. Fakt ten pozwala zakładać, że może on być dobrym

kandydatem do łącznego stosowania z pestycydami w integrowanych programach ochrony roślin (IPM – integrated pest management), w których dąży się do minimalizacji niekorzystnych efektów ubocznych zastosowanych agrochemikaliów (Sapiecha-Waszkiewicz i wsp. 2005; Kowalska i Drożdżyński 2009). Przeprowadzone badania również wykazały, że grzyb *I. fumosorosea* był stosunkowo najmniej wrażliwy na testowane środki ochrony roślin, co potwierdza jego przydatność do stosowania zarówno w ekologicznych, jak i integrowanych systemach ochrony roślin.

SpinTor 240 SC dodany do podłoża hodowlanego w zalecanej dawce polowej (B) i 10-krotnie wyższej (A), ograniczał wzrost kolonii grzyba *L. lecanii* odpowiednio o 10,6 i 22,9% w porównaniu z kontrolą. Insektycyd SpinTor 240 SC najslabiej, spośród testowanych w doświadczeniu środków ochrony roślin, hamował wzrost kolonii badanych grzybów owadobójczych. Tkaczuk i wsp. (2013) badając wpływ spinosadu na wzrost grzybów entomopatogenicznych w warunkach *in vitro* stwierdzili, iż w 20. dniu hodowli kolonie grzyba *Lecanicillium* sp. rosnące na podłożach z dodatkiem insektycydu SpinTor 240 SC w stężeniu 10-krotnie wyższym od zalecanej dawki polowej (A) były mniejsze od kultur kontrolnych jedynie o 10–15%. Świadczy to o niskiej toksyczności preparatu w stosunku do *Lecanicillium*. Jest to istotna informacja dla praktyki ochrony roślin, gdyż grzyby z tego rodzaju są bardzo często stosowane w formie biopestycydów (preparaty Mycotal i Vertalec) do zwalczania licznej grupy szkodników, takich jak: mszyce, wciornastki,

czy mączliki szczególnie w uprawach pod osłonami (Sierpińska i wsp. 2012; Sosnowska 2013).

Wnioski / Conclusions

1. Wpływ testowanych w doświadczeniu laboratoryjnym środków ochrony roślin dopuszczonych do stosowania w rolnictwie ekologicznym na wzrost kolonii badanych gatunków grzybów entomopatogenicznych uzależniony był od rodzaju zastosowanego preparatu, jego stężenia w podłożu hodowlanym oraz gatunku grzyba.
2. Spośród testowanych w doświadczeniu fungicydów Timorex Gold 24 EC oraz Miedzian 50 WP dodane do podłoża hodowlanego w zalecanej dawce polowej w największym stopniu ograniczały wzrost kolonii badanych grzybów owadobójczych. Fungicyd Siarkol Extra 80 WP w nieznacznym stopniu wpłynął na ograniczenie wzrostu kolonii testowanych grzybów, a w niższych stężeniach, preparat ten wykazał działanie stymulujące.
3. Testowany w doświadczeniu insektycyd SpinTor 240 SC wykazywał mało toksyczne działanie w stosunku do badanych gatunków grzybów entomopatogenicznych. Jego działanie inhibicyjne było słabsze niż zastosowanych w doświadczeniu fungicydów.
4. Największą odpornością na obecność badanych środków ochrony roślin w podłożu hodowlanym odznaczał się grzyb *I. fumosorosea*, natomiast najmniejszą *B. bassiana*.

Literatura / References

- Bajan C., Fedorko A., Kmita A. 1992. Grzyby owadobójcze w integrowanej ochronie roślin. Materiały Konferencyjne „Zwalczanie biologiczne szkodników w programach integrowanych” (E. Niemczyk, red.). Skierniewice: 32–39.
- Bajan C., Kmitowa K. 1972. The effect of entomogenous fungi *Paecilomyces farinosus* (Dicks.) Brown et Smith and *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill on the oviposition by *Lepitnotarsa decemlineata* Say. females and on the survival of larvae. *Ekologia Polska* 20 (32): 423–443.
- Bajan C., Kmitowa K. 1997. Trzydzieści lat badań nad grzybami owadobójczymi w Instytucie Ekologii PAN. *Polish Ecological Studies* 23 (3–4): 133–154.
- Bałazy S. 2004. Znaczenie obszarów chronionych dla zachowania zasobów grzybów entomopatogenicznych. *Kosmos* 53 (1): 5–16.
- Bałazy S. 2006. Rozpoznanie i próby oszacowania roli grzybów entomopatogenicznych w drzewostanach. *Studia i Materiały Centrum Edukacji Przyrodniczo-Leśnej* 14 (4): 154–165.
- Bryk H. 2007. Fungicydy do sadów ekologicznych. *Sad Nowoczesny* 3: 34–35.
- Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/128/WE z dnia 21.10.2009 r. ustanawiająca ramy wspólnotowego działania na rzecz zrównoważonego stosowania pestycydów (Dz. Urz. UE L 309/71 z dnia 24.11.2009 r.).
- Faria M.R., Wraight S.P. 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control* 43: 237–256.
- Fiedler Ž., Sosnowska D. 2011. Wpływ wybranych fungicydów na wzrost i zarodnikowanie grzybów owadobójczych. [The influence of fungicides on the growth and sporulation of entomopathogenic fungi]. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 51 (2): 911–915.
- Goettel M.S., Ingelis G.D. 1997. Fungi: Hyphomycetes. p. 213–249. In: “Manual of Techniques in Insect Pathology” (L. Lacey, eds.). Academic Press, London, 409 pp.
- Goettel M.S., Ingelis G.D., Johnson D.L., Fargues J. 1995. Field application of *Beauveria bassiana* for control of grasshoppers. Proceedings of the Congress “Microbial control agents in sustainable agriculture”. Italy (Aosta), Saint Vincent, 18–19 October 1995.
- Karg J., Bałazy S. 2009. Wpływ struktury krajobrazu na występowanie agrofagów i ich antagonistów w uprawach rolniczych. [Effect of landscape structure on the occurrence of agrophagous pests and their antagonists]. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 49 (3): 1015–1034.
- Kowalska J., Drożdżyński D. 2009. Spinosad jako insektycyd w rolnictwie ekologicznym – możliwości stosowania i monitoring pozostałości. *Proceedings of ECOpole* 3 (1): 71–75.
- Krysa A., Ropak D., Kuźniar T. 2012. Występowanie grzybów owadobójczych w zależności od pory roku w wybranym ekologicznym gospodarstwie rolnym. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering* 57 (3): 226–230.

- Machowicz-Stefaniak Z. 1980. Wpływ wybranych fungicydów stosowanych w ochronie sadów na rozwój grzybów owadobójczych. *Roczniki Nauk Rolniczych* 10 (12): 187–199.
- Malinowski H. 2009. Entomopatogeniczne grzyby jako insektycydy w ochronie lasu. [Entomopathogenic fungi as insecticides in forest protection]. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 49 (2): 865–873.
- Miętkiewski R., Pell J.K., Clark S.J. 1997. Influence of pesticides use on the natural occurrence of entomopathogenic fungi in arable soils in the UK. Field and laboratory comparisons. *Biocontrol Science and Technology* 7: 565–575.
- Miętkiewski R., Sapięha-Waszkiewicz A. 1995. Wpływ pestycydów stosowanych w ochronie ziemniaka na wzrost grzybów owadobójczych izolowanych z gleb pól ziemniaczanych. *Acta Agrobotanica* 48 (2): 65–73.
- Sapięha-Waszkiewicz A., Miętkiewski R., Marjańska-Cichoń B., Żurek M. 2005. Reakcja grzybów owadobójczych na fungicydy pochodzenia roślinnego i syntetycznego *in vitro*. *Acta Agrobotanica* 58 (1): 101–111.
- Sapięha-Waszkiewicz A., Miętkiewski R., Marjańska-Cichoń B., Żurek M. 2010. Porównanie wpływu preparatów biotechnicznych Biocos S, Biosept 33 SL i syntetycznych pestycydów na kiełkowanie zarodników grzybów owadobójczych. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 43: 117–125.
- Sierpińska A., Tkaczuk C., Skrzecz I. 2012. Rola badań nad entomopatogenami w rozwoju biologicznych metod ochrony roślin. W: „Kierunki rozwoju patologii owadów w Polsce” (I. Skrzecz, A. Sierpińska, red.). Instytut Badawczy Leśnictwa, Sękocin Stary: 13–29.
- Sosnowska D. 2013. Postępy w badaniach i wykorzystanie grzybów pasożytniczych w integrowanej ochronie roślin. [Progress in research and the use of pathogenic fungi in integrated plant protection]. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 53 (4): 747–750.
- Stachowicz T., Pomykała D. 2008. Prowadzenie gospodarstw ekologicznych. Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie, Oddział w Radomiu: 18–20.
- Tkaczuk C. 2008. Występowanie i potencjał infekcyjny grzybów owadobójczych w glebach agrocenoz i środowisk seminaturalnych w krajobrazie rolniczym. Rozprawa Naukowa nr 94. Wydawnictwo Akademii Podlaskiej, Siedlce 160 ss.
- Tkaczuk C., Król A., Majchrowska-Safaryan A., Niecewicz Ł. 2014. The occurrence of entomopathogenic fungi in soils from fields cultivated in a conventional and organic system. *Journal of Ecological Engineering* 15 (3): 137–144.
- Tkaczuk C., Krzyżkowski T., Głuszcak B., Król A. 2012. Wpływ wybranych środków ochrony roślin na wzrost kolonii i kiełkowanie zarodników owadobójczego grzyba *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. [The influence of selected pesticides on the colony growth and conidial germination of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.]. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 52 (4): 969–974.
- Tkaczuk C., Majchrowska-Safaryan A., Harasimiuk M. 2016. Występowanie oraz potencjał infekcyjny grzybów entomopatogenicznych w glebach z pól uprawnych, łąk i siedlisk leśnych. [The occurrence and infective potential of entomopathogenic fungi in the soil of arable fields, meadows and forest habitats]. *Progress in Plant Protection* 56 (1): 5–11.
- Tkaczuk C., Majchrowska-Safaryan A., Zawadzka M. 2013. Wpływ spinosadu oraz wybranych insektycydów syntetycznych na wzrost grzybów entomopatogenicznych w warunkach *in vitro*. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering* 58 (4): 194–197.
- Tomalak M. 2010. Rynek biologicznych środków ochrony roślin i przepisy legislacyjne. [Market for biological control agents and their legal regulation]. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 50 (3): 1053–1063.
- Vänninen I., Hokkanen H. 1988. Effect of pesticides on four species of entomopathogenic fungi *in vitro*. *Annales Agriculturae Fenniae* 27: 345–353.
- Vänninen I., Tyni-Juslin J., Hokkanen H.M.T. 2000. Persistence of augmented *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Finnish agricultural soils. *Biocontrol* 45: 201–222.