

ОЦЕНКА ПАТОГЕННОСТИ ИЗОЛЯТА *ASPERGILLUS SP.3* ПО ОТНОШЕНИЮ К ОСОБЯМ ВЕРШИННОГО КОРОЕДА

Середич М.О., Ярмолович В.А., Семенюк А.А.,
Бурда А.А., Кухта В.Н.

Белорусский государственный технологический университет

*Приведены результаты исследования патогенности выделенного изолята гриба *Aspergillus sp.3* по отношению к особям вершинного короеда (*Ips acuminatus* Gyll.). Выявлено, что смертность жуков в условиях *in vitro* составляет в среднем 50%. Определено, что обработка водным смывом спор гриба ветвей сосны обыкновенной не предотвращает заселения древесины короедами, однако не позволяет им вылететь из древесины из-за их гибели.*

Комплексные очаги усыхания сосны, которые названы «короедными» – это существенная проблема не только нашей страны, но и многих стран ближнего и дальнего зарубежья. Масштабы усыхания и скорость его распространения таковы, что это новое явление также получило название «биологический пожар» [1].

В настоящее время основой лесозащитных мер в комплексных очагах усыхания сосны является проведение санитарных рубок, которые не всегда являются эффективными. В связи с этим особую актуальность приобретает поиск новых методов и средств защиты, в частности, выявление естественных «врагов» вершинного и других видов короедов и применение их в насаждениях для сдерживания роста и снижения численности вредителей. В частности, актуальным является поиск энтомопатогенных грибов, перспективных для использования в качестве регуляторов численности короедов. К примеру, некоторые виды грибов рода *Aspergillus* в природе составляют особую группу патогенов насекомых. Эти грибы, в основном, типичные сапрофиты, однако они также способны развиваться, плодоносить и выделять токсины в тканях живых насекомых, вызывая их гибель с типичными симптомами [2].

Для поиска энтомопатогенного вида в очагах комплексного усыхания нами были собраны коллекции особей вершинного короеда. Из ослабленных и мертвых жуков вершинного короеда в лабораторных условиях были выделены чистые культуры грибов и идентифицированы по морфологическим признакам [3]. Для данной работы нами был отобран один из изолятов гриба, *Aspergillus sp.3*, ввиду того, что он чаще всего выделялся из мертвых особей ксилофага (гриб идентифицирован до вида, предстоит подтверждение видовой принадлежности методами ДНК-анализа).

Проверку патогенности выделенного перспективного изолята по отношению к особям вершинного короеда *in vitro* проводили двумя способами. В первом варианте в чашки Петри помещали по 25 живых особей короеда, в качестве питания оставляли свежие куски коры сосны обыкновенной. В

центр чашки с опытным вариантом укладывали фрагмент питательной среды (мальт-экстракт агар, 0,5×0,5 см) с мицелием и спороношением гриба. На протяжении 14 дней наблюдали за активностью короедов. По окончании опыта всех жуков подразделяли на три категории: живые особи, мертвые и покрытые мицелием, мертвые без поверхностного мицелия. Повторность опыта двукратная.

Во втором варианте в пластиковые контейнеры помещали по 50 особей короеда, в качестве питания оставались свежие неповрежденные ветви сосны диаметром 0,5-1 см в количестве 10 шт. Перед помещением в опытный контейнер ветви поверхностно опрыскивали водным смывом спор гриба. Контейнеры закрывали герметизирующей пленкой Parafilm M, которая легко прогрызается короедами и позволяет им свободно вылетать. Опыт длился 14 дней. Биологическую активность изолята *Aspergillus* sp.3 рассчитывали по формуле Аббота [4].

Для уточнения причин гибели жуков без видимого поверхностного мицелия, их помещали в чашки Петри и проводили повторное выделение микробиоты в чистую культуру микологическим методом [3].

В первом варианте опыта в ходе искусственного заражения короедов грибом *Aspergillus* sp.3 уже на третий день начинала наблюдаться гибель жуков и появление типичного налета мицелия и спороношений гриба, хорошо заметных на поверхности насекомого даже невооруженным глазом (рисунок 1).



Рисунок 1 - Погибший вершинный короед, инфицированный грибом *Aspergillus* sp.3

На 14-ый день инокуляции короедов смертность жуков в опытном варианте составила в среднем 64,9% (таблица 1).

Таблица 1 – Смертность вершинного короеда *in vitro* при внесении инфекции *Aspergillus* sp.3 в чашки Петри (на 14 день опыта)

Вариант	Результаты опыта, % жуков			Биологическая эффективность, %
	живых	мертвых		
		без мицелия	с мицелием	
Контроль	60,0	40,0	-	—
Опытный вариант	36,0	12,0	52,0	64,9

В значительной степени смертность жуков в контрольном варианте была обусловлена их голоданием. На протяжении опыта наблюдались попытки внедрения жуков в кору, однако, к питанию лубом они так и не переходили.

Повторное выделение грибов в чистую культуру из мертвых жуков без наличия поверхностного мицелия в опытном варианте показало, что они также были инфицированы грибом *Aspergillus* sp.3, в то время как в контроле выделялись другие виды, преимущественно из родов *Penicillium* и *Trichothecium* (рисунок 2).



Рисунок 2 – Сравнительный вид культур, выделенных из мертвых жуков вершинного короеда опытного (слева) и контрольного (справа) вариантов

Результаты второй части опыта (обработка ветвей сосны обыкновенной водным смывом спор гриба *Aspergillus* sp.3) также подтвердили патогенность исследуемого изолята по отношению к особям вершинного короеда (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты опыта по обработке ветвей сосны обыкновенной суспензией спор гриба *Aspergillus* sp.3 (на 14 день опыта)

Вариант опыта	% жуков			% заселенных фрагментов ветвей
	живых в контейнере	мертвых	вылетело из контейнера	
Контроль (без обработки)	10,0	-	90,0	60
Обработанные ветви	10,0	52,0	38,0	60

Таким образом, через 2 недели после начала опыта в варианте с обработкой ветвей сосны водным смывом спор гриба *Aspergillus* sp.3 погибла половина жуков, в то время как в контрольном варианте (без обработки) жуки остались либо живыми в контейнере, либо вылетели из него, проделав отверстие в пленке. При этом количественно фрагменты ветвей сосны обыкновенной в контейнерах заселялись жуком поровну как в опытном, так и контрольном вариантах.

Проведенные исследования подтверждают патогенность выделенного изолята гриба *Aspergillus* sp.3 по отношению к особям вершинного короеда и перспективность проведения дальнейших его исследований для оценки

возможности разработки биопрепарата. Смертность жуков при высоком инфекционном фоне гриба составляет в среднем около 50%. Обработка водным смывом спор ветвей сосны обыкновенной не предотвращает заселения древесины короедами, однако не позволяет им вылететь из древесины из-за массовой гибели.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сазонов А.А., Звягинцев В.Б. Биологический пожар в сосновых лесах // Лесное и охотничье хозяйство – 2016. – № 6. – С. 9-13.
2. Евлахова, А.А. Энтомопатогенные несовершенные грибы // Жизнь растений. – М: Просвещение, Т.2, 1976. – С. 439-4423
3. Федоров, Н.И. Лесная фитопатология: лаб. практикум: учеб. пособие / Н.И. Федоров, В.А. Ярмолович. – Минск: БГТУ, 2005. – 445 с.
4. Методические указания по проведению регистрационных испытаний биопрепаратов для защиты растений от вредителей и болезней / Науч.-практ. центр НАН Беларуси по земледелию; сост.: Л.И. Прищепа, Н.И. Микульская, Д.В. Войтка. – Несвиж: Несвиж. укрупн. тип., 2008. – 56 с.

BELARUSIAN STATE TECHNOLOGICAL UNIVERSITY

*Seredich M.O., Yarmolovich V.A., Semenyuk A.A.,
Burda A.A., Kukhta V.N.*

*The results of the pathogenicity of the isolate of the fungus *Aspergillus sp.3* study in relation to individuals of the apical bark beetle (*Ips acuminatus* Gyll.) are presented. It is revealed that mortality of beetles in vitro is on average 50%. It was determined that the treatment with a water solute of fungal spore of Scots pine branches does not prevent the bark beetles from settling the wood, but does not allow them to fly out of the wood because of their death.*

