

**Dr Ljubiša Vasiljević,**  
**Dr Marko Injac,**  
Institut za zaštitu bilja, Beograd — Topčider

## **PRIMENA ENTOMOPATOGENIH MIKROORGANIZAMA U SUZBIJANJU ŠTETNIH INSEKATA U POLJOPRIVREDI I SUMARSTVU**

Mikroorganizmi insekata, slično većini drugih patogena kičmenjaka, su integralni deo ekosistema. Ideja o njihovom izolovanju, umnožavanju i korišćenju za veštačko izazivanje epizootije kod domaćina, datira još od 1874, kada je Pasteur, preporučivao upotrebu nekih gljivica u borbi protivu filoksera na vinovoj lozi. Do primene ovih Pasterovih ideja naravno nije došlo iz razumljivih razloga s obzirom na tadašnja oskudna znanja iz oblasti opšte i primenjene mikrobiologije.

Početkom ovog veka bilo je takođe pokušaja suzbijanja skakavaca pomoću bakterija u Meksiku, Argentini, Tunisu i drugim zemljama.

Između dva rata u Evropi su vršeni pokušaji suzbijanja kukuruznog plamenca primenom nekih bakterija i gljiva. Pored ovih i mnogih drugih pokušaji ostali su bez vidnog uspeha sve do perioda posle drugog svetskog rata. Poznati francuski naučnik Paillot, koji je dosta radio na ovim problemima, povodom ovih neuspeha jednom prilikom je izjavio »Da se prerano htelo služiti armijom (misli se na mikroorganizme) koja se nije dovoljno poznavala«.

Posle drugog svetskog rata počelo se sistematskim proučavanjima mogućnosti primene mikroorganizama u zaštiti bilja u većem broju naučnih ustanova Evrope i SAD. Tako da danas, 100 godina posle Pasteurove ideje ili 30—40 godina posle prvih praktičnih pokušaja, možemo govoriti o postignutim uspesima i praktičnim rešenjima nekih važnijih problema putem primene mikrobioloških preparata u zaštiti bilja.

Iako su ovi rezultati ograničenih razmera i skroman doprinos rešenju krupnih problema u zaštiti bilja oni nam ulivaju poverenje i daju nadu da će mikrobiološke mere naći pravo mesto i postići rezultate koji se očekuju od njih u sklopu integralne zaštite poljskih i šumskih kultura od biljnih bolesti i štetočina.

U ovom radu, iznećemo rezultate ispitivanja i dosadašnjih iskustava u primeni komercijalnih mikrobioloških insekticida u svetu, sa posebnim osvrtom na rezultate u nas.

### **MIKROBIOLOŠKI PREPARATI**

Od više sistematskih grupa za sada biološki preparati se prave na osnovu samo nekoliko grupa mikroorganizama:

### a) Entomopatogene gljive

Mikrobiološki preparat Boverin — sovjetske proizvodnje na bazi gljivice *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. koristi se za suzbijanje krompirove zlatice u dozi od 2—4 kg po hektaru (Telenga, Sikura, Smetnik, 1967; Pristavko, 1967). Preparat je proizveden na bazi konidija i zadržava virulentnost do godinu dana pa i nešto više. Navode se pozitivni rezultati ali u ograničenom obimu i primena ovog preparata protivu kukuruznog plemena a delimično i protivu jabukinog smotavca (*Laspeyresia pomonella* L.) Kudina, 1967, Rogočaja, 1967).

Francuska poluindustrijska proizvodnja ovog preparata na tečnoj podlozi bez konidija već samo sa blastosporama ima ograničenu virulentnost na oko 6 meseci a veoma je podložan uticaju spoljnih faktora kao što su sunčeva svetlost i niska vlažnost sredine. Pokušaji su da se nađu rešenja za primenu protivu larava gundelja (*Melolontha melolontha* L).

Perspektiva primene ovih preparata je uglavnom za suzbijanje štetočina u zemljištu. Osnovni problemi su još uvek u tehnologiji proizvodnje i formulaciji preparata (Müller — Kogler, 1967).

Ispitivanja u nas pokazala su da se Boverin može koristiti u suzbijanju repine pipe (*Cleonus punctiventris* Germ) (Vasiljević, Injac, 1966).

### b) Entomopatogene bakterije

Prvi bakterijski preparat proizveden je 1948. godine na bazi *Bacillus popilliae* za borbu protivu japanske bube (*Popilliae japonicae*). Međutim, šira proizvodnja ograničena je za sada na *Bacillus thuringiensis* Berliner i preparati se proizvode u mnogim zemljama i našli su primenu za suzbijanje većeg broja štetnih insekata a posebno u sklopu integralne zaštite.

Na svetskom tržištu za sada su najpoznatiji preparati *Thuricide* i *Dipel TM* u SAD, *Bactospein* u Francuskoj i *Enobakterin* — 3 u SSSR-u.

Osnova svih bakterijskih preparata su spore i toksični kristali koji nastaju u toku sporulacije bakterija. Tako i bitna razlika između ovih preparata je u odnosu spora: kristal. Preparati su utrobni i za efikasnost preparata značajna je bazna sredina u crevnom traktu.

Korišćenje ovih preparata dolazi u obzir za suzbijanje najvećeg broja štetnih Lepidoptera, a posebno na kulturama gde je otežana primena hemijskih sredstava zbog toksičnosti za ljude i životinje kao što su povrtarske kulture i one za stočnu ishranu.

Zbog izuzetne štetnosti gubara (*Lymantria dispar* L.) rađeno je mnogo na primeni bakterijskih preparata protivu ove štetočine. Iako preparati pokazuju visoku efikasnost prema gusenicama u laboratoriji, u poljskim uslovima primena zavisi od spoljnih uslova te i rezultati variraju (Doane, Hitchensock, 1964., Lewis, Konnola, 1966, Dunbar i dr. 1973., Vasiljević, Injac, 1973). Uspeh u prvom redu zavisi od kvaliteta tretiranja tako da celokupna lisna masa bude ravnomerno prepokrivena preparatom, kao i da se tretiranje obavi dok su gusenice u L<sub>2</sub> stadiju. U preterano velikoj brojnosti gubara, u kulminaciji posle tretiranja i kada preživi 10—20 % gusenica broj novopoloženih jajnih legala je još uvek znatno visok da se

u narednoj godini može takođe očekivati jači napad. Sastav šume i njen sklop znatno utiče na kvalitet tretiranja i efikasnost preparata. U pogledu ekonomičnosti i rentabilnosti ovi preparati za sada nemaju prednost nad ostalim hemijskim preparatima, jer su skupi i primenjuju se uglavnom uz nešto veću količinu vode što poskupljuje samo izvođenje akcije. Proizvođači ovih mikrobioloških preparata obećavaju uskoro formulacije sa primenom 10—15 litara vode po hektaru što treba znatno da smanji troškove tretiranja. Inače posebna prednost ovih preparata u odnosu na hemijska sredstva je u njihovoj neškodljivosti za korisne insekte i okolinu i ne utiču na promenu biocenoze sredine, tj. selektivno deluju uglavnom na štetočine.

Protiv dudovca (*Hyphantria cunea Drury*) bakterijski preparati su našli praktičnu primenu sa zadovoljavajućim rezultatima i ekonomskim opravdanjem. Radi ilustracije efektivnosti navodimo neke rezultate u uslovima laboratorije koji su postignuti primenom Bactospeina i Dipela. Gusenice uginjavaju naglo već posle drugog i trećeg dana a 100%-na smrtnost se postiže u niskoj koncentraciji 0,01% (tab. 1). Perspektiva primene bakterijskih preparata je u naseljenim mestima i u parkovima gde je upotreba hemijskih sredstava ograničena ili je zabranjena.

Bakterijski preparati se mogu uspešno primenjivati i za suzbijanje kupusara (*Pieris brassicae* i *P. rapae* L.) bez opasnosti od štetnih ostataka (tab. 2). Ipak, u praktičnim uslovima bakterijski preparati nisu našli pravu primenu jer su sovice (*Mamestra brassicae* L.) i kupusni moljac (*Plutella maculipennis* L.) manje osetljivi i zbog načina života, tj. ubušivanja ostaju van domašaja preparata.

U zaštiti livada od livadskog gubara (*Hypogymna morio* L zbog netoksičnosti za životinje, bakterijski preparati imaju realnu perspektivu primene jer u uslovima laboratorije pokazuju visoku efikasnost (Dobrivojević, Injac, Zabel, 1969).

Za suzbijanje kukuruznog plamenca (*Ostrinia dubialis* Hbn) pokušaji su da se hemijska sredstva zamene mikrobiološkim preparatima. Za sada samo dva preparata u vidu granula Dipel G i Bactospein G pokazuju efektivnost od oko 60% što je, kada se radi o plamencu na kukuruzu, zadovoljavajuće) (Vasiljević Injac, 1969). Kako su i hemijski granulati sa istom efikasnošću to prednost mikrobioloških preparata je što ne ostavljaju štetne posledice u zemljištu i kukuruzovini koja se koristi za stočnu ishranu.

Najnovija ispitivanja u 1972. i 1974. godini su pokazala da je Dipel G u poljskim uslovima ravan po efikasnosti Phosvel G i Galition G, koji se zbog svojih izuzetno toksičnih svojstava ograničeno koriste u suzbijanju plamenca (tabela 3 i 4).

### c) Entomopatogeni virusi

Kao osnova za proizvodnju preparata koriste se virusi sa proteinskim omotačima i to tipa NPV (nuklearno poliedarnih virusa) i GV (granuloza virus). Ovi virusi se uglavnom javljaju kao patogeni kod Lepidoptera te i perspektiva primene virusnih preparata usmerena je za suzbijanje štetnih gusenica.

Tabela 1 Uginjavanje gusenica dudovca (*H. cunea* D) u ogledima sa primenom bakterijskih preparata. Smrtnost u kontroli 2%.

Mortality of Fall Webworm (*H. cunea* D) caterpillars in experiments with the use of bacterial preparations. Mortality in the check 2%.

treatments	Koncentracija concentrations	Kumulativni mortalitet gusenica dudovca po danima: Cumulative mortality of Fall Webworm caterpillars according to days:									
		2		3		4		5		6	
		num- ber	%	num- ber	%	num- ber	%	num- ber	%	num- ber	%
Bactospein crème	0.01%	—	—	14	28	27	54	27	54	37	74
	0.04%	—	—	19	38	39	78	40	80	46	92
	0.12%	6	12	31	62	45	90	48	96	50	100
	0.5%	22	44	46	94	50	100	—	—	—	—
Bactospein PM 600	0.01%	10	20	14	28	23	46	24	48	25	50
	0.04%	13	26	20	40	29	58	32	64	33	66
	0.12%	15	30	30	60	37	74	42	84	45	100
	0.5%	42	84	47	94	50	100	—	—	—	—
Dipel TM	0.01%	7	14	26	52	45	90	46	92	47	94
	0.04%	9	19	38	76	49	98	50	100	—	—
	0.12%	15	30	46	92	50	100	—	—	—	—
	0.5%	48	96	50	100	—	—	—	—	—	—

Prvi virusni preparat registrovan je u SAD 1963. godine i proizveden je na bazi NPV za suzbijanje *Trichoplusia ni.*, ali registracija je poništena 3 godine kasnije zbog nedostatka dokaza o neštetnosti za okolinu.

U toku 1968. godine dva druga preparata Biotrol VH 2 i Viron H isto tako na bazi NPV za suzbijanje sovice *Heliothis* je privremeno registrovan. Dozvola o korišćenju je produžena do 1973. godine kada je nekompletno registrovana zbog nedostatka stabilnosti u testovima efikasnosti. Pokazalo se da osim problema u tehnici proizvodnje virusa, postoje još niz novih prepreka koje treba savladati da bi virus bio sigurno sredstvo u suzbijanju insekata.

Jedan od ovih problema su testovi bezbednosti za okolinu. Ovi testovi su veoma skupi i zahtevaju specijalno obučeno ljudstvo. Misli se prvenstveno na virus kao osnovu ali isto tako i na prateću mikrofloru preparata.

Drugi problem je brzo gubljenje infektivnosti virusa u standardnim formulacijama preparata pri normalnim uslovima čuvanja. Ovo je imalo za posledicu variranje u efikasnosti zavisno od vremena primene posle proizvodnje preparata.

Danas u SAD postoje projekti i realizacija proizvodnje oko 10 virusnih preparata, uglavnom na bazi NPV. Registracija preparata se očekuje do kraja 1980. godine.

Tabela 2: Efikasnost Dipel TM prema štetnim Lepidopterama na kupusu  
Control of harmful Lepidoptera on cabbage by Dipel TM

Tretmani Treatmens		Broj živih gusenica na 25 glavica Number of live cater- pillars on 25 heads				Uginu- le gu- seni- ce Dead At- cater- pil- lars heads	Na- pad- nu- vih glji- tih vica At- tack- ed heads	Neupo- treblji- vica Unusab- le heads
		P. bras- sicae	P. ra- pae	M. bras- sicae	P. ma- culi- penis			
Pre tretiranja Before tretmens		71	54	—	—	—	92	—
9 dana posle prvog prskanja 9 days after the first treatment	Dipel 0.1% Kontrola Check	—	14	—	16	11	20	—
11 dana posle drugog prskanja 11 days after the second treatment	Dipel 0.1% Kontrola Check	—	6	3	10	2	24	8
		21	12	8	10	—	84	24

Tabela 3 Tretiranje kukuruznog plamenca (*O. nubilalis* Hbn.) biopreparatom  
Dipel—Granulat u 1972.

Control of the European corn borer (*O. nubilalis* Hbn.) by Dipel — G

Tretmani Treatmens	Doza kg/ha Doses kg/ha	Broj oštećenja na 200 biljaka Number od demages on 200 plants	Broj gusenica na 200 biljaka Number of cater. on 200 plants	Indeks efikasnosti Efficiency indexes
Dipel — G 2%	30	67	28	61
Dipel — G 2%	60	38	25	65
Dipel — G 4%	20	40	20	72
Dipel — G 4%	40	37	10	86
Phosvel — G	30	67	27	62
Kontrola — Control	—	133	71	0

Tabela 4: Tretiranje kukuruznog plamenca (*O. nubilalis* Hbn.) biopreparatom Dipel Granulat u 1974. godini

Control of the European corn borer (*O. nubilalis* Hbn.) by Dipel — G in 1974.

Tretmani Treatmens	Oštećenje na 400 živih guse- Doza damages on 400 nica na kg/ha biljaka klipova biljaka kg/ha plants corn-cobs Live caterp- illars on 400 plants				napad % Attack %	Efikas- nost u odno- su na kontrolu compara- rison with the check	Indeks u odno- su na Galiti- on G5 30 kg/ha. Index with the relation to Galiti- on G5 30 kg/ha
	Kontrola	—	446	17	225	100	0
Dipel — G 2%	30	193	6	93	41	59	76
Dipel — G 2%	60	124	2	55	24	76	98
Dipel — G 4%	30	128	3	56	25	75	98
Galition G5	30	132	3	52	23	75	100
Galition G5	60	114	7	46	20	80	100

Ovako veliki interes za virusne preparate potiče od znatnih prednosti virusa nad svim ostalim insekticidima. To se u prvom redu odnosi na neškodljivost za ljude i životinje i na selektivnost kao i na širenje virusa i oblesti u toku više generacija.

Kod nas se radi već duže vreme na virusima gubara i na njegovoj laboratorijskoj proizvodnji. Prvi uspešni rezultati dobijeni su u okolini Bača 1973. godine na površini od 44 hektara. Koristeći avione i 10 grama preparata ili  $7.6 \times 10^{11}$  NPV po hektaru, šuma je oprskana u vreme kada je gubar bio  $L_{2-3}$  stadija. Gusenice su uginjavale masovno pokazujući simptome nuklearne poliedrije. Bolest se kasnije prenela i na lutke a preko jajnih legala virus se preneo i na sledeću generaciju. Ma da je došlo pred kraj ishrane gusenica do potpunog golobrsta, rezultati ukazuju da usavršavanjem preparata i pravovremenom primenom virusi mogu biti perspektivno rešenje u suzbijanju gubara.

#### ZAKLJUČAK

Na osnovu navedenih podataka vidimo da:

— bakterijski preparati na bazi *B. thuringiensis* mogu uspešno primenjivati za suzbijanje nekih štetnih lepidoptera. Zbog svoje neškodljivosti za ljude i životinje oni su optimalno rešenje za suzbijanje dudovca (*H. cunea*)

u parkovima i naseljenim mestima, livadskog gubara (*H. morio*) na zatravnjenim površinama kupusara (*P. brassicae*) u povrtlarstvu i kukuruznog plamenca (*O. nubilalis*) u kukuruзу.

— Za sada jedini gljivični preparat na bazi *B. bassiana* je perspektivan za suzbijanje štetnih insekata u zemljištu. Zbog nerešenih pitanja tehnologije proizvodnje, korišćenje preparata je ograničeno na manje površine.

Masovna proizvodnja virusnih preparata nije još uvek realizovana, ali zbog značajnih pozitivnih osobina trenutno se radi najviše na virusima kao mogućoj osnovi mikrobioloških preparata.

## USE OF ENTOMOPATHOGENIC MICRO-ORGANISMS IN THE CONTROL OF HARMFUL INSECTS IN AGRICULTURE AND FORESTRY

**Dr. Ljubiša Vasiljević, dr. Marko Injac**

Institute for Plant Protection, Beograd — Topčider

### S U M M A R Y

The insect micro-organisms, like most pathogens of other vertebrates, are the integral part of the ecosystem and play in the nature an important part in the regulation of their host's numbers. However, their mass rearing and use as an active agent in the control of harmful insects is of recent date. For the time being, the industrial production of preparations is based on entomopathogenic organisms belonging only to few groups:

#### **a) Entomopathogenic fungi**

There exists, for the present, but a single semi-industrial preparation of Soviet production »Boverin«, which is used for the control of harmful insects in the soil, such as: *B. punctiventris* Germ., cockshafer (*M. melonantha* L.) and some others.

#### **b) Entomopathogenic bacteria**

For industrial production is used chiefly *B. thuringiensis* Berliner. The best known are Thuricide and Dipel TM in USA, Bactospein in France and Entobakterin 3 in USSR. All these preparations are used chiefly for control of harmful Lepidoptera.

According to the results of investigations made in our country, Dipel TM can be used against the Gypsy Moth (*L. dispar* L.) under field conditions before the abundance. Against the Fall Webworm (*H. cunea* Drury) Dipel TM and Bactospein reach a high efficiency in the concentration of 0.01% (tab. 1). Under conditions in practice Dipel TM has been used with satisfactory results since 1972. The same preparation reaches a high efficiency under field conditions against the European cabbage worm (*P. brassicae* and *rapae*) in the concentration of 0.1% (tab. 2). Against the European corn borer (*O. nubilalis* Hbn) Diepl — G reaches the efficiency equal to that of chemical insecticides (tab. 3 and 4).

#### **c) Entomopathogenic viruses**

For the time being, there exists but a single registered virus preparation »Biotrol VH 2«, which is produced in USA and used for the control of *Heliothis* in tobacco and in corn. According to the existing projects in USA, by the end of 1980 there ought to be realized the production of about ten virus preparations.

## LITERATURA

- Dobrivojević, K., Injac, M., Zabela A. (1969): Laboratorijsko ispitivanje efikasnosti mikrobioloških insekticida Thuricide 90 TS i Baktikal S za suzbijanje livadskog gubara (*Hypogimna morio* L.) *Zaštita bilja*, 106, pp. 317 — 324.
- Doane C. C., Hitchcock, S. W., (1964): Field test with an aerial application of *Bacillus thuringiensis* Bulletin 665, The Connecticut Agricultural Experiment Station., New Haven.
- Dunbar, D. M., Kaya, H. K., Doane, C. C., Anderson, J. F., Weseloh, R. M. (1973): Aerial application of *Bacillus thuringiensis* against larvae of the Elm Sawworm and Gypsy Moth and effects on parasitoids of the gypsy moth. Bulletin 735, The Connecticut Agricultural Experiment Station, New Haven.
- Kudina, Ž., D. (1967): Efektivnost primenjenjija biopreparata boverina v sočitaniju s DDT protiv kukuruznovo motiljka (*Pyrausta nubilalis* Hb) u uslovijah Lesostepi USSR. *Zaštita rastenii*, 4, pp. 24 — 29.
- Lewis, F. B., Connola, D. P., (1966): Field and laboratory investigations of *Bacillus thuringiensis* as a control agent for Gypsy moth, *Porthetria dispar* L.
- Müller — Kogler, E., (1967): On mass cultivation, determination of effectiveness, and standardization of insect pathogenic fungi. Proceedings of the Internat. Colloquium Wageningen, 1966 (Amsterdam, 1967), pp. 339 — 353.
- Pristavko, V. P., (1967): Izmenjenije mikroflori i pH gemolimfi ličinok koloradskoga žuka pod vlijanjem griba beloju muskardini (*Beauveria bassiana*) i DDT. *Zaštita rastenii*, 4, pp. 39 — 47.
- Rogočaja, L. G. (1967): Efektivnost primenjenija suspenziji boverina s sočitaniji s sevinom putem smačivanija stvolov jablon dja borbi s gusenicama jablonoi plodožorki (*Carpocapsa pomonella* L.) *Zaštita rastenijii*, 4., pp. 128 — 131.
- Telenga, N. A., Sikura, A. I., Smetnik, A. I. (1967): Primenenie biopreparata boverina b sočitiji s insekticidami b borbe s koloradskm žukom (*Leptinotarsa decemlineata* Say) *Zaštita rastenii*, 4, pp. 1 — 3.
- Vasiljević, Lj., Injac, M. (1967): Mikoze kao faktor smanjivanja brojnosti repine pipe (*Bothynoderes punctiventris* Germ). Zbornik radova II međunarodnog simpozijuma o zaštiti šećerne repe 7 — 10. XI. 1966, pp. 333 — 340.
- Vasiljević, Lj., Injac, M. (1969): Primena mikrobioloških preparata sa *Bacillus thuringiensis* Berliner za suzbijanje kukuruznog plamenca (*Pyrausta nubilalis* Hbn.). *Mikrobiologija*, 6, pp. 37 — 50.
- Vasiljević, Lj., Injac, M. (1973): Control of gypsy moth (*Lymantria dispar* L.) by aerial application of a *Bacillus thuringiensis* Berliner preparation Plant Protection, 124 — 125, Belgrade, pp. 219 — 230.