

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Instytut Agronomii
ul. B. Prusa 14, 08-110 Siedlce
e-mail: cezary.tkaczuk@uph.edu.pl

CEZARY TKACZUK, ANNA MAJCHROWSKA-SAFARYAN,
KATARZYNA ŚLEDŹ

**Wpływ wybranych środków ochrony roślin
na wzrost grzybów owadobójczych
z rzędu owadomorkowców (*Entomophthorales*)**

The influence of selected pesticides on the growth of entomopathogenic fungi
from the entomophthoralean order (*Entomophthorales*)

Streszczenie. Intensywne stosowanie pestycydów jest nadal najczęściej wybieraną metodą zwalczania agrofagów w uprawach rolniczych. Dotychczasowe wyniki badań wskazują, iż pestycydy mogą wywierać negatywny wpływ na rozwój, potencjał infekcyjny i przeżywalność grzybów entomopatogenicznych. Celem pracy było zbadanie wpływu wybranych środków ochrony roślin na wzrost grzybów owadobójczych z rzędu owadomorkowców (*Entomophthorales*). W warunkach laboratoryjnych zbadano wpływ fungicydów Amistar 250 SC i Miedzian 50 WP, insektycydów Karate Zeon 050 CS i Spintor 240 SC oraz herbicydów Roundup 360 SL i Leopard 05 EC, dodawanych do podłoża hodowlanego w różnych dawkach, na wzrost kolonii grzybów: *Zoophthora radicans*, *Zoophthora ichneumonis* i *Conidiobolus coronatus*. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż wzrost kolonii grzybów z rzędu *Entomophthorales* najsilniej hamowany był przez zastosowane fungicydy i herbicydy, natomiast insektycydy wykazywały stosunkowo najslabsze toksyczne działanie w stosunku do badanych grzybów owadobójczych. Oba gatunki grzybów z rodzaju *Zoophthora* okazały się bardziej wrażliwe na toksyczne działanie pestycydów niż *C. coronatus*.

Słowa kluczowe: grzyby owadobójcze, owadomorki, fungicydy, insektycydy, herbicydy

WSTĘP

Grzyby entomopatogenne są ważnym składnikiem środowiska naturalnego, posiadają zdolność do infekowania wielu gatunków stawonogów, a ich rozwój prowadzi do zakłóceń procesów fizjologicznych u gospodarzy i w końcowym efekcie do ich śmierci. Grzyby owadobójcze jako naturalni wrogowie pełnią istotną rolę w ograniczaniu populacji ważnych gospodarczo szkodników wielu upraw, a niektóre z nich stanowią bazę do

produkcji bioinsektycydów wykorzystywanych coraz powszechniej w biologicznej ochronie roślin [Faria i Wright 2007, Zimmermann 2007].

Grzyby reprezentujące owadomorkowce (*Entomophthorales*) należą do typu Entomophthoromycota i w naturalnych warunkach zdolne są do wywołania silnych epizoozji w populacjach licznych gatunków szkodników w uprawach rolnych oraz w lasach, przyczyniając się do ich redukcji. W przegęszczonych populacjach mszyc ich rola w ograniczaniu rozwoju szkodników jest prawie jednakowo ważna jak pasożytów oraz drapieżców [Bałazy i in. 1990]. Ponadto grzyby te charakteryzują się selektywnością, wyrażającą się bardzo wąskim zakresem porażanych owadów-gospodarzy. W niektórych przypadkach mogą infekować owady tylko w obrębie kilku lub nawet jednego gatunku.

Stosowanie syntetycznych pestycydów wciąż pozostaje podstawową metodą zwalczania agrofagów w uprawach rolniczych. Racjonalne stosowanie chemicznych środków ochrony roślin w integrowanych programach wiąże się z poznaniem ich selektywności w stosunku do organizmów pożytecznych w agrocenozach, w tym grzybów owadobójczych. Wyniki dotychczasowych badań wykazały, że stosowanie pestycydów może mieć negatywny wpływ na wzrost, zarodnikowanie, kiełkowanie zarodników oraz patogeniczność grzybów entomopatogenicznych [Todorova i in. 1998, Andalo i in. 2004, Li i in. 2004, Tkaczuk i in. 2012]. Tkaczuk [2001, 2008], Andalo i in. [2004] oraz Tkaczuk i in. [2012] w swoich badaniach stwierdzili stosunkowo małą szkodliwość insektycydów i średni inhibicyjny wpływ herbicydów na wzrost grzybów owadobójczych w warunkach *in vitro*. Najbardziej negatywnie na te mikroorganizmy wpływają fungicydy, a ich oddziaływanie w dużym stopniu uzależnione jest od substancji czynnej środka ochrony roślin oraz od gatunku grzyba. Badania nad wpływem pestycydów na rozwój grzybów infekujących owady prowadzono głównie w odniesieniu do gatunków z rzędu *Hypocreales* (Ascomycota). W dostępnej literaturze niewiele jest prac omawiających wpływ chemicznych środków ochrony roślin na grzyby entomopatogeniczne z rzędu *Entomophthorales* [Miętkiewski i in. 1988, 1990, Keller i Schweizer 1991, Sapięha i Miętkiewski 1992, Latteur i Jansen 2002, Klingen i Westrum 2007].

Celem niniejszych badań było poznanie wpływu wybranych środków ochrony roślin na wzrost grzybów owadobójczych z rzędu owadomorkowców (*Entomophthorales*) w warunkach *in vitro*.

MATERIAŁ I METODY

W warunkach laboratoryjnych zbadano wpływ dwóch fungicydów: Amistar 250 SC (azoksystrobina) i Miedzian 50 WP (tlenochlorek miedzi), dwóch insektycydów: Karate Zeon 050 CS (lambda-cyhalotryna) i Spintor 240 SC (spinosad) oraz dwóch herbicydów: Roundup 360 SL (glifosat) i Leopard Extra 05 EC (chizalofop-P-etylu) na wzrost kolonii trzech gatunków grzybów owadobójczych: *Zoophthora radicans*, *Zoophthora ichneumonnis*, *Conidiobolus coronatus*. Grzyb *Z. radicans* został pozyskany z zainfekowanych gąsienic bielinka kapustnika (*Pieris brassicae*), *Z. ichneumonnis* został wyizolowany z imago nieoznaczonego gatunku pasożytniczej błonkówki z rodziny *Ichneumonidae*, a szczep *C. coronatus* pochodził z gleby pola uprawnego i został z niej wyizolowany za pomocą podłoża selektywnego.

Izolaty grzybów pochodziły z kolekcji Zakładu Ochrony i Hodowli Roślin UPH w Siedlcach i zostały oznaczone do gatunku na podstawie cech morfologicznych z wykorzystaniem standardowych kluczy [Bałazy 1993, Keller 2007].

Tabela 1. Charakterystyka zastosowanych środków ochrony roślin
Table 1. Characteristics of the applied pesticides

Nazwa środka ochrony roślin Pesticide trade name	Substancja aktywna Active substance	Zalecana dawka pestycydu Recommended dose of pesticide (ml/g·dm ⁻³)
Fungicydy/ Fungicides		
Amistar 250 SC	azoksystrobina azoxystrobin – 250 g·dm ⁻³	1,1 ml
Miedzian 50 WP	tlenochlorek miedzi copper oxychloride – 50%	3,0 g
Insektycydy/ Insecticides		
Karate Zeon 050 CS	lambda-cyhalotryna lambda-cyhalothrin – 50 g·dm ⁻³	0,4 g
Spintor 240 SC	spinosad – 240 g·dm ⁻³	0,8 ml
Herbicydy/ Herbicides		
Roundup 360 SL	glifosat glyphosate – 360 g·dm ⁻³	8,0 ml
Leopard Extra 05 EC	chizalofop-P-etylu quizalofop-P-ethyl – 50 g·dm ⁻³	4,0 ml

Do podłoża hodowlanego Sabourauda o temperaturze około 50–60°C wprowadzono odpowiednie dawki środków ochrony roślin (tab. 1). Kolejne stężenia preparatów w pożywce uzyskano metodą rozcieńczeń. Fungicydy dodawano do podłoża w następujących dawkach: A) zalecanej dawce połowej; B) dawce 10-krotnie niższej; C) dawce 100-krotnie niższej od zalecanej dawki połowej. Insektycydy i herbicydy dodawano do podłoża w następujących dawkach: A) 10-krotnie wyższej od zalecanej dawki połowej; B) dawce zalecanej i C) dawce 10-krotnie niższej od zalecanej dawki połowej. Kontrolę stanowiły kultury grzybów rosnące na czystej pożywce, bez dodatku środków ochrony roślin.

Po upływie 24 godzin od rozlania podłoża do szalek Petriego inokulowano je fragmentami grzybnii badanych gatunków grzybów owadobójczych. Po inokulacji podłoża płytki Petriego umieszczono w inkubatorach w temperaturze pokojowej (21–22°C). Dla każdej kombinacji (grzyb × środek ochrony roślin × stężenie) doświadczenie wykonano w 4 powtórzeniach, a pomiary średnicy kolonii prowadzono w odstępach 5-dniowych, aż do 20 dnia. Wyniki badań przedstawiono jako wielkość średnicy kolonii grzybów wyrażoną w % w odniesieniu do kontroli, która stanowiła 100%.

WYNIKI I DYSKUSJA

Zastosowane środki ochrony roślin wpłynęły w sposób zróżnicowany na wzrost i rozwój testowanych grzybów owadobójczych z rzędu *Entomophthorales*. Wpływ ten

uzależniony był od gatunku grzyba, rodzaju preparatu i jego koncentracji w podłożu hodowlanym.

Wpływ fungicydów

Fungicydy stanowią najszerszą grupę preparatów analizowanych pod względem toksyczności w stosunku do grzybów owadobójczych. Jak podaje Hall i Dunn [1959], Zimmerman [1976], Fritzt [1977] oraz Wilding i Brobyn [1982] większość fungicydów testowanych w warunkach *in vitro* hamuje rozwój i kiełkowanie zarodników grzybów z rzędu *Entomophthorales*. Majchrowicz i Poprawski [1993] stwierdzili, iż hamujące działanie fungicydów w warunkach laboratoryjnych w stosunku do grzybów owadobójczych jest wprost proporcjonalne do zastosowanej dawki preparatu.

Tabela 2. Wielkość kolonii grzybów owadobójczych na pożywkach z dodatkiem fungicydów (wyrażona % w stosunku do kontroli)

Table 2. The size of the entomopathogenic fungi colonies on media containing fungicides (expressed as % relative to control)

Gatunek Species	Termin obserwacji* Date of observation	Fungicyd/ Fungicide					
		Amistar 250 SC			Miedzian 50 WP		
		A	B	C	A	B	C
<i>Zoophthora radicans</i>	5	bw	bw	bw	bw	bw	105,2
	10	bw	bw	bw	bw	bw	112,2
	15	bw	bw	bw	bw	bw	136,6
	20	bw	bw	bw	bw	bw	143,4
<i>Zoophthora ichneumonis</i>	5	bw	bw	bw	bw	46,5	98,8
	10	bw	bw	bw	bw	40,2	120,6
	15	bw	bw	bw	bw	73,4	145,1
	20	bw	bw	bw	bw	92,1	140,9
<i>Conidiobolus coronatus</i>	5	42,3	bw	76,9	bw	51,2	121,7
	10	31,1	30,1	84,1	bw	60,3	116,3
	15	32,3	36,9	79,2	bw	68,6	123,9
	20	33,8	32,8	56,3	bw	83,6	98,7

* Termin obserwacji w dniach/ Date of observation in days;

A – zalecana dawka polowa/ 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; bw – brak wzrostu/ no growth

Wzrost koloni grzybów *Zoophthora radicans*, *Z. ichneumonis* był najsilniej ograniczony przez zastosowane fungicydy (tab. 2). Fungicyd Amistar 250 SC we wszystkich zastosowanych dawkach uniemożliwił wzrost kolonii obu badanych gatunków z rodzaju *Zoophthora*. Silny inhibicyjny wpływ fungicydu Amistar 250 SC na infekcyjność zarodników grzyba *Pandora neoaphidis* (*Erynia neoaphidis*) w stosunku do mszycy grochowej (*Acyrtosiphon pisum*) stwierdzili Latteur i Jansen [2002]. Według Fiedler i Sosnowskiej [2011] Amistar 250 SC istotnie ograniczał wzrost liniowy kolonii i zarodnikowanie trzech gatunków grzybów owadobójczych z typu workowców (Ascomycota):

Beauveria bassiana, *Isaria fumosorosea* i *Metarhizium anisopliae*. Ostatni z wymienionych gatunków okazał się najmniej wrażliwy na ten fungicyd.

Fungicyd Amistar 250 SC zastosowany zarówno w dawce zalecanej A, jak i dawce B (10-krotnie niższej od zalecanej) wykazywał zbliżone działanie toksyczne w stosunku do grzyba *Conidiobolus coronatus* (tab. 4). Grzyb ten po 20 dniach obserwacji osiągnął 33,8% wzrostu w stężeniu A, natomiast w stężeniu B – 32,8% w stosunku do kolonii kontrolnej. Li i in. [2004], badając wpływ fungicydów na kiełkowanie zarodników *Conidiobolus thombooides* i *Pandora nouryi*, stwierdzili, iż zastosowane preparaty wykazywały silne działanie inhibicyjne w stosunku do badanych grzybów.

Fungicyd Miedzian 50 WP dodany do podłoża hodowlanego w zalecanej dawce połowej uniemożliwił wzrost wszystkich testowanych gatunków owadomorków (tab. 2). Na podłożu z dawką Miedzianu 10-krotnie niższą od zalecanej nie obserwowano wzrostu kolonii grzyba *Z. radicans*. Pozostałe dwa gatunki rosnące na podłożu z dawką B Miedzianu miały znacznie ograniczony wzrost w stosunku do kontroli, zwłaszcza w początkowym okresie prowadzenia obserwacji (od 5 do 15 dnia po inokulacji), a w 20 dniu hodowli kolonie *Z. ichneumonis* i *C. coronatus* osiągnęły odpowiednio 92,1% i 83,6% wielkości kontroli. Z badań przeprowadzonych przez Zimmermanna [1976] dotyczących wpływu fungicydów systemicznych na kiełkowanie zarodników *Entomophthora aphidis*, *E. thaxterian* oraz *E. virulenta* wynika, iż badane fungicydy wykazywały bardzo toksyczne działanie na kiełkowanie zarodników tych grzybów. Klingen i Westrum [2007] podają, iż fungicydy stosowane przez nich w doświadczeniu potencjalnie zmniejszały przeżywalność i skuteczność infekowania roztoczy przez grzyba *Neozygites floridana*.

Mochi i in. [2005], badając wpływ wybranych fungicydów, insektycydów oraz herbicydów na aktywność oddechową grzyba *M. anisopliae* w wysterylizowanej glebie, stwierdzili, że jedynie fungicydy, w tym tlenochlorek miedzi, w sposób istotny ograniczały produkcję CO₂ przez tego grzyba. Tkaczuk i in. [2012], badając wpływ różnych dawek fungicydów na kiełkowanie i zarodnikowanie owadobójczego grzyba *B. bassiana*, stwierdzili, iż jego wzrost na podłożu hodowlanym najsilniej był ograniczany przez preparaty Topsin M 500 SC oraz Score 250 EC. Preparat Score w dawce zalecanej i 10-krotnie niższej od zalecanej całkowicie uniemożliwił kiełkowanie zarodników grzyba.

Miedzian 50 WP dodany do podłoża hodowlanego w dawce 100-krotnie niższej od zalecanej (C) stymulował wzrost kolonii wszystkich badanych gatunków grzybów. W 20 dniu obserwacji kolonie grzybów *Z. radicans*, *Z. ichneumonis* oraz *C. coronatus*, rosnące na pożywce z tą dawką Miedzianu 50 WP, przekroczyły znacząco wielkość kolonii kontrolnych, osiągając odpowiednio wielkość 143,4%, 140,9% i 125,7%. Informacje o stymulującym wpływie poszczególnych środków ochrony roślin, dodawanych do podłoża hodowlanych w niższych koncentracjach, na wzrost grzybów entomopatogenicznych możemy znaleźć w pracach Sapięhy i Miętkiewskiego [1992] oraz Miętkiewskiego i in. [1996]. Fakt synergistycznego oddziaływania niektórych pestycydów na rozwój grzybów patogenicznych w stosunku do szkodliwych owadów powinien być brany pod uwagę przy opracowywaniu i wdrażaniu programów integrowanej ochrony roślin.

Wpływ insektycydów

Testowane w doświadczeniu insektycydy wykazywały stosunkowo najłabsze toksyczne działanie wobec badanych grzybów owadobójczych z rzędu *Entomophthorales* spośród stosowanych w doświadczeniu laboratoryjnym środków ochrony roślin.

Tabela 3. Wielkość kolonii grzybów owadobójczych na pożywkach z dodatkiem insektycydów (wyrażona % w stosunku do kontroli)

Table 3. The size of the entomopathogenic fungi colonies on media containing insecticides (expressed as % relative to control)

Gatunek Species	Termin obserwacji* Date of observation	Insektycyd/ Insecticide					
		Karate Zeon 050 SC			Spintor 240 SC		
		A	B	C	A	B	C
<i>Zoophthora radicans</i>	5	bw	bw	72,4	bw	bw	62,1
	10	bw	bw	73,9	bw	bw	57,1
	15	bw	37,3	83,3	bw	33,3	60,0
	20	bw	46,7	87,6	bw	60,7	70,1
<i>Zoophthora ichneumonis</i>	5	bw	81,3	83,2	bw	bw	bw
	10	bw	51,7	86,2	bw	28,7	60,3
	15	bw	81,4	83,9	bw	38,4	69,9
	20	bw	107,3	93,8	bw	58,2	66,2
<i>Conidiobolus coronatus</i>	5	44,8	44,8	60,8	35,2	65,7	86,5
	10	77,5	79,7	73,2	47,4	68,9	79,7
	15	105,6	102,1	100,3	65,4	95,7	93,3
	20	103,8	126,1	101,6	67,7	97,4	112,7

* Termin obserwacji w dniach/ Date of observation in days;

A – dawka 10-krotnie wyższa od zalecanej/ dose 10 times higher than recommended; B – zalecana dawka połowa/ recommended dose; C – dawka 10-krotnie niższa od zalecanej/ dose 10 times lower than recommended; bw – brak wzrostu/ no growth

Insektycydy Karate Zeon 05 CS i Spintor 240 SC w dawce 10-krotnie wyższej od zalecanej (A) całkowicie hamowały wzrost grzybów *Z. radicans* i *Z. ichneumonis* (tab. 3). W zalecanej dawce połowej (B) bardziej toksyczny w stosunku do grzyba *Z. radicans* okazał się preparat Karate Zeon 050 CS niż Spintor 240 SC. Warto zauważyć, że wzrost *Z. radicans* w przypadku obu insektycydów obserwowano dopiero po 15 dniach od inokulacji. W 20 dniu hodowli kolonie tego gatunku rosnące na podłożu z dawką B preparatu Karate Zeon 050 CS osiągały 46,7% wielkości kolonii kontrolnych, a w przypadku preparatu Spintor 240 SC – 60,7%. W dawce C (10-krotnie niższej od zalecanej) w 20 dniu hodowli insektycydy Karate Zeon i Spintor ograniczały wzrost kolonii *Z. radicans* odpowiednio o 12,4% i 29,9% w stosunku do kontroli.

Wzrost grzyba *Zoophthora ichneumonis* obserwowany po 20 dniach w przypadku obu zastosowanych insektycydów różnił się w sposób istotny. W stężeniu B (dawce zalecanej) preparatu Karate Zeon 050 CS wynosił on 107,3% wielkości kolonii kontrolnej, a w przypadku drugiego z insektycydów wzrost ten był o 50% mniejszy i wynosił 58,2%. W stężeniu C – dawce 10-krotnie niższej od zalecanej obserwowano działanie toksyczne obu insektycydów, a kolonie grzyba osiągały odpowiednio 93,8% oraz 66,2%. Zdaniem

Wojciechowskiej i in. [1977], ograniczając stężenie preparatu w podłożu hodowlanym, insektycydy oddziałują mniej szkodliwie na rozwój kolonii grzybów owadobójczych, a więc toksyczność preparatu jest wprost proporcjonalna do wielkości dawki. W przypadku Karate Zeon 050 SC nie jest to zależność wprost proporcjonalna i wzrost kolonii jest mniejszy przy niższej dawce (tab. 3) po 20 dniach.

Preparat Karate Zeon 050 CS w każdej z zastosowanych dawek wykazywał zbliżone oddziaływanie na wzrost kolonii grzyba *C. coronatus* (tab. 3). W 15 i 20 dniu obserwacji stwierdzono lekko stymulujący wpływ tego insektycydu na wzrost kolonii grzyba w stosunku do kontroli. Kolonie *C. coronatus* rosnące na pożywkach z dodatkiem insektycydu Spintor 240 SC w stężeniu A po 20 dniu hodowli osiągnęły 67,7%, a w stężeniu C 112,7% średnicy kolonii kontrolnych. Natomiast po zastosowaniu dawki zalecanej (B) wielkość kolonii wynosiła 97,4% w stosunku do kontroli. Uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze doniesienia Tkaczuka i in. [2013], którzy stwierdzili, że insektycydy Karate Zeon 05 CS i Spintor 240 EC dodane do podłoża hodowlanego w zalecanej dawce polowej w nieznacznym stopniu wpływały na ograniczenie wzrostu kolonii pięciu gatunków grzybów owadobójczych reprezentujących workowce: *Hirsutella nodulosa*, *Isaria farinosa*, *I. fumosorosea*, *M. asiospliae* i *Lecanicillium* sp. W przeprowadzonych przez nas badaniach po raz pierwszy oceniono wpływ insektycydu Spintor 240 EC na wzrost grzybów owadobójczych z grupy owadomorków (*Entomophthorales*). Insektycyd ten, produkowany przez *Saccharopolyspora spinosa*, bakterie z grupy promieniowców (Actinomycetes), jest umieszczony na liście preparatów dopuszczonych do stosowania w uprawach ekologicznych.

Wpływ herbicydów

Testowany w doświadczeniu herbicyd Leopard Extra 05 EC w dawce 10-krotnie wyższej od zalecanej (A) i w zalecanej dawce polowej (B) całkowicie hamował wzrost kolonii trzech badanych gatunków grzybów (tab. 4). Leopard Extra 05 EC działał fungicydalnie na *Z. ichneumonis* również w stężeniu C. W przypadku *Z. radicans* rozwój grzyba na podłożu hodowlanym z dawką C herbicydu Leopard Extra 05 EC obserwowano dopiero po 15 dniach od inokulacji, a w 20 dniu jego kolonie osiągnęły 42,0% wielkości kultur kontrolnych. Najmniej toksyczne działanie w dawce C herbicyd Leopard Extra 05 EC wykazał w stosunku do *C. coronatus* (tab. 4).

Herbicyd Roundup 360 SL dodany do podłoża hodowlanego w dawce 10-krotnie wyższej od zalecanej (A) całkowicie uniemożliwiał wzrost grzybów *Z. radicans* i *Z. ichneumonis*. Najmniej wrażliwy na toksyczne działanie tego herbicydu w dawce A okazał się grzyb *C. coronatus*, niemniej średnica kolonii tego grzyba w ostatnim dniu obserwacji była mniejsza o ponad 60% w stosunku do kolonii kontrolnych.

Roundup 360 SL dodany do podłoża hodowlanego w zalecanej dawce polowej w 20 dniu hodowli ograniczał wzrost kolonii grzybów *Z. radicans*, *Z. ichneumonis* i *C. coronatus* odpowiednio o 74,3%, 71,5% i 39,7,5% w stosunku do kontroli. W przypadku dawki 10-krotnie niższej (C) inhibicyjny wpływ herbicydu na wzrost wyżej wymienionych gatunków grzybów był mniejszy, ale również istotny w porównaniu z kombinacją kontrolną.

Według Miętkiewskiego i in. [1990, 1991] grzyby owadobójcze hodowane na pożywkach z dodatkiem herbicydów cechują się mocno zahamowanym wzrostem, wytwa-

rzają nierzadko kolonie zdecydowanie mniejszych rozmiarów niż na pożywce z fungicydami i insektycydami, jak również zmieniają barwę oraz strukturę kolonii.

Li i in. [2004] stwierdzili negatywny wpływ stosowania herbicydów na wzrost i kiełkowanie grzyba *C. thomboides*. Tkaczuk i in. [2012] podali, iż najmniej toksyczne działanie w stosunku do grzyba *B. bassiana* spośród testowanych środków chwastobójczych wykazywał Roundup 360 SL. Badania Poprawskiego i Majchrowicz [1995] wykazały, że grzyby owadobójcze muszą posiadać swoisty system detoksykacji herbicydów. Świadczy o tym, zdaniem autorów, fakt, że kolonie niektórych grzybów rozpoczynają wzrost z opóźnieniem, po kilku dniach kontaktu z podłożem zawierającym herbicydy. Według Domscha [1972] mikroorganizmy glebowe, w tym grzyby, wytworzyły szereg reakcji enzymatycznych, które pomagają im w procesie degradacji pestycydów.

Tabela 4. Wielkość kolonii grzybów owadobójczych na pożywkach z dodatkiem herbicydów (wyrażona % w stosunku do kontroli)

Table 4. The size of the fungus colonies on media containing herbicides (expressed as % relative to control)

Gatunek Species	Termin obserwacji* Date of observation	Herbicyd/ Herbicide					
		Roundup 360 SL			Leopard Extra 05 EC		
		A	B	C	A	B	C
<i>Zoophthora radicans</i>	5	bw	61,5	58,1	bw	bw	bw
	10	bw	56,1	61,2	bw	bw	bw
	15	bw	36,6	40,0	bw	bw	30,0
	20	bw	25,7	38,8	bw	bw	42,0
<i>Zoophthora ichneumonis</i>	5	bw	bw	bw	bw	bw	bw
	10	bw	34,4	43,6	bw	bw	bw
	15	bw	23,1	44,1	bw	bw	bw
	20	bw	28,5	44,7	bw	bw	bw
<i>Conidiobolus coronatus</i>	5	41,6	48,1	73,7	bw	bw	28,8
	10	32,3	51,7	75,4	bw	bw	49,5
	15	33,4	54,5	84,5	bw	bw	77,4
	20	34,9	60,3	74,5	bw	bw	76,2

* Termin obserwacji w dniach/ Date of observation in days;

A – dawka 10-krotnie wyższa od zalecanej/ dose 10 times higher than recommended; B – zalecana dawka połowa/ recommended dose; C – dawka 10-krotnie niższa od zalecanej/ dose 10 times lower than recommended; bw – brak wzrostu/ no growth

Przeprowadzone przez nas badania laboratoryjne wykazały, że grzyby owadobójcze z rzędu *Entomophthorales* charakteryzują się dużą wrażliwością na chemiczne środki ochrony roślin, a zwłaszcza fungicydy i herbicydy. Według Karga i Bałazego [2009] upraszczanie struktury upraw, chemiczne zwalczanie chorób roślin, szkodników i chwastów oraz cyklicznie powtarzane zabiegi uprawowe zmierzające do intensyfikacji plonów eliminują z pól bezpośrednio lub pośrednio patogeny stawonogów, które ważne są na równi z pasożytami i drapieżcami jako grupy troficzne o szczególnych wymaganiach środowiskowych i pokarmowych. Jednak większość z nich, w tym grzyby owadobójcze, charakteryzuje się dużymi zdolnościami adaptacyjnymi do niekorzystnych warunków otoczenia, a zazwyczaj także wysokim potencjałem reprodukcyjnym i migracyjnym.

Mogą w krótkim czasie zasiedlać środowiska, z których w wyniku zabiegów agrotechnicznych zostały wyeliminowane, o ile w arealach lub otoczeniu pól znajdują się odpowiednie dla nich środowiska ostoju.

WNIOSKI

1. Spośród testowanych w doświadczeniu pestycydów dodawanych do podłoża hodowlanego najsilniej wzrost kolonii grzybów entomopatogenicznych z rzędu *Entomophthorales* hamowały fungicydy i herbicydy.

2. Fungicyd Amistar 250 SC we wszystkich stężeniach uniemożliwił wzrost kolonii grzyba *Zotophora radicans* i *Z. ichneumonis*. W stosunku do *Conidiobolus coronatus* jego działanie było znacznie mniej toksyczne. Fungicyd Miedzian 50 WP dodany do podłoża hodowlanego w zalecanej dawce polowej całkowicie hamował wzrost kolonii owadomorkowców badanych w doświadczeniu.

3. Testowane w doświadczeniu insektycydy wykazywały stosunkowo najłagodniejsze toksyczne działanie w stosunku do badanych grzybów owadobójczych. Preparat Spintor 240 SC w nieco większym stopniu ograniczał ich wzrost niż preparat Karate Zeon 050 SC.

4. Herbicyd Leopard Extra 05 EC dodany do podłoża hodowlanego w zalecanej dawce polowej uniemożliwił rozwój trzech badanych gatunków owadomorków. Mniej toksyczne działanie w stosunku do testowanych grzybów wykazał preparat Roundup 360 SL.

PIŚMIENNICTWO

- Andalo V., Moino A., Santa-Cecilia L.V.S., Souza G.C., 2004. Compatibility of *Beauveria bassiana* with chemical pesticides for the control of the coffee root mealybug *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). *Neotrop. Entomol.* 33, 463–467.
- Bałazy S., 1993. Flora of Poland. Fungi (Mycota). Vol. 24: Entomophthorales. Polish Academy of Sciences, W. Szafer Institute of Botany, Kraków.
- Bałazy S., Miętkiewski R., Majchrowicz J., 1990. Mikozy mszyc – ich znaczenie i perspektywy wykorzystania w ochronie roślin. *Zesz. Nauk Rol.* 392, 36–56.
- Domsch K.J., 1972. Interactions of soil microbes and pesticides. *Proceedings of the Symposium on Soil Microbiology, Budapest 1970. Symp. Biol. Hung.* 11, 337–347.
- Faria M.R., Wright S.P., 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol. Control* 43, 237–256.
- Fidler Ż., Sosnowska D., 2011. Wpływ wybranych fungicydów na wzrost i zarodnikowanie grzybów owadobójczych. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 51 (2), 911–915.
- Fritz R., 1977. Action de quelques fungicides sur les Entomophthorales. *Phytiatr. Phytopharm.* 26, 193–200.
- Hall I.M., Dunn P.H., 1959. The effects of certain insecticides and fungicides on fungi pathogenic to the spotted alfalfa aphid. *J. Econ. Ent.* 52, 28–29.
- Karg J., Bałazy S., 2009. Wpływ struktury krajobrazu na występowanie agrofagów i ich antagonistów w uprawach rolniczych. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 49(3), 1015–1034.
- Keller S., 2007. Systematics, taxonomy and identification. W: S. Keller (red.), *Arthropod-pathogenic Entomophthorales: Biology, Ecology, Identification*. COST Office, Luxembourg, 111–126.

- Keller S., Schweizer C., 1991. Die Wirkung von Herbiziden auf Sporulierungsvermögen des blattlauspathogenen Pilzes *Erynia neophidis*. Anz. Schädl.kd Pflanzenschutz Umweltschutz 64, 134–136.
- Klingen I., Westrum K., 2007. The effect of pesticides used in strawberries on the phytopagous mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and its fungal natural enemy *Neozigites floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales). Biol. Control 43, 222–230.
- Lateur G., Jansen J., 2002. Effects of 20 fungicides on the infectivity of conidia of the aphid entomopathogenic fungus *Erynia neoaphidis*. BioControl 47, 435–444.
- Li W., Fang X.F., Sheng C.F., 2004. Impact of sixteen chemical pesticides on conidial germination of two entomophthorean fungi: *Conidiobolus thromboides* and *Pandora nouryi*. Biocontrol Sci. Technol. 14, 737–741.
- Majchrowicz J., Poprawski T., 1993. Effects *in vitro* of nine fungicides on growth of entomopathogenic fungi. Biocontrol Sci. Technol. 3, 321–336.
- Miętkiewski R., Dziągiewska M., Janowicz K., 1988. Entomopathogenic fungi isolated in the vicinity of Szczecin. Acta Mycol. 33 (1), 123–130.
- Miętkiewski R., Ignatowicz S., Górski R., 1996. Comparative effects of BioNEEM™ and some synthetic insecticides on the mycelial growth of entomopathogenic fungi *in vitro*. Pestycydy 1, 15–24.
- Miętkiewski R., Sapięha A., Miętkiewska Z., 1990. Wzrost grzybów owadobójczych na pożywkach zawierających herbicydy stosowane w sadownictwie. Acta Mycol. 25 (2), 35–50.
- Miętkiewski R., Tkaczuk C., Zasada L., 1991. Występowanie grzybów entomopatogennych w glebie ornej i łąkowej. Acta Mycol. 27 (2), 197–203.
- Mochi D.A., Monteiro A.C., Bartosa J.C., 2005. Action of pesticides to *Metarhizium anisopliae* in soil. Neotrop. Entomol. 34 (6), 961–971.
- Poprawski T.J., Majchrowicz I., 1995. Effects of herbicides on „*in vitro*” vegetative growth and sporulation of entomopathogenic fungi. Crop Prot. 14, 81–87.
- Sapięha A., Miętkiewski R., 1992. Wpływ inhibitorów syntezy chityny na wzrost grzybów owadobójczych *in vitro*. Acta Mycol. 27 (2), 189–195.
- Tkaczuk C., 2001. Wpływ wybranych pestycydów stosowanych w ochronie sadów na wzrost grzybów owadobójczych. Biul. Nauk. 12, 375–383.
- Tkaczuk C., 2008. Występowanie i potencjał infekcyjny grzybów owadobójczych w glebach agrocenoz i środowisk seminaturalnych w krajobrazie rolniczym. Rozpr. Nauk. 94, Wyd. Akademii Podlaskiej, Siedlce.
- Tkaczuk C., Krzyczkowski T., Głuszcak B., Król A., 2012. Wpływ wybranych środków ochrony roślin na wzrost kolonii i kiełkowanie zarodników owadobójczego grzyba *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Prog. Plant Prot./ Post. Ochr. Roślin 52 (4), 269–274.
- Tkaczuk C., Majchrowska-Safaryan A., Zawadzka M., 2013. Wpływ spinosadu oraz wybranych insektycydów syntetycznych na wzrost grzybów entomopatogennych w warunkach *in vitro*. J. Res. Appl. Agric. Engng. 58 (4), 194–198.
- Todorova S.I., Coderre D., Duchesne R.M., Côté J.C., 1998. Compatibility of *Beauveria bassiana* with selected fungicides and herbicides. Environ. Entomol. 27, 427–433.
- Wilding N., Brobyn P.J., 1982. Effects of fungicides on development of *Entomophthora aphidis*. Trans. Br. Mycol. Soc. 75, 297–302.
- Wojciechowska M., Bajan C., Kmitowa K., 1977. The effect of carbamide herbicides, Linuron and Monolinuron on three species of entomopathogenic fungi. Pol. Ecol. Stud. 3 (2), 43–57.
- Zimmermann G., 1976. Über die Wirkung systemischer Fungicide auf Aphiden befallende Entomophthoraceen (Zygomycetes) *in vitro*. Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 83 (5), 261–269.
- Zimmermann G., 2007. Review on safety of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Biocontrol Sci. Technol. 17, 879–920.

Summary. The intensive use of chemical pesticides is still the most common method for pest control in agricultural crops. Past research shows that their use may have a negative impact on the development, infective potential and survival of entomopathogenic fungi. The aim of the study was to investigate the effect of selected pesticides on the growth of entomopathogenic fungi from entomophthorelean (*Entomophthorales*) order. Under laboratory conditions, the effect of fungicides: Miedzian 50 HR and Amistar 250 SC, insecticides: Karate Zeon 050 CS and Spintor 240 SC and the herbicides: Roundup 360 SL and Leopard 05 EC, added to the culture medium at different doses, on the growth of fungal colonies of *Zoophthora radicans*, *Z. ichneumonis* and *Conidiobolus coronatus* was investigated. Based on the survey, it was found that the growth of fungal colonies was the most inhibited by the applied fungicides and herbicides, while the insecticides showed relatively weakest toxic activity against studied fungi. Both species of fungi of the genus *Zoophthora* proved to be more sensitive to the toxic effects of pesticides than *C. coronatus*.

Key words: entomopathogenic fungi, *Entomophthorales*, fungicides, insecticides, herbicides