

**ЕНТОМОПАТОГЕННИЙ ВІРУСНИЙ ПРЕПАРАТ ВІРИН КД. ОТРИМАННЯ
ТА ВИКОРИСТАННЯ В ТЕХНОЛОГІЯХ ЗАХИСТУ ЯГІДНИХ КУЛЬТУР**

*Створено оригінальний ентомопатогенний препарат Вірин КД, в основі якого віруси ядерного поліедрозу та гранулозу смородинового *Itame wauariga* Z. та агрусового *Abraaxas grossularia* Z. п'ядунів. Препарату властива виражена інсектицидна дія відносно гусениць п'ядунів, листокруток, молей та вогнівок, які пошкоджують кущові ягідники. Вірин КД пропонується для захисту ягідних культур в інтегрованих системах з переважним використанням біологічного методу, а також в системах органічного землеробства. Ефективність препарату по відносно цільових об'єктів складає 65–75%. Вірин КД дозволяється використовувати у суміші з бактеріальними і грибовими препаратами.*

Постановка проблеми

Комплекс шкідливих видів традиційних для України ягідних культур – смородини, малини, агрусу – нараховує біля 120 видів [1]. Серед них значна частка лускокрилих видів, що пошкоджують вегетативні і генеративні органи й завдають тим самим доволі значної шкоди урожаю. Існуючі технології контролю чисельності фітофагів ягідників використовують лише хімічні інсектициди. Наразі у Переліку препаратів, дозволених для використання в Україні на ягідниках рекомендовано біля 10 препаратів інсектицидної дії, у тому числі Препарат 30, з нормою витрати 25–40 кг/га. Однак, специфіка використання ягідної продукції має певні гігієнічні обмеження стосовно залишків метаболітів в ягодах. Розвиток основних видів, що завдають значної шкоди рослинам проходить у період цвітіння і формування урожаю. Очевидно, що захист ягідників у цей період вегетації повинен здійснюватися шляхом використання біологічних та інших нехімічних прийомів й засобів, серед яких мікробіологічні препарати вірусної природи [5,7,13].

Аналіз останніх досліджень та постановка завдання

Сучасний асортимент вірусних інсектицидів досить обмежений, і практично для захисту агроценозів використовують Вірин НШ, Вірин КШ, Вірин ГЯП, Вірин ХС, Вірин ОС, Вірин АББ, Вірин Діпріон, Вірин ЗСП. Останні два препарати занесені до Державного реєстру України і використовуються у захисті лісових насаджень. Перераховані препарати використовуються як складові частини інтегрованих технологій захисту переважно овочевих, плодкових та інших багаторічних насаджень. Світовий та європейський досвід свідчить про високу ентомоцидну активність вірусних препаратів проти цільових фітофагів, їх

асортимент постійно розширюється [8]. У той же час у технологіях захисту ягідників досі не запропоновано жодного інсектицидного препарату на основі ентомопатогенних вірусів. Доцільність відновлення наукових досліджень з польдашим виробництвом препаратів цілком необхідне якщо врахувати основні вимоги, які входять до складу екологічного імперативу, зокрема заборона використовувати технології, що завдають шкоди навколишньому середовищу і якості урожаю.

Таким чином, головним завданням наших досліджень було отримання безпечного для урожаю, людини і оточуючого середовища препарату на основі вірусів ядерного поліедрозу і гранульозу з досить широким спектром ентомоцидної дії по відношенню до групи лускокрилих видів.

Методика досліджень

Передусім, проводили збір з кущів смородини гусениць смородинового *Itame wauaria* Z. та агрусового п'ядунів *Abraxas grossularia* Z. 3–4 віку у співвідношенні 1:1. Гусениць разом з гілками переносили в умови лабораторії для подальшого вирощування. Імітували стресові фактори при утриманні гусениць – це голодування, висока температура, неприродні, некомфортні умови утримання. Гусениць утримували за високої температури $+32\pm 2^\circ\text{C}$ протягом 4,5–5,0 годин, період голодування становив 1,5 доби. Внаслідок дії стресових факторів у популяціях обох видів спонтанно проявлялися захворювання вірусної природи – ядерний поліедроз і гранульоз, які у природних популяціях комах знаходяться в латентному стані [4,9]. Вірусну масу поліедрів накопичували у живих культурах гусениць. Збудник виділяли та ідентифікували [2,5,12]. Діагностичні дослідження проводили за допомогою світлового мікроскопу. В окремих випадках застосовували методи забарвлення за прописами Гімза-Романовського і Швецової [2]. Гусениць, які загинули, подрібнювали і розтирали у ступці, додаючи воду у відповідному співвідношенні, фільтрували, розливали у пробірки об'ємом 15–20 мл. Далі проводили очищення від домішок і готували препарат у такому співвідношенні компонентів, мас%/: вірусна суспензія – 0,7...0,8; гліцерин – 45,0...45,6; активоване вугілля – 15,5...16,6; двоокис титану – 1,5...2,0; вода – решта [3,10,11].

Результати досліджень

Встановлена інсектицидна дія препарату відносно цільових об'єктів [10,11]. При цьому, спостерігається пряма залежність показника величини смертності гусениць від концентрації інокулюму. Така залежність спостерігається в експериментах з гусеницями обох видів п'ядунів. Результати отримано у досить широкому діапазоні температур і відносної вологості повітря ($17\text{--}24^\circ\text{C}$ та 65–85 %, відповідно). Більше того, понад 30 % гусениць п'ядунів характеризувалися вираженими показниками життєздатності. Порівняльні показники інсектицидної дії Вірину КД наведені у табл.1.

Таблиця 1. Порівняльні показники інсектицидної дії препарату Вірин КД відносно гусениць п'ядунів, що пошкоджують ягідники

Варіанти	Кількість поліедрів	Загинуло гусениць п'ядунів від поліедроза, %
Ентомопатогенний вірусний інсектицид Вірин КД <i>оригінальна технологія отримання</i>	1,80x10 ⁵	50,3
	1,80x10 ⁶	56,8
	1,80x10 ⁷	78,9
	1,80x10 ⁸	94,6
Нативний вірус смородинового п'ядуна	1,80x10 ⁵	40,3
	1,80x10 ⁶	48,6
	1,80x10 ⁷	70,2
	1,80x10 ⁸	84,6
Нативний вірус агрусового п'ядуна	1,80x10 ⁵	41,2
	1,80x10 ⁶	46,3
	1,80x10 ⁷	69,7
	1,80x10 ⁸	80,2

Викладене свідчить про певну перспективу використання препарату в досить контрастних умовах середовища, властивих регіонам Полісся та Лісостепу. Крім того, як показали наші дослідження, у таких специфічних екологічних нішах, як кущі ягідників та прикоренева рослинність створюється специфічний мікроклімат з пониженим рівнем сонячної інсоляції та вологості повітря. Враховуючи характер заселення кущів гусеницями п'ядунів, листокруток, молей та вогнівок, їх температурні градієнти цілком співпадають з параметрами інсектицидної активності запропонованого препарату. У перспективі, за умов розширення ареалу певних видів лускокрилих фітофагів ягідників, існуючі біолабораторії України цілком можуть засвоїти малотоннажне напрацювання цього біологічного інсектициду.

Оцінювали також ентомопатогенну активність вірусного інсектициду відносно гусениць п'ядунів. Проводили відбір фізіологічно здорових гусениць 3-го віку і формували 3 варіанти з різними варіаціями. Визначали рівень ентомопатогенної активності вірусного начала у складі препарату Вірин КД в оптимальному режимі (варіанти 1,2) і режимі, коли компоненти були за межами оптимуму (варіант 3). Результати дослідження представлені у табл.2.

Гліцерин у складі композиції виконував роль інертного наповнювача. Специфічна роль компонентів препарату – активованого вугілля і двоокису титану як протектантів, які захищають діючу речовину, віруси поліедроза і гранульозу від пагубної дії сонячної інсоляції та інших стресових факторів синоптичного та антропічного характеру. Суттєвим є і те, що препарат пропонується у вигляді концентрату емульсії. Переваги цієї форми препарату полягають у тому, що діюча речовина після того, як вона потрапляє у шлунково-

кишковий тракт, практично відразу ж починає інтенсивно продукувати поліедри, які проникають всередину клітин організму, порушують нормальний режим метаболізму. Через декілька годин гусениці втрачають рухову активність, знижується інтенсивність живлення.

Таблиця 2. Ентомопатогенна активність вірусного інсектициду Вірин КД відносно гусениць п'ядунів

Варіанти	ЛК ₅₀ , %	Довірчі інтервали, %	ЛК ₅₀ , дні	Довірчі інтервали, дні	ЛЧ ₉₀	ЛЧ ₉₀ /ЛЧ ₅₀
<i>Композиція №1</i> Вміст ВЯП – 0,7; і- 45,0; активоване вугілля – 16,0; двоокис титану – 1,5; вода–решта	0,03	0,01-0,03	5,1	4,4-7,5	6,0	1,3
<i>Композиція №2</i> вміст ВЯП – 0,8; гліцерин – 45,6; активоване вугілля– 16,6; двоокис титану– 2,0; вода–решта	0,03	0,01-0,03	4,9	4,2-7,6	7,7	1,6
<i>Композиція №3</i> вміст ВЯП – 0,5; гліцерин – 42,0; активоване вугілля– 12,5; двоокис титану– 1,0; вода–решта (за межами оптимальних режимів)	0,18	0,12-0,21	12,0	10,2-18,7	24,6	2,0
Спосіб – прототип	0,18	0,13-0,26	18,4	13,5-22,8	36,8	2,0
НІР ₀₅	-	-	2,2	-	3,1	-

У підсумку частина гусениць, понад 80-95 %, гине. Популяція, що залишилася життєздатною, є носієм збудника, який закріплюється у подальшому на популяційному рівні і відбувається його циркуляції серед сприйнятливих видів фітофагів тривалий час.

Як показали наші спостереження, ентомофаги уражують переважно тих гусениць, які залишаються життєздатними. Це свідчить про те, що самиці проводять своєрідний фізіологічний моніторинг гусениць комах-господарів і заражають тільки тих, в організмі яких виживають їх нащадки. Крім того, після зараження самиці ентомофагів стають носіями збудника вірусної інфекції і, частково, заражають інтактні популяції в інших ділянках агроценозу та поза його межами. Ця властивість характерна тільки переважно вірусним інфекціям. Важливим при цьому є те, що вірус абсолютно не діє на життєздатність ентомофагів внаслідок високої видоспецифічності по відношенню до певних видів ентомофагів. Матеріали варіанта 3 свідчать про те, що максимально ентомоцидна дія реалізується тільки у межах оптимальних параметрів усіх інгредієнтів у складі композиції.

Враховуючи те, що арсенал мікробіологічних препаратів досить значний і нараховує понад 20 найменувань, проводилася серія лабораторних досліджень із визначенням переваг або недоліків препарату Вірин КД, що пропонується порівняно з препаратами, які широко використовуються. У даному випадку, мова йде про ентомопатогенний бактеріальний препарат Дендробацилін (табл. 3).

Таблиця 3. Порівняльна дія біологічних препаратів відносно гусениць другого віку смородинового п'ядуна

Варіанти	Температура, °С	Смертність гусениць, % з поправкою на загибель у контролі, дні					LT ₅₀ , дні	LT ₉₀ , дні
		2-й	4-й	6-й	8-й	10-й		
Вірин КД	15	1,1±0,3	4,8±1,1	7,9±1,7	11,7±3,1	25,4±3,2	19,1±0,7	33,4±0,3
	20	3,0±0,9	6,8±1,4	9,7±1,8	30,5±4,1	40,7±3,1	15,2±0,5	24,1±0,8
	25	10,1±1,1	15,1±1,7	29,6±2,5	48,7±4,3	59,3±4,2	9,1±0,4	15,3±0,6
	30	10,9±1,3	34,6±2,3	58,7±3,3	86,5±7,8	89,7±6,4	5,2±0,4	8,1±0,5
Дендробацилін к. п. (концентрований порошок)	15	0,8±0,1	2,8±0,7	4,6±0,8	7,2±1,6	8,3±1,2	88,5±0,0	161,2±1,1
	20	3,5±0,8	8,5±1,4	5,4±1,7	8,5±2,1	32,5±4,5	59,7±0,6	123,6±0,9
	25	4,2±0,7	9,2±1,7	30,7±1,8	40,5±3,1	61,2±7,4	12,6±0,4	20,5±0,4
	30	9,1±1,4	21,6±2,4	40,7±3,9	53,4±4,6	73,4±5,6	9,7±0,3	17,3±1,3

Для цього, у лабораторному експерименті за різних градацій температур визначали рівень смертності гусениць 2-го віку смородинового п'ядуна протягом 10-ти днів після обробки. Крім того, визначали такі характеристики, як LT₅₀ та LT₉₀. [6,8,9,10,11]. Встановлено, що як і в попередніх дослідженнях, спостерігається залежність рівня смертності гусениць від температури та тривалості контакту гусениць з робочою суспензією препарату. Показано виражену інсектицидну дію Вірину КД порівнянні з Дендробациліном як за показниками смертності гусениць в динаміці (від 2-го до 10-го дня) так і за показниками загибелі LT₅₀ і LT₉₀.

Наведені матеріали свідчать про те, що запропонований препарат характеризується як технологічністю (менші норми витрати), тривалості інсектицидної дії та післядії, яка проявляється у тому, що вірусемія, як правило, пригнічує овогенез самиць, блокує функцію гермарію та вітеллярію, внаслідок чого репродуктивний потенціал самиць знижується у 3–4 рази порівняно з інтактними популяціями. Натомість, наприклад, дія бактеріальних препаратів обмежується тільки досить високим рівнем смертності впродовж перших 5-ти днів без вираженої післядії на популяцію. Таким чином, діюча речовина препарату Вірин КД – віруси ядерного поліедрозу і гранульозу – складова частина екосистем, агроценозів, яка зберігається та накопичується в організмі лускокрилих фітофагів природних популяцій, що пошкоджують ягідні культури.

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. Обґрунтована технологія отримання ентомопатогенного вірусного інсектициду Вірин КД. На основі токсикологічної оцінки обґрунтовані оптимальні параметри використання препарату у складі інтегрованих систем захисту ягідників з визначенням норм, строків та кратностей застосування препарату. Більш детальна інформація щодо процедури отримання препарату представлена у патенті України № 33724.

2. Встановлено виражену ентомоцидну дію вірусного препарату Вірин КД порівняно з бактеріальними препаратами, зокрема з Дендробациліном. Переваги вірусного інсектициду полягають не тільки у інсектицидній дії відносно гусениць молодших віків, але і вираженої післядії, що стосується блокування процесу овогенезу, дисфункції гермарію, вітеллярію та морфологічних змін оваріол, внаслідок чого знижуються потенційна та реальна плодючість самиць.

3. Експериментально встановлено, що перетинчастокрилі паразити є носіями вірусного інкулюму, який переноситься на значні відстані.

Враховуючи досить інтенсивне використання хімічних пестицидів у технологіях захисту ягідників, очевидно, що такі дослідження повинні бути поглиблені. Акцент ставиться на особливостях післядії вірусного інсектициду, можливості циркуляції його як частини біоценозів, ефективності природних популяцій паразитів як переносників патогена в горизонтальному напрямку. Необхідно також оптимізувати режими комплексного використання вірусних препаратів разом з іншими інсектицидами, фунгіцидами та ентомофагами.

Література

1. Вредители сельскохозяйственных культур и лесных насаждений / под общ. ред. В. П. Васильева. К. : Урожай, –1988. – Т.3 – 470 с.

2. Воробьева Н. Н. Энтомопатогенные вирусы / Воробьева Н. Н., Новосибирск : Наука – 1976. – 284 с.

3. Гораль В. М. Дія мікробних препаратів на капустяного білана / В. М. Гораль, Н. В. Лана // Захист рослин. –1981. Вип. 28. – С. 29–32.

4. Гершензон С. М. Явление латентности у полиэдренных вирусом насекомых / С. М. Гершензон // Журн. общ. биологии. –1961. – Т. 31. – С. 32–41.

5. Дрозда В. Ф. Ентомопатогенні віруси: біологічна характеристика, отримання препаративних норм, практика використання в захисті рослин / В. Ф. Дрозда // Захист рослин. – 2000. – № 8. – С. 21–22.

6. Кауч Т.Л. Формы микробных инсектицидов: обычные формы / Т. Л. Кауч // Формы микробных инсектицидов и методы применения. – М. : Колос, – 1981. – С. 5–16.

7. Кочерга М. О. Технологічні особливості захисту агроценозів ягідників в системі органічного землеробства / М. О. Кочерга // Збірник праць Вінницького нац. аграр. ун-ту. – 2011. – С. 45–47.

8. Лаппа Н. В. Особенности применения вирусных препаратов для ограничения численности чешуекрылых – вредителей садовых и овощных культур на Украине / Н. В. Лаппа, В. Ф. Дрозда, В. М. Гораль // Молекулярная биология. 1983. – Вып. 34. – С. 56–63.

9. Орловская Е. В. Вирусы ядерного полиедроза в борьбе с вредными насекомыми / Е. В. Орловская // Биологические средства защиты растений. – М. : Колос, 1974. – С. 335–345.

10. Пат. № 33254 Україна. Спосіб отримання вірусного інсектицидного препарату Вірин МВ / Кочерга М. О., Дрозда В. Ф.; // заявник і патентовласник Національний аграрний університет. заяв. 11.01.2008; опубл. 10.07.2008, Бюл. № 11. – С. 1–6.

11. Пат. № 33724 Україна. Спосіб отримання ентомопатогенного вірусного інсектициду Вірин КД / Дрозда В. Ф., Кочерга М. О.; // заявник і патентовласник Національний аграрний університет; заяв. 23.02.2008; опубл. 10.07.2008, Бюл. № 11. – С. 1–6.

12. Тарасевич Л. М. Вирусы насекомых / Тарасевич Л. М. // – М. : Наука, 1975. – 198 с.

13. Franz J. M. Berechnung des Wirkungsgrades einer microbiologischen Bekämpfung von Schadinsekten. / J. M. Franz // Anz. Schädlingssk., 1968, 41, № 5. – s. 65–71.
