

EVALUAREA ESTIMĂRII EFICACITĂȚII INSECTICIDE A BACULOVIRUSULUI ÎN COMBATAREA OMIZII-PĂROASE-A-DUDULUI

Stângaci Aurelia, *cercetător științific*, Ciuhrii Mircea, *Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecția a Plantelor al AȘM*

Baculoviruses have shown to be a good tool for insect pest control. Numerous natural baculoviruses have been used as biopesticides worldwide as they are naturally occurring pathogens, highly specific with limited host range, and without lethal effects on non-target organisms. The aim of the present paper is to discuss the results of two years attempt of biological control of *H. cunea* populations with a baculoviral product. In the report there are also submitted the results of the joint application of the biological preparation Virin ABB-3. The preparation is based on viruses of nuclear polyhedrosis and granuoses with cumulative and synergetic action. In such context, the problem is connected to large application of baculoviral preparation that have become a reality only by elaboration and organization of production of such biological means, work registered after execution of deep biotechnological researches. Meanwhile, the experiment in which viruses were used and successfully control of the species *H.cunea* persistently indicate that the insect viruses play an important role in restoring and constructing stable natural and antropinated ecology system.

Key words: *Hyphantria cunea*, natural and antropinated ecology system, biological control, baculoviral preparation, VG, VPN

Actualmente vânzările de biopesticide pe piață mondială constituie circa 396 mil. \$ pe an, aflându-se în continuă ascensiune. În pofida acestei majorări, piața de biopesticide microbiene încă reprezintă doar aproximativ 1% din vânzările de pesticide chimice. Statisticile internațională arată că piața globală de biopesticide a evaluat la 1,796.56 mil. de \$ în 2013 și este de așteptat să ajungă la 4,369.88 mil. de \$ până în 2019, fiind în continuă creștere, cu 16,0% din 2014 până în 2019. Țările Americii de Nord rămân lideri ai producerii și realizării biopesticidelor pe piața mondială. Țările Europene treptat devin cei mai mari consumatori ca urmare a stricteții în respectarea regulamentul de utilizare a pesticidelor și sporirea cererii de produse ecologice. Statele Unite ale Americii, China, Rusia, India sunt principalii producători de pesticide microbiene [3, 1].

Succesul combaterii microbiologice a dăunătorilor forestieri și culturilor agricole este condiționat de existența germenilor patogeni care să răspundă la anumite exigențe. Aceste din urmă se referă la unele caracteristici ale patogenelor cum sunt virulența, specificitatea, rezistența, conservarea, transmisibilitatea. Cercetările de patologia insectelor care se desfășoară în prezent pe plan mondial sânt dirijate, în principal, spre cunoașterea potențialității germenelor entomopatogeni, îndeosebi a virusurilor. Un criteriu de bază în combaterea virologică îl constituie capacitatea de conservare a virusurilor, care își mențin viabilitatea în natură o perioadă destul de îndelungată și care rezistă mai bine în condiții de stocaj înainte de folosire. Baculovirusurile, ca agenți naturali, pătrunzând în componența entomocenozelor și fiind transmis pe cale verticală și orizontală, participă la reglarea densității populațiilor de insecte dăunătoare. Principalul avantaj față de alte mijloace de combatere, baculovirusurile sunt componente naturale a ecosistemelor, astfel încât acestea pot fi folosite pentru prevenirea și limitarea dezvoltării diferitor dăunători. În multe țări se desfășoară cercetări ample în direcția elaborării și implementării largi a baculovirusurilor (Canada, S.U.A., China, Japonia, Ungaria, Turcia, România, Italia, Spania, Germania, Rusia, Ucraina, etc.), care urmăresc să elucideze aspectele de epizootiologia virusurilor

poliedrozei nucleare, pentru a se putea cunoaște factorii care favorizează apariția și dezvoltarea epizootiilor virotice și activității biologice înalte stau la elaborarea preparatelor baculovirale [4].

În acest context, ne-am propus urmărirea secvențială a tuturor verigilor ce compun tehnologiile de producție ecologice pentru a se evidenția prin metode de cercetare specifică care sunt etapele de acțiune susceptibile de a fi aplicate în scopul optimizării tehnicii organizaționale și funcționale ale exploatațiilor agricole ecologice. Scopul stabilit în prezenta lucrare vine să răspundă acestei problematici prin analize complexe privind identificarea și dezvoltarea unei alternative deosebit de integrată o sușă de baculovirus apărută în mod natural într-un biopreparat stabil, sigur și eficient în controlul speciei „țintă”.

O problemă importantă în patologia insectelor o constituie cunoașterea principiilor care stau la bază dinamicii îmbolnăvirii populațiilor de dăunători, a epizootiologiei bolilor insectelor. Recunoașterea necesității aplicării virusurilor entomopatogene și a insecticidelor baculovirotice, elaborate în baza lor, este determinată de originalitatea calitativă a agenților patogeni, printre care specificitatea și caracterul epizootic al lor constituie avantajele principale față de insecticidele chimice. Manifestarea caracterului epizootic al baculovirusurilor, fiind o determinantă polifactorială, are loc periodic și este condiționată de un șir de factori biotici și abiotici. În scopul utilizării raționale a acestor pârghii eficiente, este necesară cunoașterea profundă a mecanismelor și legităților ce determină reglarea densității populațiilor de insecte dăunătoare sub acțiunea baculovirusurilor [2]. Avantajele enumerate mai sus determină în mare măsură necesitatea aplicării în condițiile de producere a preparatelor virotice, însă, e necesar de recunoscut că deocamdată volumul de folosire a lor rămâne redus. Una din multiplele cauze care determină stagnarea în domeniul aplicării largi a insecticidelor virotice este lipsa unor cercetări profunde în ceea ce privește caracterul epizootic al virusurilor entomopatogene. Paralel cu efectul protector al baculovirusurilor e necesar de menționat și caracterul biocenotic de reglare alor. Mecanismele de declanșare și de dezvoltarea a epizootiilor cauzate de baculovirusuri deocamdată rămâne cercetate insuficient probelor [7].

Într-un complex biocenotic, populația insectei – gazdă reprezintă unul din elementele al ecosistemului, în care alături de insecta – gazdă, se găsesc dispersate într-un număr mai mare sau mai mic și microorganismele entomopatogene. Acestea, printr-o înmulțire mai rapidă sau mai lentă, se pot acumula în masă, în populația *H. cunea* provocând epizootii în urma cărora gradația insectei se poate stinge pe cale naturală.

Dintre toate tipurile de epizootii care apar în populația *H. cunea*, cel mai important prin rolul limitativ sunt considerate virozele, provocate de virusul poliedrozei nucleare și virusul granulozei fiind factorul determinant al stingerii gradațiilor insectelor. Importanța epizootiilor de tipul viroze nucleare și virusul granulozei, rezultă atât din frecvența cu care apar în ecosisteme, cât și din amploarea cu care se manifestă în unele perioade, când practic populația dăunătorului poate fi redusă sub nivelul pragurilor de vătămare.

Transmiterea orizontală a infecției depinde de mare măsură de rezistența agenților patogeni și de gradul de acțiune a factorului mediului înconjurător. În condițiile optime ale mediului în cadrul populației de insecte dăunătoare persistă permanent, pe lângă insectele sănătoase, și insecte bolnave sau purtătoare de infecții. Aceasta asigură formarea focarelor de infecție, unde se stabilește un fon de infecție virotică și se înregistrează transmiterea permanentă a patogenului. În componența biocenozelor, îndeosebi de cele naturale, am depistat epizootii însoțite cu moartea în masă a insectelor dăunătoare. Asemenea epizootii au fost înregistrate deosebit de frecvent la Omida-păroasă-a-dudului.

La *H. cunea* dezvoltarea epizootică a bolii se înregistrează atât în cazul densității înalte a populației dăunătorului, medii și chiar mici. Aceasta condiționează moartea în masă a insectei-gazdă în cea mai mare parte a arealului de răspândire. În cazul constituirii patogenezei baculovirale stabile se înregistrează erupția și dezvoltarea epizootică a infecției care asigură reglarea naturală a densității populațiilor dăunătorilor la un nivel destul de redus a *H. cunea*.

Rezultatele înregistrate nu numai că demonstrează caracterul epizootic al baculovirusurilor *H.cunea*, ci și servesc în calitate de dovezi incontestabile la necesitatea elaborării și aplicării preparatelor baculovirale în protecția integrată a culturilor agricole și silvice. Aceasta confirmă perspectivele dezvoltării metodelor microbiologice de protecție în viitorul apropiat [6, 4].

Investigațiile virusurilor la insecte dăunătoare, necesitau cercetări profunde ale relațiilor dintre agentul patogen și celula gazdă, precum și elaborarea metodelor de indentificarea a virusurilor. Investigații multianuale au fost legate de producerea preparatului viral. Au fost elaborate metode de sporire a activității

biologice, de producere și bioconservare a biomasei virale, precum și de obținere a formelor preparative eficiente și tehnologice (Tabelul 1.1).

Tabelul 1.1. Valorile TL_{50} la diferitele vârste ale larvelor în rezultatul tratamentului cu preparatul viral

Vârsta larvelor	TL50 (zile)	
	2008	2015
Anii		
Larve de vârsta I (L1)	4,8	4,5
Larve de vârsta a II-a (L2)	5,1	5,3
Larve de vârsta a III-a (L3)	6,5	6,7
Larve de vârsta a IV-a (L4)	9,3	9,8
Larve de vârsta V-a (L5)	13,3	14,5
Larve de vârsta V-a (L6)	14,8	15,2
Larve de vârsta V-a (L7)	15,1	15,4
DEM 0,05	2,3	2,5

Rezultatele obținute privind activitatea biologică în baza determinării TL_{50} la diferite vârste larvare a *H. cunea* în condiții dirijate au demonstrat că în primul an de cercetare valorile TL_{50} au fost cuprinse între 4,8 zile în cazul larvelor L1 și 13,3 zile în varianta larvelor de vârsta a V-a. Comparând datele prezentate în tabelul 4.6, vom observa lipsa diferenței semnificative a rezultatelor înregistrate. Rezultatele din tabel denotă că valorile TL_{50} obținute în anul 2008 au confirmat rezultatele din primul an care au constituit 4,5 zile la L_1 și 15,4 zile la L_7 .

Experiențele de combatere pe scară largă a larvelor specifice de lepidoptere defoliatoare cu ajutorul biopreparatului Virin-ABB-3 obținut pe diferite specii de plante, precum și eficacitatea biologică a preparatului s-a efectuat prin determinarea procentului de mortalitate, rezultatele cărora sunt prezentate în tabelul 1.2.

Tabelul 1.2. Activitatea biologică biopreparatului Virin-ABB-3 asupra *H. cunea* pe diferite specii de plante

Denumirea plantei	Nr. de larve	Concentrația	Numărul larvelor moarte după, zile					Procentul mortalității			Eficiența biologică după Abbot, la ziua 15, %
			3	5	7	10	15	5 zi	10 zi	15 zi	
Dud (<i>Morus L</i>)	40	10^6	0	12	19	34	39	30,0	85,0	97,5	97,3
Arțar (<i>Acer negundo L.</i>)	40	10^6	0	8	16	29	38	20,0	72,0	95,5	95,2
Nuc (<i>Juglans regia</i>)	40	10^6	0	6	9	28	38	15,0	70,0	85,0	84,2
Cireș (<i>Cerasus avium</i>)	40	10^6	0	5	10	27	32	12,0	65,0	80,0	78,9
Salcâm (<i>Robinia pseudacacia L.</i>)	40	10^6	0	2	5	16	30	5,0	40,0	75,0	73,8
Martor	40	10^6	0	0	2	4	4	0	5,0	5,0	-
DEM _{0,05}											3,6

Rezultatele prezentate în tabelul 1.2 demonstrează că mortalitatea de toate vârstele ale Omizii-păroase-a-dudului a fost înregistrată la dud - 97,5%, cea mai scăzută – salcâm 75,0%. Eficacitatea biologică după Abbot după 15 zile a reprezentat 73,8%.

Luând în calcul necesitatea analizei complexe a preparatelor baculovirale și aprecierea la justa valoare a lor din diferite puncte de vedere, a fost testat insecticidul baculoviral.

Tabelul 1.3. *Activitatea biologică a baculovirusului nou asupra H. cunea la aplicarea frunzelor de dud*

	Repetiții	No. de larve	Virsta larvelor	Concetrația poliedrilor./ml	Mortalitatea după			
					7 zile		15 zile	
					No. de larve	%	No. de larve	%
VG 2011	I	50	II-III	10 ⁷	24	48,0	39	78,1
VG 2012	II	50	II-III	10 ⁷	25	50,0	41	82,2
VPN 2011	I	50	II-III	10 ⁷	26	52,0	37	74,5
VPN 2012	II	50	II-III	10 ⁷	27	54,0	40	80,3
VPN±VG (1:1)	I	50	II-III	10 ⁷	28	56,0	46	92,6
VPN±VG (1:1)	II	50	II-III	10 ⁷	28	56,0	44	88,2
Martor	I	50	II-III	10 ⁷	0	-	1	4.0
Martor	II	50	II-III	10 ⁷	0	-	2	6.6
DEM _{0,05}								3,2

Datele prezentate în tabelul 1.3 demonstrează că mortalitatea larvelor la aplicarea VG 2011 la a 15 zi a fost de 78-82%, iar VPN 74-80%. La aplicarea ambelor virusuri, VG și VPN mortalitatea a crescut de la 74% până la 92%. Materialul a fost utilizat pentru pregătirea preparatului Virin-ABB-3. Sușele reînnoite de VPN și VG din anul 2011 au fost folosite pentru obținerea materialului viral în experiențele cu schimbarea tehnologiilor de obținere a preparatelor virale pe baza acestor sușe la generația a I-II-a de *H. cunea* în anul 2012.

Din rezultatele obținute confirmă că baculovirusurile în biocenoză își păstrează activitatea biologică. Dezvoltarea insectelor lepidoptere este strâns legată de calitatea hranei administrate larvelor și valorile ponderale și dimensionale ale Omizii-păroase-a-dudului variază mult în funcție de planta gazdă.

Un element important a procesului tehnologic de producere a insecticidelor virale este elaborarea formei preparative. Pentru aceasta este necesar determinarea calităților ingredientelor insecticidelor virale, care trebuie să asigure stabilitatea către razele ultraviolete, dispersitatea și stabilitatea suspensiei formate, lipirea pe frunze și menținerea activității biologice a preparatului. Recunoașterea necesității și eficienței insecticidelor baculovirale este asigurată de originalitatea calitativă a ingredientului activ și de un șir de avantaje față de metodele chimice, printre care cea mai importantă este specificitatea lor. Aplicarea largă a preparatelor baculovirale a devenit o realitate doar prin elaborarea și organizarea producerii a asemenea mijloace biologice, înregistrat după efectuarea cercetărilor biotenologice profunde. Toate acestea forțe sunt îndreptate la producerea preparatelor virale eficiente și ieftine necesare pentru combaterea speciilor organismelor dăunătoare.

Bibliografie:

1. Agrow *Biopesticides*. 2013, <http://www.agrow.com> (vizitat 21.08.2015).
2. Fuxa, J.R. *Ecology of insect nucleopolyhedroviruses*. In: *Agric.Ecosyst.Environ.*, 2004, vol. 103, pp. 27-43
3. Leng, P.; Zhang, P.; Zhao, M. *Applications and development trends in biopesticides*. In: *Afr J Biotechnol*, 2011, vol.10, nr. 86, pp. 19864–19873.
4. Tang, R.; Mao, Wen Su.; Zhong, Ning Yang. *Electroantennogram responses of an invasive species fall webworm (Hyphantria cunea) to host volatile compounds*. In: *Chinise Science Buletin*, Ed: Peking University, China, 2012, vol. 54, nr. 35, pp. 4560-4568.

5. Chiuhrii, M. *Patologia insectelor și lupta biologică*. În: Ciochia V. și colab., *Limitarea populațiilor de dăunători vegetali și animalii din culturile agricole prin mijloace biologice și biotehnice în vederea protejării mediului înconjurător*. Brașov: Ed. Disz, 1997. 491 p.
6. Voloșciuc, L.T. *Rolul științei și inovării în realizarea strategiei de dezvoltare a agriculturii*. În: *Akademos*, 2009, nr 3, p. 74-76.
7. Чухрий, М.Г.; Волощук, Л.Ф.; Нещарет, А.С. *Сохранение активности Вирин-АББ-3 на растениях*. В: *Проблемы сохранения и применения микробиологических средств защиты растений, часть II*, 1989. 193с