

Pulbriliste biopreparaatide mõju kimalaste ainevahetusele ja veekaole

Riin Muljar, Reet Karise, Marika Mänd

Eesti Maaülikooli põllumajandus- ja keskkonnainstituut

Abstract. Muljar, R., Karise, R., Mänd, M. 2015. The effect of powdery biopreparations on the metabolic rate and water loss of bumble bees. – Agronomy 2015.

Bumble bees can be used as vectors to distribute different powdery biopreparations to control plant pest and diseases. The aim of the study was to test the safety of four powdery substances: wheat flour (used as negative control), bioinsecticide Botanigard 22 WP (based on entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*), biofungicide Prestop Mix (based on soil fungus *Gliocladium catenulatum*) and kaolin, which is an inert clay mineral used as carrier in Prestop Mix. The effect of those substances on the metabolic rate and water loss of bumble bee foragers after topical treatment was measured using flow-through respirometry. There was no significant effect on the mean metabolic rate, although all powders inhibited the normal decrease of metabolism (as found in the untreated control bees), which was probably caused by irritation. Wheat flour and Botanigard 22 WP didn't have a significant effect on water loss rate, whereas Prestop Mix and kaolin significantly increased the mean water loss after treatment in all tested individuals. Since kaolin is known to have abrasive properties, the increased water loss could have resulted from damage to the cuticle. Therefore powdery preparations may pose some risk to bumble bees, especially kaolin and the kaolin-containing Prestop Mix. However, considering that in our experiment the bees were covered with the powders continuously and uniformly throughout the measurements, whereas in real-life field or greenhouse conditions the bee loses a significant amount of the biopreparation powder during the foraging flight, the detrimental effects should not present a problem.

Keywords: bumble bee, biopesticide powder, metabolic rate, water loss

Sissejuhatus

Taimekaitstes on tänapäeval võimalik kasutada kimalasi ja teisi tolmeldajaid mitmete taimehaiguste ja kahjurite tõrjel: kui kinnitada taru lennuava külge pulbrilist biopreparaati sisaldav karbike, viivad töölised nektarit otsides jalgade külge jäänud preparaadi kultuurtaimede õitele (Mommaerts, Smagghe, 2011). Üks selline preparaat on seent *Gliocladium catenulatum* sisaldav biofungitsiid Prestop Mix, mida on edukalt kasutatud hahkhallituse tõrjes aedmaasikal (Mommaerts *et al.*, 2011). Samuti on kimalaste abil levitatud bioinsektitsiidi BotaniGard, mis põhineb entomopatogeensel seenel *Beauveria bassiana* ja aitab tõrjuda eri taimekahjureid (Al-Mazra'awi *et al.*, 2006). Pulbrilistes biopestitsiidides kasutatakse sageli lisaaineid, et preparaat paremini kimalase jalgade küljes püsiks, üks selline aine on insektitsiidse toimega valge savimineraal kaoliin (Ucar *et al.*, 1999), mida leidub ka Prestop Mixi koostises. Tagamaks nimetatud preparaate ja nende koostisosade ohutust kimalastele, on letaalsete mõjude kõrval väga oluline uurida ka nende subletaalsel toimet putuka füsioloogiale – toimet, mis ei pruugi avalduda suremuses või käitumises, kuid võib pikema ajaperioodi vältel nõrgestada putuka vastupanuvõimet stressoritele (Bryden *et al.*, 2013). Putuka ainevahetuse taseme ja temast eralduva vee hulga mõõtmine on üldlevinud ja efektiivne meetod pestitsiidide mittesurmavate mõjude hindamisel (Zafeiridou, Theophilidis, 2006). Pulberpreparaate laiali kandvad kimalased saavad tihtipeale pulbriga üleni kokku ning ei ole

teada, kuidas see võib mõjutada putuka füsioloogiat. Seega oli töö eesmärk uurida eri pulbriliste ainete, nagu kaoliini ja kaoliini sisaldava biofungitsiidi Prestop Mix, samuti bioinsektitsiidi BotaniGard mõju kimalase ainevahetusele ja veekaole.

Materjal ja meetoodika

Kimalase *Bombus terrestris* (Koppert Biological Systems B.V., Holland) töölisid püüti taru lennuavalt ja asetati ühekaupa plasttopsidesse, iga tops sisaldas vastavalt katse skeemile 50 mg erinevat pulbrilist ainet. Seejärel raputati topsi õrnalt, et kimalane saaks pulbriga kaetud. Kontrollgrupi topsid pulbrit ei sisaldanud, kuid nendega toimetati samal viisil. Töötlusvariante oli viis, neist neli pulbrilised ained: kaoliin (Bang & Bonsomer Estonia, Tallinn, Eesti), Prestop Mix (Verdera OY, Espoo, Soome), BotaniGard 22 WP (BioWorks, Victor, NY, USA) ja nisujahu (Tartu Mill, Tartu, Eesti), lisaks töötlemata kontrollgrupp. Igas töötlusvariandis oli 5–6 kimalast. Nisujahu kasutati negatiivse kontrollina, kuna Mommaerts *et al.* (2012) andmetel peaks see olema kimalasele ohutu.

Ainevahetuse ja veekao mõõtmiseks asetati kimalane hingamiskambrisse, mis oli ühendatud LI-7000 CO₂/H₂O analüsaatoriga (LiCor, Lincoln, NE) – see võimaldab paralleelselt fikseerida ainevahetuse taset mõõdetuna putukast eraldunud CO₂ hulgana (VCO₂, ml h⁻¹) ja veekadu (VH₂O, µl h⁻¹). Mõõtmised toimusid kuue tunni vältel: kolm tundi enne ja kolm peale töötlust.

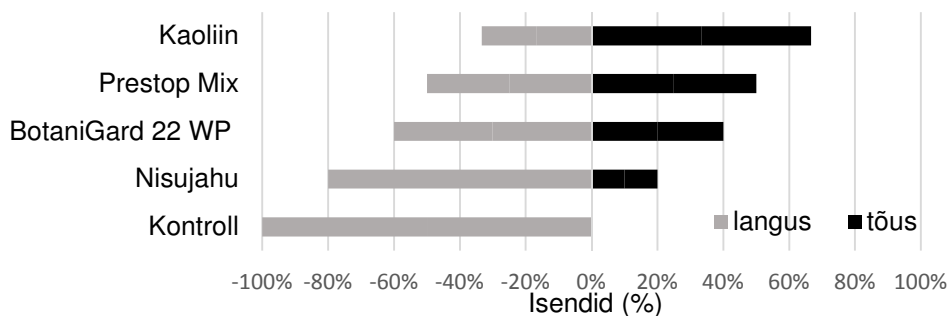
Andmeanalüüsil kasutati statistikaprogrammi SAS 9.1, ainevahetuse ja veekao andmete analüüsimiseks kasutati korduvmõõtmistega GLM mudelit.

Tulemused ja arutelu

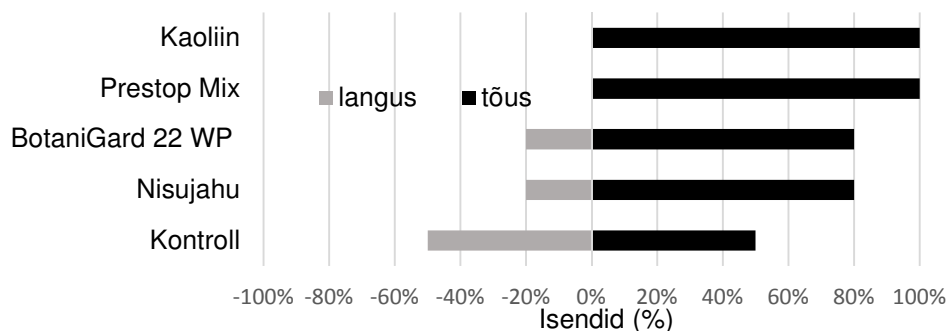
Keskmine ainevahetuse tase langes kõigil kontrollgrupi isenditel (joonis 1), see osutus ka statistiliselt oluliseks ($p = 0,012$). Seevastu kaoliini, Prestop Mixi, BotaniGard 22 WP ja nisujahu puhul kimalaste ainevahetuse tase statistiliselt oluliselt ei muutunud ($p > 0,05$), sõltuvalt töötlustest ja isendist see pärast töötlust kas veidi tõusis või langes (joonis 1).

Ainevahetus on hea indikaator avastamiseks väikesi muudatusi putuka organismis (Kestler, 1985). Tavatingimustes ainevahetuse tase aja möödudes langeb, kuna kimalase liikumisvõime hingamiskambris on piiratud ja putukas rahuneb (Zafeiridou, Theophilidis, 2006), nii see ka pulbriga mitte kokku puutunud isendite puhul oli. Samas mitmete kimalaste ainevahetus peale eri pulbritega töötlust hoopis tõusis, seega pidi olema mingi faktor, mis segas katse jooksul normaalset ainevahetuse taseme langust. Üks põhjus võis olla see, et pulbriosakesed tungisid putuka seedekulglassse või blokeerisid hingatsid (Subramanyam, Roesli, 2000). See võis põhjustada kimalasel mõningast ärritust ja takistas rahunemisprotsessi.

Pärast töötlust keskmine veekadu BotaniGard 22 WP, nisujahu ja kontrollgrupi puhul statistiliselt oluliselt ei muutunud ($p > 0,05$): osadel isenditel veekadu veidi tõusis, samas teistel jälle mõnevõrra langes (joonis 2). Jahuosakesed olid tõenäoliselt sellise suuruse ja kujuga, et nad kutiikulit ei kahjustanud ning seetõttu veekadu ei suurendanud. Preparaadis BotaniGard 22 WP sisalduv seen *B. bassiana* lagundab oma elutegevuse jooksul putuka koed – see lõpeb tavaliselt putuka surmaga (Zimmermann, 2007). Kuna meie katse kestis peale töötlust vaid kolm tundi, siis tõenäoliselt ei jõudnud seeneosad selle aja jooksul veel kutiikulit lagundama hakata ja seetõttu ei olnud ka mõju veekaole märgatav.



Joonis 1. Kimalaseisendite (%) jaotumine vastavalt ainevahetuse taseme (VCO_2 , ml h^{-1}) langusele või tõusule peale tötlust eri pulbriliste ainetega



Joonis 2. Kimalaseisendite (%) jaotumine vastavalt veekaole taseme (VH_2O , $\mu\text{l h}^{-1}$) langusele või tõusule peale tötlust eri pulbriliste ainetega

Kaoliin ja Prestop Mix seevastu põhjustasid pärast tötlust kõigil isenditel statistiliselt olulise veekaole tõusu ($p < 0,001$; joonis 2). Kaoliin võis kehakatete veeläbilaskvust suurendada abrasiivsete omaduste tõttu, millele viitasid ka Cook *et al.* (2008). Abrasiivsed pulbrid võivad hõõrduda vastu kutiikulit või tungida kehalülide vahele, samuti võivad nad endasse imada ja seega eemaldada putuka kehal oleva kaitsva vaha- ja lipiidide kihi, mis põhjustab suurenenud veekaole läbi kehakatete (Ebeling, 1971; Cook *et al.*, 2008). Kuna Prestop Mixi kanduraineks on kaoliin, siis ei ole ka üllatav, et mõlemate ainete toime oli sarnane ja veekaole tõusis sellepärast, et eelnimetatud pulbrid kahjustasid kimalase kehakatteid.

Kokkuvõte

Tulemustest selgus, et ka bioloogilised pulberpreparaadid mõjutavad kimalaste füsioloogiat: toimides ärritavalt võivad need mõnevõrra tõsta kimalase ainevahetuse taset või vastu kehakatteid hõõrdudes suurendada veekaole. Nimetatud preparaate puhul tuleks peale toimeainete tähelepanu pöörata ka lisaainetele, mis võivad samuti tolmeldajatele mõju avaldada. Kuivõrd Prestop Mix ja selles sisalduv kaoliin põhjustasid töödeldud kimalastel oluliselt suurema veekaotuse, võib see ostuda probleemiks väga

kuivade ja kuumade ilmastikutingimuste puhul. Seega tuleb tolmeldajatele tagada piisav veega varustatus. Samas tuleb märkida, et meie laborikatses oli kimalane mõõtmise ajal pulbriga ühtlaselt kaetud. Pulberpreparaadi laialikandmisel põllul või kasvuhoones kaotab kimalane lennu kestel enamiku jalgade ning keha küljes olevast pulbrist, seega reaalingimustes ei tohiks veekaotus probleemiks kujuneda.

Tänuavaldused

Uurimistööd toetas Põllumajandusministeerium, projekt BICOPOLL (ERA–NET Core–organic), Haridus- ja Teadusministeerium (SF0170057s09 ja IUT36-2) ning ETF grant 9450.

Kasutatud kirjandus

- Al-Mazra'awi, M.S., Shipp, J.L., Broadbent, A.B., Kevan, P.G. 2006. Biological control of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) and *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) by *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) vectored *Beauveria bassiana* in greenhouse sweet pepper. – *Biological Control* **37**, 89–97.
- Bryden, J., Gill, R.J., Mitton, R.A.A., Raine, N.E., Jansen, V.A.A. 2013. Chronic sublethal stress causes bee colony failure. – *Ecology Letters* **16**, 1463–1469.
- Cook, D.A., Wakefield, M.E., Bryning, G.P. 2008. The physical action of three diatomaceous earths against the cuticle of the flour mite *Acarus siro* L. (Acari: Acaridae). – *Pest Management Science* **64**, 141–146.
- Kestler, P. 1985. Respiration and respiratory water loss. – *Environmental Physiology and Biochemistry of Insects*. Toim. K.H. Hoffmann, Berlin, lk 137–189.
- Mommaerts, V., Put, K., Smagghe, G. 2011. *Bombus terrestris* as pollinator-and-vector to suppress *Botrytis cinerea* in greenhouse strawberry. – *Pest Manag Science* **67**, 1069–1075.
- Mommaerts, V., Put, K., Vandeven, J., Smagghe, G. 2012. Miniature-dispenser-based bioassay to evaluate the compatibility of powder formulations used in an entomovectoring approach. – *Pest Management Science* **68**, 922–927.
- Mommaerts, V., Smagghe, G. 2011. Entomovectoring in plant protection. – *Arthropod–Plant Interactions* **5**, 81–95.
- Subramanyam, B., Roesli, R. 2000. Inert dusts. – *Alternatives to Pesticides in Stored-product IPM*, Kluwer Academic Publishers. Toim. B. Subramanyam, D.W. Hagstrum, Dordrecht, the Netherlands, lk 321–380.
- Zafeiridou, G., Theophilidis, G. 2006. A simple method for monitoring the respiratory rhythm in intact insects and assessing the neurotoxicity of insecticides. – *Pesticide Biochemistry and Physiology* **86**, 211–217.
- Zimmermann, G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. – *Biocontrol Science and Technology* **17** (5/6), 553–596.
- Ucar, T., Ozkan, H.E., Fox, R.D., Derksen, R.C. 1999. Criteria and procedures for evaluation of solids mixing in agricultural sprayer tanks. – *Transactions of the ASAE* **42**, 1581–1587.