

УДК 543.612/621/684,632.937.3

ВЛИЯНИЕ ДИОКСИДА СЕРЫ, ВХОДЯЩЕГО В СОСТАВ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ГРИБОВ РОДА *Lecanicillium*, НА ФИТОФАГОВ ЗАПАДНОГО ЦВЕТОЧНОГО ТРИПСА И ПЕРСИКОВУЮ ТЛЮ[§]

© 2023 г. Г. В. Митина^{1,*}, Е. А. Степанычева¹, Ю. А. Титов²,
А. А. Чоглокова¹, М. А. Черепанова¹, А. Г. Кузьмин²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений
196608 Санкт-Петербург–Пушкин, шоссе Подбельского, 3, Россия

²Институт аналитического приборостроения РАН
198095 Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А, Россия

*E-mail: galmit@rambler.ru

Поступила в редакцию 27.10.2022 г.

После доработки 15.11.2022 г.

Принята к публикации 15.12.2022 г.

Ранее с помощью квадрупольного масс-спектрометра МС7-200 разработки ИАП РАН в составе летучих органических соединений (ЛОС), выделяемых в воздушную среду энтомопатогенными грибами (ЭПГ) рода *Lecanicillium*, был обнаружен диоксид серы. В данной работе оценили влияние этого соединения на таких опасных фитофагов как западный цветочный трипс *Frankliniella occidentalis* и персиковая тля *Myzus persicae* в низких дозах, соответствующих содержанию диоксида серы в составе ЛОС над растущим мицелием грибов. Установлено, что диоксид серы не оказывал негативного влияния на самок трипса *F. occidentalis* и их плодовитость при введении в вials сернистого газа в концентрации 9 и 17 ppm и выдерживании в течение 2-х ч. В дозе 33 ppm диоксид серы вызывал 10%-ную смертность самок трипса через 2 ч и 15.4%-ную – через 1 сут, при этом наблюдали снижение плодовитости самок на 36%. Диоксид серы в концентрациях 17–33 ppm был нетоксичен для самок персиковой тли через 2 ч. Смертность тлей на уровне 26% была отмечена через 2 сут при концентрации диоксида серы 33 ppm, при этом плодовитость снизилась на 22%. В дозе 23 ppm диоксид серы снижал плодовитость тлей наиболее существенно – на 30%. Полученные данные свидетельствуют о влиянии диоксида серы, содержащегося в составе ЛОС грибов, на поведенческие реакции фитофагов.

Ключевые слова: анализ летучих органических соединений, энтомопатогенные грибы, фитофаги.

DOI: 10.31857/S0002188123030092, **EDN:** KOABUJ

ВВЕДЕНИЕ

Летучие органические соединения (ЛОС), выделяемые энтомопатогенными грибами (ЭПГ), паразитирующими на насекомых, в последнее время все больше привлекают внимание исследователей (биофизиков, химиков, специалистов в области патологии насекомых), поскольку эти соединения оказывают существенное влияние на поведенческие реакции насекомых. ЛОС грибов могут обладать репеллентными или аттрактивными свойствами, проявлять антифидантное действие, обладать токсичностью, изменять плодовитость [1–5]. Эти свойства необходимо учитывать при разработке биопрепаратов на основе

ЭПГ, которые при определенных условиях могут успешно конкурировать с традиционными химическими инсектицидами [6].

Исследования влияния ЛОС энтомопатогенных грибов рода *Lecanicillium* – природных патогенов сосущих насекомых из отряда Hemiptera – показали, что мицелий разных видов и штаммов может вызывать различные поведенческие реакции у насекомых: от репеллентности до аттрактивности [7]. В отношении персиковой тли выявлено, что все штаммы ЭПГ, спорулирующий мицелий которых значительно снижал привлекательность пищевого субстрата для питания и развития потомства тли, обладали выраженной патогенностью [8]. Количественный и качественный состав ЛОС, выделяемых в воздушную среду грибами рода *Lecanicillium*, изученный с помощью квадрупольного

[§]Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 20-016-00241.

польного масс-спектрометра с прямым капиллярным вводом пробы, показал большое разнообразие выделяемых соединений. Основными обнаруженными компонентами газовой фазы над мицелием были ацетон, пентан, уксусная кислота. У отдельных штаммов были обнаружены такие вещества как гексаналь, гексилацетат, этилацетат [9]. В этих же исследованиях впервые было зарегистрировано наличие в ЛОС диоксида серы (сернистого газа). Его максимальное содержание в составе ЛОС грибов над мицелием грибов рода *Lecanicillium* достигало 41 ppm.

Токсичность диоксида серы для различных членистоногих известна давно и широко используется для борьбы с вредными насекомыми путем фумигации в высоких дозах [10, 11]. Негативное влияние диоксида серы на членистоногих может проявляться в различной степени в зависимости от их систематической принадлежности: газ может вызывать снижение веса личинок, изменение поведенческих реакций, снижение темпов развития, ухудшение морфометрических характеристик, снижение плодовитости и рост смертности [12].

Для выявления роли отдельных соединений, входящих в состав ЛОС ЭПГ, нами была оценена токсичность диоксида серы для западного цветочного трипса и персиковой тли и влияние соединения на их плодовитость. Оба вида насекомых характеризуются высокой скоростью воспроизводства и относятся к экономически важным сосущим фитофагам, имеющим более 300 растений-хозяев. Помимо непосредственного повреждения растений при питании они представляют серьезную опасность в качестве переносчиков вирусных заболеваний [13].

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Лабораторные культуры *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) содержали на вегетирующей фасоли, *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae) — на проростках конских бобов (*Vicia faba* L.) при постоянной температуре 23–25°C и 18-часовом световом дне. Для оценки токсичности диоксида серы для тест-насекомых отбирали половозрелых самок.

Оценка токсичности диоксида серы для самок западного цветочного трипса и влияния на их плодовитость. Самок трипса отбирали в пробирки Эппендорф по 10 особей, а затем выпускали их в камеры определенного типа. В первой серии опытов использовали хроматографические стеклянные виалы объемом 20 мл, в которые помещали насекомых. Виалы закрывали завинчивающимися

крышками с силиконовыми прокладками. С помощью медицинского шприца в виалы, в которых газовая среда представляла собой атмосферный воздух, вводили калиброванную смесь диоксида серы (SO₂) с концентрацией 107 ppm в азоте, давление внутри при этом повышалось. В контроле в виалы вкалывали чистый азот, для того чтобы в них было такое же давление, как и в виалах с диоксидом серы.

В другой серии опытов для повышения концентрации SO₂ использовали пластиковые камеры объемом 65 мл, в которые помещали самок трипса и плотно закрывали пластиковыми крышками. Непосредственно перед вводом газа в крышке делали 2 микроотверстия. В одно отверстие с помощью шприца в камеру вводили кислород, затем калиброванную смесь SO₂ в азоте, второе отверстие оставалось открытым для сброса избытка давления. Аналогичным образом добавлением кислорода и азота обеспечивали соответствующую концентрацию SO₂. Контроль концентрации диоксида серы в виале проводили с помощью квадрупольного масс-спектрометра MS7-200. После ввода газов отверстия быстро закрывали скотчем. Через 2 ч учитывали число живых и погибших самок. Живых особей трипса переносили на лист фасоли, помещенный на слой 1%-ного агара в чашке Петри. Чашки закрывали пленкой с мелкими отверстиями, для предотвращения образования конденсата и оставляли на 1 сут при 25°C и постоянном освещении. Через 1 сут самок удаляли, а листья с отложенными на них яйцами оставляли на 5–6 сут для дальнейшего подсчета отродившихся личинок и определения плодовитости. Количество вводимого SO₂ рассчитывали, исходя из данных по его содержанию в смесях ЛОС над мицелием изученных грибов [14].

Оценка токсичности диоксида серы для персиковой тли M. persicae и влияния на ее плодовитость. Самок тли (по 7 особей) помещали в 3 хроматографические виалы объемом 20 мл, герметично закрывали и с помощью медицинского шприца вводили в них калиброванную смесь SO₂ в азоте. Затем путем добавления соответствующих количеств кислорода и азота в разных виалах создавали различные концентрации SO₂ (17, 23 и 33 ppm). Тлей выдерживали 2 ч в виалах с разной концентрацией SO₂, после чего кисточкой переносили в пластиковые камеры объемом 50 см³ с микроотверстиями на лист боба, помещенный на слой 1%-ного агара, и оставляли на 2 сут при комнатной температуре и постоянном освещении для учета числа выживших самок и отродившихся личинок дочернего поколения.

Таблица 1. Токсичность диоксида серы для самок западного цветочного трипса *F. occidentalis* и его влияние на количество отродившихся личинок

Вариант	Смертность самок трипса, %		Плодовитость на одну самку	Изменение плодовитости, %	Вероятность <i>p</i>
	2 ч	1 сут			
В хроматографических виалах (20 мл)					
Контроль (10 мл азота)	0.5 ± 0.5 a**	1.3 ± 1.3 a	0.7 ± 0.2	-36.1	0.316
SO ₂ (33 ppm) 10 мл смеси SO ₂ в азоте*	9.6 ± 2.5 b** <i>p</i> = 0.007	15.4 ± 2.7 b <i>p</i> = 0.001	0.46 ± 0.04		
В пластиковых камерах (65 мл)					
Контроль (20 мл кислорода)	0.0	0.0 a	1.1 ± 0.1	+27.3	0.069
SO ₂ (57 ppm) 55 мл + 40 мл кислорода	0.0	12.7 ± 3.6 b <i>p</i> = 0.025	1.4 ± 0.03		

*Смесь газов содержала 107 ± 6 ppm SO₂, остальное – азот.

**Различными буквами в рядах отмечены варианты, достоверно отличающиеся от контроля (по тесту Tukey, *P* ≤ 0.05).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В предварительных экспериментах на трипсе сернистый газ вводили в виалы в объемах 2 и 4 мл (9 и 17 ppm SO₂ на объем виалы). При этом SO₂ не оказывал какого-либо негативного влияния на самок трипса и их плодовитость (без приведения данных). При увеличении объема SO₂ до 10 мл (33 ppm SO₂ на объем виалы), вводимого в смеси с азотом, уже через 2 ч наблюдали смертность 9.6% самок трипса, через 1 сут смертность трипса составила 15.4% (различия с контролем достоверны). Количество отродившихся личинок в опыте было меньше на 36% по сравнению с контролем (табл. 1). Использование камер объемом 65 мл позволило повысить концентрацию SO₂ до 57 ppm. Смертность трипса при этом не превышала 12.7% через 1 сут (различия с контролем достоверны), плодовитость трипса не снизилась, а напротив, отмечено некоторое увеличение числа потомства по сравнению с контролем.

В опытах с персиковой тлей было установлено, что диоксид серы в испытанных концентрациях не проявлял токсичности для тли через 2 ч после введения в виалы (без приведения данных). Смертность тлей на уровне 26% была отмечена через 2 сут при использовании максимальной концентрации – 33 ppm SO₂ в смеси с 10 мл азота, но при этом плодовитость снизилась всего в 1.2 раза (табл. 2). Во всех вариантах смертность и плодовитость достоверно не отличались от показателей в контроле. При концентрации SO₂ 23 ppm плодовитость тлей снизилась на 30%, при этом различия с контролем были незначительными, но имелась статистическая тенденция (*p* = 0.073).

В результате наших опытов установлено, что при использовании низких концентраций диок-

сида серы (9 и 17 ppm) газ не оказывал негативного влияния на самок трипса и персиковой тли. Однако в дозе 33 ppm диоксид серы вызывал смертность трипса в количестве 10% через 2 ч и 15.4% через 1 сут, при этом происходило снижение плодовитости самок на 36%. Доза диоксида серы 33 ppm также вызывала смертность персиковой тли на уровне 26%. Отсутствие выраженного действия диоксида серы на тестируемые объекты могло быть связано с использованием в работе низких доз газа (близких к его количеству в пробах ЛОС, собранных над культурой грибов) и непродолжительным периодом экспозиции.

Против вредителей зерна *Sitophilus oryzae* и *Tribolium confusum* для достижения 100%-ной гибели взрослых особей применяли 15000 ppm и 30000 ppm диоксида серы [10]. Для достижения гарантированного эффекта против всех стадий мучнистого червеца *Pseudococcus maritimus* применяли фумигацию диоксидом серы в дозе 100 ppm в течение 4-х сут. Причем использование доз 400 и 500 ppm в течение 1 сут позволяла достичь только 90 и 96% смертности яиц червеца соответственно [11]. В настоящей работе показали, что диоксид серы даже в количествах 23–33 ppm, соответствующих содержанию газа в смеси ЛОС, которые выделяются спорулирующим мицелием ЭПГ, влияет на жизнеспособность и плодовитость изученных насекомых. Ранее нами был установлен репеллентный эффект мицелия грибов вида *L. muscarium* для личинок и имаго западного цветочного трипса [15].

Некоторые исследования показали, что умеренно повышенная концентрация диоксида серы (100 ppm) при непродолжительном воздействии (4 ч) может увеличить количество тли [16]. Есть данные, что в условиях повышенного содержания

Таблица 2. Токсичность диоксида серы для самок тлей *M. persicae* и его влияние на количество отродившихся личинок

Вариант	Смертность тли через 2 сут, %	Вероятность <i>p</i>	Плодовитость на одну самку	Изменение плодовитости, %	Вероятность <i>p</i>
Контроль (5 мл кислорода)	6.2 ± 3.8 a		3.5 ± 0.5 a		
SO ₂ (17 ppm) 6.5 мл + 5 мл кислорода	5.7 ± 3.5 a	0.929	3.8 ± 0.5 a	+8.5	0.626
Контроль (9 мл кислорода)	5.7 ± 3.9 b		3.3 ± 0.3 b		
SO ₂ (23 ppm) 9.2 мл + 9 мл кислорода	6.2 ± 4.3 b	0.929	2.3 ± 0.4 b	-30.3	0.073
Контроль (10 мл азота)	16.2 ± 1.3 c		3.2 ± 0.5 c		
SO ₂ (33 ppm) 10 мл + 10 мл азота	25.9 ± 8.4 c	0.299	2.6 ± 0.7 c	-21.8	0.510

Примечание. Одинаковыми буквами в рядах отмечены варианты, где различие опыта с контролем не достоверно (по тесту Tukey, $p \leq 0.05$).

диоксида серы тли растут быстрее [17]. В наших опытах также наблюдали тенденцию к повышению количества потомства тлей при дозе диоксида серы 17 ppm. Однако с повышением его концентрации отмечено снижение плодовитости тлей. Известно, что споры ЭПГ могут негативно влиять на плодовитость и питание их фитофагов, причем это влияние может быть связано с репеллентностью ЭПГ. Например, гриб *Beauveria bassiana*, оказывающий отрицательное действие на жизнеспособность бахчевой тли *Aphis gossypii*, обладал также репеллентным действием для фитофага. В условиях свободного выбора тли отдавали предпочтение растениям, необработанным спорами гриба [18]. В наших опытах снижение плодовитости самок трипсов и тлей также может быть результатом репеллентности сернистого газа, обнаруженного в составе ЛОС над мицелием ЭПГ рода *Lecanicillium*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диоксид серы, обнаруженный в составе летучих органических соединений (ЛОС), выделяемых в воздушную среду энтомопатогенными грибами (ЭПГ) рода *Lecanicillium* оказывал слабое токсическое действие на западного цветочного трипса и персиковую тлю. В дозе 33 ppm, соответствующей среднему содержанию диоксида серы в составе ЛОС над растущим мицелием грибов, газ вызывал смертность 15.4% имаго трипса и 26% персиковой тли через 1 сут, при этом наблюдали тенденцию к снижению плодовитости самок обоих вредителей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Boucias D.G., Lietze V., Teal P. Chemical signals that mediate insect-fungal interactions // Biocommunicat. Fungi, 2012. P. 305–336.
2. Butt T.M., Coates C.J., Dubovskiy I.M., Ratcliffe N.A. Entomopathogenic fungi: new insights into host-pathogen interactions // Adv. Genet. 2016. V. 94. P. 307–364.
3. Stepnowski P., Gołębowski M. Comparison of volatile compounds released by entomopathogenic fungi // Microbiol. Res. 2018. V. 214. P. 129–136.
4. Lozano-Soria A., Picciotti U., Lopez-Moya F. et al. Organic compounds from entomopathogenic and nematophagous fungi, repel banana black weevil (*Cosmopolites sordidus*) // Insects. 2020. V. 11. № 8. P. 509–528.
5. Baleba S.B.S., Agbessenou A., Getahun M.N., Akutse K.S. Infection of the stable fly, *Stomoxys calcitrans*, L. 1758 (Diptera: Muscidae) by the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) // Fungal Biol. 2021. V. 2. P. 1–16.
6. Справочник пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ за 2022 год. М.: Изд-во Листерра, 944 с.
7. Митина Г.В., Степанычева Е.А., Чоглокова А.А. Влияние разных видов энтомопатогенных грибов рода *Lecanicillium* на поведенческие реакции и выживаемость оранжерейной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* // Вестн. защиты раст. 2020. Т. 103. № 4. С. 265–268.
8. Mitina G.V., Stepanycheva E.A., Chogloкова A.A. Features of behavioral reactions of the peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Homoptera, Aphididae) to volatile organic compounds of entomopathogenic fungi of the Genus *lecanicillium* // Entmol. Rev. 2021. V. 101. P. 1015–1023.
9. Кузьмин А.Г., Тумов Ю.А., Митина Г.В. Масс-спектрометрические исследования состава газовой выдел-

- ния живых организмов // Журн. тех. физики. 2022. Т. 92. № 7. С. 974–977.
10. *Riudavets J., Pons M.J., Gabarra R., Castañé C., Alomar O., Vega L.F., Guri S.* The toxicity effects of atmospheres with high content of carbon dioxide with addition of sulphur dioxide on two stored-product pest species: *Sitophilus oryzae* and *Tribolium confusum* // J. Stored Prod. 2014. V. 57. P. 58–62.
 11. *Liu Y.B.* Sulfur dioxide fumigation for postharvest control of mealybugs on harvested table grapes // J. Economic Entomol. 2019. V. 112. № 2. P. 597–602.
 12. *Селиховкин А.В.* Ответные реакции насекомых дендрофагов на воздействие промышленного загрязнения воздуха. Биосфера // Междисциплин. научн. и прикл. журн. по пробл. познания и сохранения биосферы. 2013. Т. 5. № 1. С. 47–76.
 13. *Blackman R.L., Eastop V.F.* Aphids on the world's crops. An Identification and information guide. Chichester: John Wiley & Sons, 2000. 414 p.
 14. *Кузьмин А.Г., Титов Ю.А., Митина Г.В., Чоголокowa А.А.* Масс-спектрометрические исследования состава летучих органических соединений, выделяемых различными видами грибов рода *Lecanicillium* // Научн. приборостроение. 2021. Т. 31. № 4. С. 71–78.
 15. *Митина Г.В., Степанычева Е.А., Петрова М.О.* Влияние летучих соединений и экстрактов мицелия энтомопатогенных грибов на поведенческие реакции и жизнеспособность западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* (Pergande) // Паразитология. 2019. Т. 53. № 3. С. 230–240.
 16. *McNeil, S., Whittaker J.B.* Air pollution and tree-dwelling aphids. Population dynamics of forest insects // Intercept. 1990. P. 195–208.
 17. *Whittaker J.B.* Insects and plants in a changing atmosphere // J. Ecol. 2001. V. 89. P. 507–518.
 18. *Rashki M., Shirvani A.* The effect of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on life table parameters and behavioural response of *Aphis gossypii* // Bull. Insectol. 2013. V. 66. P. 85–91.
 19. *Warrington S.* Relationship between SO₂ dose and growth of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, on peas // Environ. Pollut. 1987. V. 43. № 2. P. 155–162.
 20. *Houlden G., McNeil S., Aminu-Kano M., Bell J.N.* Air pollution and agricultural aphid pests. I: Fumigation experiments with SO₂ and NO₂ // Environ. Pollut. 1990. V. 67. № 4. P. 305–314.
 21. *Liu Y.-B.* Sulfur dioxide fumigation for postharvest control of mealybugs on harvested table grapes // J. Economic Entomol. 2019. V. 112. № 2. P. 597–602.
 22. *Reitz S.R., Gao Y.L., Lei Z.R.* Thrips: Pests of concern to China and the United States // Agricult. Sci. China. 2011. V. 10. P. 867–892.

Effect of Sulfur Dioxide as a Component of the Volatile Organic Compounds of Fungi of the Genus *Lecanicillium* on the Phytophagous Western Flower Thrips and Peach Aphid

**G. V. Mitina^{a, #}, E. A. Stepanycheva^a, Yu. A. Titov^b, A. A. Choglokowa^a,
M. A. Cherepanova^a, and A. G. Kuzmin^b**

^aAll-Russian Institute of Plant Protection
Shosse Podbel'skogo, 3, St. Petersburg–Pushkin 196608, Russia

^bInstitute for Analytical Instrumentation of RAS
ul. Ivana Chernykh 31–33, lit. A., Saint Petersburg, 198095, Russia

[#]E-mail: galmit@rambler.ru

Earlier, using the MS7–200 quadrupole mass spectrometer developed by the IAP RAS, sulfur dioxide was detected as part of volatile organic compounds (VOCs) released into the air by entomopathogenic fungi (EPF) of the genus *Lecanicillium*. In this work, we evaluated the effect of this compound on such dangerous phytophages as the Western flower thrips *Frankliniella occidentalis* and the peach aphid *Myzus persicae* in low doses corresponding to the content of sulfur dioxide in the composition of VOCs over the growing mycelium of fungi. It was found that sulfur dioxide did not have a negative effect on female thrips *F. occidentalis* and their fertility when sulfur dioxide is injected into vials at concentrations of 9 and 17 ppm and kept for 2 hours. At a dose of 33 ppm, sulfur dioxide caused a 10% mortality of female thrips after 2 hours and 15.4% after 1 day, while a 36% decrease in female fertility was observed. Sulfur dioxide at concentrations of 17–33 ppm was nontoxic for peach aphid females after 2 hours. Aphid mortality at the level of 26% was noted after 2 days at a sulfur dioxide concentration of 33 ppm, while fertility decreased by 22%. At a dose of 23 ppm, sulfur dioxide reduced the fertility of aphids most significantly – by 30%. The data obtained indicate the influence of sulfur dioxide contained in the composition of fungal VOCs on the behavioral reactions of phytophages.

Key words: analysis of volatile organic compounds, entomopathogenic fungi, phytophages.