

УДК 595.768.23:632.937.14

**ВЛИЯНИЕ ЛЕТУЧИХ СОЕДИНЕНИЙ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ  
ГРИБОВ *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.-CRIV.) VUILL.  
И *LECANICILLIUM MUSCARIUM* R. ZARE ET W. GAMS  
НА ПОВЕДЕНИЕ ЖУКОВ АМБАРНОГО ДОЛГОНОСИКА  
*SITOPHILUS GRANARIUS* (L.) (COLEOPTERA,  
DRYORHYNCHIDAE) И ОЦЕНКА ВИРУЛЕНТНОСТИ  
РАЗНЫХ ШТАММОВ ЭТИХ ГРИБОВ**

© 2020 г. Г. В. Митина,\* О. Г. Селицкая,\*\* А. В. Щеникова\*\*\*

Всероссийский институт защиты растений

шоссе Подбельского, 3, С.-Петербург–Пушкин, 188608 Россия

\*e-mail: galmit@rambler.ru (автор, ответственный за переписку), \*\*e-mail: oselitskaya@mail.ru,

\*\*\*e-mail: ann20057@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.01.2020 г.

После доработки 20.02.2020 г.

Принята к публикации 20.02.2020 г.

Установлено, что жуки амбарного долгоносика, развивающиеся на зерне, избирательно реагируют на летучие соединения разных штаммов энтомопатогенных грибов *Beauveria bassiana* и *Lecanicillium muscarium*. Мицелий штаммов гриба *B. bassiana* оказывал на насекомых репеллентное действие или нейтральное с тенденцией к репеллентному. Действие летучих соединений *L. muscarium* было очень переменчивым: от слабо репеллентного (Г-033 ВИЗР) и нейтрального (V1 49) до аттрактивного (V1 21). Наибольшую вирулентность при опрыскивании жуков суспензией конидий с титром  $1.0 \times 10^8$  спор/мл проявил штамм *B. bassiana* Bb 17, смертность жуков на 7-е сутки достигала 74 % с обильным обрастанием погибших жуков мицелием; показатель  $LT_{50}$  для этого штамма составил 5.6 сут, для штамма Bb 13 – 23 сут. Штаммы *L. muscarium* были низковирулентными, за исключением штамма Г-033 ВИЗР ( $LT_{50}$  – 15.3 сут), и также вызывали обрастание погибших особей мицелием. Изученные реакции амбарного долгоносика необходимо учитывать при оценке потенциала энтомопатогенных грибов для их применения в биологической защите запасов зерна. Штамм *B. bassiana* Bb 17 отобран в качестве перспективного агента борьбы с вредителем; нейтральная реакция амбарного долгоносика на его мицелий благоприятна для распространения грибной инфекции.

*Ключевые слова:* поведенческие реакции, *Sitophilus granarius*, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium muscarium*, летучие органические соединения, вирулентность.

DOI: 10.31857/S0367144520020069

Экономическое и хозяйственное значение членистоногих (насекомых и клещей), повреждающих зерно и продукты его переработки в условиях хранения, исключительно велико. По данным различных авторов, количественные потери, вызываемые ими

в мировом масштабе, ежегодно составляют от 5 до 10 % (Одинокоев и др., 2005). Амбарный долгоносик *Sitophilus granarius* L. вредит в зернохранилищах, на хлебокомбинатах, пивзаводах, причем зерно повреждают как взрослые особи, питающиеся в течение всей жизни, так и личинки, полностью уничтожающие мучнистую часть зерна (эндосперм). Скрытый образ жизни амбарного долгоносика затрудняет диагностику зараженного зерна. Кроме того, долгоносик переносит патогенные микроорганизмы, вызывающие самосогревание и порчу хлебных запасов. В связи с проявлением резистентности амбарного долгоносика к химическим пестицидам ведется поиск новых, более безопасных препаратов контактного и фумигационного действия как у нас в стране, так и за рубежом.

Энтомопатогенные грибы (ЭГ) считаются перспективными микробными агентами для борьбы с вредителями запасов. Это экологически безопасные организмы, которые заражают насекомых при контакте и имеют широкий спектр хозяев. В естественных условиях они могут вызывать эпизоотии среди вредителей зерновых культур. Так, эпизоотия хлебного жука, вызванная грибом *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, впервые была описана И. И. Мечниковым (Мечников, 1879). ЭГ можно быстро и экономично получить в массовых количествах и применять с теми же техническими средствами, что и обычные контактные инсектициды (Rumbos, Athanassiou, 2017).

В настоящее время против вредителей запасов разрабатываются биопрепараты на основе спор и мицелия таких видов ЭГ, как *M. anisopliae* и *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. против *Tribolium castaneum* Herbst, *Rhyzopertha dominica* Fabricius, *Oryzaephilus surinamensis* L. (Shafiqhi et al., 2014), против пальмового долгоносика *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Gindin et al., 2006), *Sitophilus oryzae* L. (Lord, 2005; Athanassiou et al., 2008), *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Teshome, Tefera, 2009). Такие виды грибов, как *Isaria fumosoroseus* Wize и *Lecanicillium* spp., применяют вместе с эфирными маслами против вредителя зернобобовых культур *Bruchidius incarnatus* Boheman (Sabbour, Abd El-Aziz, 2010), а против вредителя зерновых запасов *Trogoderma granarium* Everts эффективными оказались *B. bassiana*, *M. anisopliae* и грибы рода *Lecanicillium* (Mohammed et al., 2019).

Важную часть воздействия ЭГ на членистоногих составляет их влияние на поведенческие реакции. Выявлены различные реакции насекомых на воздействие спор ЭГ (Roy et al., 2006). В ответ на инфицирование возбудителями микозов, которые развили механизмы адгезии и распознавания хозяев, литические и детоксицирующие ферменты, насекомые для защиты от грибной инфекции помимо иммунных реакций используют различные физиологические (ускорение процесса линьки), механические (груминг) и химические механизмы, а также поведенческие адаптации, направленные на обнаружение патогена и его избегание (Ortiz-Urquiza, Keyhani, 2013).

ЭГ способны выделять летучие органические соединения (ЛОС), среди которых обнаружены репелленты и аттрактанты (Boucias et al., 2012; Patocka, 2016; Wojke et al., 2018). ЛОС могут влиять на поведенческие реакции членистоногих, вызывать нарушения их жизненно важных процессов, таких как питание, развитие, размножение и т. д. (Yanagawa et al., 2009, 2012; Ormond et al., 2011; Jacobsen et al., 2015). Изучение влияния ЛОС имеет также практическое значение при оценке перспектив применения ЭГ против вредителей. Для таких видов как *B. bassiana* и *M. anisopliae* установлено преобладание репеллентного эффекта летучих соединений спор для насекомых из отрядов Blattoptera (Kaakeh et al., 1996; Staples, Milner, 2000), Orthoptera (Thompson, Brandenburg,

2005), Hemiptera (Meyling, Pell, 2006), Coleoptera (Ormond et al., 2011). Установлен также репеллентный эффект ЛОС мицелия *L. muscarium* и *B. bassiana* для личинок и имаго *Frankliniella occidentalis* Pergande (Митина, Степанычева, 2019), однако действие ЛОС мицелия и спор ЭГ на вредителей зерновых культур изучено недостаточно.

В наших предварительных опытах было показано, что ЛОС мицелия *B. bassiana* (штамм Ву-06) и *M. anisopliae* (штамм MaScr) проявляли репеллентность, а мицелия *L. muscarium* (штамм VI 21) – выраженную аттрактивность в отношении амбарного долгоносика *S. granarius* (Селицкая и др., 2016). Остаются открытыми вопросы, являются ли эти реакции специфическими на определенный вид ЭГ или они могут быть различными для разных штаммов одного вида, и как эти реакции связаны с вирулентностью соответствующих видов ЭГ в отношении амбарного долгоносика. Очевидно, что при оценке перспективности новых агентов микробиологической борьбы с вредителями запасов необходимо учитывать не только их патогенные свойства, но и особенности влияния ЛОС этих патогенов на поведение насекомых.

Целью работы было изучение ольфактометрических реакций амбарного долгоносика на летучие соединения мицелия различных видов и штаммов ЭГ *L. muscarium* и *B. bassiana* и оценить их патогенность и перспективность для борьбы с амбарным долгоносиком.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Энтомологический материал. Лабораторная популяция амбарного долгоносика содержалась на зерне озимой пшеницы в стеклянных сосудах, плотно закрытых бязью, емкостью 1 л при оптимальных для жизнедеятельности жуков условиях: в темноте, при температуре  $26 \pm 2$  °C и относительной влажности воздуха  $75 \pm 5$  %. Для опытов брали самцов и самок в возрасте 2–3 недель.

Микологический материал. В качестве тест-культур были выбраны штаммы двух видов ЭГ *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. и *Lecanicillium muscarium* R. Zare et W. Gams из Государственной коллекции ВИЗР (WFCC WDCM № 760, УНО), вызывавшие, по предварительным данным, различные реакции у амбарного долгоносика (Селицкая и др., 2016). Штаммы *L. muscarium* выделены из личинок оранжевой белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* Westwood в Московской обл. (VI 21) и в Йошкар-Оле (VI 49); штамм Г-033 ВИЗР выделен из больных особой жимолостной белокрылки *Aleurodes lonicerae* Walker, собранных в Московской обл. Штамм запатентован для борьбы с сосущими вредителями (Митина и др., 2016). Штамм Bb 13 вида *B. bassiana* выделен из бабочки-златогузки *Euproctis chryssorrhoea* L. в Ростовской обл., Bb 17 – из имаго 28-точечной картофельной коровки *Henosepilachna vigintioctomaculata* (Motschulsky), собранного на Дальнем Востоке. Культуры поддерживались в пробирках на агаризованной среде Чапека при +4 °C и пересевались 1 раз в год.

Для получения конидий и мицелия штаммы культивировали на агаризованной среде Чапека в чашках Петри в течение 10 дней при температуре 26 °C.

Оценка аттрактивной и репеллентной активности летучих веществ ЭГ. Тестирование на жуках амбарного долгоносика проводилось в ольфактометрах двойного выбора по методике, разработанной авторами (Selitskaya et al., 2014). В каждом ольфактометре в одну из пробирок Флоринского помещали тест-образец (диск грибной культуры диаметром 1 см), в другую – контроль (диск питательной среды без культуры). Диски вырезали микробиологическим пробойником из свежей 10-суточной культуры ЭГ, выращенной на среде Чапека в чашках Петри. В собранный ольфактометр выпускали по 10 жуков и выдерживали при температуре 26–28 °C в темноте. Через 1.5 ч подсчитывали жуков в каждой из пробирок. Опыты включали 20 повторностей.

Для оценки вектора ольфакторной реакции жуков в каждом варианте рассчитывали «индекс агрегирования» (ИА) (Закладной, 1983; Pascual-Villalobos, Robledo, 1998) по следующей формуле:

$$\text{ИА} = (O - K/O + K) \times 100 \%,$$

где  $O$  – число насекомых, прореагировавших на тест-образец, а  $K$  – число насекомых в контроле.

Положительный знак индекса при учете достоверных различий в контроле указывает на аттрактивное действие тестируемого образца, отрицательный – на репеллентное, при отсутствии достоверных различий между средними значениями в опыте и контроле – нейтральное действие.

Оценка вирулентности штаммов *L. muscarium* и *B. bassiana* для амбарного долгоносика. Имаго амбарного долгоносика помещали на бумажные фильтры диаметром 90 мм в чашки Петри (по 10 особей на чашку) и опрыскивали из ручного распылителя 1 мл водной суспензии конидий, которые смывали стерильной дистиллированной водой с 10-суточных колоний гриба, выращенных на среде Чапека. Титр рабочей суспензии доводили до  $1.0 \times 10^8$  спор/мл. В контроле фильтры с жуками в чашках Петри обрабатывали водой. Жуков выдерживали на обработанном фильтре при температуре 26–28 °С в течение 24 ч, после чего насекомых пересаживали в стаканчики объемом 250 мл с зерном пшеницы массой 40 г и увлажненным водой объемом 1 мл. Зерно предварительно выдерживали при –20 °С в течение 7 сут и затем перед выпуском жуков в течение 6 ч при комнатной температуре. Каждый вариант был выполнен в 5 повторностях. Учеты проводили на 1, 3, 7, 10, 14, и 21-е сутки. Погибших особей отбирали и определяли смертность на каждые сутки учета.

С целью выявления признаков микоза погибших жуков помещали для поверхностной стерилизации на 5 мин в 70%-ный этанол, промывали стерильной водой дважды по 5 мин и раскладывали на предметные стекла, которые помещали в стерильные влажные камеры (чашки Петри со смоченным фильтром) в термостат на 3 сут при температуре 26 °С.

Статистическая обработка. Данные экспериментов были проанализированы с помощью ANOVA (SigmaPlot версия 12.5 Systat Software); достоверность различий оценивали парным сравнением средних величин числа особей, прореагировавших на опытный образец и на контроль, используя тест Tukey's HSD. Различия считались достоверными при  $P \leq 0.05$ . Время гибели 50 % обработанных насекомых  $LT_{50}$  определяли пробит-анализом.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучение ольфактометрических реакций жуков амбарного долгоносика на мицелий ЭГ показало, что мицелий *B. bassiana* штамма Bb 13 оказывал на насекомых репеллентное действие при статистически достоверных различиях, а мицелий штамма Bb 17 того же вида оказывал нейтральное действие с тенденцией к репеллентному (табл. 1).

Штамм VI 21 вида *L. muscarium* оказывал сильное аттрактивное действие на жуков амбарного долгоносика, штамм Г-033 ВИЗР оказывал слабое репеллентное действие, а реакция жуков на штамм VI 49 была нейтральной. Реакция на чистую питательную среду Чапека была также нейтральной, что показывает отсутствие в ее выделениях летучих веществ, влияющих на поведение насекомых.

Изучение вирулентности ЭГ показало, что наибольшую вирулентность при опрыскивании жуков проявлял штамм Bb 17, смертность жуков достигала 74 % на 7-е и 80 % – на 10-е сут, показатель  $LT_{50}$  составил 5.6 сут (табл. 2).

Штамм Bb 13 был менее вирулентным, близкие результаты показали штаммы *L. muscarium* VI 49 и VI 21, смертность жуков составила 24–35 % на 14-е сутки. В даль-

**Таблица 1.** Влияние мицелия *Beauveria bassiana* и *Lecanicillium muscarium* на поведение жуков *Sitophilus granarius* (L.)

Вид и штамм гриба	Число жуков, среднее ± SE, %		ИА, %	F	P	Характер реакции
	Опыт	Контроль				
<i>B. bassiana</i>						
Bb 13	40.00 ± 3.70	53.0 ± 4.17*	-13.98	5.43316	0.02516	P
Bb 17	30.00 ± 6.96	35.0 ± 5.15	-7.69	0.33333	0.56956	H
<i>L. muscarium</i>						
VI 21	45.56 ± 3.98	25.00±3.73*	29.14	14.21686	0.00062	A
Г-033 ВИЗР	25.00 ± 3.73	37.78 ± 4.95*	-20.36	4.24799	0.04701	P
VI 49	37.22 ± 5.35	28.89 ± 3.70	1.17	1.64234	0.20868	H

Примечание. \* – Достоверное отличие от контроля при  $P \leq 0.05$ . А – attractive, H – neutral, P – repellent effect of the tested sample.

**Таблица 2.** Вирулентность разных штаммов *Beauveria bassiana* и *Lecanicillium muscarium* для имаго амбарного долгоносика

Вид и штамм гриба	LT <sub>50</sub>	Смертность, %			
		на 3-и сутки	на 7-е сутки	на 10-е сутки	на 14-е сутки
<i>B. bassiana</i>					
Bb 13	23.0 a	0.0 ± 0.0 a	4.0 ± 2.5 ab	12.0 ± 2.0 b	24.0 ± 4.0 b
Bb 17	5.6 c	8.0 ± 3.7 a	74.0 ± 8.7 c	80.0 ± 5.5 c	80.0 ± 5.5 d
<i>L. muscarium</i>					
VI 21	25.0 a	0.0 ± 0.0 a	14.0 ± 4.0 b	20.0 ± 4.5 b	30.0 ± 3.2 b
Г-033 ВИЗР	15.3 b	4.0 ± 4.0 a	10.9 ± 5.5 ab	21.7 ± 4.5 b	47.8 ± 5.10 c
VI 49	24.8 a	0.0 ± 0.0 a	14.3 ± 3.9 b	21.0 ± 4.1 b	35.0 ± 2.2 b
Контроль (вода)		0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	2.0 ± 2.0 a	10.0 ± 4.47 a

Примечание. Одинаковыми буквами обозначены не различающиеся достоверно показатели ( $P \leq 0.05$ ).

нейшем, на 21-е и 28-е сутки, нарастание смертности жуков происходило значительно медленнее (результаты не показаны). Показатели LT<sub>50</sub> для штаммов Bb 13, VI 49 и VI 21 составили 23, 24.8 и 25 сут соответственно. Штамм Г-033 ВИЗР, применяемый в борьбе с белокрылкой, тлями и клещами, был более вирулентным для жуков амбарного долгоносика по сравнению с двумя другими штаммами *L. muscarium*, но менее активным, чем штамм Bb 17 *B. bassiana*.

При заражении жуков грибом *B. bassiana* (штамм Bb 17) уже на 3-и сутки наблюдали внешние признаки микозов после помещения погибших особей во влажную камеру – развитие грибного мицелия и спороношение. Массовая гибель жуков отмечалась на 7-е сутки, при этом практически все особи (90.9 %) были заражены грибом (табл. 3).

**Таблица 3.** Развитие микоза у имаго амбарного долгоносика при заражении грибами *Beauveria bassiana* и *Lecanicillium muscarium*

Вид и штамм гриба	Число имаго с симптомами микоза в разные сутки				Доля имаго с симптомами микоза от числа погибших в разные сутки, %				Доля инфицированных имаго от общего числа погибших, % За все время опыта
	3-и	7-е	10-е	14-е	3-и	7-е	10-е	14-е	
<i>B. bassiana</i>									
Bb 13	0	0	3	2	0 с	0 с	75 а	33.3 а	41.7 б
Bb 17	3	30	3	0	75 а	90.9 а	100 б	0 с	90.0 с
<i>L. muscarium</i>									
VI 21	0	7	3	3	0 с	100 а	100 б	86.7 б	86.7 с
Г-033 ВИЗР	1	3	2	0	50 б	100 а	40 с	0 с	27.2 а
VI 49	0	3	2	0	0 с	42 б	66.6 а	0 с	28,5 а
Контроль	0	0	0	0	0 с	0 с	0 д	0 с	0 д

Примечание. Одинаковыми буквами обозначены не различающиеся достоверно показатели ( $P \leq 0.05$ ).

В интервале от 10-х до 28-х суток количество погибших от микоза жуков не увеличивалось. При заражении штаммом VI 21 *L. muscarium* обрастание мицелием погибших особей отмечалось позднее, на 7-е сутки после заражения. В этом случае гибель от микозов продолжалась в течение всего эксперимента.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Для повышения эффективности ЭГ, применяемых против амбарного долгоносика, современные исследования должны быть сфокусированы на мультитрофных взаимодействиях, включая ольфакторную коммуникацию. В настоящей работе установлено, что жуки амбарного долгоносика избирательно реагируют на присутствие летучих соединений разных видов и штаммов энтомопатогенных грибов. На примере двух штаммов *B. bassiana* показано преимущественное проявление репеллентного эффекта различной интенсивности. Мицелий *B. bassiana* штамма Bb 13 оказывал на насекомых репеллентное действие, а мицелий штамма Bb 17 того же вида оказывал нейтральное действие с тенденцией к репеллентному. Ранее также было показано выраженное репеллентное действие штамма Юк-4 *B. bassiana* на амбарного долгоносика (Селицкая и др., 2016). У *L. muscarium* обнаружены более значительные различия между штаммами по этому признаку: от репеллентного (Г-033 ВИЗР) и нейтрального (VI 49) до аттрактивного действия (VI 21). Большинство описанных в литературе исследований показало, что насекомые либо не реагируют на энтомопатогенные грибы, либо избегают их (Baverstock et al., 2010). Преобладание репеллентного эффекта летучих соединений спор грибов *B. bassiana* и *M. anisopliae* установлено в отношении термита *Coptotermes lacteus* Froggatt (Staples, Milner, 2000), сверчка *Scapteriscus* sp. (Thompson, Brandenburg, 2005), хищного клопа *Anthocoris nemorum* L. (Meyling, Pell, 2006), жука семиточечной коровки *Coccinella septempunctata* L. (Ormond et al., 2011) и рыжего

таракана *Blattella germanica* L. (Kaakeh et al., 1996). Личинки корневого долгоносика *Diaprepes abbreviatus* L. также избегали контакта с конидиями гриба, а совместное применение гриба с имидоклопридом ослабляло эту реакцию и способствовало распространению инфекции *B. bassiana* (Quintela, McCoy, 1998).

Патогенность изученных нами штаммов также существенно различалась. Так, показатель  $LT_{50}$  для двух штаммов *B. bassiana* варьировал от 5.6 (для Bb 17) до 23 сут (для Bb 13). Такой же широкий диапазон  $LT_{50}$  был получен при оценке патогенности штаммов *B. bassiana* в отношении кукурузного долгоносика *Sitophilus zeamais* (Motsch.) (Teshome, Tefera, 2009). В нашей работе штамм Bb 17 показал самую высокую активность в отношении имаго амбарного долгоносика, при этом реакция жуков на мицелий гриба была нейтральной. По данным литературы, патогенность ЭГ не всегда связана с реакцией репеллентности хозяина. Так, колорадский жук, восприимчивый к *B. bassiana*, проявлял к спорам нейтральную реакцию, и его имаго не избегали особей, зараженных грибом (Klinger et al., 2006). Аналогично, нейтральную реакцию на этот вид гриба проявляли личинки западного цветочного трипса при нанесении спор на растения (Ludwig, Oetting, 2002). Выявленная нами нейтральная реакция долгоносика на мицелий штамма Bb 17 благоприятна для распространения грибной инфекции, что в сочетании с его высокой патогенностью для амбарного долгоносика позволяет считать этот штамм перспективным агентом для борьбы с вредителем.

В настоящей работе один из изученных штаммов *L. muscarium* (VI 21) проявил сильные аттрактивные свойства в отношении жуков амбарного долгоносика. Ранее из мицелия этого штамма были выделены аттрактивные для западного цветочного трипса соединения (Митина и др., 2003). В литературе известны примеры, когда насекомых привлекают энтомопатогенные грибы. Три вида коллембол (*Collembola* Lubbock): *Folsomia fimetaria*, *Hypogastrura assimilis* и *Proisotoma minuta* заражались *Beauveria brongniartii* (Saccardo) Petch и *M. anisopliae* при поедании зараженного корма, но при возможности выбора грибы были аттрактивными для насекомых (Dromph, Vestergaard, 2002), причем чем выше была концентрация грибов, тем больше была их аттрактивность для коллембол. Несмотря на сравнительно низкие показатели вирулентности изученных штаммов *L. muscarium*, выявленная аттрактивность мицелия гриба для амбарного долгоносика представляет научный и практический интерес. Одним из перспективных методов применения ЭГ против вредителей запасов считается использование аттрактивных веществ в ловушках со спорами (Rumbos, Athanassiou, 2017). Необходимо также иметь в виду, что на поведенческие реакции насекомых и перенос грибной инфекции могут оказывать влияние абиотические факторы и субстраты, на которых размещаются споры ЭГ (Baverstock et al., 2010).

Хотя *L. muscarium* и не является природным патогеном для Coleoptera и, в частности, амбарного долгоносика, в нашей работе показано, что этот гриб может вызывать микоз у жуков. По данным зарубежных авторов, вирулентность *L. muscarium* может быть весьма высокой: при заражении *S. oryzae* показатель  $LT_{50}$  составил 4.8 дня (Ak, 2019). Очевидно, что большое значение имеет выбор штамма. В частности, штаммы могут различаться спектром выделяемых ими ЛОС. Сравнительное изучение состава ЛОС мицелия и спор *B. bassiana* и *M. anisopliae* выявило преимущественное содержание неразветвленных алканов у высоковирулентных для термитов *Coptotermes formosanus* Shiraki штаммов в отличие от низковирулентных, выделяющих, напротив, больше разветвленных соединений (Hussain et al., 2010).

Полученные результаты могут быть использованы при разработке принципиально новых, экологически безопасных и высокоэффективных стратегий регулирования численности вредителей запасов.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 20-016-00241 А).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Закладной Г. А. 1983. Защита зерна и продуктов его переработки от вредителей. М.: Колос, 215 с.
- Мечников И. И. 1879. Болезни личинок хлебного жука. Одесса: Типография П. Францова, 32 с.
- Митина Г. В., Борисов Б. А., Первушин А. Л., Чоголова А. А., Павлюшин В. А. 2016. Штамм гриба *Lecanicillium muscarium*, обладающий инсектоакарицидной и антибиотической активностью для борьбы против сосущих вредителей, грибных и бактериальных болезней. Патент РФ № 2598251. Дата приоритета от 25.08.2015.
- Митина Г. В., Селицкая О. Г., Черменская Т. Д. 2003. Аттрактивные свойства фосфолипидов энтомопатогенного гриба *Lecanicillium lecanii* в отношении калифорнийского трипса *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). Агрехимия **4**: 69–73.
- Митина Г. В., Степанычева Е. А., Петрова М. О. 2019. Особенности влияния летучих соединений мицелия энтомопатогенных грибов и экстрактов из них на поведенческие реакции и жизнеспособность западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* (Pergande). Паразитология **53** (3): 230–240.
- Одинокое В. Н., Буров В. Н., Куковинцев О. С., Ишмуратов Г. Ю., Шамшев И. В., Селицкая О. Г., Зайнуллин Р. А. 2005. Семиохемики в защите зерна и продуктов его переработки от вредных насекомых. Отв. ред. Галин Ф. З. Уфа: Гилем, 232 с.
- Селицкая О. Г., Митина Г. В., Щеникова А. В., Чоголова А. А., Левченко М. В. 2016. Влияние летучих соединений энтомопатогенных грибов на поведенческие реакции вредителей запасов. Вестник защиты растений **89** (3): 150–152.
- Ak K. 2019. Efficacy of entomopathogenic fungi against the stored-grain pests, *Sitophilus granarius* L. and *S. oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). Egyptian Journal of Biological Pest Control **29**, Article 12: 1–11.
- Athanassiou C. G., Kavalieratos N. G., Vayias B. J., Tsakiri J. B., Mikeli N. H., Meletsis C. M., Tomanović Z. 2008. Persistence and efficacy of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) and diatomaceous earth against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) on wheat and maize. Crop Protection **27**: 1303–1311.
- Baverstock J., Roy H. E., Pell J. K. 2010. Entomopathogenic fungi and insect behaviour: from unsuspecting hosts to targeted vectors. BioControl (Journal of the International Organization for Biological Control) **55** (1): 89–102.
- Bojke A., Tkaczuk C., Stepnowski P., Gołębowski M. 2018. Comparison of volatile compounds released by entomopathogenic fungi. Microbiological Research **214**: 129–136.
- Boucias D. G., Lietze V., Teal P. 2012. Chemical signals that mediate insect-fungal interactions. In: G. Witzany (ed.). Biocommunication of Fungi. Dordrecht: Springer, p. 305–336.
- Dromph K. M., Vestergaard S. 2002. Pathogenicity and attractiveness of entomopathogenic hyphomycete fungi to collembolans. Applied Soil Ecology **21**: 197–210.
- Gindin G., Levski S., Glazer I., Soroker V. 2006. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus*. Phytoparasitica **34** (4): 370–379.
- Hussain A., Tian M. Y., He Y. R., Lei Y. Y. 2010. Differential fluctuation in virulence and VOC profiles among different cultures of entomopathogenic fungi. Journal of Invertebrate Pathology **104** (3): 166–171.
- Jacobsen S., Eilenberg J., Klinge I., Sigsgaard L. 2015. Different behavioral responses in specialist and generalist natural enemy interactions (predators and fungi) in a strawberry–mite pest system. In: Ch. Linder, A. Grassi, D. Prodanutti, C. Ioriatti (eds). Proceedings of the 8th Workshop on Integrated Soft Fruit Production at Vigalzano di Pergine Valsugana (Italy), 26–28th May, IOBC-WPRS Bulletin **109**: 89–91.
- Kaakeh W., Reid B. L., Bennett G. W. 1996. Horizontal transmission of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and hydromethylnon among German cockroaches. Journal of Entomological Science **31** (4): 378–390.



- Klinger E., Groden E., Drummond F. 2006. *Beauveria bassiana* horizontal infection between cadavers and adults of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Environmental Entomology* **35**: 992–1000.
- Lord J. C. 2005. Low humidity, moderate temperature, and desiccant dust favor efficacy of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes, Moniliales) for the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera, Bruchidae<sup>1</sup>). *Biological Control* **34** (2): 180–186.
- Ludwig S. W., Oetting R. D. 2002. Efficacy of *Beauveria bassiana* plus insect attractants for enhanced control of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Florida Entomologist* **85**: 270–272.
- Meyling N. V., Pell J. K. 2006. Detection and avoidance of an entomopathogenic fungus by a generalist insect predator. *Ecological Entomology* **31** (2): 162–171.
- Mohammed A. A., Kadhim J. H., Hasan A. M. H. 2019. Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi for the control of khapra beetle (*Coleoptera: Dermestidae*) and their effects on the beetles fecundity and longevity. *Journal of Agricultural and Urban Entomology* **35** (1): 1–11.
- Ormond E. L., Thomas A. P. M., Pell J. K., Freeman S. N., Roy H. E. 2011. Avoidance of a generalist entomopathogenic fungus by the ladybird, *Coccinella septempunctata*. *FEMS Microbiology Ecology* **77** (2): 229–237.
- Ortiz-Urquiza A., Keyhani N. O. 2013. Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. *Insects – Open Access Journal* **4** (3): 357–374.
- Pascual-Villalobos M. J., Robledo A. 1999. Anti-insect activity of plant extracts from the wild flora in southern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology* **27** (1): 1–10.
- Patocka J. 2016. Bioactive Metabolites of Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana*. *Military Medical Science Letters (Vojenské Zdravotnické Listy)* **85** (2): 80–88.
- Quintela E. D., McCoy C. W. 1998. Conidial attachment of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the larval cuticle of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) treated with imidacloprid. *Journal of Invertebrate Pathology* **72**: 220–230.
- Roy H. E., Steinkraus D. C., Eilenberg J., Hajek A. E., Pell J. K. 2006. Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Annual Review of Entomology* **51**: 331–357.
- Rumbos C. I., Athanassiou C. G. 2017. Use of entomopathogenic fungi for the control of stored-product insects: can fungi protect durable commodities? *Journal of Pest Science* **90** (3): 839–854.
- Sabbour M. M., Abd El-Aziz S. E. 2010. Efficacy of some bioinsecticides against *Bruchidius incarnatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation during storage. *Journal of Plant Protection Research* **50** (1): 28–34.
- Selitskaya O. G., Gavrilova O. P., Schenikova A. V., Shamshev I. V., Gagkaeva T. Yu. 2014. The effect of toxin-produced *Fusarium* fungi on behavior of the rice weevil (Coleoptera, Dryophthoridae). *Entomological Review* **94** (6): 820–825.
- Shafighi Y., Ziaee M., Ghosta Y. 2014. Diatomaceous earth used against insect pests, applied alone or in combination with *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Journal of Plant Protection Research* **54** (1): 62–66.
- Staples J. A., Milner R. J. 2000. A laboratory evaluation of the repellency of *Metarhizium anisopliae* conidia to *Coptotermes lacteus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology* **36** (1): 133–148.
- Teshome A., Tefera T. 2009. Susceptibility of *Sitophilus zeamais* (Motsch.) (Coleoptera: Curculionidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Ethiopian Journal of Science* **32** (1): 21–28.
- Thompson S. R., Brandenburg R. L. 2005. Tunneling responses of mole crickets (Orthoptera: Gryllotalpidae) to the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Environmental Entomology* **34** (1): 140–147.
- Yanagawa A., Yokohari F., Shimizu S. 2009. The role of antennae in removing entomopathogenic fungi from cuticle of the termite, *Coptotermes formosanus*. *Journal of Insect Science* **9**, Article 6: 1–9.
- Yanagawa A., Fujiwara-Tsujii N., Akino T., Yoshimura T., Yanagawa T., Shimizu S. 2012. Odor aversion and pathogen-removal efficiency in grooming behavior of the termite *Coptotermes formosanus*. *PLOS ONE* **7** (10): e47412. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047412>

<sup>1</sup> В действительности сем. Bostrichidae. Прим. редактора.

EFFECT OF THE VOLATILE COMPOUNDS OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.-CRIV.) VUILL. AND *LECANICILLIUM MUSCARIUM* R. ZARE ET W. GAMS ON THE BEHAVIOUR OF *SITOPHILUS GRANARIUS* (L.) (COLEOPTERA, DRYOPHTHORIDAE) AND EVALUATION OF THE VIRULENCE OF DIFFERENT STRAINS OF THESE FUNGI

G. V. Mitina, O. G. Selitskaya, A. V. Schenikova

*Key words:* behaviour, *Sitophilus granarius*, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium muscarium*, volatile compounds, virulence.

SUMMARY

The granary weevil adults feeding on the grain respond selectively to the presence of volatile compounds of different strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium muscarium*. The mycelium of the *B. bassiana* strains caused a repellent effect to the insects or a neutral effect with a tendency to repellency. A broad variability of these reactions in response to the *L. muscarium* strains was found: from weak repellent (G-033) and neutral (V1 49) to attractive (V1 21). *Beauveria bassiana* strain Bb 17 showed the highest virulence after spraying beetles by the suspension of conidia with  $1.0 \times 10^8$  spores / ml, the mortality of beetles on the 7th day reached 74% with extensive mycelial growth over the dead beetles,  $LT_{50}$  was 5.6 days for this strain and 23 days – for strain Bb 13. The *L. muscarium* strains showed low virulence, with the exception of the strain G-033 ( $LT_{50}$  15.3 days), and they also they led to the development of mycelium on the cadavers. The granary weevil reactions should be considered when assessing the potential of entomopathogenic fungi. The *B. bassiana* strain Bb 17 was selected as a promising control agent; the neutral reaction of the granary weevil to its mycelium is considered as a favorable for the spreading of the fungal infection.