

УДК 576.89:579.64

ВЛИЯНИЕ ЛЕТУЧИХ СОЕДИНЕНИЙ И ЭКСТРАКТОВ МИЦЕЛИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ЗАПАДНОГО ЦВЕТОЧНОГО ТРИПСА *FRANKLINIELLA OCCIDENTALIS* (PERGANDE)

© 2019 г. Г. В. Митина^{а*}, Е. А. Степанычева^а, М. О. Петрова^а

^а Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, ул. Подбельского, 3, Санкт-Петербург, Пушкин, 188620 Россия

* e-mail: galmit@rambler.ru

Поступила 20.07.2018 г.

После доработки 05.02.2019 г.

Принята к публикации 05.02.2019 г.

Представлены новые данные о способности летучих метаболитов энтомопатогенов *Lecanicillium muscarium* R. Zare et W. Gams и *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. изменять ольфакторные реакции и участвовать в регуляции численности западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895). Для личинок и имаго трипса летучие соединения мицелия двух штаммов гриба *L. muscarium* проявили четко выраженную репеллентность с различными индексами предпочтения. Мицелий изученных штаммов гриба *B. bassiana* вызывал отрицательную или нейтральную реакцию у личинок фитофага. При репеллентном действии мицелия гриба *L. muscarium* на самок вредителя установлено снижение численности потомства на 54 %, а под влиянием этанольного экстракта из мицелия (препаративная форма) этот показатель составил 78 %. Инсектицидную активность экстрактов из мицелия в отношении личинок трипса проявили только 2 из 6 протестированных штаммов *L. muscarium*. Наибольшей активностью обладал хлороформ-метанольный экстракт штамма VI 21 – 74.7 % в концентрации 0.5 %. Изученные особенности энтомопатогенных грибов, наряду с их токсической активностью, имеют теоретическое и практическое значение при оценке потенциала энтомопатогенных грибов и их метаболитов.

Ключевые слова: поведенческие реакции, *Frankliniella occidentalis*, *Lecanicillium muscarium*, *Beauveria bassiana*, летучие органические соединения, инсектицидные метаболиты.

DOI: 10.1134/S0031184719030050

Влияние энтомопатогенных грибов (ЭГ) на поведенческие реакции членистоногих является важным аспектом паразито-хозяйинных отношений. Эти реакции лучше изучены для уже зараженных грибами насекомых, поскольку они определяют вирулентность патогена, его распространение, а также выживаемость хозяина. Выявлены реакции насекомых под воздействием биопрепаратов на основе спор ЭГ (Roy et al.,

2006). Например, сухие конидии гриба *Beauveria bassiana* проявляли репеллентность для клещей *Dermanyssus gallinae* (Kilpinen, Steenberg, 2016). *B. bassiana* и *Metarhizium anisopliae* вызывали репеллентность в виде конидиальных порошков в почве или на трупах для термита *Coptotermes lacteus* (Staples, Milner, 2000), медведки *Scapteriscus* sp. (Thompson, Brandenburg, 2005), хищного клопа *Anthocoris nemorum* (Meyling, Pell, 2006), семиточечной коровки *Coccinella septempunctata* (Ormond et al., 2011) и таракана *B. germanica* (Kaakeh et al., 1996). Для самок mosкитов переносчиков малярии *Anopheles stephensi* обнаружена аттрактивность спор *B. bassiana* (George et al., 2013). В последние годы уделяется внимание летучим органическим соединениям (ЛОС), которые выделяются грибами и которые вызывают нарушения жизненно важных процессов членистоногих, таких как питание, развитие, размножение и т.д. (Boucias et al., 2012; Yanagawa et al., 2012; Ormond et al., 2011; Jacobsen et al., 2014).

Наличие у ЭГ летучих вторичных метаболитов, позволяющих изменять поведенческие реакции членистоногих, особенно актуально для защиты от фитофагов с высокой скоростью развития резистентности к традиционным инсектицидам в теплицах. Западный цветочный трипс *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) – один из опаснейших вредителей сельскохозяйственных культур, способный развиваться круглогодично в теплицах, нанося вред не только как фитофаг, но и как переносчик вирусных заболеваний растений (Childers, 1997; Ullman et al., 2002; Whitfield et al.; 2005). Трипс, как и все фитофаги, обладает сильно развитым хеморецепторным аппаратом (Koschier et al., 2000; Van Tol et al., 2012). При дистантной ориентации на кормовое растение, оптимальное для питания и откладки яиц, насекомое ориентируется не только на ЛОС этого растения, служащие адаптивным маркером, но и на присутствие инородных летучих соединений (Koschier et al., 2000; Allsopp et al., 2014; Степаньчева и др., 2018). В качестве природных патогенов *F. occidentalis* известны ЭГ из группы аскомицетов, такие как *Lecanicillium muscarium* и *Beauveria bassiana* (Schreiter et al., 1994; Zhang et al., 2015). Эти виды не имеют активных механизмов распространения спор и переносятся с различными потоками в почве и в воздухе, а также зараженными хозяевами или другими членистоногими, невосприимчивыми к патогену (Евлахова, 1974). В литературе отсутствуют сообщения о поведенческих реакциях *F. occidentalis* в ответ на ЭГ, и, в частности, на виды *L. muscarium* и *B. bassiana* или на препаративные формы на их основе. По ранее полученным нами данным, одна из инсектицидных фракций из мицелия гриба *L. muscarium* обладает аттрактивным действием для имаго трипса (Митина и др., 2003). Очевидно, что при оценке перспективности новых агентов микробиологической борьбы с вредителями, необходимо учитывать не только их летальное действие, но и возможные побочные эффекты, в частности, возможность влияния на дистантную ориентацию.

Цель настоящей работы: изучить особенности влияния мицелия *L. muscarium* и *B. bassiana*, а также экстрактов мицелия этих грибов и препаративных форм на поведенческие реакции, численность потомства и выживаемость западного цветочного трипса *F. occidentalis*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Грибы и тест-насекомые

Штаммы ЭГ отобраны из Государственной коллекции ВИЗР (WFCC WDCM № 760). Штаммы вида *L. muscarium* (Mitina et al., 2017) выделены из личинок оранжерейной белокрылки

(*Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856)) в Московской области (V1 21) и в Йошкар-Ола (V1 49); штамм Bb 13 вида *B. bassiana* выделен из бабочки златогузки *Euproctis chrysorrhoea* Linnaeus в Ростовской области, Bb 17 из имаго 28 точечной картофельной коровки (*Henosepilachna vigintioctomaculata* (Motschulsky, 1857)) на Дальнем Востоке. Отобранные штаммы показали высокую вирулентность в отношении табачного трипса, кроме того, штаммы V1 21, V1 49 характеризуются повышенным содержанием инсектицидных метаболитов в экстрактах (Митина, неопубликованные данные). Поддержание культур осуществляли на среде Чапека в пробирках при +4 °С, пересев – 1 раз в год.

Культивирование грибов и получение экстрактов

Для получения конидий и мицелия штаммы культивировали на агаризованной среде Чапека в чашках Петри в течение 10 дней при температуре 26 °С. Для наработки биомассы штаммы V1 21, V1 49 культивировали отдельно на среде с пептоном в глубоких условиях в колбах в течение трех суток при температуре 26 °С (Новикова и др., 1994). Затем биомассу отделяли от культуральной жидкости фильтрованием с помощью вакуум-насоса и проводили экстракцию различными растворителями (Chermenskaya et al., 2009). Для получения хлороформ-метанольных экстрактов биомассу предварительно высушивали в сушильном шкафу с принудительной вентиляцией при 35 °С в течение 10–12 часов, а затем размалывали на лабораторной мельнице и экстрагировали смесью хлороформ-метанол (2 : 1), соотношение экстрагента к сухой биомассе 1 : 10, в течение 2 часов на качалке при 200 об/мин, дважды. Экстракт отделяли фильтрованием. Лабораторные образцы, разработанного в ВИЗРе биопрепарата вертициллин М против сосущих фитофагов на основе инсектицидных метаболитов (Mitina et al., 1998; Митина и др., 2002; 2016) получали экстракцией из отжатой биомассы с влажностью 73–85 % этанолом, без добавления адъювантов. Все экстракты концентрировали до полного удаления растворителя на ротационном испарителе при 40 °С. Для испытаний хлороформ-метанольных экстрактов, плохо растворимых в воде, их навески предварительно растворяли в минимальном объеме этанола и доводили водой до 0.25–0.5 % концентрации экстракта. Конечное содержание этанола в тестируемом растворе составляло 5 %. Для приготовления растворов вертициллина М, учитывая его водорастворимость, использовали только воду.

Оценка действия ЛОС гриба и экстрактов на поведение западного цветочного трипса

В работе использовали лабораторную популяцию *F. occidentalis*, которую содержали на растениях фасоли при температуре 22 ± 2 °С и продолжительности светового дня 18 ч. При оценке поведенческой реакции личинок и имаго трипса на мицелий грибов, экстрактов из мицелия и препаративных форм ориентировались на их свободный выбор.

При тестах на личинках в чашки Петри (диаметр 90 мм) на влажную фильтровальную бумагу раскладывали по 2 высечки листа фасоли (диаметр 20 мм). Для изучения влияния ЛОС мицелия на одну из высечек помещали блок 10-суточной грибной культуры (диаметр 9 мм), выращенной на среде Чапека, на другую – блок питательной среды такого же размера. В экспериментах с экстрактами один лист обрабатывали изучаемым образцом (концентрация 0.25–0.5 %), второй (контрольный) – 5 % этанолом (в варианте с хлороформ-метанольными экстрактами) или водой (в варианте с вертициллином М). Личинок помещали по 15 штук в центр чашки в каждой из 10 повторностей опыта и через сутки учитывали их распределение.

В опытах с имаго при оценке действия ЛОС мицелия блоки с культурой раскладывали на высечки фасоли (диаметр 20 мм), помещенные на 1% агар (для более длительного сохранения листьев) в чашках Петри. В каждой повторности было по 25 самок. Чашки закрывали пленкой с мелкими отверстиями для вентиляции. Через сутки учитывали распределение имаго на листьях, после чего самок удаляли, а чашки снова затягивали пленкой. В связи с тем, что яйца трипса находятся в паренхиме листа, оценку плодовитости проводили по количеству отродившихся личинок (через 5–6 дней). Опыты включали 10 повторностей.

Влияние вертициллина М на имаго изучали на вегетирующих растениях фасоли в стадии семядольного листа, выращенных индивидуально в пластиковых стаканчиках (200 мл). Опытные растения обрабатывались с помощью ручного лабораторного опрыскивателя с мелким распылом 0.5 % раствором препарата вертициллин М (2.5–3.0 мл/растение). Контроль обрабатывали водой. После испарения влаги растения попарно (опытное и контрольное) помещали в стеклянные цилиндры (высота 270 мм, диаметр 270 мм) и выпускали туда самок трипса. Цилиндры закрывали пищевой пленкой с маленькими отверстиями для вентиляции. Учет распределения самок проводили на следующие сутки, а через 5–6 суток – подсчет отродившихся личинок дочернего поколения. В эксперименте было 10 повторностей, по 20–25 особей самок трипса в каждой.

Действие ЛОС на поведение оценивали по индексу предпочтения ИП, рассчитываемому по формуле (Pascual-Villalobos, Robledo, 1998):

$$\text{ИП} = \frac{(\text{число особей на опытном листе} - \text{число особей на контрольном листе})}{(\text{число особей на контрольном листе} + \text{число особей на обработанном листе})} \times 100.$$
 Предполагается, что тестируемые вещества проявляют аттрактивность при $\text{ИП} > 0$ и репеллентность при $\text{ИП} < 0$.

Снижение численности потомства (личинок дочернего поколения) в опыте по сравнению с контролем (СЧП) рассчитывали по формуле:

$$\text{СЧП, \%} = \frac{(\text{личинок в контроле} - \text{личинок в опыте})}{\text{личинок в контроле}} \times 100.$$

Оценка токсической активности экстрактов из энтомопатогенных грибов и препаративных форм в отношении *F. occidentalis*. При тестировании образцов экстрактов на токсическое действие листья фасоли окунали в суспензию экстракта (концентрация 0.5 %) или образца препарата вертициллина М (0.25–0.5 %) на 2 сек, затем их раскладывали в чашки Петри (диаметр 90 мм) на влажную фильтровальную бумагу. Контроль обрабатывали 5 % этанолом (в случае экстрактов) или водой (в случае вертициллина М). После испарения растворителя листья заселяли личинками трипса (в 5 повторностях по 10 особей в каждой). Через сутки учитывали выживших и погибших особей. Расчет эффективности проводили по формуле Шнейдер-Орелли (Schneider-Orelli) (Puntener, 1981):

$$\text{Биологическая эффективность, \%} = \frac{(\text{Смертность в опыте} - \text{смертность в контроле})}{(100 - \text{смертность в контроле})} \times 100.$$

Данные экспериментов были проанализированы с помощью ANOVA (SigmaPlot версия 12.5 Systat Software), средние значения сравнивали, используя тест Tukey's HSD. Различия считались достоверными при $P \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При тестировании на листьях фасоли в чашках Петри летучие соединения мицелия гриба *L. muscarium* проявили четко выраженную репеллентность в отношении личинок трипса, причем уровень репеллентности для штамма V1 21 был почти в два раза выше, чем для штамма V1 49 (табл.1). Реакция личинок на мицелий штаммов гриба *B. bassiana* существенно различалась: для штамма Bb 17 она была отрицательная (ИП = –35.6), а для штамма Bb 13 – нейтральная. Оценка общих липидных (хлороформ-метанольных) экстрактов из биомассы гриба *B. bassiana* изучаемых штаммов не выявила способности их ЛОС оказывать существенное влияние на поведение трипса, но наблюдалась тенденция к отрицательной реакции у насекомых. Аналогичная реакция отмечена и в вариантах с хлороформ-метанольными экстрактами штаммов *L. muscarium* (V1 21 и V1 49), в то же время, этанольные экстракты этих же штаммов

Таблица 1. Влияние мицелия грибов *L. muscarium* и *B. bassiana*, их экстрактов и препаративных форм на поведение личинок западного цветочного трипса

| Штамм гриба, препарат | Концентрация, % | Количество личинок, особей на лист | | ИП | F | P |
|-----------------------|--------------------|---------------------------------------|------------|-------|--------|--------------------------|
| | | Опыт | Контроль | | | |
| Vl 21 | – | 3.3 ± 0.4* | 8.1 ± 0.4 | –42.7 | 70.079 | 3.736 × E ⁻¹⁰ |
| Vl 49 | – | 3.9 ± 0.5* | 6.6 ± 0.4 | –26.0 | 20.147 | 0.0001 |
| Bb 13 | – | 6.5 ± 0.7 | 6.2 ± 0.4 | –2.4 | 0.130 | 0.722 |
| Bb 17 | – | 3.8 ± 0.7* | 8.0 ± 0.7 | –35.6 | 5.026 | 0.012 |
| Vl 21 (XM) | 0.5 | 4.5 ± 0.5 | 6.4 ± 0.9 | –17.4 | 3.655 | 0.072 |
| Vl 49 (XM) | 0.5 | 3.8 ± 0.7 | 5.4 ± 0.6 | –17.4 | 3.032 | 0.099 |
| Bb 13 (XM) | 0.5 | 5.0 ± 0.5 | 5.3 ± 0.45 | –2.9 | 0.192 | 0.666 |
| Bb 17 (XM) | 0.5 | 4.1 ± 0.4 | 5.4 ± 0.5 | –13.7 | 4.309 | 0.053 |
| Вертициллин М (Vl 21) | 0.5 | 3.1 ± 0.4* | 4.9 ± 0.4 | –22.5 | 10.489 | 0.005 |
| Вертициллин М (Vl 49) | 0.5 | 3.7 ± 0.7* | 9.6 ± 0.8 | –44.4 | 32.465 | 0.00002 |

Примечания: XM – экстракт хлороформ-метанольный; Vl 21, Vl 49 – штамм, на основе которого получена препаративная форма (этанольный экстракт).

* Различие опыта и контроля достоверно при $P \leq 0.05$.

(лабораторные образцы вертициллина М) проявили четко выраженную репеллентность в отношении личинок трипса. Для штаммов Vl 21 и Vl 49 ИП составили, соответственно –22.5 и –44.4 (табл.1). ЛОС мицелия гриба *L. muscarium* (штаммы Vl 21 и Vl 49) вызывали у самок трипса отрицательную реакцию, показатель ИП составил –20 и –40.7, соответственно (табл.2). Репеллентное действие ЛОС мицелия штамма Vl 49 существенно сказалось и на численности дочернего поколения насекомого, которая была в 2.2 раза меньше по сравнению с контролем.

В опытах на вегетирующих растениях вертициллин М, полученный на основе штамма Vl 21, не оказывал влияния на выбор самками растений для заселения, однако, обработка этим препаратом отрицательно сказалась на числе отродившихся личинок, которых было в 4.6 раза больше в контроле, чем в опыте (табл.2).

Оценка инсектицидной активности хлороформ-метанольных экстрактов из мицелия изучаемых штаммов энтомопатогенного гриба *L. muscarium* в отношении личинок трипса показала, что наибольшей активностью обладает экстракт штамма Vl 21 (табл. 3). Кроме того, было проверено еще 5 штаммов *L. muscarium* (Vl 3, Vl 22, Vl 27, Vl 35, Vl 76), которые не проявили инсектицидной активности экстрактов против личинок трипса (результаты не показаны). Лабораторный образец препарата вертициллин М, полученный на основе штамма Vl 21, показал биологическую эффективность на уровне 64.4 % и 34.8 %, в концентрации 0.5 % и 0.25 %, соответственно. Вертициллин М на основе штамма Vl 49 оказался значительно менее активным в отношении личинок трипса (различия достоверны при $P \leq 0.05$). У хлороформ-метанольных экстрактов штаммов гриба *B. bassiana* токсичность в отношении личинок трипса не выявлена.

Таблица 2. Влияние ЛОС мицелия штаммов гриба *L. muscarium* и препаративной формы вертициллин М (0.5 %) на основе экстракта гриба на поведение самок западного цветочного трипса и их плодовитость

| Штамм, препарат | Количество прореагировавших самок | Распределение самок через сутки, особей на лист | | ИП | F | P | Количество оплодотворивших личинок, особей на лист | | F | P | Снижение численности потомства, % |
|---------------------------|-----------------------------------|---|-------------|-------|--------|--------|--|------------|--------|-------------------------|-----------------------------------|
| | | Опыт | Контроль | | | | Опыт | Контроль | | | |
| На агаре в чашках Петри | | | | | | | | | | | |
| V121 | 175 | 7.0 ± 0.6* | 10.5 ± 1.2 | -20.0 | 7.230 | 0.015 | 16.3 ± 1.8 | 18.7 ± 2.1 | 0.734 | 0.402 | 12.8 |
| V149 | 172 | 5.1 ± 1.1* | 12.1 ± 1.1 | -40.7 | 19.705 | 0.0003 | 10.5 ± 2.4* | 23.3 ± 2.4 | 14.420 | 0.001 | 54.9 |
| На вегетирующих растениях | | | | | | | | | | | |
| Вертициллин М (V121) | 210 | 9.8 ± 0.7 | 11.2 ± 0.83 | 6.7 | 1.615 | 0.220 | 10.0 ± 1.1* | 45.7 ± 4.6 | 58.341 | 4.708 × E ⁻⁷ | 78.1 |

Примечания: V121 – штамм, на основе которого получена препаративная форма (этанольный экстракт).

*Различие опыта и контроля достоверно при $P \leq 0.05$.

Таблица 3. Токсическая активность экстрактов из мицелия штаммов *L. muscarium* и препаративных форм на их основе для личинок западного цветочного трипса

| Штамм, препарат | Концентрация, % | Смертность, % | Биологическая эффективность, % |
|------------------------------------|-----------------|----------------|--------------------------------|
| V1 21 (XM) | 0.5 | 75.4 ± 11.5 A* | 74.7 |
| | 0.25 | 46.5 ± 3.6 C | 44.9 |
| V1 49 (XM) | 0.5 | 24.6 ± 8.0 B | 22.7 |
| | 0.25 | 35.9 ± 2.7 B | 34.0 |
| Vb 13 (XM) | 0.5 | 4.0 ± 2.5 D | 1.1 |
| Vb 17 (XM) | 0.5 | 10.0 ± 0.0 D | 7.3 |
| Контроль (этанол 5 %) | – | 2.9 ± 1.8 | – |
| Вертициллин М (V1 21) ² | 0.5 | 64.9 ± 5.6 A | 64.4 |
| | 0.25 | 35.7 ± 6.4 C | 34.8 |
| Вертициллин М (V1 49) ² | 0.5 | 34.4 ± 4.3 C | 33.5 |
| | 0.25 | 29.9 ± 2.2 C | 29.0 |
| Контроль (вода) | – | 1.3 ± 1.3 | – |

Пр и м е ч а н и я. XM – экстракт хлороформ-метанольный; V1 21, V1 49 – штамм, на основе которого получена препаративная форма (этанольный экстракт).

* Одинаковыми буквами отмечены варианты, где различия между ними не достоверны; разными буквами обозначены варианты, где различия достоверны на уровне $P \leq 0.05$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сведения о составе ЛОС энтомопатогенных грибов и их влиянии на членистоногих по данным литературы весьма ограничены. Только недавно проведен сравнительный анализ ЛОС таких видов как *M. anisopliae*, *M. flavoviride*, *Pandora* sp., *Isaria fumosorosea*, *Hirsutella danubiensis*, *Batkoa* sp. и *B. bassiana*, в результате которого показано, что они отличались по количественному и качественному составу; доминирующими среди них были эфиры, кислоты и терпеноиды (Vojke et al., 2018).

Для видов *B. bassiana* и *M. anisopliae* было установлено, что их споры действуют как репелленты для различных групп насекомых, например, таких как, термит *Coptotermes lacteus* (Staples, Milner, 2000), сверчок (*Scapteriscus* sp.) (Thompson, Brandenburg, 2005), хищный клоп *Anthocoris nemorum* (Meyling, Pell, 2006), жук семиточечная коровка *Coccinella septempunctata* (Ormond et al., 2011) и рыжий таракан *Blatta germanica* (Kaakeh et al., 1996). В то же время эти виды грибов активно привлекали самок комаров *Anopheles stephensi* (George et al., 2013) и были нейтральными для представителей ряда таксонов насекомых (Klinger et al., 2006; Mnyone et al., 2010).

Результаты наших экспериментов показывают наличие у ЭГ *L. muscarium* и *B. bassiana*, а так же их экстрактов и препаративных форм, помимо токсического действия, способности оказывать существенное влияние на поведенческие реакции западного цветочного трипса, находящегося на различных этапах онтогенеза. Летучие со-

единения спорулирующего мицелия двух штаммов гриба *L. muscarium* проявили четко выраженную репеллентность в отношении личинок и имаго *F. occidentalis*. Реакции личинок трипса на мицелий вида *B. bassiana* зависели от штамма гриба: на штамм Bb 17 она была отрицательная, а на Bb 13 – нейтральная. Штаммовые различия были обнаружены также и для *L. muscarium*, у которого ЛОС штамма V1 49 проявляли более сильные репеллентные свойства в отношении имаго, по сравнению с личинками, в то время как на летучие соединения штамма V1 21 более выраженная отрицательная реакция отмечена у личинок. Эти данные, вероятно, свидетельствуют о различиях в химическом составе летучих вторичных метаболитов как между двумя видами грибов, так и между различными штаммами одного вида. Аналогичные внутривидовые различия в уровне образования ЛОС обнаружены у двух штаммов *B. bassiana*, которые отличались также уровнем репеллентности и вирулентности по отношению к термитам (Mbugu et al., 2013). ЛОС мицелия штамма V1 49 *L. muscarium* значительно снижали привлекательность субстрата для питания и откладки яиц самками трипса, что привело сокращению численности дочернего поколения, определяемого по отродившимся личинкам. Подобные изменения поведенческих реакций, активности питания и снижение репродуктивного потенциала были показаны ранее только на уже зараженных ЭГ насекомых-хозяевах (Roy et al., 2006).

Выявлена зависимость активности летучих экстрактов из мицелия *L. muscarium* от использованного экстрагента. Хлороформ-метанольный экстракт из мицелия этого вида (штамм V1 49) для личинок был менее репеллентен, чем этанольный экстракт (ИП составил –17.4 и –44, соответственно). Очевидно, этанольные экстракты, используемые для получения вертициллина М, содержат больше веществ, отвечающих за репеллентные свойства, чем хлороформ-метанольные экстракты. Репеллентное влияние хлороформ-метанольных экстрактов на трипса отличалось от аттрактивного действия на него отдельной инсектицидной фракции, изученной нами ранее (Митина и др., 2003). Полученные в настоящей работе данные позволяют предположить, что в состав ЛОС мицелия и экстрактов гриба *L. muscarium* входит целый комплекс веществ как с репеллентными, так и с аттрактивными свойствами.

Обработка растений вертициллином М с использованием в качестве продуцента штамма V1 21 не привела к заметным различиям в заселении самками трипса контрольных и опытных растений, но численность потомства (личинок) в варианте с препаратом была на 78 % ниже. В случае с западным цветочным трипсом, который откладывает яйца в паренхиму листа, такая разница в численности личинок потомства может быть обусловлена наличием ЛОС препарата, снижающих привлекательность растения при выборе самок субстрата для откладки яиц.

Таким образом, установлено преобладание репеллентного эффекта летучих соединений мицелия грибов *L. muscarium*, *B. bassiana* для личинок и имаго *F. occidentalis*, а также наличие негативного эффекта у мицелия, экстракта и препаративной формы на основе штамма V1 21 гриба *L. muscarium* на жизнеспособность личинок трипса. Получены новые данные о способности летучих вторичных метаболитов ЭГ изменять ольфакторные реакции членистоногих и участвовать в регуляции их численности, в частности, такого опасного фитофага, как западный цветочный трипс. Эти резуль-

таты важно учитывать при оценке потенциала ЭГ и их метаболитов для разработки биопрепаратов на их основе.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность А.Л. Первущину (ВИЗР, Санкт–Петербург, Россия) за помощь по наработке образцов биопрепаратов энтомопатогенных грибов. Работа выполнена в рамках Государственной программы фундаментальных научных исследований ФГБНУ ВИЗР, задания № 0665-2018-006 и № 0665-2018-0003.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Евлахова А.А. 1974. Энтомопатогенные грибы. Систематика, биология, практическое значение. Ленинград, Наука, 260 с.
- Митина Г.В., Селицкая О.Г., Черменская Т.Д. 2003. АATTRAKTIVНЫЕ свойства фосфолипидов энтомопатогенного гриба *Lecanicillium lecanii* в отношении калифорнийского трипса *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). Агрехимия 4: 76–81.
- Митина Г.В., СокоРнова С., Павлюшин В.А. 2002. Выделение и изучение спектра действия фосфолипидов с инсектицидной активностью из энтомопатогенного гриба *Lecanicillium lecanii*. Микология и фитопатология 36 (6): 53–59.
- Митина Г.В., Чоглокова А.А., Тулаева И.А., Сундуков О.В. 2016. Акарицидные свойства биопрепарата Вертициллин М. В сб.: Фундаментальные и прикладные исследования в биоорганическом сельском хозяйстве России, СНГ и ЕС. Международная научно-практическая конференция 9–12 августа 2016 года, Большие Вяземы. Материалы докладов, сообщений 2: 304–308.
- Новикова И.И., Митина Г.В., Павлюшин В.А. 1994. Оптимизация условий токсинообразования энтомопатогенного гриба *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas. Микология и фитопатология 28 (6): 37–44.
- Степаньчева Е. А., Петрова М.О., Черменская Т.Д., Павела Р. 2018. Влияние летучих веществ эфирных масел на поведение западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* Perg. (Thysanoptera, Thripidae). Энтомологическое обозрение 97 (4): 640–648.
- Allsopp E., Prinsloo G.J., Smart L.E., Dewhirst S.Y. 2014. Methyl salicylate, thymol and carvacrol as oviposition deterrents for *Frankliniella occidentalis* (Pergande) on plum blossoms. Arthropod-Plant Interaction 8: 421–427.
- Bojke A., Tkaczuk C., Stepnowski P., Gołębowski M. 2018. Comparison of volatile compounds released by entomopathogenic fungi. Microbiological Researches 214: 129–136.
- Boucias D.G., Lietze V., Teal P. 2012. Chemical signals that mediate insect-fungal interactions. In: Witzany G. (ed.). Biocommunication of fungi. Springer, 305–336.
- Chermenskaya T.D., Petrova M.O., Savelieva E.I. 2009. Laboratory and field evaluation of biological active substances of plant origin against greenhouse whitefly, *Trioleturodes vaporariorum* Westw. (Homoptera: Aleyrodidae). Archives of Phytopathology and Plant Protection 42 (9): 864–873.
- Childers C.C. 1997. Feeding and oviposition injuries to plants. In: Lewis T. (ed.). Thrips as crop pests. New York, CAB International, 505–537.
- George J., Jenkins N.E., Blanford S., Thomas M.B., Baker T.C. 2013. Malaria mosquitoes attracted by fatal fungus. PLoS One 8 (5): e62632.
- Jacobsen S., Eilenberg J., Klinge I., Sigsgaard L. 2014. Different behavioral responses in specialist and generalist natural enemy interactions (predators and fungi) in a strawberry-mite pest system. In: International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control: 47th annual meeting of the Society for Invertebrate Pathology and International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control. Program and abstracts, 3–7 August 2014. University of Mainz, 55.
- 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.
- Kilpinen O., Steenberg T. 2016. Repellent activity of desiccant dusts and conidia of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* when tested against poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) in laboratory experiments. Experimental and Applied Acarology 70 (3): 329–341. <https://doi.org/10.1007/s10493-016-0085-7>.
- Klinger E., Groden E., Drummond F.A. 2006. *Beauveria bassiana* horizontal infection between cadavers and adults of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). Environmental Entomology 35 (4): 992–1000.

- Koschier E.H., de Kogel W.J., Visser H.J. 2000. Assessing the attractiveness of volatile plant compounds to western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Chemical Ecology* **26** (12): 2643–2655. <https://doi.org/10.1023/A:1026470122171>.
- Mitina G., Kazartsev I., Vasileva A., Yli-Mattila T. 2017. Multilocus genotyping based species identification of entomopathogenic fungi of the genus *Lecanicillium* (= *Verticillium lecanii* s.l.). *Journal of Basic Microbiology* **57** (11): 950–961. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700092>.
- Mburu D.M., Maniania N.K., Hassanali A. 2013. Comparison of volatile blends and nucleotide sequences of two *Beauveria bassiana* isolates of different virulence and repellency towards the termite *Macrotermes michealseni*. *Journal of Chemical Ecology* **39** (1): 101–108. <https://doi.org/10.1007/s10886-012-0207-6>.
- 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.
- Mitina G.V., Pavlyushin V.A., Novikova I.I., Koniukhov V.P. 1998. Verticillin M, nouvelle preparation micro-biologique. In: Protection biologique des cultures legumieres et fruitees contre des ravageurs et maladies (entomophagas, preparations biologiques et equipements). Saint-Petersbourg, Poushkine, 23–25.
- Mnyone L.L., Koenraad C.J.M., Lyimo I.N., Mpingwa M.W., Takken W., Russell T.L. 2010. Anopheline and culicine mosquitoes are not repelled by surfaces treated with the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Parasites & Vectors* **3**: 80.
- 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.
- Pascual-Villalobos M.J., Robledo A. 1998. Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants. *Industrial Crops and Products* **8** (3): 183–194.
- Puntener W. 1981. Manual for field trials in plant protection. 2nd edition. Basel, Ciba-Geigy Ltd, 205 pp.
- 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.
- Schreiter G., Butt T.M., Beckett A., Vestergaard S., Moritz G. 1994. Invasion and development of *Verticillium lecanii* (Zimm) Viegas in the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Mycological Research* **98** (9): 1025–1034.
- Staples J., Milner R.J., 2000. A laboratory evaluation of the repellency of *Metarhizium anisopliae* conidia to *Coptotermes lacteus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology* **36**: 133–147.
- 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.
- Ullman D.E., Medeiros R.B., Campbell L.R., Whitfield A.E., Sherwood J.L., German T.L. 2002. Thrips as vectors of tospoviruses. *Advances in Botanical Research* **36**: 113–140.
- Van Tol R.W.H.M., de Bruin A., Butler R.C., Davidson M.M., Teulon D.A.J., de Kogel W.J. 2012. Methyl isonicotinate induces increased walking and take-off behaviour in western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **142**: 181–190. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2011.01215.x>.
- Whitfield A.E., Ullman D.E., German T.L. 2005. Tospovirus-thrips interactions. *Annual Review of Phytopathology* **43**: 459–489.
- 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.
- Zhang T., Reitz S. R., Wang H., Lei Z. 2015. Sublethal effects of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) on life table parameters of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Economic Entomology* **108** (3): 975–985.

THE EFFECTS OF VOLATILE COMPOUNDS OF MYCELIUM AND EXTRACTS
OF THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGI ON THE BEHAVIORAL RESPONSE
AND THE VIABILITY OF THE WESTERN FLOWER THRIPS
FRANKLINIELLA OCCIDENTALIS (PERGANDE).

G. V. Mitina, E. A. Stepanycheva, M. O. Petrova

Key words: behavioral response, *Frankliniella occidentalis*, *Lecanicillium muscarium*, *Beauveria bassiana*, volatile organic compounds, insecticidal metabolites.

S U M M A R Y

New data on the ability of volatile metabolites of entomopathogens *Lecanicillium muscarium* and *Beauveria bassiana* to change olfactory reactions and to participate in the regulation an amount of western flower thrips *Frankliniella occidentalis* are presented. The volatile compounds of the mycelium of two strains of *L. muscarium* showed a distinct repellency for larvae and adults with different preference indexes. The mycelium of *B. bassiana* strains under investigation caused a negative or neutral reaction of herbivore larvae. Repellent impact of *L. muscarium* mycelium on thrips females resulted in the decrease of the number of larvae of the next generation by 54 %, and the impact of the ethanol extract, by 78 %. Mycelial extracts of only 2 out 6 tested strains of *L. muscarium* demonstrated insecticidal activity against thrips larvae. The chloroform-methanolic extract obtaining from mycelium of strain V1 21 was the most active – 74.7 % in 0.5 % concentration. The studied features of entomopathogenic fungi together with their toxic activity are theoretically and practically importance for the estimation of the potential of entomopathogenic fungi and their metabolites.