

УДК 632.937.3

**ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА ВЕРТИЦИЛЛИН М НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА
ЭНТОМОПАТОГЕННОГО ГРИБА *LECANICILLIUM MUSCARIUM* И ЕГО
ИНСЕКТИЦИДНЫХ МЕТАБОЛИТОВ НА ЭНТОМОФАГОВ ЗАЩИЩЕННОГО ГРУНТА**

Г.В. Митина, Е.Г. Козлова, И.М. Пазюк

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

Защита растений от вредителей в закрытом грунте, включая производство меристемного картофеля, испытывает острый дефицит экологически безопасных и эффективных препаратов. В работе изучено влияние биопрепарата вертициллин М на основе инсектицидных метаболитов энтомопатогенного гриба *Lecanicillium muscarium* (Petch) R. Zare et W. Gams (= *Verticillium lecanii*) на ряд энтомофагов с целью их совместного применения. В максимальной концентрации (0.5%) биопрепарат нетоксичен для паразита белокрылки энкарзии на стадии мумии, преимагинальных стадий галлицы, для фитосейулюса (подвижные стадии) и для личинок ориуса, слаботоксичен для имаго галлицы. Биопрепарат не влиял

на плодовитость выживших имаго галлицы, отрождение и последующее выживание личинок и куколок. Смертность имаго ориуса достигала 22 и 61 % при концентрации препарата 0.25 % и 0.5 % соответственно. Отдельные фракции, отвечающие за инсектицидную активность вертициллина М, проявили слабую токсичность в отношении имаго ориуса. Совместное применение вертициллина М с имаго галлицы и ориуса возможно в концентрациях 0.1–0.25 %.

Ключевые слова: биозащита; энтомопатогенные анаморфные аскомицеты; *Lecanicillium*; токсины; энтомофаги.

Энтомопатогенные грибы (ЭГ) рода *Lecanicillium* (бывший комплексный вид *Verticillium lecanii*) известны как природные патогены сосущих насекомых [Hall, 1981]. Отдельные виды этих грибов (*L. muscarium*, *L. longisporum*, *L. lecanii*) нашли практическое применение в качестве продуцентов экологически безопасных микробиопрепаратов на основе спор гриба и мицелия. За рубежом производится около 20 наименований различных препаративных форм с использованием спор грибов рода *Lecanicillium* [De Faria, Wraight, 2007; Goettel et al, 2008; Ansari et al., 2011]. Влияние споровых биопрепаратов на основных энтомофагов хорошо изучено. Так, вертициллин, успешно применяемый в СССР до 2002 года, проявлял слабую токсичность в отношении микромуса, кокцинеллиды и личинок златоглазки и был практически нетоксичен для лизифлебуса, циклонеды, энкарзии, фитосейулюса, амблисейуса. Из изученных энтомофагов лишь личинки галлицы были чувствительны к вертициллину, но их совместное применение допускалось при выпуске энтомофагов через 5–7 дней после обработки биопрепаратом [Павлюшин и др., 2001].

В настоящее время производство меристемного картофеля в закрытом грунте, испытывает острый дефицит безопасных препаратов, не вызывающих резистентности у вредителей – переносчиков вирусов. Несмотря на большое количество исследований по энтомопатогенным грибам, только один отечественный грибной препарат разрешен к применению в закрытом грунте – Биоверт на основе спор гриба *L. lecanii* [Государственный каталог пестицидов ..., 2017].

В последние годы возрос интерес к метаболитам ЭГ и растений, проявляющих инсектицидную активность, которые могут применяться отдельно в виде экстрактов или совместно с грибами для повышения их эффективности. В ВИЗРе разработан биопрепарат быстрого контактного действия вертициллин М на основе инсектицидных метаболитов, синтезируемых грибом *L. muscarium* против сосущих вредителей [Митина и др., 1994; Mitina et al., 1998]. Чувствительность к нему проявляют представители отрядов Hemiptera: Aphididae, Aleyrodidae, Diaspididae, Thysanoptera: Thripidae, а также клещи из семейства Tetranychidae, а нечувствительны насекомые из отрядов Lepidoptera: Pyralidae и Orthoptera: Gryllidae [Митина и др., 2002; 2016]. Однако, влияние метаболитов гриба *L. muscarium* и биопрепарата вертициллин М в отношении основных энтомофагов защищенного грунта практически не изучено.

Цель работы: оценить инсектицидное действие метаболитного комплекса гриба *L. muscarium* и отдельных метаболитов на энтомофагов, применяемых в защищенном грунте от сосущих вредителей и обосновать возможность их совместного применения. Основное внимание в работе уделено видам энтомофагов, перспективным для защиты меристемного картофеля от сосущих вредителей – переносчиков опасных вирусов.

Тест-объектами служили энкарзия (*Encarsia formosa*) – паразит оранжерейной белокрылки, хищная галли-

ца (*Aphidoletes aphidimyza*), личинки которых питаются различными видами тлей, фитосейулюс (*Phytoseiulus persimilis*) – специализированный хищник паутиных клещей и хищный клоп ориус (*Orius laevigatus*), питающийся трипсами, тлями и белокрылкой.

Разведение энкарзии проводили на оранжерейной белокрылке, содержащейся на табаке [Бегляров, Лебедев, 1979; Бегляров и др. 1982]. Для получения синхронных яйцекладок галлицы в качестве жертвы использовали виковую тлю, питающуюся проростками бобов, с добавлением кусочков пороллона, смоченных 10%-ным сахарным сиропом [Бондаренко, Асякин, 1975]. Для разведения фитосейулюса проводили раздельное выращивание хищника и жертвы (паутиного клеща) на кормовом растении – фасоли [Бондаренко, 1974; Чалков, 1986]. Для содержания лабораторной культуры хищного клопа ориуса *Orius laevigatus* в качестве корма использовали яйца зерновой моли и проростки фасоли [Степаныхева и др., 2014].

Лабораторный образец вертициллина М был получен на основе органического экстракта из биомассы (водорастворимая препаративная форма) штамма VI 21 вида *L. muscarium*. Для получения биомассы гриб культивировали в ферментере объемом 100 л на соевой среде в течение 3 суток при 28 °С (ООО «Агробiotехнология», Москва).

Вертициллин М тестировали на энтомофагах в максимальных рекомендованных концентрациях (0.5 % – для защиты культур от западного цветочного трипса и 0.1–0.25 % – для защиты от таких вредителей как тли, белокрылка, табачный трипс, паутиный клещ). Опыты проводили при 24–25 °С и 16-часовом световом дне. Оценку инсектицидного действия проводили путем опрыскивания тест-насекомых и кормового растения (или корма) с учетом биологических особенностей изучаемых энтомофагов. Контроль обрабатывали водой.

Энкарзию (мумии) выкладывали на фильтровальную бумагу в чашки Петри и опрыскивали препаратом (1 мл на чашку). На один опыт брали 10–15 чашек по 10–20 мумий. Количество мумий в опыте 200–300. Учеты проводили по вылету имаго энкарзии.

Галлицу обрабатывали на эмбриональной стадии и стадиях личинок и имаго. Яйцекладки галлицы (возраст 1 сутки) помещали на ростки бобов, заселенные виковой тлей, и опрыскивали препаратом (по 30–35 яиц на повторность), затем накрывали растения ламповым стеклом, которое также предварительно обрабатывали. Расход рабочей жидкости 1.5–2 мл/контейнер с растениями. После обработки ламповое стекло закрывали двойным слоем марли. Выживаемость на эмбриональной стадии оценивали по отрождению личинок и вылету имаго в долях относительно начальной численности. Аналогично проводили опыты на личинках 2 и 3 возраста (по 10 личинок на повторность), которых помещали кисточкой на ростки бобов, заселенных виковой тлей, и накрывали ламповым стеклом. Выживаемость оценивали по вылету имаго в долях относительно начальной численности. Для этого выкармливали отродив-

шихся личинок, ежедневно подсыпая в контейнеры виковую тлю. Опыты ставили в 5-ти повторностях.

При оценке действия препарата на имаго галлицы учитывали их высокую чувствительность к непосредственному опрыскиванию при обработке водой, в связи с чем определяли контактную токсичность препарата при посадке имаго на обработанные растения бобов, заселенных тлями и содержащиеся под ламповым стеклом, внутреннюю поверхность которого также обрабатывали. Расход рабочей жидкости 1.5–2 мл/контейнер с растениями. В каждый садок после высыхания препарата (в течение 30 мин) выпускали по 6 особей имаго галлицы (возраст 1 сутки). Опыты ставили в 9-ти повторностях. Учеты проводили до смертности всех имаго в контроле и опыте. Рассчитывали смертность имаго по дням учета, а также продолжительность жизни. Учитывали количество отложенных яиц для оценки плодовитости самок контактировавших с препаратом, отродившихся личинок и окуклившихся особей для оценки продленного действия препарата.

Фитосейулюс (подвижные стадии) обрабатывали на листьях фасоли, заселенных паутиным клещем, опрыскиванием, т.к. при погружении может произойти потеря клещей. Листья помещали на ватные плотки в подносы с водой для изоляции клещей. Учеты вели в течение 9 дней после обработки, определяя прирост численности клещей, как в абсолютных величинах, так и в долях, относительно начальной численности. Опыты ставили в 3-х повторностях, по 10 хищных клещей на повторность.

Действие вертициллина М на ориуса проверяли при двух концентрациях препарата – 0.25% и 0.5%. Влияние оценивали на подвижные стадии ориуса (имаго и личинки 3–4 возраста). Опрыскивание проводили в пластиковых

контейнерах 95 мм диаметром, в которые помещали стельку фасоли с корневой системой, завернутой во влажный тампон и корм для клопов – яйца зерновой моли. Затем в каждый контейнер выпускали по 4–5 особей ориуса и опрыскивали биопрепаратом субстрат, корм и клопов (1 мл раствора – для имаго и 0.5 мл – для личинок). Всего использовали по 10 контейнеров в контроле и в каждом из вариантов опыта.

Отдельные инсектицидные фракции из биомассы гриба *L. muscarium* штамма V1 21 были получены методом ВЭЖХ [Митина и др., 2012] и обозначены как токсин-1 и токсин-2. Их испытания проводили на имаго и личинках ориуса; фракции растворяли в этаноле. В контроле к воде добавляли этанол (10%). Предварительные испытания показали безопасность 10% этанола для ориуса. Концентрации фракций для тестирования рассчитывали пропорционально их содержанию в общем экстракте и вертициллине М.

Для статистической обработки данных использовали двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA. Для оценки достоверности различий использовали t-критерий Стьюдента, критерий Тьюки (Turkey's SHD test) или Хи-квадрат Пирсона (Pearson Chi-square). Расчёт биологической эффективности проводили по формуле Хендерсона и Тилтона [Püntener, 1981]:

$$\mathcal{E} = 100 \times (1 - OnK\delta / OdKn),$$

где \mathcal{E} – эффективность, выраженная процентом снижения численности энтомофагов с поправкой на контроль; Od – число живых особей перед обработкой в опыте; On – число живых особей после обработки в опыте; $K\delta$ – число живых особей в контроле в предварительном учёте; Kn – число живых особей в контроле в последующие учёты.

Результаты исследований

Установлено, что биопрепарат вертициллин М не оказывает инсектицидного действия на мумии энкарзии в концентрации 0.1–0.5%. Между вылетом имаго энкарзии в опыте и контроле не было достоверных различий. Гибель энкарзии в опыте составила 54–57%, что не превышало гибель энкарзии в контроле (табл. 1). При этом смертность энкарзии оставалась на одном уровне при обработке препаратом в 0.1 и 0.5%-ной концентрации.

Отсутствие инсектицидного действия вертициллина М в отношении яйцекладок и личинок галлицы было выявлено при обработке биопрепаратом в максимальной концентрации. Выживаемость яиц и личинок галлицы 2 и 3

возраста было на уровне контроля (табл. 2, 3). При этом вылет имаго в опыте и контроле был достаточно высоким и составил 70–75%.

В отличие от личинок, имаго галлицы проявило чувствительность к биопрепарату вертициллин М в концентрации 0.5% (рис. 1а). Смертность имаго по сравнению с контролем была высокой уже на 2-е сутки после обработки (20%), а к 3-м суткам гибель составила 37.5%. Более длительные учёты, очевидно, нецелесообразны, так как на 6-е сутки смертность имаго в контроле возросла до 57.5%.

При испытаниях вертициллина М в более низкой концентрации (0.25%) чувствительность имаго галлицы к

Таблица 1. Действие вертициллина М на энкарзию *E. formosa*

Вариант опыта	Количество мумий в опыте	Количество вылетевших имаго всего	Смертность, %
Вертициллин М, 0.1 %	300	136	54.0±2.9 ^a
Контроль (1 опыт)	300	138	54.7±2.9 ^a
Вертициллин М, 0.5 %	200	86	57.0±3.5 ^a
Контроль (2 опыт)	200	93	53.5±3.5 ^a

Примечание: одинаковыми буквами обозначены достоверно не отличающиеся значения ($p > 0.05$, критерий Стьюдента).

Таблица 2. Выживаемость галлицы *A. aphidimyza* после обработки лабораторным образцом вертициллина М (0.5%) на эмбриональной стадии

Вариант опыта	Количество яиц	Количество отродившихся личинок	Доля вылетевших имаго, %
Вертициллин М, 0.5 %	35.0±4.1 ^a	27.4±2.7 ^a	75.2 ±10.2 ^a
Контроль (вода)	30.8±8.1 ^a	22.8±5.4 ^a	70.8 ±14.3 ^a

Примечание: одинаковыми буквами обозначены достоверно не отличающиеся значения ($p > 0.05$, критерий Стьюдента).

Таблица 3. Выживаемость галлицы *A. aphidimyza* после обработки лабораторным образцом вертициллина М (0.5%) на стадии личинок II и III возрастов

Вариант опыта	Кол-во личинок II возраста до обработки	Вылет имаго, %	Кол-во личинок III возраста до обработки	Вылет имаго, %
Вертициллин М, 0.5%	50	82.4±10.8 ^a	50	79.8±14.1 ^a
Контроль (вода)	50	79.7±14.5 ^a	50	82.0±12.5 ^a

Примечание: одинаковыми буквами обозначены достоверно не отличающиеся значения (p>0.05, критерий Стьюдента).

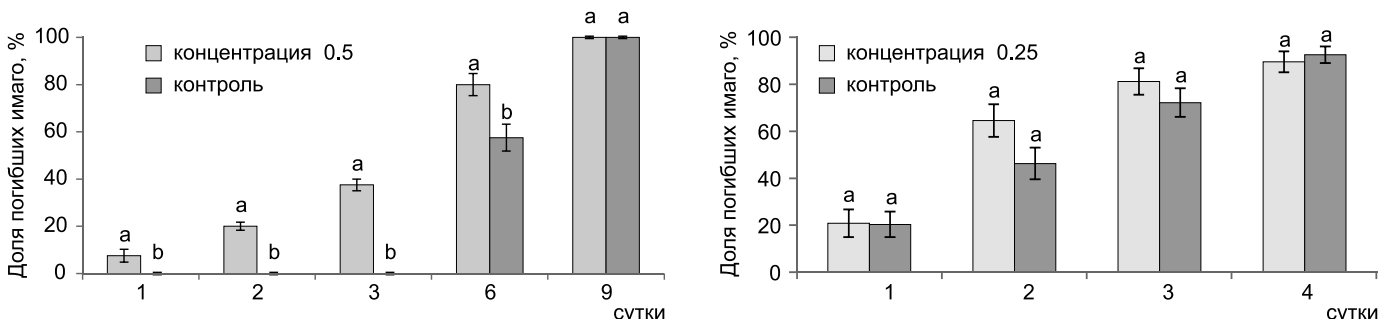


Рисунок 1. Смертность имаго галлицы *A. aphidimyza* под действием вертициллина М.

Примечание: одинаковыми буквами обозначены достоверно не отличающиеся значения (p>0.05, критерий Стьюдента)

препарату в сравнении с контролем была значительно ниже, чем при 0.5% (рис 16). Наблюдаемая абсолютная смертность имаго при концентрации препарата 0.25% была выше, чем при 0.5%, однако, с учетом высокой смертности имаго в контроле (до 46.3%), относительная выживаемость имаго в эксперименте с низкой концентрацией выше, чем при высокой концентрации. На вторые сутки смертность имаго галлицы с поправкой на контроль составила 18.3% при концентрации 0.25% и 20.0% при 0.5%, а на 3-й день – 9.1% и 37.5%, соответственно. В среднем продолжительность жизни имаго в опыте с концентрацией препарата 0.25% была 1.82 дня, при этом в контроле этот показатель был 2.12 дня.

В концентрации 0.25% биопрепарат не влиял на плодовитость выживших имаго и количество отродившихся и выживших личинок (табл. 4). Доля куколок, образовавшихся в конце опыта, также не отличалась от контрольного варианта. Высокая смертность имаго галлицы в контроле может быть вызвана эффектом залипания имаго на влажных поверхностях камеры после обработки водой.

При испытаниях на фитосейуносе было установлено,

Таблица 4. Влияние вертициллина М (0.25%) на численность особей второго поколения галлицы на разных стадиях развития

Вариант	Плодовитость (среднее количество яиц на самку), штук	Количество яиц, штук	Количество личинок, особей	Количество куколок, экземпляров	Доля куколок от личинок, %
Вертициллин М, 0.25%	23.0±1.8 ^a	54.6±9.95 ^a	44.1±9.2 ^a	30.5±6.0 ^a	72.0±4.2 ^a
Контроль	25.9±1.8 ^a	69.2±10.0 ^a	55.5±9.2 ^a	42.2±8.1 ^a	73.4±4.4 ^a

Примечание: одинаковыми буквами обозначены достоверно не отличающиеся значения (p>0.05, критерий Стьюдента).

Таблица 5. Влияние вертициллина М на динамику численности хищного клеща *P. persimilis*

Сутки учета после обработки	Контроль		Вертициллин М, 0.5%	
	Количество клещей *	Прирост численности, %	Количество клещей*	Прирост численности, %
1	60	100 ^a	60	100 ^a
2	53	88 ^a	60	100 ^b
3	49	82 ^a	50	83 ^a
6	116	193 ^a	208	347 ^b
9	215	358 ^a	315	525 ^b

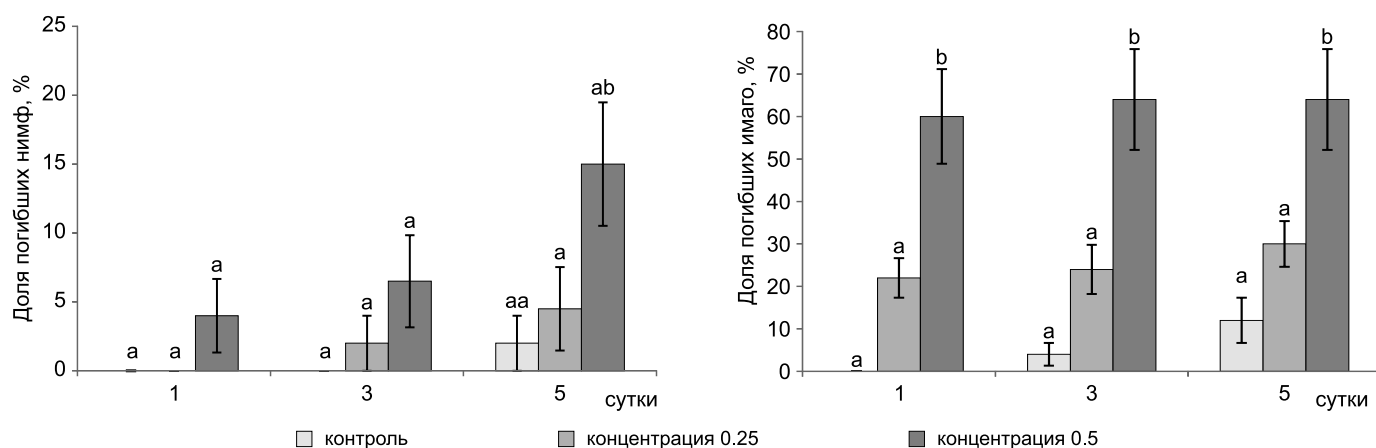
* по сумме 3-х повторностей

Примечание: одинаковыми буквами обозначены достоверно не отличающиеся значения (p>0.05, критерий Стьюдента).

что вертициллин М (0.5%) не оказывал токсического действия на хищного клеща (табл. 5). Начиная с 6-х суток, наблюдали резкое увеличение численности клещей, особенно в опытном варианте.

Вертициллин М не оказывал выраженного инсектицидного действия на личинок ориуса (табл. 6). Гибель личинок через 24 часа после обработки вертициллином М в концентрации 0.5% составила всего 2%. В концентрации 0.25% в опыте и в контроле смертности не было. На 3 сутки после опрыскивания было обнаружено 2% погибших личинок при 0.25% концентрации и 4% при 0.5%, смертности в контроле не было. На пятые сутки после обработки доля погибших личинок в опыте с 0.25%-ной концентрацией статистически не отличалась от смертности в контроле. Во всех вариантах опыта на пятые сутки после опрыскивания часть особей (24–33%) перелиняла на имаго (рис.2а, табл. 6).

Гибель имаго ориуса через 24 часа после опрыскивания составила 22 и 61% при использовании препарата в концентрации 0.25% и 0.5%, соответственно. На 3 сутки после обработки смертность в варианте опыта с концен-

Рисунок 2. Смертность личинок (а) и имаго (б) *O. laevigatus* под действием вертициллина М.Примечание: одинаковыми буквами обозначены достоверно не отличающиеся значения ($p > 0.05$, Turkey HSD test)Таблица 6. Влияние лабораторного образца вертициллина М на выживаемость хищного клопа *O. laevigatus*

Сутки учета после обработки	Контроль (вода)		Вертициллин М (0.25%)		Вертициллин М (0.5%)	
	Количество особей	Выживаемость, %	Количество особей	Выживаемость, %	Количество особей	Выживаемость, %
имаго						
1	50	100	39	78	19	39
3	48	96	38	76	17	35
5	44	88	35	70	17	35
личинки						
1	47	100	48	100	47	98
3	47	100	47	98	46	96
5	45	96	45	94	41	85

трацией 0.25% не отличалась от смертности в контроле (рис. 2б, табл. 6). По предварительным данным препарат не оказывал влияния на выход личинок из яиц на 5 сутки, отложенных имаго ориуса после обработки препаратом в обеих концентрациях.

Таким образом, показано, что вертициллин М не оказывает выраженного инсектицидного действия на личинок ориуса, но проявляет токсический эффект в отношении имаго ориуса, который зависит от концентрации биопрепарата.

На втором этапе была проведена оценка инсектицидного эффекта метаболитов и метаболитных фракций инсектицидного комплекса вертициллина М, отвечающих за его активность. В качестве тест-объектов были так же выбраны имаго и личинки ориуса. Были испытаны две инсектицидные фракции, составляющие токсический комплекс гриба *L. muscarium*. Основное действующее вещество

(токсин-1) выделено в виде индивидуального соединения и структурно относится к тритерпеноидам [Митина и др., 2012], вторая фракция состоит из нескольких пептидных компонентов. Обе фракции проявили слабую токсичность в отношении имаго ориуса (табл. 7). Однако, токсин-2 оказался несколько более токсичным, выживаемость на 5-е сутки составила 78% (различия с контролем достоверны). На личиночную стадию личинок ориуса токсины влияния не оказали.

Испытание этих же фракций на виковой тле *Megoura viciae* экспресс-методом биооценки показало их значительно более высокую токсичность для тли по сравнению с имаго ориуса (табл. 8). Смертность тли через 4 часа после обработки фракциями токсин-1 и токсин-2 составила 28 и 48%, соответственно. Полученные данные указывают на специфичность действия выделенных инсектицидных фракций в отношении тлей.

Таблица 7. Влияние токсина-1 и токсина-2 на выживаемость хищного клопа *O. laevigatus*

Сутки учета после обработки	Контроль (10% этанол в воде)		Токсин-1 (0.025%)			Токсин-2 (0.025%)		
	Количество особей	Выживаемость, %	Количество особей	Выживаемость, %	Смертность, %	Количество особей	Выживаемость, %	Смертность, %
имаго								
1	48	96 ^a	49	98 ^a	2	46	92 ^a	8
3	47	94 ^a	45	90 ^a	10	41	82 ^{ab}	18
5	46	92 ^a	41	82 ^a	18	39	78 ^b	22
личинки								
1	50	100 ^a	48	96 ^a	4	50	100 ^a	0
3	49	98 ^a	47	94 ^a	6	50	100 ^a	0
5	49	98 ^a	45	90 ^a	10	50	100 ^a	0

Примечание: одинаковыми буквами обозначены достоверно не отличающиеся значения ($p > 0.05$, Turkey HSD test).

Таблица 8. Инсектицидная активность фракций токсина-1 и токсина-2 в отношении виковой тли *M. viciae*

Часы после обработки	Контроль (10% этанол в воде)		Токсин-1 (0.025%)		Токсин-2 (0.025%)	
	Количество особей	Смертность, %	Количество особей	Смертность, %	Количество особей	Смертность, %
2	50	0 ^a	40	20 ^b	32	35 ^c
4	50	0 ^a	36	28 ^b	26	48 ^c
24	44	12 ^a	11	78 ^d	2	96 ^e

Примечание: одинаковыми буквами обозначены достоверно не отличающиеся значения ($p > 0.05$, Pearson Chi-square).

Обсуждение

Для совместного использования микробиологических средств защиты растений и энтомофагов крайне важно знать реакцию этих энтомофагов на применяемые биопрепараты. Существует мнение, что влияние грибных препаратов на энтомофагов является суммарным результатом патогенного процесса, вызванного спорами, и токсическими метаболитами энтомопатогенных грибов [Павлюшин, Красавина, 1986; Павлюшин и др., 2001]. ЭГ рода *Lecanicillium* характеризуются определенной специализацией паразитирования на насекомых (преимущественно на сосущих из отряда Hemiptera: Aleyrodidae, Cicadellidae, Aphididae, Coccidae) [Askary, Yarmand 2007; Shinde et al., 2010]. Встречаются они также на пауках отряда Araneae, нематодах и как гиперпаразиты на фитопатогенных грибах [Heintz, Blaich, 1990; Goettel et al., 2008].

Гораздо реже эти грибы можно обнаружить на двукрылых, перепончатокрылых или жесткокрылых насекомых. Заражение Lepidoptera и Coleoptera возможно в лабораторных условиях [Duarte et al., 2016; Andy et al., 2016].

В настоящей работе при тестировании на ряде энтомофагов биопрепарата вертициллин М, содержащего инсектицидный комплекс метаболитов гриба *L. muscarium*, было установлено, что наибольшую токсичность в концентрации 0.5% препарат проявил в отношении имаго ориуса, представителя отряда Hemiptera сем. Anthocoridae. При снижении концентрации препарата в два раза смертность имаго достигала 22%, при этом личинки ориуса были нечувствительны к биопрепарату, что допускает их совместное применение. В литературе обосновывается возможность совместного применения спор грибов *L. longisporum* и *L. muscarium* и ориуса *O. laevigatus* путем нанесения спор на личинок энтомофага и распространения инфекции в популяции персиковой тли *M. persicae* и западного цветочного трипса *F. occidentalis*. При этом хищные клопы, будучи переносчиками конидий гриба, проявляли устойчивость к заражению и сохраняли репродуктивные функции [Down et al., 2009].

При тестировании отдельных инсектицидных фракций из биомассы гриба *L. muscarium*, отвечающих за инсектицидную активность вертициллина М, они проявили слабую токсичность в отношении имаго ориуса, токсин-2 оказался несколько более токсичным, выживаемость на 5-е сутки составила 78%. При этом инсектицидная актив-

ность в отношении виковой тли была значительно выше. Полученные данные указывают на специфичность действия выделенных инсектицидных фракций в отношении тлей. Как показано нами ранее, спектр действия фракции, содержащей токсин-1, также ограничен сосущими вредителями и, в целом, совпадает со спектром восприимчивых к грибу хозяев [Митина и др., 2002; 2016].

По нашим данным, чувствительность к биопрепарату вертициллин М проявили имаго галлицы (Diptera), в отличие от преимагинальных стадий (личинки 2 и 3 возраста, яйцекладки). Возможно, это является результатом проявления антифидантного действия биопрепарата. Подобный эффект отмечается при действии отдельных энтомопатогенных грибов на энтомофагов. Так, гриб *L. longisporum* не влиял на выживание личинок галлицы, однако наблюдалось снижение питания галлицы и веса самок, после выпуска на обработанную грибом персиковую тлю *Myzus persicae* Sulzer [Velez, 2008]. Токсичность высоких споровых нагрузок гриба *V. lecanii* для галлицы, отмечалось также в работе В.А. Павлюшина с соавторами [Павлюшин и др., 2001]. Тем не менее, мы считаем, что совместное применение вертициллина М с имаго галлицы и ориуса возможно в эффективных для защиты от тлей концентрациях (0.1–0.25%).

В максимальной концентрации (0.5%) препарат был нетоксичен для хищного клеща фитосейулюса и для паразита белокрылки энкарзии (Hymenoptera). Это согласуется с данными зарубежных исследователей, показавших, что изоляты *Lecanicillium*, патогенные для тли и белокрылки, не заражали хищного клеща *P. persimilis* и *E. formosa* [Hall, 1981], но вызывали микоз у личинок *Aphidius nigripes* (Hymenoptera) в случае высоких доз инфицирования грибом тлей [Askary, Brodeur, 1999].

Для практических рекомендаций необходимо точно определить время ожидания выпуска имаго этих энтомофагов после применения вертициллина М (предположительно 1–2 дня). Апробированные методики будут использованы в дальнейшем для оценки влияния на энтомофагов новых препаративных форм на основе метаболитов грибов рода *Lecanicillium*; индивидуальных соединений токсического комплекса экстракта, а также новых токсинов энтомопатогенных грибов, что позволит расширить ассортимент безопасных биопрепаратов.

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 16-16-04079).

Библиографический список (References)

Бегляров Г.А. Методические указания по массовому разведению и испытанию эффективности применения паразита энкарзии в борьбе с тепличной белокрылкой / Бегляров Г.А., Лебедев В.В., Злобина В.И. // М.: Колос. 1982. 25 с.

Бегляров Г.А. Некоторые итоги изучения биологии энкарзии – паразита тепличной белокрылки / Г.А. Бегляров, В.В. Лебедев // Состоян. интродукц. и акклиматиз. перспектив. энтомофагов, акарифагов и фитофаг. важнейш. вредит. и сорняков в странах-членах ВПС МОББ. Киев. 1979. С. 108–116.

- Бондаренко Н.В. Методика разведения и применения фитосейулюса / Н.В. Бондаренко // Защита растений N 1. 1974. С. 33–35.
- Бондаренко Н.В. Поведение хищной галлицы (*Aphidoletes aphidimyza* Rond.) и других афидофагов в зависимости от плотности популяции жертвы / Н.В. Бондаренко, Б.П. Асякин // Поведение насекомых как основа для разработки мер борьбы с вредителями сельского и лесного хозяйства. Киев. 1975. С. 9–15.
- Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных для применения на территории Российской Федерации. М.: 2017. 792 с.
- Митина Г.В. Акарицидные свойства биопрепарата Вертициллин М. / Г.В. Митина, А.А. Чоглокова, И.А. Тулаева, О.В. Сундуков // «Фундаментальные и прикладные исследования в биоорганическом сельском хозяйстве России, СНГ и ЕС». Международная научно-практическая конференция 9–12 августа 2016 года. Материалы докладов, сообщений. Том 2. Большие Вяземы. 2016. С. 304–308.
- Митина Г.В. Выделение и изучение спектра действия фосфолипидов с инсектицидной активностью из энтомопатогенного гриба *Lecanicillium lecanii* / Г.В. Митина, С.В. Сокоурнова, В.А. Павлюшин // Микология и фитопатология. 2002. Т. 36. N 6. С. 53–59.
- Митина Г.В. Выделение и изучение химической структуры токсина с инсектицидной активностью из гриба *Lecanicillium muscarium* / Г.В. Митина, О.С. Юзихин, Ф.Ш. Исангалин, А.П. Якимов // Научное приборостроение. 2012. Т. 22. N 2. С. 3–10.
- Митина Г.В. Способ получения инсектицида / Г.В. Митина, В.А. Павлюшин, И.И. Новикова, В.П. Конохов // Патент (19) RU (11) 2005378 (13) C1. 1994.
- Павлюшин В.А. Действие энтомопатогенных грибов на афидофагов в условиях экспериментального заражения / В.А. Павлюшин, Л.П. Красавина // Бюл. ВИЗР. 1986. N 63. С. 7–10.
- Павлюшин В.А. Использование энтомофагов в биологической защите растений в теплицах России / В.А. Павлюшин, К.Е. Воронин, Л.П. Красавина, Б.П. Асякин, В.А. Раздобурдин // Труды Русского энтомологического общества. Т. 72. СПб. 2001. С. 16–31.
- Степанычева Е.А. Поведенческая реакция хищного клопа *Orius laevigatus* Fieber (Heteroptera, Anthocoridae) на синтетические летучие вещества / Е.А. Степанычева, М.О. Петрова, Т.Д. Черменская, И. В. Шамшев, И.М. Пазюк // Энтомологическое обозрение 2014. Vol. 93. No. 3–4. С. 510–517.
- Чалков А.А. Биологическая борьба с вредителями овощных культур защищенного грунта / Чалков А.А. // М.: Колос. 1986. С. 3–27.
- Ansari M.A. Entomopathogenic fungus as a biological control for an important vector of livestock disease: the *Culicoides* biting midge / M.A. Ansari, E.C. Pope, S. Carpenter, E.J. Scholte // PLoS One 6:e16108. 2011. [Электронный ресурс] doi:10.1371/journal.pone.0016108.
- Askary H. Development of the entomopathogenic hyphomycete *Lecanicillium muscarium* (Hyphomycetes: Moniliales) on various hosts / H. Askary, H. Yarmand // Eur. J. Entomol. 104: 2007. P. 67–72.
- Askary H. Susceptibility of larval stages of the aphid parasitoid *Aphidius nigripes* to the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* / H. Askary, J. Brodeur // Journal of Invertebrate Pathology 73. 1999. P. 129–132.
- De Faria M.R. Myco-insecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types / M.R. De Faria, S.P. Wraight // Biol Control 2007. 43(3). P. 237–256.
- Down R., Dissemination of the entomopathogenic fungi, *Lecanicillium longisporum* and *L. muscarium*, by the predatory bug, *Orius laevigatus*, to provide concurrent control of *Myzus persicae*, *Frankliniella occidentalis* and *Bemisia tabaci* / R. Down, A. Cuthbertson, J. Mathers, K. Walters // Biological Control. 50. 2009. P. 172–178.
- Duarte R.T. Potential of Entomopathogenic Fungi as Biological Control Agents of Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae) and Compatibility With Chemical Insecticides / R.T. Duarte, K. C. Gonçalves, D.J.L. Espinosa, L.F. Moreira, S.A. De Bortoli, R.A. Humber, R. A. Polanczyk // Journal of Economic Entomology, Volume 109. Issue 2. 1 April 2016. P. 594–601, [Электронный ресурс] https://doi.org/10.1093/jee/tow008
- Goettel M. S. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases / M.S. Goettel, M. Koike, J.J. Kim, D. Aiuchi, R. Shinya, J. Brodeur // J. Invertebr. Pathol. 2008. Vol. 98. P. 256–261
- Goettel M.S. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases / M.S. Goettel, M. Koike, J.J. Kim, D. Aiuchi, R. Shinya // J Invertebr Pathol 2008; 98: 256–261 [Электронный ресурс] doi: 10.1016/j.jip.2008.01.009.pmid:18423483
- Hall R.A. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. / R.A. Hall // In: Burges, H.D. (Ed.). Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970–1980. 1981. Academic Press. London. P. 483–498.
- Heintz C. *Verticillium lecanii* as a hyperparasite of grapevine powdery mildew (*Uncinula necator*) / C. Heintz, R. Blaich // Vitis. 1990. Vol. 29. P. 229–232.
- Howe A.G. Spatial and taxonomical overlap of fungi on phylloplanes and invasive alien ladybirds with fungal infections in tree crowns of urban green spaces / A.G. Howe, H. P. Ravn, A.B. Jensen, N.V. Meyling // FEMS Microbiology Ecology. Volume 92. Issue 9. 1 September 2016. f1w143. [Электронный ресурс] https://doi.org/10.1093/femsec/f1w143
- Mitina G.V. Verticillin M, nouvelle preparation microbiologique / G.V. Mitina, V.A. Pavlyushin, I.I. Novikova, V.P. Koniukhov // Protection biologique des cultures legumieres et fruitieres contre des ravageurs et maladies (entomophages, preparations biologiques et equipements). Saint-Petersbourg. Poushkine. 1998. P. 23–25.
- Püntener, W. Manual for field trials in plant protection / W. Püntener. // Documenta Ciba-Geigy. Basile 2-nd. ed. 1981. 205 p.
- Shinde S.V. *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare and Gams an important biocontrol agent for the management of insect pests—a review / S.V. Shinde, G. Patel, M.S. Purohit, J.R. Pandya, A.N. Sabalpara // Agric. Rev. 31. 2010. P. 235–252.
- Velez J. Compatibility of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium longisporum* (Petch) Zare & Gams with the predatory midge *Aphidoletes aphidimyza* Rondani (Diptera: Cecidomyiidae) / J. Velez // Dissertation of Maser of Science. 21.04.2008. Simon Fraser University. Canada. 110 p.

Translation of Russian References

- Beglyarov G.A. Lebegev V.V. Some results of the study of biology of *Encarsia*, a parasite of the greenhouse whitefly / In: Sostoyan. introdukts. i akklimatiz. perspektiv. entomofagov, akarifagov i fitofag. vazhneysh. vredit. i sornyakov v stranakh-chlenakh VPS MOBB. Kiev. 1979. P. 108–116. (In Russian).
- Beglyarov G.A. Lebegev V.V., Zlobina V.E. Methodical instructions for mass breeding and testing the effectiveness of *Encarsia* parasite against the greenhouse whitefly / Moscow: Kolos. 1982. 25 p. (In Russian).
- Bondarenko N.V. Method of breeding and application of *Phytoseiulus* / Zashchita rasteniy. N 1. 1974. P. 33–35. (In Russian).
- Bondarenko N.V., Asyakin B.P. Behavior of predatory gall midges (*Aphidoletes aphidimyza* Rond.) and other aphidophages depending on the density of victim's population / In: Povedeniye nasekomykh kak osnova dlya razrabotki mer borby s vreditelyami selskogo i lesnogo khozyaystva. Kiev. 1975. P. 9–15. (In Russian).
- Chalkov A.A. Biological control of vegetable crops pests indoor / Moscow: Kolos. 1986. P. 3–27. (In Russian).
- Mitina G.V. Sokornova S.V., Pavlyushin V.A. Isolation and study of spectrum of action of phospholipids with insecticidal activity from the entomopathogenic fungus *Lecanicillium lecanii* / Mikologiya i fitopatologiya. 2002. V. 36. N 6. P. 53–59. (In Russian).
- Mitina G.V., Chogloikova A.A., Tulaeva I.A., Sundukov O.V. Acaricidal properties of the biopreparation Verticillin M / In: Fundamentalnye i prikladnye issledovaniya v bioorganicheskom selskom khozyaystve Rossii, SNG i ES. Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya 9–12 avgusta 2016 goda. Materialy dokladov, soobshcheniy. V. 2. Bolshiy Viazemy. 2016. P. 304–308. (In Russian).
- Mitina G.V., Pavlyushin V.A., Novikova I.I., Konyukhov V.P. Method to obtain an insecticide / Patent (19) RU (11) 2005378(13) P1. 1994. (In Russian).
- Mitina G.V., Yuzikhin O.S., Isangalin F.Sh., Yakimov A.P. Isolation and study of toxin chemical structure with insecticidal activity from the fungus *Lecanicillium muscarium* / Nauchnoye priborostroyeniye. 2012. V. 22. N 2. P. 3–10. (In Russian).
- Pavlyushin V.A., Krasavina L.P. The effect of entomopathogenic fungi and aphidophages under experimental infection conditions / Byulleten VIZR. 1986. N 63. P. 7–10. (In Russian).
- Pavlyushin V.A., Voronin K.Ye., Krasavina L.P., Asyakin B.P., Razdoburdin V.A. The use of entomophages in biological plant protection In Russian greenhouses / Trudy Russkogo entomologicheskogo obshchestva. V. 72. St. Petersburg. 2001. P. 16–31. (In Russian).
- State catalog of pesticides and agrochemicals allowed for use on the territory of the Russian Federation. Moscow. 2017. 792 p. (In Russian).
- Stepanycheva E.A., Petrova M.O., Chermenskaya T.D., Shamshev I. V., Pazyuk I.M. Behavioral response of the predatory bug *Orius laevigatus* Fieber (Heteroptera, Anthocoridae) to synthetic volatiles / Entomologicheskoe obozrenie. 2014. V. 93. N 3–4. P. 510–517. (In Russian).

EFFECT OF BIOPREPARATION VERTICILLIN M BASED ON THE EXTRACT
FROM ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *LECANICILLIUM MUSCARIUM*
AND ITS INSECTICIDAL METABOLITES ON THE ENTOMOPHAGES IN GREENHOUSES

G.V. Mitina, E.G. Kozlova, I.M. Pazyuk

All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

Plants protection from pests in greenhouses, including the production of meristem potatoes, needs greatly in environmentally safe and effective preparations. The effect of the biopreparation verticillin M on the base of insecticidal metabolites of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* (= *Verticillium lecanii*) on a number of entomophages has been studied for the purpose of their joint application. The biopreparation is non-toxic in the maximum concentration (0.5%) for *Encarsia formosa* in the nymph stage, the preimaginal stages of the predatory midge *Aphidoletes aphidimyza*, for predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (mobile stages), and for larvae of predatory bug *Orius laevigatus*. Verticillin M is a weak toxic for imago *A. aphidimyza* and has no effect on the fecundity of surviving imago midge, hatching and subsequent survival of larvae and pupae. The mortality of imago *O. laevigatus* reached 22% and 61% at concentration of biopreparations 0.25% and 0.5%, respectively. The individual fractions responsible for the insecticidal activity of verticillin M showed a little toxicity to imago *O. laevigatus*. The combined use of verticillin M with imago of *A. aphidimyza* and *O. laevigatus* is possible in concentrations of 0.1–0.25%.

Keywords: biological control; entomopathogenic; anamorphic; *Ascomycetes*; *Lecanicillium*; toxin; entomophage.

Сведения об авторах

Всероссийский НИИ защиты растений, шоссе Подбельского, 3, 196608
Санкт-Петербург, Пушкин, Российская Федерация

*Митина Галина Вадимовна. Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, e-mail: galmit@rambler.ru

Козлова Екатерина Геннадьевна. Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, e-mail: kategen_vizr@mail.ru

Пазюк Ирина Михайловна. Научный сотрудник, кандидат биологических наук, e-mail: ipazyuk@gmail.com

Information about the authors

All-Russian Institute of Plant Protection, Podbelskogo Shosse, 3, 196608,
St. Petersburg, Pushkin, Russian Federation

*Mitina Galina Vadimovna. Leading Researcher, PhD in Biology,
e-mail: galmit@rambler.ru

Kozlova Ekaterina Gennadievna. Leading Researcher, PhD in Biology,
e-mail: kategen_vizr@mail.ru

Pazyuk Irina Mikhailovna. Researcher, PhD in Biology,
e-mail: ipazyuk@gmail.com

* Ответственный за переписку

* Corresponding author