



ISSN 1727-1320 (Print),  
ISSN 2308-6459 (Online)

**В Е С Т Н И К**  
**ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ**

---

**PLANT PROTECTION NEWS**

2020 ТОМ **103** ВЫПУСК **4**  
VOLUME ISSUE



**ВЛИЯНИЕ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ *AKANTHOMYCES* И *LECANICILLIUM* НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ОРАНЖЕРЕЙНОЙ БЕЛОКРЫЛКИ *TRIALEURODES VAPORARIORUM*****Г.В. Митина\*, Е.А. Степанычева, А.А. Чоглокова**

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

\* ответственный за переписку, e-mail: galmit@rambler.ru

Изучено влияние спор грибов из родов *Akanthomyces* и *Lecanicillium* на поведенческие реакции оранжерейной белокрылки. Три штамма видов *Akanthomyces muscarius*, *Lecanicillium pissodis*, *Lecanicillium dimorphum* проявили выраженное репеллентное действие и оказали негативное влияние на плодовитость имаго, вызывая снижение числа отложенных яиц до 70% по сравнению с контролем. Два других штамма видов *Lecanicillium psalliotae* и *A. muscarius* практически не влияли на поведенческие реакции белокрылки и на ее плодовитость. Все изученные штаммы проявили высокую вирулентность при опрыскивании личинок оранжерейной белокрылки споровой суспензией конидий в концентрации 5 млн спор/мл, вызывая смертность на 7-е сутки от 76 до 98%. Вирулентность видов *L. dimorphum* и *L. pissodis* сопоставима с вирулентностью традиционно применяемых в качестве продуцента биопрепаратов вида *A. muscarius*. Их можно рассматривать как перспективные для защиты от оранжерейной белокрылки. Очевидно, что такие поведенческие реакции фитофагов необходимо учитывать при оценке патогенного потенциала энтомопатогенных грибов.

**Ключевые слова:** поведенческие реакции, Aleyrodidae, энтомопатогены, летучие органические соединения, вирулентность

Поступила в редакцию: 17.06.2020

Принята к печати: 20.10.2020

Оранжерейная белокрылка *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemiptera, Aleyrodidae) – один из наиболее распространенных вредителей различных культур закрытого грунта. Многоядный фитофаг развивается на более чем 300 видах растений из 82 семейств, нанося существенный вред как овощным, так и декоративным культурам закрытого грунта, где, развиваясь круглогодично, дает 10–16 поколений. Питание вредителя клеточным соком растений приводит к пожелтению и усыханию листьев. Значительную опасность для растений представляют сажистые грибы, развивающиеся на сахаристых выделениях белокрылки. Даже при незначительной численности белокрылка представляет опасность в качестве переносчика вирусной инфекции (Цыпленков, Берим, 2008). Недостаточная эффективность защитных мероприятий против белокрылки связана с часто встречающейся кросс-резистентностью вредителя к инсектицидам из различных химических групп. В таких случаях особое значение приобретают микробиологические препараты и, в частности, созданные на основе энтомопатогенных грибов (ЭГ). Отдельные виды грибов из рода *Akanthomyces* ранее отнесенные к роду *Lecanicillium* W. Gams & Zare, такие как *Akanthomyces muscarius* (Petch) Spatafora, Kepler & B. Shrestha, comb. nov. (= *Lecanicillium muscarium*), *Akanthomyces lecanii* (Zimm.) Spatafora, Kepler & B. Shrestha, comb. nov. (= *Lecanicillium lecanii*) и *Akanthomyces dipterigenus* (Petch) Spatafora, Kepler, Zare & B. Shrestha, comb. nov. (= *Lecanicillium longisporum*) уже давно зарекомендовали себя как продуценты различных биопрепаратов. Наиболее распространенным патогеном оранжерейной белокрылки является гриб *A. muscarius*, продуцент биопрепарата Микотал (Hall, 1981). В настоящее время описано около 20 видов грибов из родов *Akanthomyces* и *Lecanicillium*, вызывающих микозы различных членистоногих (Zare, Gams, 2001; Kepler et al., 2017). Их патогенный потенциал еще изучается.

Современные исследования показывают, что влияние энтомопатогенных грибов на своих хозяев не ограничивается способностью вызывать у последних микозы, приводящие к гибели. Многие виды грибов образуют низкомолекулярные летучие органические соединения (ЛОС) (Butt et al., 2016), которые влияют на поведенческие реакции членистоногих, связанные с размножением, развитием и питанием (Yanagawa et al., 2009, 2012; Ormond et al., 2011; Jacobsen et al., 2015). Насекомые могут воспринимать ЛОС как привлекательные, отталкивающие, сдерживающие или нейтральные (Boucias, et al., 2012). Для видов *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill и *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin показано, что составы ЛОС могут коррелировать с различными уровнями патогенности энтомопатогенных грибов (Hussain et al., 2010; Holighaus et al., 2019). Для грибов *A. muscarius* установлен репеллентный эффект для личинок и имаго западного цветочного трипса (Митина, Степанычева, 2019). Показано, что мицелий разных штаммов вида *A. muscarius* может вызывать различные реакции жуков амбарного долгоносика: от репеллентных до аттрактивных (Mitina et al., 2020).

Изучение особенностей влияния этих грибов на поведение оранжерейной белокрылки и их связи с патогенностью грибов не проводилось. Такая всесторонняя оценка механизмов действия хорошо известных и малоизученных видов энтомопатогенных грибов из родов *Akanthomyces* и *Lecanicillium* позволяет разработать новые подходы к их применению.

Цель исследований – изучить влияние летучих соединений спор грибов различных видов грибов из родов *Akanthomyces* и *Lecanicillium* на поведенческие реакции и плодовитость оранжерейной белокрылки и определить патогенность (вирулентность) изучаемых грибов в отношении этого фитофага.

### Материалы и методы

Были отобраны штаммы следующих видов: *A. muscarius* (V1 21, V1 61), *Lecanicillium psalliotae* (Treschew) Zare & W. Gams (V1 78), *Lecanicillium dimorphum* (JD Chen) Zare & W. Gams (V1 79), *Lecanicillium pissodis* Kope & I. Leal (ARSEF 8057), выделенных из различных насекомых и субстратов. Штамм ARSEF 8057 получен из Коллекции ARSEF USDA (США). Штаммы поддерживались в пробирках на агаризованной среде Чапека при +4 °С и пересеивались 1 раз в год.

Для получения конидий штаммы выращивали в стандартных условиях на среде Чапека в течение 10 суток (Митина, Сокогнова, 2013). Конидии смывали 0.01 % водным раствором Твина 80, фильтровали через стерильную вату, титр спор определяли в камере Горяева и доводили до рабочей концентрации раствором Твина 80.

Изучение влияния спор грибов из родов *Akanthomyces* и *Lecanicillium* на поведение имаго белокрылки и численность потомства проводили на лабораторной популяции оранжерейной белокрылки, которую содержали при температуре 22±1 °С и 16-ти часовом световом дне на растениях фасоли. Эксперименты проводили на изолированных растениях фасоли, выращенных в стаканчиках объемом 200 мл, по методике, протестированной ранее на имаго западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* (Митина и др., 2019). Фасоль опрыскивали суспензией конидий с титром 5×10<sup>7</sup> спор/мл. В контроле проводили обработку 0.01 % Твином 80. Растения подсушивали на воздухе в течение 30 минут и устанавливали попарно (опыт и контроль) в стеклянных 10-литровых сосудах, изолированных мельничным газом. Затем туда выпускали имаго белокрылки (около 30 особей на сосуд), предварительно

отобранных и выдержанных вне кормового растения в течение двух часов. Через 24 часа учитывали распределение имаго и количество отложенных яиц на опытном и контрольном растениях в каждом сосуде (всего в опыте 10 сосудов-повторностей).

Распределение имаго белокрылки оценивали с помощью индекса агрегирования (ИА) (Закладной, 1983; Pascual-Villalobos, Robledo, 1998) и определяли снижение численности потомства по количеству яиц, отложенных в опыте по сравнению с контролем, выраженное в процентах.

Оценку вирулентности штаммов грибов из родов *Akanthomyces* и *Lecanicillium* в отношении оранжерейной белокрылки проводили на личинках 2–3 возраста по стандартной процедуре (Митина, Сокогнова, 2013). Листья фасоли, заселенные личинками 2–3 возраста (по 30–60 личинок на лист), опрыскивали из ручного распылителя споровой суспензией конидий с титром 5.0×10<sup>6</sup> спор/мл, 1 мл на лист. В контроле лист обрабатывали 0.01 % водным раствором Твина 80. Листья поддерживались на влажной вате (метод плотиков) при температуре 25 °С и 18-часовом световом дне. Повторность опытов 4-кратная для каждого штамма.

Вирулентность грибов определяли как процент смертности личинок белокрылки на 7 сутки после обработки относительно количества живых личинок до обработки.

Результаты были статистически обработаны с помощью однофакторного анализа ANOVA (SigmaPlot версия 12.5 Systat Software), для сравнения средних значений использовали тест Tukey's HSD.

### Результаты и обсуждение

Изучение влияния спор грибов на поведение белокрылки выявило проявление репеллентного действия (статистически достоверного) у трех штаммов: V1 21, ARSEF 8057, V1 79, относящихся к разным видам и выделенных из различных источников. Причем, у вида *L. dimorphum* (штамм V1 79) этот эффект был выражен в значительно большей степени (табл.). Эти же штаммы оказывали подавляющее действие на плодовитость белокрылки: количество отложенных яиц в опыте было на 68.2–70.8 % меньше, чем в

контроле. Летучие соединения спор штамма V1 78 практически не оказывали влияния на поведенческие реакции белокрылки, а споры штамма V1 61 проявляли тенденцию к аттрактивности. Причем, эти два штамма не влияли на плодовитость белокрылки. Штаммы V1 21 и V1 61, относящиеся к одному виду *A. muscarius*, но выделенные из различных хозяев, оказывали различное влияние на поведенческие реакции фитофага.

Таблица. Влияние спор различных видов грибов из родов *Akanthomyces* и *Lecanicillium* на поведенческие реакции оранжерейной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* (W.)

Table. Effect of the spores of different *Akanthomyces* and *Lecanicillium* species on the behavior of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (W.)

Штамм	Вид	Хозяин, субстрат	Индекс агрегации	Снижение количества яиц, %	Вирулентность (смертность личинок на 7 сутки), %
V1 21	<i>Akanthomyces muscarius</i>	Оранжерейная белокрылка <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	-17.8	70.8*	98.72±1.3 <sup>a</sup>
V1 78	<i>Lecanicillium psalliotae</i>	Неидентифицированное насекомое	+10.5	1.8	76.09±1.74 <sup>a</sup>
V1 79	<i>Lecanicillium dimorphum</i>	Почва	-40.7*	67.8*	98.20±1.8 <sup>a</sup>
ARSEF 8057	<i>Lecanicillium pissodis</i>	Coleoptera: Curculionidae	-19.2	68.2*	82.56±8.3 <sup>a</sup>
V1 61	<i>Akanthomyces muscarius</i>	урединопустулы возбудителя ржавчины <i>Phragmidium</i> sp. на <i>Rubus</i> sp.	-8.8	9.6	94.2±5.1 <sup>a</sup>

Примечания: Смертность личинок белокрылки в контроле не превышала 5.0 %;

\* – различия достоверны с контролем;

<sup>a</sup> – одинаковыми буквами обозначены не различающиеся достоверно показатели ( $P \leq 0.05$ ).

Все изученные штаммы проявили высокую вирулентность в отношении личинок оранжерейной белокрылки, смертность которых составила от 76 до 98% на 7-е сутки, среди них выраженную репеллентность проявили три штамма.

Полученные нами данные согласуются с данными литературы. Установлено преобладание реакции репеллентности насекомых из различных отрядов на энтомопатогенные грибы порядка *Hypocreales* (Meyling, Pell, 2006; Roy et al., 2006; Chouvinc et al., 2008; Baverstock et al., 2010). В ряде работ установлено негативное влияние спор энтомопатогенных грибов на плодовитость и питание их хозяев, причем это влияние было связано с репеллентностью. Так, гриб *B. bassiana*, оказывающий отрицательное действие на жизнеспособность *Aphis gossypii* Glover, обладал также репеллентным действием на фитофага. В условиях свободного выбора тли отдавали предпочтение растениям, не обработанным спорами гриба (Rashki, Shirvani, 2013). Споры грибов рода *Metarhizium* и выделяемые ими ЛОС, задерживали яйцекладку некоторых насекомых, включая бататового долгоносика (*Cylas formicarius* Fabricius), комнатную муху (*Musca domestica* L.) и осеннюю жигалку (*Stomoxys calcitrans* L.) (Dotaona et al., 2017; Machtinger et al., 2016). Предполагают, что имаго насекомых распознают потенциально опасные для яиц и личинок условия среды, так как виды *Metarhizium* способны заражать как яйца, так и личинки (Aydin et al., 2018). Однако, эти реакции не всегда связаны с патогенностью. Для вида *B. bassiana*, установлено угнетающее влияние спор на питание жуков *Harmonia*

*axyridis* Pallas в дозах  $10^5$ – $10^9$  конидий/мл и снижение репродуктивной функции, несмотря на то, что жуки не заражались грибом (Roy et al., 2008). И, напротив, в некоторых исследованиях показано, что насекомые либо не способны обнаружить энтомопатогенные грибы, либо не воспринимают их как угрозу. Так колорадский жук *Leptinotarsa decemlineata* Say, восприимчивый к *B. bassiana*, не избегает в почве зараженных грибом трупов жуков. (Klinger et al., 2006).

Полученные нами результаты показали, что изученные штаммы грибов из родов *Akanthomyces* и *Lecanicillium* проявившие репеллентность в отношении имаго оранжерейной белокрылки, вызывают также существенное снижение ее плодовитости. Аналогичные результаты были получены для личинок и имаго западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* Pergande, когда спорулирующий мицелий двух штаммов гриба *A. muscarius* проявили выраженную репеллентность, при этом численность потомства снижалась почти в два раза (Митина и др., 2019). Очевидно, что такие поведенческие реакции фитофагов необходимо учитывать при оценке патогенного потенциала энтомопатогенных грибов.

Проявление репеллентных и патогенных свойств энтомопатогенных грибов из родов *Akanthomyces* и *Lecanicillium*, изученных в настоящей работе, не зависело от вида гриба и источника выделения.

В дальнейшем необходимо расширить выборку изучаемых штаммов разных видов для оценки их биологической активности и изучения химического состава ЛОС.

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

#### Библиографический список (References)

- Закладной ГА (1983) Защита зерна и продуктов его переработки от вредителей. М.: Колос, 215 с.
- Митина ГВ, Сокогнова СВ (2013) Характер взаимодействия штаммов *Lecanicillium* spp. при совместном заражении оранжерейной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum*. *Микология и фитопатология* 47(4):261–265
- Митина ГВ, Степаныхева ЕА, Петрова МО (2019) Влияние летучих соединений и экстрактов мицелия энтомопатогенных грибов на поведенческие реакции и жизнеспособность западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Паразитология* 53(3):230–240. <https://doi.org/10.1134/S0031184719030050>
- Цыпленков АЕ, Берим МН (2008) Белокрылка - переносчик геминивирусов. *Защита и карантин растений* 5:39–40
- Aydin T, Branco M, Guven O, Goncalves H et al (2018) Significant mortality of eggs and young larvae of two pine processionary moth species due to the entomopathogenic fungus *Metarhizium brunneum*. *Biocontrol Sci Technol* 28:317–331
- Baverstock J, Roy HE, Pell JK (2010) Entomopathogenic fungi and insect behaviour from unsuspecting hosts to targeted vectors. *J Int Org Biocontrol* 55(1):89–102
- Boucias DG, Lietze V, Teal P (2012) Chemical Signals That Mediate Insect-Fungal Interactions. In: Witzany G (ed.) *Bio-communication of Fungi*. Springer Sci Bus Media Dordrecht 305–336. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-4264-2\\_20](https://doi.org/10.1007/978-94-007-4264-2_20)
- Butt TM, Coates CJ, Dubovskiy IM, Ratcliffe NA (2016) Entomopathogenic fungi: new insights into host-pathogen interactions. *Advances in Genetics*, Amsterdam, The Netherlands, 94. Academic Press, 307–364. <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2016.01.006>
- Chouvinc T, Su NY, Elliott ML (2008) Interaction between the subterranean termite *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae) and the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in foraging arenas. *J Econ Entomol* 101(3):885–893
- Dotaona R, Wilson BA, Ash GJ, Holloway J et al (2017) Sweetpotato weevil, *Cylas formicarius* (Fab.) (Coleoptera: Brentidae) avoids its host plant when a virulent *Metarhizium anisopliae* isolate is present. *J Invert Pathol* 148:67–72. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2017.05.010>
- Hall RA (1981) The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. In: Burges HD (ed) *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970–1980*. London. Academic Press. 483–498
- Holighaus G, Rohlf M (2019). Volatile and non-volatile fungal oxylipins in fungus-invertebrate interactions. *Fungal Ecol* 38:28–36
- Hussain A, Tian MY, He YR, Lei YY (2010) Differential fluctuation in virulence and VOC profiles among different cultures of entomopathogenic fungi. *J Invert Pathol* 104:166–171
- Jacobsen S, Eilenberg J, Klingenberg I, Sigsgaard L (2015) Different behavioral responses in specialist and generalist natural enemy interactions (predators and fungi) in a strawberry-mite pest system. In: *Ecofriendly Pest Manag Food Sec* Omkar. Elsevier 1(11):329–366. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803265-7.00011-7>

- Kepler RM, Luangsa-ard JJ, Hywel-Jones NL, Quandt CA et al. 2017. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). *IMA Fungus* 8 (2), 335–353. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2017.08.02.08>
- Klinger E, Groden E, Drummond F (2006) *Beauveria bassiana* horizontal infection between cadavers and adults of the colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Environ Entomol* 35:992–1000
- Machtinger ET, Weeks ENI, Geden CJ (2016) Oviposition deterrence and immature survival of filth flies when exposed to commercial fungal products. *J Insect Sci* 16:54
- Meyling NV, Pell JK (2006) Detection and avoidance of an entomopathogenic fungus by a generalist insect predator. *Ecol Entomol* 31(2):162–171
- Ormond EL, Thomas APM, Pell JK, Freeman SN, Roy HE (2011) Avoidance of a generalist entomopathogenic fungus by the ladybird, *Coccinella septempunctata*. *FEMS Microbiol Ecol* 77(2):229–237
- Mitina GV, Selitskaya OG, Schenikova AV (2020) Effect of Volatile Compounds of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. and *Lecanicillium muscarium* R. Zare et W. Gams on the Behavior of *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera, Dryophthoridae) and Evaluation of the Virulence of Different Strains of These Fungi. *Entomol Rev* 100(4):456–462. <https://doi.org/10.1134/S001387382004003>
- Pascual-Villalobos MJ, Robledo A (1998) Screening for anti-insect activity in mediterranean plants. *Ind Crops Prod* 8:183–194
- Rashki M, Shirvani A (2013) The effect of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on life table parameters and behavioural response of *Aphis gossypii*. *Bull Insectol* 66 (1):85–91
- Roy HE, Steinkraus DC, Eilenberg J, Hajek AE, Pell JK (2006) Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Annu Rev of Entomol* 51:331–357
- Roy HE, Brown PMJ, Rothery P, Ware RL, Majerus MEN (2008) Interactions between the fungal pathogen *Beauveria bassiana* and three species of coccinellid *Harmonia axyridis*, *Coccinella septempunctata* and *Adalia bipunctata*. *J Int Org Biocontrol* 53:265–276
- Yanagawa A, Fujiwara-Tsujii N, Akino T, Yoshimura T et al (2012) Odor aversion and pathogen-removal efficiency in grooming behavior of the termite *Coptotermes formosanus*. *PLOS One* 7(10):e47412
- Yanagawa A, Yokohari F, Susumu S (2009) The role of antennae in removing entomopathogenic fungi from cuticle of the termite, *Coptotermes formosanus*. *J Insect Sci* 9:6. <https://doi.org/10.1673/031.009.0601>
- Zare R, Gams W (2001) A revision of *Verticillium sect. Prostrata*. III. Generic classification. *Nova Hedwigia* 72(3–4):329–337

#### Translation of Russian References

- Mitina GV, Sokornova SV (2013) Interactions of *Lecanicillium spp* strains during simultaneous infection of whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *Mikologiya I Fitopatologiya* 47(4):261–265 (In Russian)
- Mitina GV, Stepanycheva EA, Petrova MO (2019) 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). *Parazitologiya* 53(3): 230–240 (In Russian)
- Tsyplenkov AE, Berim MN (2008) Whitefly as a vector of geminiviruses. *Zashchita i karantin rasteniy* 5:39–40 (In Russian)
- Zakladnoy GA (1983) *Zashchita zerna i produktov ego pererabotki ot vreditel'ey* [Protection of grain and its products from pests]. Moscow: Kolos. 215 p. (In Russian)

Plant Protection News, 2020, 103(4), p. 265–268

ECD+WoS: 1.06+IY (Entomology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-4-13466>

#### Short communication

### THE EFFECT OF THE DIFFERENT SPECIES OF THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGI FROM GENERA *AKANTHOMYCES* AND *LECANICILLIUM* ON THE BEHAVIORAL RESPONSES AND THE VIABILITY OF THE *TRIALEURODES VAPORARIORUM*

G.V. Mitina\*, E.A. Stepanycheva, A.A. Chogloková

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

\*corresponding author, e-mail: galmit@rambler.ru

The effect of the spores of *Akanthomyces* and *Lecanicillium* species on the behavioral responses of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* has been studied. Three strains of the species *Akanthomyces muscarius*, *Lecanicillium pissodis* and *Lecanicillium dimorphum* demonstrated a strong repellency and negative effect for the adult fecundity, causing the decrease of the eggs number up to 70% in comparison with control. Two other strains of species *L. psalliotae* and *A. muscarius* did not affect the behavioral responses and fecundity of whitefly. All studied strains showed high virulence against whitefly larvae at concentration of 5 mln spores/ml causing mortality rate between 76 and 98% on the 7th day after treatment. The virulence of species *L. dimorphum* and *L. pissodis* was comparable with the virulence of the species *A. muscarius*, they are traditionally used to produce biopreparations against whitefly. They are promising for the whitefly control. Apparently, the behavioral responses of these pests should be considered for the evaluation of the pathogenic potential of entomopathogenic fungi.

**Keywords:** behavioral responses, Aleyrodidae, entomopathogens, volatile organic compounds, virulence

Received: 17.06.2020

Accepted: 20.10.2020