

## Влияние энтомопатогенных грибов – продуцентов биопрепаратов на хищных клопов и хищных клещей и перспективы их совместного применения против сосущих вредителей в теплицах

Митина Г.В., кандидат биологических наук,  
Пазюк И.М., кандидат биологических наук,  
Красавина Л.П., кандидат биологических наук,  
Трапезникова О.В., кандидат биологических наук,  
Чоголова А.А.

galmit@rambler.ru

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Россия,  
Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, д.3.

В лабораторных опытах показано, что хищные клопы *Orius laevigatus* могут переносить споры грибов из рода *Lecanicillium* после контакта с мицелием и вызывать заражение персиковой тли *Myzus persicae*. Смертность тли для различных штаммов составляла от 51 до 100% на 7-е сутки. Продолжительность жизни клопов после переноса спор существенно снижалась, при этом заражение грибами происходило только в единичных случаях. В условиях производственных теплиц при совместном применении спор *Lecanicillium muscarium* (штамм Г-033 ВИЗР) и хищного клеща *Amblyseius swirskii* против оранжерейной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* на розах получен аддитивный эффект. Обработка споровой суспензией  $5 \times 10^7$  спор/мл с последующим выпуском *A. swirskii* обеспечила более длительный защитный эффект от всех стадий белокрылки, чем раздельное применение этих биологических агентов. Споры не оказывали негативного влияния на клеща *A. swirskii*.

**Ключевые слова:** совместимость агентов биологического контроля, *Lecanicillium*, энтомофаги, *Amblyseius swirskii*, *Orius laevigatus*.

### ВВЕДЕНИЕ

Распространение грибных энтомопатогенов непосредственно в популяции вредителей целевыми насекомыми может существенно повысить эффективность защиты растений. Известны примеры эффективного совместного применения хищных клещей и клопов с энтомопатогенными грибами [9, 12, 17]. При одновременном внесении энтомоакарифагов и энтомопатогенных грибов (ЭПГ), последние должны быть непатогенными для энтомофагов. Для хищных клопов *Orius laevigatus* F. установлена устойчивость к заражению конидиями грибов рода *Lecanicillium* [6]. *O. laevigatus* широко испытывается для защиты овощных и декоративных культур от белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* W., персиковой или *Myzus persicae* S., паутинного клеща *Tetranychus urticae* K. С другой стороны, грибы рода *Lecanicillium* будучи природными

ми патогенами тлей и белокрылок, представляя особый интерес для борьбы с насекомыми из отряда Hemiptera. На основе спор этих грибов разработаны многочисленные биопрепараты, в том числе и в России [18]. Изучена их совместимость с энтомофагами. Так, изоляты грибов из рода *Lecanicillium*, патогенные для тли и белокрылки, не заражали *Phytoseiulus persimilis* A.-H. [8]. В некоторых случаях при совместном применении ЭПГ с хищными клещами или клопами достигается синергетический эффект [6, 19]. Наши исследования показали, что обработка белокрылки спорами гриба *Lecanicillium muscarium* R. Zare, W. Gams с последующим выпуском клещей *Amblyseius swirskii* A.-H. не вызывала их заражения и снижения численности [11]. *A. swirskii* является эффективным хищником оранжерейной и табачной белокрылок и нескольких видов трипсов, проявляя селективность в отношении

личинок трипса, а также яиц и личинок младших возрастов белокрылок. Для обеспечения эффективного контроля всех стадий вредителей нужны дополнительные биоагенты. По некоторым данным, споры *L. muscarium* в высокой концентрации могут проявлять патогенность в отношении хищных клещей, в частности *P. persimilis* [5]. Таким образом, сведения о влиянии грибов на хищных клопов и клещей противоречивы. Настоящая работа нацелена на изучение возможности совместного применения энтомопатогенных грибов рода *Lecanicillium* и хищников клопа *O. laevigatus* и клеща *A. swirskii*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Тест-объекты.** *O. laevigatus* выращивали по методике [13]. В качестве корма использовали яйца зерновой моли и злаковую тлю, питающуюся ростками пшеницы. Стебли фасоли служили субстратом для откладки яиц клопами.

Персиковую тлю *M. persicae* разводили на растениях бобов [2]. Проростки бобов с персиковой тлей и *O. laevigatus* содержали при температуре 22–24°C и 16:8 L:D.

Штаммы *Lecanicillium* отобраны из Коллекции ВИЗР WFCC WDCM №760 (УНО). Грибы выращивали в чашках Петри на среде Чапека в течение 10 суток при 26°C.

### Перенос ЭПГ хищными клопами для последующего заражения персиковой тли

Имаго *O. laevigatus* (4–5 особей) выпускали в пенициллиновые флаконы с выращенными штаммами ЭПГ на скошенной агаризованной среде (5 мл). Отобранные штаммы были нейтральными для ориусов и не влияли на продолжительность жизни хищников и их плодовитость, кроме VI 29, вызывающего сильную репеллентную реакцию клопов [14]. В контроле использовали флаконы с питательной средой без гриба. Каждые 5–10 минут флаконы встряхивали для контакта клопов с мицелием. Через 30 минут клопов (по две особи) переносили в пластиковую камеру (объем 65 мл), на лист боба, размещенный адаксиальной стороной вверх на слое 1%-го агара. Закрывали и оставляли на 24 часа без пищи для распространения спор клопами по поверхности листа. Затем ориусов пересаживали в чашки Петри с кормом, который добавляли каждые 48 часов, для определения продолжительности жизни. После удаления клопов на эти же листья помещали самок *M. persicae* для получения потомства одного возраста и определения вирулентности грибов [11]. Заражение

ориусов и тлей доказывали путем выделения грибов в чистую культуру из поверхностно стерилизованных насекомых.

### Совместное применение *L. muscarium* и *A. swirskii* в теплицах

Оценка эффективности спор штамма Г-033 ВИЗР *L. muscarium* [1] и *A. swirskii* в отношении *T. varparagium* проводилась на 600 м<sup>2</sup> в производственных теплицах Ленинградской области на розах сорта «Пич Аваланж». Отбирали деланки с 3 растениями на 2 м<sup>2</sup>, равномерно заселенные белокрылкой. Средняя температура воздуха – 22,5°C, относительная влажность – 60%. Обработку проводили до полного смачивания растений споровой суспензией 5х10<sup>7</sup> спор/мл, контроль – без обработки. Клещей выпускали на учетные листья сразу после обработки в соотношении хищник: жертва 1:5. На трех листьях с каждого яруса (нижний, средний, верхний) учитывали белокрылку на всех стадиях развития до обработки и на 3-и, 6-е и 11-е сутки после обработки.

## СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Результаты были статистически обработаны с помощью однофакторного анализа ANOVA (SigmaPlot версия 12.5 Systat Software), для сравнения средних значений использовали тест Tukey's HSD. Расчет вирулентности споровых суспензий и биологической эффективности различных биоагентов проводили по формуле Хендерсона-Тилтона (с учетом нарастания численности в контроле).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Распространение спор ЭПГ с помощью хищных клопов *O. laevigatus*

В результате переноса спор клопами на листья было отмечено заражение персиковой тли, питающейся на этих растениях. Гибель тли на 3-и сутки достигала 34% для VI 13 и отсутствовала для VI 78 (табл.1). Развитие гриба (штамм F2) на 3-и сутки было отмечено на нижних частях конечностей тлей. На 7-е сутки смертность тли была 89–100% для штаммов F2, VI 29, VI 13 (различия существенны, P<0,05). Особенно эффективным был штамм VI 13, около 95% погибших тлей было с признаками микоза. Продолжительность жизни *O. laevigatus*, участвовавших в переносе спор ЭПГ, была существенно ниже, чем у ориусов в контроле (P<0,05). Гибель ориусов от микозов после переноса спор была доказана только в двух вариантах (VI 13 и VI 78), при этом были заражены только одна и четыре особи соответственно (табл. 1).

Таблица 1. Смертность *M. persicae* и влияние разных видов грибов рода *Lecanicillium* на *O. laevigatus* в результате переноса спор

Штамм	Вид	Смертность персиковой тли, %		Продолжительность жизни <i>O. laevigatus</i> , дни	Число особей с микозами
		3 сут	7 сут		
VI 29	<i>L. lecanii</i>	9,1±4,7	89,7±6,8	5,8±0,4 b	0
F2	<i>L. lecanii</i>	26,1±4,4	89,3±9,6	3,5±0,3 bc	0
VI 13	<i>L. longisporum</i>	34,2±8,4	100,0	6,7±1,0 b	1
VI 21	<i>L. muscarium</i>	7,1±7,0	55,6±2,1	9,8±0,5 b	0
VI 78	<i>L. psalliotae</i>	0,0	50,9±6,0	8,0±1,5 bd	4
Контроль	-			16,8±1,6 a	0

\*разными буквами отмечены значимые различия между контролем и опытом при  $P \leq 0.05$  (по тесту Kruskal-Wallis)

Таблица 2. Биологическая эффективность обработки белокрылки *T. variegatum* на розах различными биоагентами в производственной теплице

Вариант опыта	Среднее количество особей на лист				Биологическая эффективность, %		
	До обработки	После обработки по дням учетов			3	6	11
		3	6	11			
На стадии яиц							
Контроль	28,7±2,2	46,2±3,8	56,8±4,8	73,2±4,3			
Штамм Г-033	32,0±1,8	0	0	11,1±1,3	100	100	85,8±2,2
<i>A. swirskii</i>	35,6±1,7	0	15,2±1,1	0	100,0	100	100
Г-033 и <i>A. swirskii</i>	32,1±1,4	0	15,2±1,1	0	100,0	100	100,0
На стадии личинок							
Контроль	32,6±2,6	42,1±2,8	56,3±5,1	63,8±4,7			
Штамм Г-033	32,2±1,9	0	0	9,0±1,7	100	100	85,9±2,5
<i>A. swirskii</i>	52,6±6,4	0,9±0,5	0	0	98,0±1,2	100,0	100
Г-033 и <i>A. swirskii</i>	39,1±2,1	0	0		100	100,0	100
На стадии имаго							
Контроль	58,2±4,2	70,0±3,5	75,8±2,5	95,0±4,1			
Штамм Г-033	70,4±2,9	11,2±1,0	17,8±1,3	33,3±2,8	86,7±1,0	80,3±1,9	73,4±2,6
<i>A. swirskii</i>	79,2±5,3	50,2±4,1	73,4±3,7	85,9±3,7	46,4±4,4	27,5±4,0	31,8±4,5
Г-033 и <i>A. swirskii</i>	65,8±3,7	10,0±0,9	0	0	87,0±1,2	100	100

**Испытания спор *L. muscarium* и *A. swirskii* против оранжерейной белокрылки *T. variegatum* в условиях теплиц**

В результате обработок тремя различными способами на 3-и сутки отмечено существенное снижение численности всех стадий белокрылки. В контроле к концу эксперимента численность белокрылки в стадиях имаго, личинки и яйца возросла в 1,6, 2,0, и 2,6 раза соответственно (табл. 2).

Смертность имаго белокрылки при выпуске только хищного клеща составила всего 46% на 3-и сутки. Защитный эффект от совместного применения спор и клеща был высоким против всех стадий белокрылки. Смертности хищного клеща на обработанных спорами листьях не наблюдалось.

**ОБСУЖДЕНИЕ**

Грибы рода *Lecanicillium* могут совместно использоваться с хищными клопами *O. laevigatus* в условиях безопасной споровой нагрузки. С увеличением нагрузки эта ситуация может измениться. Так, *Verticillium lecanii* (= *Lecanicillium* spp.) был патогенным для афидиуса только при сильном заражении грибом популяции тли [4]. Вид *Isaria fumosorosea* W. заражал *Aphelinus asychis* W., а гриб *B. bassiana* (штамм GHA) хищного клопа *Xylocoris flavipes* R. только при высоких концентрациях спор [10, 7].

В работе Доуна показано, что клопы *O. laevigatus* способны переносить конидии *L. longisporum* на растения, вызывая последующее заражение *M. persicae* и *F. occidentalis* [6]. Однако продолжительность жизни клопов, контактировавших с мицелием, была существенно ниже, чем контрольных, а заражение клопов грибами было отмечено в 100% случаев. В нашей работе при переносе спор штамма VI 13 хищными клопами заражение грибом было выявлено только в одном случае. *O. laevigatus* оказался эффективным переносчиком спор также штаммов F2 и VI 29 вида *L. muscarium*, в результате которого погибала значительная часть личинок персиковой тли, но не происходило заражения ориусов. Имаго ориуса, переносившие споры, жили в 1,7–4,8 раза меньше, чем контрольные

клопы. Это, вероятно, связано с тем, что грибы в любом случае оказывают влияние на хищника, изменяя его поведенческие реакции [14]. Известно, что феромоны тревоги выделяются у персиковой тли в присутствии на листьях грибов рода *Lecanicillium* [16]. У хищника *O. albidipennis* в присутствии на хозяевах гриба *M. anisopliae* увеличивалось время поиска, уменьшалось время питания и скорость хищничества [15].

В результате совместного применения спор *L. muscarium* и хищного клеща *A. swirskii* против оранжерейной белокрылки на розах нами получен аддитивный эффект в отношении имаго и яиц белокрылки. Биологическая эффективность в отношении личинок была одинаково высокой для всех вариантов обработки, но более длительный защитный эффект обеспечила именно последовательная обработка споровой суспензией гриба и выпуск хищного клеща. Смертность имаго белокрылки при выпуске хищного клеща была низкой, что связано с селективностью хищного клеща в отношении яиц и личинок младших возрастов белокрылок. *L. muscarium* способен при благоприятных условиях заражать имаго белокрылки в результате попадания спор на пупарии или имаго. Заражение имаго белокрылки может происходить также путем распространения инфекции *A. swirskii* при перемещении и питании, как это было показано для хищного клопа *Dicyphus hesperus* K., разносившего споры *I. fumosorosea* [3].

Проведенные испытания показали, что совместное использование грибов рода *Lecanicillium* *O. laevigatus* и *A. swirskii* является перспективным подходом для защиты от сосущих вредителей. *O. laevigatus* может переносить споры непатогенных для него видов *Lecanicillium*, вызывая заражение *M. persicae*. При совместном применении *L. muscarium* (штамм Г-033) и клеща *A. swirskii* против *T. variegatum* на розах получен аддитивный эффект.

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

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ  
REFERENCES**

1. Митина Г.В., Борисов Б.А., Первушин А.А., Чоглокова А.А., Павлюшин В.А. Патент № 2598251 Штамм гриба *Lecanicillium muscarium*, обладающий инсектоакарицидной и антибиотической активностью для борьбы против сосущих вредителей, грибных и бактериальных болезней, 25.08.2016, дата приоритета от 25.08.2015.
2. Семейнов В.П. Методика лабораторного разведения семиточечной коровки. Защита растений. 6: 32
3. Alma, C.R., Goettel M.S., Roitberg B.D., Gillespie D.R. 2007. Combined effects of the entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* Апопка-97, and the generalist predator, *Dicyphus hesperus*, on whitefly populations. *BioControl*. 52: 669–681.
4. Askary, H., Yarmand, H. 2007. Development of the entomopathogenic hyphomycete *Lecanicillium muscarium* (Hyphomycetes: Moniliales) on various hosts. *Eur. J. Entomol.* 104: 67–72.
5. Donka, A., Sermann, H., Buttner, C. 2008. Effect of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* on the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* as a non-target organism. *Commun Agri Appl. Biol. Sci.* 73: 395–404.
6. Down, R.E., Cuthbertson, A.G.S., Mathers, J.J.F., Walters, K.A.A. 2009. 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*. *Biol. Control*. 50: 172–178.
7. Dunkel, F.V., Jaronski, S.T. 2003. Development of a bioassay system for the predator, *Xylocoris flavipes* (Heteroptera: Anthocoridae), and its use in subchronic toxicity/pathogenicity studies of *Beauveria bassiana* strain GHA. *J. Econ. Entomol.* 96(4): 1045–53.
8. Hall, R.A. 1981. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. *Microbial control of pests and plant diseases*, Academic Press. London. 483–498.
9. Jaber, L.R., Araj, S.-E. 2018. Interactions among endophytic fungal entomopathogens (Ascomycota:Hypocreales), the green peach aphid *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera:Aphididae), and the aphid endoparasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae). *Biol. Control*. 116: 53–61.
10. Lacey, L.A., Mesquita, A.L.M., Mercadier, G., Debire, R., Kazmer, D.J. and Leclant, F., 1977. Acute and sublethal activity of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina:Hyphomycetes) on adult *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Environ. Ent.*, 26, 1452–1460.
11. Mitina, G.V., Stepanycheva, E.A., Chogloкова, A.A., Cherepanova, M.A. 2021. Behavioral reactions of the peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera, Aphididae) to volatile organic compounds of entomopathogenic fungi of the genus *Lecanicillium*. *Entomol. Rev.* 100(4): 698–607.
12. Otieno, J.A., Pallmann, P., Poehling, H.-M. 2017. Additive and synergistic interactions amongst *Orius laevigatus* (Heteroptera: Anthocoridae), entomopathogens and azadirachtin for controlling western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae). *Biocont.* 62: 85–95.
13. Pazyuk, I.M., Vasilyev, A.L. 2017. Diapausing *Trichogramma telengae* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) inside *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera, Gelehiidae) eggs as a food for predatory bug *Orius laevigatus* (Hemiptera, Anthocoridae). *Plant Protect. News.* 92(2): 45–49.
14. Pazyuk I.M., Chogloкова A.A., Mitina G.V. 2022. Effect of entomopathogenic fungi of the genus *Lecanicillium* on behavioral reactions and average per-day fecundity of the predatory bug *Orius laevigatus* Fieber (Heteroptera, Anthocoridae). *BIO Web Conf.*, 43 (2022) 02003. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20224302003>.
15. Pourian, H. -R., Talaei-Hassanloui, R., Kosari, A.A., Ashouri, A. 2011. Effects of *Metarhizium anisopliae* on searching, feeding and predation by *Orius albidipennis* (Hem., Anthocoridae) on *Thrips tabaci* (Thy., Thripidae) larvae. *Biocontrol Sci. Tech.* 21(1): 15–21.
16. Roditakis, E., Couzin, I. Balrow, K., Franks, N.R. 2000. Improving secondary pick up of insect fungal pathogen conidia by manipulating host behavior. *Ann. of Appl. Biol.* 137(3): 329–335.
17. Roy, H.E., Pell, J.K. 2000. Interactions between entomopathogenic fungi and other natural enemies: implications for biological control. *Biocontrol. Sci. Tech.* 10: 737–752.
18. State catalog of pesticides and agrochemicals permitted for use on the territory of the Russian Federation (approved by the Ministry of Agriculture of Russia). 2020.

# Effect of entomopathogenic fungi - producers of biopreparations on predatory bugs and predatory mites and the prospects for their combined application against sucking pests in greenhouses

**Mitina G.V., PhD, Pazyuk I.V., PhD, Krasavina L.P., PhD,  
Trapeznikova O.V., PhD, olvet@inbox.ru, Chogloкова A.A.,  
galmit@rambler.ru**

All-Russian Research Institute of Plant Protection (FSBSI VIZR),  
Russia, St. Petersburg, Pushkin, Podbelskogo shosse, 3.

In laboratory experiments it was shown that the predatory bugs *Orius laevigatus* can transfer the fungal spores of *Lecanicillium* after contact with mycelium caused infection of the peach aphid *M. persicae*. Mortality of aphids reached for different strains from 51 to 100% on the 7th day. A significant reduction in the longevity of the adult bugs that transferred spores was found. Infection of *O. laevigatus* after contact with spores has been confirmed in a single case only. In a trial conducted in a commercial greenhouse on rose plants at combined application of *Lecanicillium muscarium* spores (strain G-033 VIZR) and predator mite *Amblyseius swirskii* against greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* an additive effect was shown. The application of *L. muscarium* sporal suspension  $5 \times 10^7$  spores/ml followed by the release of *A. swirskii* suppressed all stages of *T. vaporariorum* more effectively than either of the biological control agents when applied separately. The spores did not effect negatively on the predator.

**Keywords:** compatibility of biological control agents, *Lecanicillium*, beneficials, *Amblyseius swirskii*, *Orius laevigatus*