

Влияние вторичных метаболитов растений на чувствительность насекомых к энтомопатогенным микроорганизмам

Б. А. ДУЙСЕМБЕКОВ¹, И. М. ДУБОВСКИЙ², В. В. ГЛУПОВ²

¹ Казахский научно-исследовательский институт защиты
и карантина растений им. Ж. Жиембаева
050070, Алматы, ул. Казыбек би, 1

² Институт систематики и экологии животных СО РАН
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 11
E-mail: skif@eco.nsc.ru

Статья поступила 06.04.2016

Принята к печати 01.12.2016

АННОТАЦИЯ

Изучено влияние ряда растительных экстрактов на чувствительность тестовых насекомых к энтомопатогенным микроорганизмам. Показано, что вес гусениц большой воцинной огневки *Galleria mellonella* снижался на 30–50 % под действием полярных и неполярных экстрактов побегов багульника и оленьего мха. Общий экстракт болиголова, наоборот, способствовал приросту веса гусениц в пределах 30 %. Воздействие экстракта оленьего мха приводило к синергическому эффекту в смертности от вируса ядерного полиэдроза у непарного шелкопряда *Lymantria dispar* и грибной инфекции у воцинной огневки. Установлено, что основными составляющими данного экстракта являются перлатоликовая и усниновая кислоты, а также третий компонент пока неизвестной химической природы. Показано, что наиболее перспективной добавкой к энтомопатогенным микроорганизмам является усниновая кислота. Ее воздействие приводило к увеличению гибели колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* и воцинной огневки от энтомопатогенных грибов *Metarhizium robertsii* и *Beauveria bassiana*. Однако максимальный эффект проявляется только при воздействии общего экстракта, что можно объяснить либо суммированием действия каждого из компонентов экстракта, либо изменением ряда свойств компонентов в присутствии других составляющих общего экстракта.

Ключевые слова: экстракты, олений мох, колорадский жук, резистентность, *Metarhizium*, усниновая кислота, непарный шелкопряд, воцинная огневка.

В результате длительной коэволюции насекомых и растений возникли различные адаптации как у насекомых, так и у кормовых растений, приводящие к определенной динамической устойчивости этих трофических

систем [War et al., 2012]. У насекомых произошли изменения в ротовом аппарате, пищеварительной системе, поведении и т. д., обеспечивающие успешное развитие на определенных видах растений. С другой сторо-

ны, растения выработали механизмы защиты от фитофагов (морфологические, биохимические, физиологические). Среди биохимических механизмов защиты растений существенную роль играют вторичные метаболиты (аллелохимики). Последние могут оказывать различное действие на насекомых (токсикозы, нарушение гормонального статуса, низкая усвояемость корма, повышение чувствительности к патогенам и т. д.) [Gordy et al., 2015]. Защитные компоненты у растений продуцируются постоянно или в ответ на повреждение при питании фитофагами. Часто они продуцируют органические летучие соединения, которые привлекают природных врагов насекомых, что также способствует снижению численности фитофагов [War et al., 2012].

Развитие сельского хозяйства и химических методов контроля численности насекомых постоянно повышает уровень различных инсектицидов в естественных биоценозах и агроценозах. К настоящему времени при использовании химических инсектицидов значительно возросли загрязнения окружающей среды. Кроме того, многие из них обладают высокой токсичностью для нецелевых объектов, в том числе и для человека и животных. В связи с вышесказанным для человека всегда представляло интерес использование метаболитов растений для защиты посевов от насекомых фитофагов. И вполне закономерно, что одним из наиболее перспективных направлений в создании методов контроля численности насекомых является поиск, разработка и производство инсектицидов на основе растительных метаболитов (ботанических инсектицидов) [Salunke et al., 2009; Senthil-Nathan, 2013; Gordy et al., 2015].

В связи с этим предпринята попытка поиска активных аллелохимиков наиболее перспективных в плане создания препаратов для контроля численности насекомых. Для достижения данной цели выделены и протестированы экстракты следующих растений: болиголов крапчатый (*Conium maculatum* L.), багульник болотный (*Ledum palustre* L.), живокость сетчатоплодная (*Delphinium dictyocarpum* DC.), синяк обыкновенный (*Echium vulgare*), льнянка обыкновенная (*Linaria vulgaris* Mill.), пижма обыкновенная (*Tanacetum vul-*

gare L.), сфагнум (*Sphagnum*), олений мох (*Cladonia stellaris* Opiz.), кубышка желтая (*Nuphar luteum* (L.) Sm.), борец бородатый (*Aconitum barbatum* Pers.).

Выбор сделан исходя из анализа литературных данных [Крылов, 1972; Минаева, 1991; и др.], в которых рассматривались растения, обладающие в той или иной мере инсектицидной активностью. Помимо инсектицидных свойств экстракты данных растений протестированы на способность усиливать энтомопатогенное действие бактерий *Bacillus thuringiensis* (Berliner), грибов *Metarhizium robertsii* (J. F. Bisch, Rehner & Humber) и вируса ядерного полиэдроза, которые используют для создания биологических препаратов против широкого спектра насекомых вредителей сельского и лесного хозяйства.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экстракция биоактивных веществ из растений. Основываясь на литературных данных, отобран ряд растений, распространенных на территории Западной Сибири, обладающих антагонистическими свойствами по отношению к насекомым (табл. 1) [Крылов, 1972; Минаева, 1991; Kuusik et al., 1995; Soscichietto et al., 2002]. Определение лишайников проводилось сотрудником НИОХ СО РАН И. В. Нечепуренко.

В качестве экстрагентов биоактивных веществ, включая усниновую и перлатоликовую кислоты, из различных частей растений использовали гексан, петролейный эфир 40–70 °С, спирт этиловый, спирт изопропиловый [Патент..., 2006]. Последний – для получения общего экстракта (ОЭ). Полученное сухое вещество использовали для тестирования на насекомых.

Насекомые. В экспериментах использовали три вида насекомых из двух отрядов: большую вощинную огневку *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera), колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera) и непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera).

Личинки IV возраста колорадского жука собирали на картофельных посадках Новосибирской обл. (НСО, Тогучинский р-н). Гусеницы большой вощинной огневки взяты из инсектария лаборатории патологии насекомых

Растения, отобранные для тестирования на насекомых

Русское название	Латинское название	Части, используемые для экстракции	Тип экстракции
Пижма обыкновенная	<i>Tanacetum vulgare</i>	Цветки	Общий, полярный, неполярный
Багульник болотный	<i>Ledum palustre</i>	Побеги	Полярный, неполярный
Олений мох	<i>Cladonia stellaris</i>	Надземная часть	То же
Сфагнум	<i>Sphagnum</i>	Стебель, листья	»
Болиголов крапчатый	<i>Conium maculatum</i>	Надземная часть	Общий
Синяк обыкновенный	<i>Echium vulgare</i>	То же	То же
Живокость сетчатоплодная	<i>Delphinium dictyocarpum</i>	»	»
Льнянка обыкновенная	<i>Linaria vulgaris</i>	»	»
Кубышка желтая	<i>Nuphar luteum</i>	Коробочки и стебли	Полярный, неполярный
Борец бородачатый	<i>Aconitum barbatum</i>	Надземная часть	Общий

ИСиЭЖ СО РАН (линия насекомых, собранных на пасеке в 2008 г. (НСО, Татарский р-н)). В экспериментах использовали личинок IV возраста. Яйцекладки непарного шелкопряда собирали в очагах массового размножения НСО (Карасукский р-н). Его вылупившихся гусениц содержали в лабораторных условиях на листьях березы повислой *Betula pendula* Roth. В экспериментах использовали личинок II возраста.

Полярные, неполярные и общие экстракты (0,1 %) вносили в корм насекомых (вощинная огневка) или наносили на листья (колорадский жук, непарный шелкопряд).

Энтомопатогенные микроорганизмы. Для заражения насекомых применяли споро-кристаллическую смесь высоковирулентного штамма 69-6 *Bacillus thuringiensis* ssp. *galleriae* (серотип H5ab). Штамм бактерий взят из коллекции лаборатории патологии насекомых ИСиЭЖ СО РАН. Для инфицирования непарного шелкопряда использовали вирус ядерного полиэдрома из коллекции ИСиЭЖ СО РАН. Для заражения насекомых грибами использовали музейные штаммы (P-72, 85-69p) гриба *Metarhizium robertsii* и штаммы (СТ-01, ЛМ-2, 4-88) *Beauveria bassiana* Vuill.

Грибы выращивали на модифицированной среде Сабуро (бактериологический пептон – 10 г, декстроза – 40 г, дрожжевой экстракт – 10 г, агар-агар – 20 г, дистиллированная вода – 1 л) [Goettel, Inglis, 1997]. Бактерии нарабатывали на среде Лурия – Бергани, модифицированной по Леннокс, с добавлением 1,2%-го агар-агара [Ausubel et al., 1995].

Влияния экстрактов на чувствительность насекомых к патогенам. Для изучения влияния экстрактов растений на вес и смертность насекомых использовали 0,1 % концентрации веществ на 1 г сухого корма. Очищенную усниновую кислоту брали в нескольких концентрациях: 0,01, 0,05 и 0,1 %. Растительные экстракты или усниновую кислоту добавляли в суспензию спор энтомопатогенных грибов (титр 10^7 спор/мл), а затем полученной смесью инфицировали гусениц вощинной огневки и личинок колорадского жука. Пероральное заражение вощинной огневки бактериями проводили при содержании личинок на питательной среде, в состав которой добавляли спорокристаллическую суспензию *Bacillus thuringiensis* ssp. *galleriae* (1 мл суспензии, содержащей 1×10^8 бактерий, смешивали с 3 г среды) [Dubovskiy et al., 2016]. Вирусом ядерного полиэдрома (титр 10^7) обрабатывали листья березы, которые скармливали гусеницам непарного шелкопряда [Martemyanov et al., 2015].

Гусеницы вощинной огневки находились в чашках Петри по 20 особей при 28 °С, в темноте на искусственной питательной среде. Личинок колорадского жука содержали на листьях картофеля по 10 шт. в контейнерах (125 мл) при 12-часовом световом дне и температуре 24 °С. Гусениц непарного шелкопряда сохраняли на листьях березы повислой по 30 особей в контейнерах (20 л) при 12-часовом световом дне и температуре 22 °С.

При изучении влияния усниновой кислоты и химических инсектицидов на восприим-

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

чивость личинок колорадского жука к грибам *M. robertsii* и *B. bassiana* применяли топикальную обработку хлорофосом 0,005 % и альфа-циперметрином 0,0005 %.

Вес и смертность фиксировали ежедневно в течение 11 дней для колорадского жука, 10 дней для вощинной огневки, 25 дней для непарного шелкопряда.

Статистика. Полученные данные обрабатывали статистически, рассчитывая среднее арифметическое и его ошибку. Для проверки нормальности распределения данных использовали тест Д'Агостино и критерий Шапиро – Уилка. Статистическую значимость различий изучаемых параметров для данных с ненормальным распределением определяли с помощью *U*-теста Манна – Уитни и однофакторного дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса с тестом Дана. Смертность гусениц непарного шелкопряда при обработке экстрактом оленьего мха и вируса ядерного полиэдроза (ВЯП), а также личинок колорадского жука при обработке усниновой кислотой, химическими инсектицидами и грибами анализировали с помощью формулы Аббота. Для сравнения данных с нормальным распределением использовали *T*-тест, а также однофакторный дисперсионный анализ с тестом Бонферрони. Для расчетов использовали программы Statistica 6.0 и GraphPad Prism 5.

В результате установлено, что вес гусениц большой вощинной огневки снижался на 30–50 % под действием экстрактов побегов багульника и оленьего мха (рис. 1). Только полярный экстракт и общий экстракт пижмы снижали вес гусениц на 20–30 %, неполярный – не влиял на массу, а неполярный экстракт сфагнома задерживал прирост веса гусениц. Остальные экстракты не оказывали никакого действия на вес гусениц большой вощинной огневки. Общий экстракт болиголова наоборот способствовал приросту веса гусениц в пределах 30 % ($p < 0,05$).

Все испытанные экстракты не влияли на чувствительность насекомых к энтомопатогенным бактериям *Bacillus thuringiensis*. Кроме экстракта багульника, который при совместном использовании с бактериями, почти вдвое увеличивал устойчивость насекомых к данным патогенам. Подобный эффект выявлен при совместном использовании экстракта багульника и вируса ядерного полиэдроза против непарного шелкопряда. Не исключено, что ряд компонентов экстракта способен связываться с белками, в том числе с бактериальным токсином и белковой капсулой полиэдров или непосредственно с вирионами, инактивируя последних.

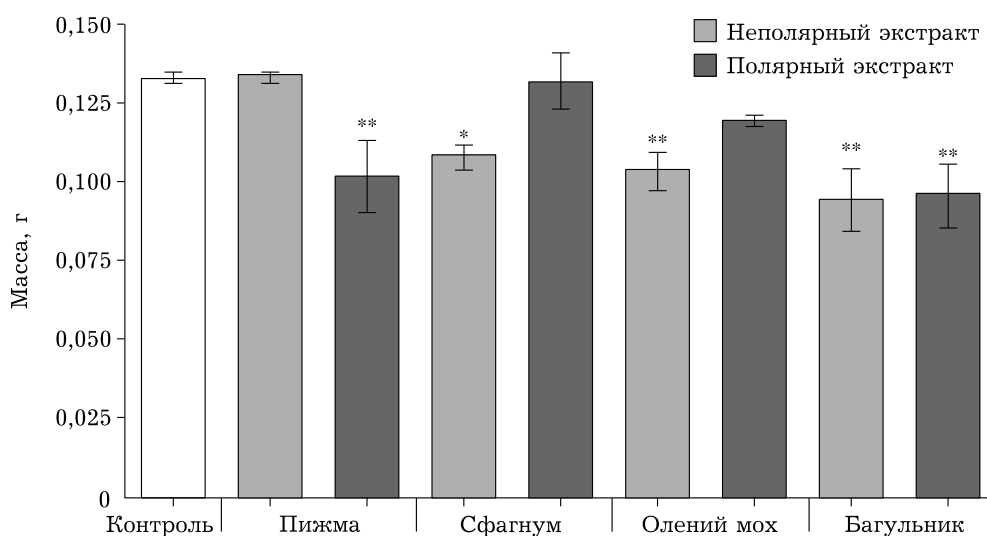


Рис. 1. Изменение массы гусениц *G. mellonella* V–VI возрастов на 10-е сут при скармливании полярных и неполярных экстрактов (0,1 %) различных растений.

* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ по сравнению с контролем (масса нативных личинок)

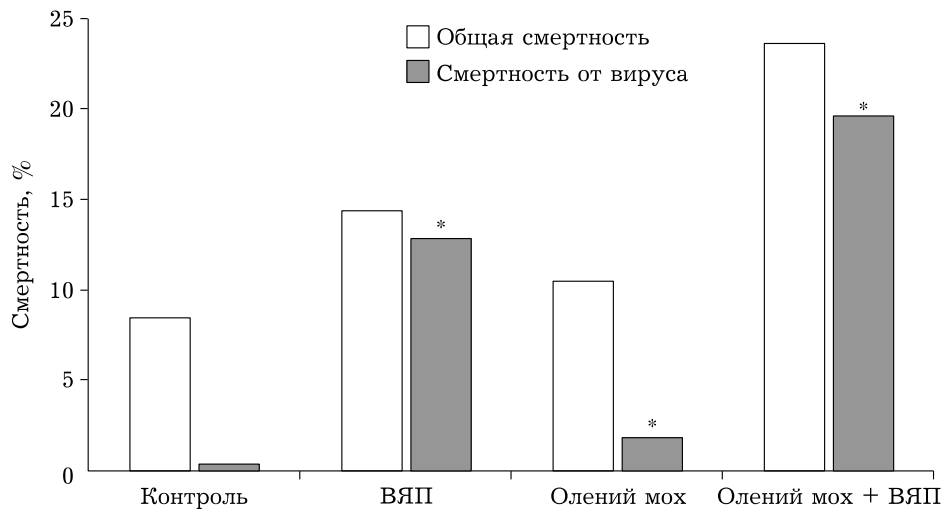


Рис. 2. Воздействие общего экстракта оленьего мха (0,1 %) и вируса ядерного полиэдроза (ВЯП) (титр 10^7) на общую смертность и смертность от ВЯП гусениц непарного шелкопряда на 25 день после обработки.

* $p < 0,05$, по сравнению с гибелью от вируса в контрольном варианте

Исходя из экспериментальных данных, полученных на гусеницах воцинной огневки, мы провели тестирование экстрактов оленьего мха и багульника на гусеницах непарного шелкопряда совместно с ВЯП. В результате получены следующие данные. Обработка вирусом в сублетальных дозах приводила к достоверному снижению массы гусениц фитофагов во всех вариантах, где использовали ВЯП. Обработка листьев данными экстрактами вызывала увеличение массы куколок по сравнению с контролем. Применение их совместно с вирусом приводило к достоверному снижению массы куколок по сравнению с индивидуальным использованием экстрактов.

Одновременное использование экстракта багульника и вируса приводило к снижению смертности от вируса, по сравнению с отдельным использованием ВЯП, в то время как совместное применение ВЯП и оленьего мха приводило к синергическому эффекту (рис. 2).

Синергический эффект оленьего мха обуславливается различными факторами. Во-первых, в кишечнике непарного шелкопряда может меняться рН под действием экстрактов мха, соответственно это будет сопровождаться более эффективным растворением белкового матрикса вируса, тем самым увеличивая число высвободившихся вирионов в

просвете кишечника, что, в свою очередь, увеличивает инфекционную нагрузку на организм насекомого. С другой стороны, ряд метаболитов оленьего мха непосредственно способен действовать на перитрофическую мембрану (матрикс) и/или на эпителиальные клетки кишечника. Кроме того, при скормливании экстрактов мха может меняться баланс между прооксидантами и антиоксидантами в содержимом кишечника. Например, баланс может смещаться в сторону прооксидантов (танины, фенолы и т.д.), соответственно, снижение смертности будет происходить за счет двух механизмов: либо за счет непосредственного повреждения вирусных частиц кислородными радикалами, либо за счет повреждения радикалами инфицированных клеток среднего кишечника, в результате чего происходит самоочищение кишечника от инфекции [Hoover et al., 1998]. Если же баланс смещен в сторону антиоксидантов (α -токоферол, аскорбиновая кислота, глутатион и т. д.), то при скормливании такого растения будет наблюдаться протектирование вирусных частиц от радикального повреждения и в результате приводит к увеличению эффективности вируса. Однако в данном случае сложно судить о соотношении прооксиданты – антиоксиданты в экстрактах растений из-за отсутствия качественного и количественного анализа данных вытяжек.

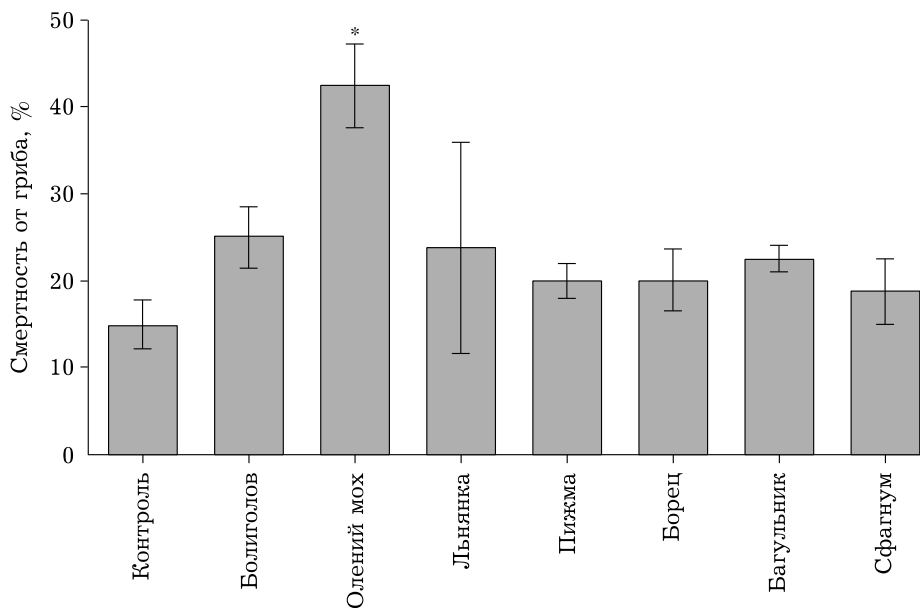


Рис. 3. Гибель гусениц воцинной огневки на 10-й день при инфицировании энтомопатогенным грибом *Metarhizium robertsii* (1×10^7 /мл) при скармливании общих растительных экстрактов (0, 1 %).

* $p < 0,01$ по сравнению с контролем

Для дальнейшего определения действующего начала в общем неполярном экстракте оленьего мха его разделили на отдельные компоненты. Установлено, что основными составляющими данного экстракта являются перлатоликовая и усниновая кислоты, а также третий компонент пока неизвестной химической природы (данные не представлены). С ними проведены эксперименты по схеме, использовавшейся в опытах с экстрактами. В результате тестирования данных компонентов совместно с энтомопатогенами на насекомых авторы пришли к выводу, что наиболее перспективной является усниновая кислота.

При использовании экстрактов растений и энтомопатогенных грибов *M. robertsii* регистрируется повышенная гибель насекомых по сравнению с грибной моноинфекцией (рис. 3). Однако статистически достоверное повышение гибели насекомых зарегистрировано только при использовании экстракта оленьего мха. Кроме того, показано, что наблюдается прямая зависимость между концентрацией, выделенной из оленьего мха, усниновой кислоты и количеством гусениц, погибших от грибной инфекции (рис. 4). В связи с этим проведен ряд экспериментов по влиянию усниновой кислоты на активность энто-

мопатогенных грибов при инфицировании колорадского жука. В качестве дополнительных контролей использовали общеизвестные химические инсектициды (табл. 2). В результате проведения работ обнаружено, что совместная обработка растений картофеля энтомопатогенными грибами и усниновой кис-

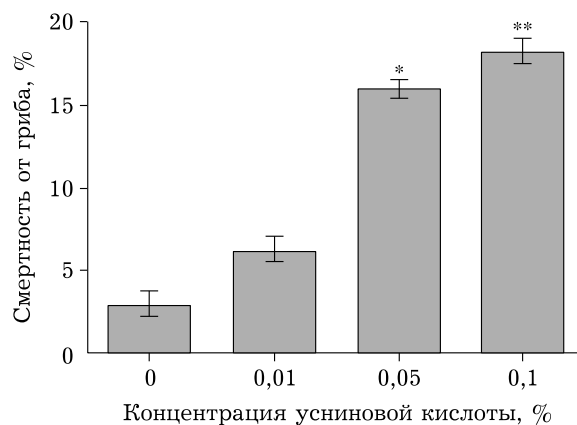


Рис. 4. Гибель гусениц воцинной огневки на 10-й день при инфицировании энтомопатогенным грибом *Metarhizium robertsii* ($1-10^6$ /мл) и усниновой кислотой (УК) в различных концентрациях. Смертность у незараженных гусениц при скармливании УК отсутствовала.

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ по сравнению с вариантом концентрации УК 0 %

Влияние урсниновой кислоты на биологическую эффективность химических инсектицидов и экспериментальных препаратов на основе энтомопатогенных грибов

Гриб	Гибель личинок III возраста колорадского жука, %			
	вода	урсниновая кислота 0,05 %	хлорофос 0,005 %	α -циперметрин 0,0005 %
<i>Metarhizium robertsii</i> , штамм P-72	16,7	46,7*	63,3*	46,7*
<i>M. robertsii</i> , штамм 85-69p	26,7	56,7*	66,7*	66,7*
<i>Beauveria</i> sp., штамм СТ-01	46,6	73,3*	83,3*	80,0*
Гриб <i>Beauveria</i> sp., штамм ЛМ-2	43,3	46,7	73,3*	73,3*
<i>Beauveria bassiana</i> , штамм 4-88	20,0	36,6*	76,7*	46,7*
Контроль (без гриба)	0	20,0 [#]	26,7 [#]	20,0 [#]

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с заражением грибом и контролем; [#] $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

лотой приводит к повышению гибели насекомых от грибной инфекции. При этом оказалось, что указанная кислота обладает слабыми инсектицидными свойствами по отношению к личинкам колорадского жука. Обработка растений картофеля урсниновой кислотой 0,05%-й концентрации приводила к гибели 20 % личинок колорадского жука (см. табл. 2). Увеличение гибели насекомых также наблюдали при совместном использовании энтомопатогенных грибов и химических инсектицидов. В среднем, при использовании комбинированных биопрепаратов гибель насекомых увеличивалась на 30 %, по сравнению с гибелью насекомых от энтомопатогенных грибов (см. табл. 2). По результатам проведенных экспериментов можно говорить, что урсниновая кислота проявляет себя сходным образом с инсектицидами. Однако стоит отметить, что в отличие от хлорофоса и перметрина данная органическая кислота не обладает токсичностью к позвоночным животным.

При выращивании непарного шелкопряда на листе, обработанной урсниновой кислотой в концентрации 0,1 %, установлено снижение массы гусениц и массы куколок, а также уменьшение доли самок после обработки корма ($p < 0,05$). При обработке листы вирусом и урсниновой кислотой выявлено снижение массы гусениц по сравнению с интактными насекомыми, начиная с 17 суток после инокуляции (рис. 5). Обработка корма 0,1%-й перлатоликовой кислотой вызывала снижение массы гусениц при их инфицировании

вирусом на 17–21 сут по сравнению с контрольной группой зараженных насекомых, развивавшихся на интактной листе, и приводила к снижению полового индекса шелкопряда. Третий составляющий компонент неполярного экстракта оленьего мха вызывал также двукратное увеличение смертности от ВЯП ($p < 0,01$).

Таким образом, установлено, что неполярная вытяжка из оленьего мха оказывает воз-

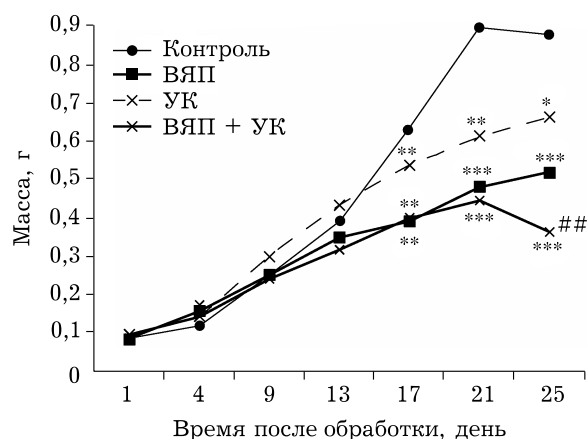


Рис. 5. Влияние урсниновой кислоты на динамику массы гусениц непарного шелкопряда инфицированных вирусом (контроль – нативные насекомые; ВЯП – зараженные вирусом ядерного полиедроза в дозе 10^7 ; УК – урсниновая кислота (0,1 %); ВЯП + УК – ВЯП + урсниновая кислота).

Данные проанализированы с использованием t -теста. * Обозначены точки, достоверно отличающиеся от соответствующих точек в варианте "Контроль" (* при $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$). # – обозначает достоверное отличие от остальных вариантов (## – $p \leq 0,01$)

действие на течение инфекционного процесса у гусениц непарного шелкопряда. По-видимому, значительную роль в данном эффекте играет усниновая кислота. Показано, что она обладает антифидантным воздействием по отношению к гусеницам *Spodoptera littoralis* Boisduval [Emmerich et al., 1993]. Вероятно, вследствие этого в опытах наблюдалось снижение массы гусениц и куколок, а также снижение полового индекса. Не исключено, что усниновая кислота обладает либо непосредственным токсическим эффектом на гусениц непарного шелкопряда, либо репеллентными свойствами, тем самым снижая потребление фитомассы растения. Увеличение смертности гусениц от ВЯП при заражении гусениц вирусом и обработке листьев усниновой кислотой вполне можно объяснять антиоксидантными свойствами данного аллелохемика. Показано, что усниновая кислота способна ингибировать процессы перекисного окисления липидов, а также снижать повреждение клеток продуктами окислительного стресса [Marante et al., 2003]. В результате ее антиоксидантного действия может происходить протектирование высвободившихся вирионов в просвете кишечника шелкопряда от повреждающего действия растительных прооксидантов. Кроме того, известно антагонистическое действие усниновой кислоты на многие микроорганизмы [Cocchietto et al., 2002; Ingolfsdottir, 2002]. Возможно также, что она оказывала действие на симбионтную флору насекомого, в результате чего жизнеспособность фитофага значительно снижалась.

Исходя из вышесказанного, можно предположить, что ключевую роль в синергическом эффекте неполярного экстракта ягеля и ВЯП на организм непарного шелкопряда играет усниновая кислота. Это обуславливается ее антифидантными, антимикробными и антиоксидантными свойствами. Однако максимальный эффект проявляется только при воздействии общего экстракта, что объясняется либо суммированием действия каждого из компонентов экстракта, либо изменением ряда свойств компонентов в присутствии других составляющих общего экстракта.

Таким образом, в результате проведенных экспериментов по анализу действия вышеперечисленных экстрактов растений (как

полярных, так и неполярных) можно утверждать, что поиск высокоэффективных инсектицидов, а также модуляторов инфекционного процесса, может оказаться перспективным для создания препаратов, усиливающих инфекционный процесс (микозы и вирозы) насекомых. И одним из кандидатов активаторов микозов и вирозов является усниновая кислота, выделяемая из различных мхов. Не исключено, что химическая модификация этой органической кислоты может привести к созданию как высокоэффективного инсектицида, так и активатора инфекционного процесса.

Авторы выражают благодарность сотрудникам Института органической химии СО РАН (г. Новосибирск) за предоставление экстрактов растений и последующую их очистку и разделение.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта президента РФ (МД-1843.2017.11). Работы по тестированию усниновой кислоты проводились при поддержке Российского научного фонда (№ 15-14-10014).

ЛИТЕРАТУРА

- Крылов Г. В. Травы жизни и их искатели. Новосибирск: Зап.-Сиб. кн. изд-во, 1972. 448 с.
- Минаева В. Г. Лекарственные растения Сибири. Новосибирск: Наука, 1991. 430 с.
- Пат. № 2317076 РФ от 17.04.2006 г. Способ получения усниновой кислоты / М. П. Половинка, Н. Ф. Салахутдинов, М. Ю. Панченко.
- Cocchietto M., Skert N., Nimis P. L., Sava G. A review on usnic acid, an interesting natural compound // *Naturwissenschaften*. 2002. Vol. 89. P. 137–146.
- Current Protocols in Molecular Biology Seite 1.1.2. (Suppl. 59) / eds. F. A. Ausubel, R. Brent, R. E. Kingston, D. D. Voore, J. G. Seidman, J. A. Smith. N.Y.: Greene Publishing & Wiley Interscience, 1995.
- Dubovskiy I. M., Grizanova E. V., Whitten M. M. A., Mukherjee K., Greig C., Alikina T., Kabilov M., Vilcinskas A., Glupov V. V., Butt T. Immuno-physiological adaptations confer wax moth *Galleria mellonella* resistance to *Bacillus thuringiensis* // *Virulence*. 2016. Vol. 7. P. 860–870.
- Dubovskiy I. M., Whitten M. A., Kryukov V. Y., Yaroslavtseva O. N., Grizanova E. V., Greig C., Mukherjee K., Vilcinskas A., Mitkovets P. V., Glupov V. V., Butt T. M. More than a colour change: insect melanism, disease resistance and fecundity // *Proc Biol. Sci.* 2013. Vol. 280 (1763):20130584. doi: 10.1098/rspb.2013.0584.
- Emmerich R., Giez I., Lange O. L., Proksch P. Toxicity and antifeedant activity of lichen compounds against the polyphagous herbivorous insect *Spodoptera littoralis* // *Phytochemistry*. 1993. Vol. 33. P. 1389–1394.
- Goettel M. S., Inglis G. D. Fungi: Hyphomycetes // *Manual of Techniques in Insect Pathology* / ed. L. Lacey. San Diego: Academic Press, 1997. P. 213–249.

- Gordy J. W., Leonard B. R., Blouin D., Davis J. A., Stout M. J. Comparative effectiveness of potential elicitors of plant resistance against *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in four crop plants // Plos One. 2015. Vol. 10. e0136689.
- Hoover K., Kishida K. T., DiGiorgio L. A., Workman J., Alaniz S. A., Hammock B. D., Duffey S. S. Inhibition of baculoviral disease by plant-mediated peroxidase activity and free radical generation // J. Chem. Ecol. 1998. Vol. 24. P. 1949–2001.
- Ingolfsdottir K. Usnic acid // Phytochemistry. 2002. Vol. 61. P. 729–736.
- Kuusik A., Harak M., Hiiesaar K., Metspalu L., Tartes U. Studies on insect growth regulating (IGR) and toxic effects of *Ledum Palustre* extracts on *Tenebrio molitor* pupae (Coleoptera, Tenebrionidae) using calorimetric recordings // Thermochim. Acta. 1995. Vol. 251. P. 247–253.
- Marante F. J. T., Castellano A. G. I., Rosas F. E., Aguiar J. Q., Barrera J. B. Identification and quantitation of allelochemicals from the lichen *Lethariella canariensis*: Phytotoxicity and antioxidative activity // J. Chem. Ecol. 2003. Vol. 29. P. 2049–2071.
- Martemyanov V. V., Pavlushin S. V., Dubovskiy I. M., Yushkova Y. V., Morosov S. V., Chernyak E. I., Efimov V. M., Ruuhola T., Glupov V. V. Asynchrony between host plant and insects-defoliator within a tritrophic system: The role of herbivore innate immunity // Plos One. 2015. Vol. 10, N 6: e0130988. doi: 10.1371/journal.pone.01300988.
- Salunke B. K., Prakash K., Vishwakarma K. S., Maheshwari V. L. Plant metabolites: an alternative and sustainable approach towards post harvest pest management in pulses // Physiology and molecular biology of plants: an international journal of functional plant biology. 2009. Vol. 15. P. 185–197.
- Senthil-Nathan S. Physiological and biochemical effect of neem and other Meliaceae plants secondary metabolites against Lepidopteran insects // Frontiers in Physiol. 2013. Vol. 4. P. 359.
- War A. R., Paulraj M. G., Ahmad T., Buhroo A. A., Hussain B., Ignacimuthu S., Sharma H. C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores // Plant Signaling & Behavior. 2012. Vol. 7. P. 1306–1320.

Effect of Plant Secondary Compounds on Susceptibility of Insects to Entomopathogenic Microorganisms

B. A. DUISEMBECOV¹, I. M. DUBOVSKIY², V. V. GLUPOV²

¹ Zh. Zhiembraev Kazakh Research Institute for Plant Protection and Quarantine
050070, Almaty, Kazybek bi str., 1

² Institute of Systematics and Ecology of Animals, SB RAS
630091, Novosibirsk, Frunse str., 11
E-mail: skif@eco.nsc.ru

The effect of plant extracts on susceptibility of several insect species to entomopathogenic microorganisms has been studied. We found that greater wax moth *Galleria mellonella* weight decreased by 30–50 % under polar and nonpolar extracts of ledum and reindeer lichen treatments. Crude extract of hemlock enhanced growth rate of larvae by 30 %. Treatment with extract of reindeer lichen led to synergy with virus in gypsy moth *Lymantria dispar* mortality and with fungal infection in wax moth mortality. It has been established that the main components of the extract are perlatolikovy acid, usnic acid, and also the third component of unknown chemical group. Usnic acid is the main promising additive component to entomopathogenic microorganisms. Treatment by usnic acid led to increase of both colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* and greater wax moth larvae mortality after infection with entomopathogenic fungi *Metarhizium robertsii* and *Beauveria bassiana*. The maximum effect was shown only with whole extract because of summation of action of each of extract components, or for the reason that components could change the properties in presence of other components of the whole extract.

Key words: extracts, reindeer lichen, Colorado potato beetle, resistance, *Metarhizium*, usnic acid, gypsy moth, wax moth.