

Эколого-биохимические взаимодействия грибов рода *Fusarium* и фитофагов злаковых культур

Ecological and biochemical relationships between *Fusarium* fungi and pests of cereals

Е.А. Степаньчева*, М.О. Петрова*, Т. Д. Черменская*,
О.П. Гаврилова*, Т.Ю. Гагкаева*, И.В. Шамшев**
E.A. Stepanycheva*, M.O. Petrova*, T.D. Chermenskaya*,
O.P. GavriloVA*, T.Yu. Gagkaeva*, I.V. Shamshev**

* Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, шоссе Подбельского 3, Пушкин, Санкт-Петербург 196608 Россия. E-mail: Stepanycheva@yandex.ru, tchermenskaya@yandex.ru.

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

** Зоологический институт, Университетская наб. 1, Санкт-Петербург 199034 Россия.

** Zoological Institute, Universitetskaya Nab. 1, St.-Petersburg 199034 Russia.

Ключевые слова: насекомые, грибы *Fusarium*, взаимодействие, летучие метаболиты, злаковые культуры, ловушка, агроценоз.

Key words: insect, *Fusarium* fungi, interaction, volatiles metabolites, cereals, trap, agroecosystem.

Резюме. Результаты тестирования, полученные в лабораторных условиях, показали, что токсинопродуцирующие грибы *Fusarium cerealis* (Cooke) Sacc., *F. culmorum* (Wm.G. Sm.) Sacc., *F. graminearum* Schwabe, *F. langsethiae* Torp et Nirenberg, *F. poae* (Peck) Wollenw., *F. sibiricum* Gagkaeva, Burkin, Kononenko, GavriloVA, O'Donnell, T. Aoki et Yli-Mattila и *F. sporotrichioides* Sherb. оказывали как аттрактивное, так и репеллентное действие на злаковую тлю *Schizaphis graminum* Sultz. В полевых условиях в злаковом агроценозе ловушки со штаммами грибов *F. langsethiae* и *F. poae* привлекали цикадок Cicadellidae и злаковых мух Chloropidae. Оценка действия микотоксинов — дезоксиниваленола (ДОН), Т-2 токсина и зеараленона (ЗЕН), образуемых грибами *Fusarium*, показала, что они не проявляют выраженного токсического эффекта на самок тли. Однако ЗЕН вызывал снижение репродуктивного потенциала злаковой тли. Полученные данные позволяют уточнить биологию взаимоотношений насекомых и грибов *Fusarium*, а также оценить последствия их совместного присутствия в одном агроценозе.

Abstract. The results of laboratory tests have shown that the toxin-producing fungi *Fusarium cerealis* (Cooke) Sacc., *F. culmorum* (Wm.G. Sm.) Sacc., *F. graminearum* Schwabe, *F. langsethiae* Torp, Nirenberg, *F. poae* (Peck) Wollenw., *F. sibiricum* Gagkaeva, Burkin, Kononenko, GavriloVA, O'Donnell, T. Aoki, Yli-Mattila and *F. sporotrichioides* Sherb. had repellent and attractive effects on the behavior of grain aphids *Schizaphis graminum* Sultz. In cereal agroecosystem, the traps with strains of fungi *F. langsethiae* and *F. poae* attracted leafhoppers Cicadellidae and cereal flies Chloropidae. The mycotoxins — deoxynivalenol (DON), T-2 toxin and zearalenone (ZEN), formed by *Fusarium* fungi, didn't show a direct toxic effect on the aphid females. However, ZEN induced decrease the reproductive potential of grain aphids. These

data clarify relationship between insects and *Fusarium* fungi, as well as to evaluate the impact of their joint presence in one agroecosystem.

Введение

Биоразнообразие агроэкосистем многочисленно в видовом отношении, что обуславливает существование между организмами сложных взаимосвязей, многие из которых недостаточно исследованы, а их значение в природе явно недооценено.

Среди огромного разнообразия взаимоотношений грибов и насекомых несомненный интерес представляет связь фитофагов и грибов рода *Fusarium*, совместно встречающихся в злаковых биоценозах. В процессе своей жизнедеятельности грибы *Fusarium* образуют широкий спектр вторичных метаболитов, которые участвуют во взаимодействии грибов с окружающей средой, способствуя их адаптации в изменяющихся условиях. Среди них наиболее известны микотоксины — низкомолекулярные соединения, являющиеся, по мнению некоторых авторов, факторами патогенности и способствующие колонизации растительной ткани [Audenaert et al., 2014]. Негативное влияние микотоксинов по отношению к теплокровным организмами описано многими исследователями [Smith et al., 1995; D'Mello et al., 1999; Zhao et al., 2013]. Трихотеценовые микотоксины — дезоксиниваленол (ДОН) и Т-2 токсин — наиболее широко распространённые токсичные метаболиты на зерновых культурах. Продуктами ДОН являются штаммы грибов *F. graminearum* Schwabe и

F. culmorum (Wm.G. Sm.) Sacc., Т-2 токсин образуют преимущественно *F. sporotrichioides* Sherb. и *F. langsethiae* Torp, Nirenberg. Микотоксин зеараленон (ЗЕН), относящийся к другой группе химических соединений, в основном продуцируют грибы *F. graminearum* и *F. culmorum* [Burkin et al., 2015]. Этот метаболит характеризуется низкой токсичностью, однако оказывает анаболический и эстрогенный эффекты на организм теплокровных, приводящие к нарушениям функций их репродуктивной системы. О влиянии микотоксинов грибов на членистоногих, присутствующих в одном биотопе, известно значительно меньше [Wright et al., 1976; Dowd et al., 1989; Gupta et al., 1991; Fornelli et al., 2004].

Ещё меньше информации о биологической роли летучих органических соединений (ЛОС), образуемых грибами. Разнообразие их спектра и изменчивость состава в зависимости от условий существования грибов (возраст, субстрат, освещённость и др.) подтверждают их важные биологические функции, которые до конца ещё не изучены.

Многообразие вторичных метаболитов у грибов *Fusarium* может свидетельствовать о существовании различных механизмов их взаимоотношений с насекомыми. Они могут быть дистантными, когда фитопатогены выделяют ЛОС с репеллентными и/или аттрактивными свойствами, играющими роль ольфакторного стимула для членистоногих, или контактно-кишечными, при наличии активных токсичных соединений в общем пищевом субстрате [Mulé et al., 1992; Ameen, 2012; Gagkaeva et al., 2014].

Экспериментально доказано, что грибы *Fusarium* выделяют аттрактивные для насекомых соединения [Bartelt, Wicklow, 1999; Ramgareeb et al., 2010; Selitskaya et al., 2014]. Насекомые могут являться фактором, реализующим трансмиссивный механизм передачи возбудителя фузариозного заболевания от одного растения к другому. Повреждая растения, фитофаги облегчают грибам пути проникновения и инфицирования, кроме того, они могут способствовать распространению спор. Жуки плодоеда короткокрылого *Carpophilus humeralis* Fabricius активно привлекаются летучими метаболитами гриба *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenb. и являются его переносчиком [Bartelt, Wicklow, 1999]. У растений кукурузы, заражённой грибами данного рода, значительно повышается аттрактивность для пьявицы красногрудой *Oulema melanopus* L., причём это свойство распространяется и на соседние, неинкулированные растения [Piesik et al., 2011]. Оранжевый злаковый комарик *Sitodiplosis mosellana* Gehin в большей степени заселяет растения пшеницы, с поражёнными симптомами заражения *F. graminearum*, чем интактные [Mongrain et al., 1997].

В то же время ЛОС грибов могут выступать в качестве репеллентов, сигнализируя насекомым о «неблагоприятном» пищевом субстрате. В опытах по ольфакторному выбору, гусеницы бабочки-огнёвки *Eldana saccharina* Walker избирательно реа-

гировали на зёрна кукурузы, инокулированные изолятами грибов *F. sacchari* (E.J. Butler, Hafiz Khan) W. Gams, *F. pseudonygamai* O'Donnell, Nirenberg и *F. proliferatum* (Matsush.) Nirenberg. Выявленная репеллентная активность изолятов *F. sacchari* в отношении имаго данного вида сочеталась с их негативным действием на гусениц вредителя, при введении грибов в пищевую субстрат [McFarlane et al., 2006; Ramgareeb et al., 2010].

Значительная заражённость посевов зерновых культур грибами рода *Fusarium*, характеризующимися как относительно слабые патогены, например, *F. poae* (Peck) Wollenw. и *F. langsethiae*, и массовое распространение злаковых фитофагов могут предполагать существование биоценологических взаимодействий между ними.

Целями настоящей работы являлись:

1. Оценить в лабораторных условиях ольфакторную реакцию одного из вредителей злаковых культур обыкновенной злаковой тли *Schizaphis graminum* Rond на ЛОС грибов рода *Fusarium*;

2. Изучить влияние летучих метаболитов грибов рода *Fusarium* на поведение насекомых, обитающих в злаковом агроценозе;

3. Оценить действие микотоксинов, выделяемых представителями грибов рода *Fusarium*, на биологические показатели развития злаковой тли *S. graminum*.

Материалы и методы

Оценка влияния ЛОС грибов рода *Fusarium* на ольфакторную реакцию злаковой тли *S. graminum*. В лабораторных условиях анализировали влияние 21 штамма, относящегося к семи видам грибов *Fusarium*: *F. cerealis* (Cooke) Sacc., *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. langsethiae*, *F. poae*, *F. sibiricum* Gagkaeva, Burkin, Kononenko, Gavrilova, O'Donnell, T. Aoki, Yli-Mattila и *F. sporotrichioides*. Все штаммы грибов были выделены из семян зерновых культур и представляли собой моноспорные культуры. Видовая идентификация грибов подтверждена молекулярно-генетическими методами [Gagkaeva et al., 2009; Yli-Mattila et al., 2015].

Штаммы выращивали в течение 7 суток на картофельно-сахарозной питательной среде (КСА) при температуре 24 °С в темноте.

Тест-объектом служила обыкновенная злаковая тля, лабораторная популяция которой постоянно содержится на проростках пшеницы при температуре 24 °С и длине светового дня 18 часов.

При проведении ольфакторного эксперимента, основанного на свободном выборе насекомым источника питания, в чашку Петри d = 90 мм на увлажнённую фильтровальную бумагу раскладывали по два молодых листа проростка пшеницы сорта Ленинградка (возраст 4–5 суток). На один лист помещали диск КСА с культурой гриба, а на другой — диск КСА (контроль), вырезанные непосредственно перед проведением эксперимента микробиологичес-

ким пробойником диаметром 9 мм. В центр чашек на одинаковом расстоянии от листьев выпускали по 20 самок тли и закрывали их крышками. Учёт распределения тли в чашке проводили через 2 часа. В каждом варианте использовали 10 повторностей.

Индекс предпочтения (ИП) рассчитывали по формуле [Pascual-Villalobos, Robledo, 1998], когда при положительном показателе регистрируется аттрактивное действие, а при отрицательном — репеллентное:

$$\text{ИП} \% = [(O - K) / (K + O)] \cdot 100, \text{ где}$$

O — количество самок на опытном листе, шт;

K — количество самок на контрольном листе, шт.

Выявление ответных реакций насекомых, присутствующих в злаковом агроценозе, на образующие грибами ЛОС. Исследования проводили в посевах овса сорта Боррус (2012 г.) и пшеницы сорта Ленинградка (2013 г.) на экспериментальных полях ВИЗР. В момент начала проведения опытов растения находились в фазе вымётывания/ колошения — цветения. Для экспериментов были выбраны штаммы различных видов фузариевых грибов, встречающиеся на зерновых культурах в Северо-Западном регионе [Gavrilova, Gagkaeva, 2010] и проявившие какое-либо действие (аттрактивное, репеллентное) на обыкновенную злаковую тлю в первичных лабораторных ольфакторных опытах.

В первый год исследования использовали штаммы *F. langsethiae* MFG 93001 и *F. poae* MFG 11023, выращенные в микрочастичных пробирках объемом 2 мл. Для этого в каждую пробирку стерильно наливали 600 мкл КСА. После застывания питательную среду засеивали культурой гриба и в течение недели инкубировали пробирки с приоткрытой крышкой в стерильных условиях при температуре 24 °C в темноте.

Для фиксации привлечённых насекомых применяли листовые клеевые поверхности (10x15 см) белого цвета, в центре которых закрепляли открытые пробирки с культурами грибов или чистой питательной средой в качестве контроля. Ловушки, по 10 штук на вариант, рандомизированно размещали на поле, устанавливая их на уровне метёлок овса.

На следующий год в пшеничном поле использовали 7-суточные культуры грибов *F. langsethiae* MFG 93001, *F. poae* MFG 103403, *F. graminearum* MFG 159960, выращенные на 3 мл КСА в чашках Петри d = 3,5 см, в качестве контроля использовали чашки с КСА. В этом эксперименте применяли треугольные ловушки типа Атракон-А, внутри которых помещался клеевой вкладыш (10x15 см) с закреплённой в центре открытой чашкой Петри с определённым штаммом гриба. Размещали ловушки, как и в предыдущем эксперименте, в посевах пшеницы на уровне колосьев. Каждый вариант включал 8–10 повторностей.

В обоих опытах ловушки снимали через сутки для определения систематической принадлежности привлечённых насекомых и подсчёта их количества.

Оценка действия микотоксинов, выделяемых грибами рода *Fusarium*, на биологические показатели развития насекомых. В качестве тест-объекта, как и в предыдущих лабораторных экспериментах, была использована обыкновенная злаковая тля.

Исследовали влияние трёх микотоксинов — ДОН, Т-2 токсина и ЗЕН на жизнеспособность самок вредителя и их репродуктивный потенциал. Стандарты микотоксинов, исходной концентрации 1 мг/мл в ацетонитриле (ВНИИВСГЭ, Москва) разбавляли водой до концентрации 0,1 мг/мл.

Прямое токсическое действие микотоксинов на тлю. На дно и крышку чашки Петри диаметром 3,5 см помещали диски фильтровальной бумаги, пропитанные раствором микотоксина (250 мкл на диск). На дно чашки укладывали проростки пшеницы, обработанные тем же микотоксином, и выпускали по 20 самок тли. Через 24 часа учитывали живых и погибших взрослых особей. Каждый эксперимент проводили в 5 повторностях. Выживаемость насекомых оценивали по отношению к двум контролям: контроль I — вода, контроль II — ацетонитрил с водой в соотношении 1:100.

Эффективность микотоксинов (Э) для тли рассчитывали по формуле Шнейдер-Орелли (Schneider-Orelli) [Puntener, 1981]:

$$\text{Э} \% = [(C_o - C_k) / (100 - C_k)] \cdot 100, \text{ где}$$

C_o — смертность в опыте, %;

C_k — смертность в контроле, %.

Влияние микотоксинов на плодовитость злаковой тли. Вегетирующие проростки пшеницы в возрасте 5 суток после посева (по 2 растения, выращенные в 200 мл сосудах с землей) опрыскивали растворами микотоксинов из расчета 0,1 мл на растение. После испарения растворителя на каждое растение выпускали по 2 самки тли. Через неделю проводили подсчет личинок дочернего поколения. Каждый вариант включал 20 повторностей.

Изменение репродуктивной активности тли (А), так же, как и в предыдущем эксперименте, оценивали к двум контролям и рассчитывали по формуле Аббота [Abbott, 1925]:

$$\text{А} \% = [(K_k - K_o) / K_k] \cdot 100, \text{ где}$$

K_k — количество особей в контроле, шт;

K_o — количество особей в опыте, шт.

Статистическая обработка проведена на основе однофакторного дисперсионного анализа (One way ANOVA) с использованием пакета прикладных программ SigmaPlot 12.5. Парные сравнения проводились с помощью *t*-теста. Различия считались достоверными при $P \leq 0,05$.

Результаты

Оценка влияния ЛОС грибов рода *Fusarium* на ольфакторную реакцию злаковой тли *S. graminum*. Результаты тестирования свидетельствуют о том, что штаммы *Fusarium* оказывают различное дей-

стии на поведение тли. Значения ИП варьировали в широких пределах от -43,8 до +35,7 (табл.).

Филогенетически близкие слабопатогенные виды *F. langsethiae* и *F. poae* в целом оказывали аттрактивный эффект на насекомых. У близкородственного им вида *F. sporotrichioides* только один штамм проявил существенный аттрактивный эффект. Интересно, что штаммы высокоагрессивных видов грибов *F. graminearum* и *F. culmorum* оказывали как достоверное аттрактивное, так и репеллентное влияние на насекомых. Виды *F. cerealis* и *F. sibiricum* проявляли слабо репеллентный эффект.

Выявление ответных реакций насекомых, присутствующих в злаковом агроценозе, на образующие грибами ЛОС. Насекомые, отловленные на клеевые ловушки в полевых условиях зернового агроценоза, относились более чем к 10 высшим таксонам. Среди них имеются группы фитофагов, непосредственно развивающиеся на злаках: злаковые мухи Chlogoripidae (n = 550), галлицы Cecidomyiidae

(n = 1600), цикадки Cicadellidae (n = 660), трипсы Thysanoptera (n = 1736), тли Aphididae (n = 224). К другой группе относились паразитические перепончатокрылые (Hymenoptera) (n = 705) и хищники (мухи Hybotidae, Syrphidae, божьи коровки Coccinellidae) (n = 334), использующие вредных членистоногих в качестве жертв. За весь период наблюдений при относительно высокой численности трипсов, галлиц и паразитических перепончатокрылых и низкой численности тлей нами не выявлено различий в поведении этих насекомых в присутствии штаммов *F. poae* и *F. langsethiae* по сравнению с контролем.

Летучие соединения *F. poae* и *F. langsethiae* достоверно привлекали цикадок в период их массового лёта на посевах овса (рис. 1). На пшенице летучие *F. langsethiae*, *F. poae* и *F. graminearum* были аттрактивными для злаковых мух. В конце июля и начале августа злаковые мухи были зарегистрированы только на опытных ловушках, в контроле не было зафиксировано ни одной особи.

Таблица 1. Влияние грибов рода *Fusarium* на поведенческую реакцию злаковой тли *S. graminum*
Table 1. Effect of *Fusarium* fungi on the behavioral response of *S. graminum*

| Вид гриба (основные продуцируемые микотоксины) | Штамм MFG | Количество привлечённых особей, в среднем | | F | P | Индекс предпочтения (ИП) |
|---|--------------|---|-------------|--------|-------|--------------------------|
| | | опыт | контроль | | | |
| <i>F. cerealis</i> (НИВ) | 259 | 5,3 ± 1,30 | 5,3 ± 0,89 | 0 | 1,000 | 0 |
| | 239 | 7,0 ± 1,02 | 7,5 ± 1,18 | 0,088 | 0,771 | -3,4 |
| | 234 | 5,9 ± 0,90 | 11,1 ± 1,59 | 8,117 | 0,011 | -30,6 |
| <i>F. culmorum</i> (ДОН, ЗЕН) | 102100 | 4,1 ± 2,33 | 10,5 ± 2,63 | 33,092 | 0,001 | -43,8 |
| | 89706 | 6,8 ± 1,42 | 5,0 ± 1,33 | 0,856 | 0,368 | 15,2 |
| | 101901 | 11,6 ± 1,74 | 5,5 ± 1,01 | 9,178 | 0,007 | 35,7 |
| <i>F. graminearum</i> (ДОН, ЗЕН) | 165300 | 7,4 ± 1,30 | 4,5 ± 0,69 | 3,883 | 0,064 | 24,4 |
| | 452011 | 4,6 ± 0,98 | 10,2 ± 0,47 | 26,626 | 0,001 | -37,8 |
| | 159960 | 4,5 ± 0,75 | 10,1 ± 0,71 | 29,585 | 0,001 | -38,4 |
| <i>F. langsethiae</i> (Т-2 токсин) | 93001 | 9,3 ± 0,15 | 6,5 ± 0,89 | 3,741 | 0,069 | 17,7 |
| | 100602 | 7,7 ± 0,99 | 7,6 ± 1,13 | 0,004 | 0,948 | 0 |
| | 156013 | 8,3 ± 1,65 | 7,5 ± 1,29 | 0,126 | 0,727 | 5,1 |
| <i>F. poae</i> (НИВ) | 103403 | 8,8 ± 1,12 | 7,0 ± 1,27 | 1,132 | 0,301 | 11,4 |
| | 11023 | 8,3 ± 0,88 | 6,0 ± 1,13 | 2,558 | 0,127 | 16,1 |
| | 163901 | 8,3 ± 1,18 | 7,2 ± 0,65 | 0,665 | 0,425 | 7,1 |
| <i>F. sibiricum</i> (Т-2 токсин) | 11010 | 7,1 ± 0,94 | 8,9 ± 1,06 | 1,622 | 0,209 | -11,2 |
| | 11016 | 5,1 ± 1,20 | 7,8 ± 1,52 | 1,950 | 0,180 | -20,9 |
| | 11005 | 4,9 ± 0,92 | 6,1 ± 0,79 | 0,966 | 0,338 | -10,9 |
| <i>F. sporotrichioides</i> (Т-2 токсин) | 64709 | 5,6 ± 1,11 | 5,8 ± 1,00 | 0,018 | 0,895 | -1,8 |
| | 88503 | 10,2 ± 1,68 | 5,8 ± 1,25 | 4,431 | 0,050 | 27,5 |
| | 163101 | 7,4 ± 1,16 | 6,3 ± 0,94 | 0,538 | 0,473 | 6,6 |

Примечание: ИП > 0 — аттрактивное действие; ИП < 0 — репеллентное действие; НИВ — ниваленол; ДОН — дезоксиниваленол; ЗЕН — зезараленон.

Note: ИП > 0 — attractive action; IP < 0 — repellent action; НИВ — nivalenol; ДОН — deoxynivalenol; ЗЕН — zearalenon.

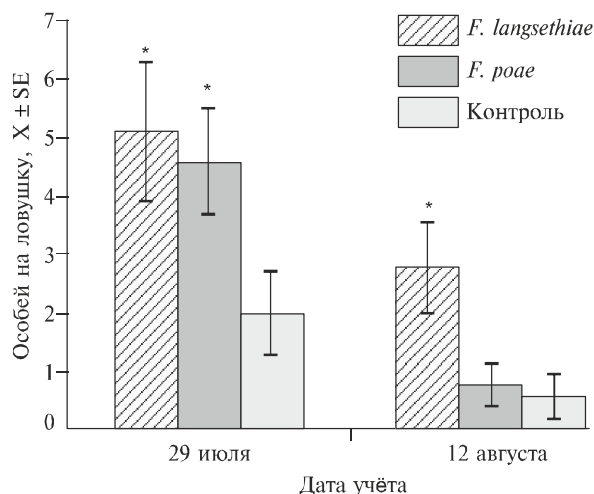


Рис 1. Аттрактивное влияние ЛОС грибов рода *Fusarium* на цикадок (сем. Cicadellidae) (2012 г.). * — различия с контролем достоверны при $P \leq 0,05$.

Fig. 1. Attractive influence of *Fusarium* VOC on the leafhoppers (family Cicadellidae) (2012). * — differences with control are significant at $P \leq 0,05$.

Влияние микотоксинов грибов *Fusarium* на жизненные показатели обыкновенной злаковой тли. Оценка влияния ДОН, Т-2 токсина и ЗЕН на самок обыкновенной злаковой тли показала, что все микотоксины в используемой концентрации не вызывали высокой смертности. Так, максимальная гибель была зафиксирована при действии ЗЕН (смертность с учётом гибели в контроле — 14,3 %, $F = 7,92$, $P = 0,02$) и для ДОН (смертность с учётом гибели в контроле — 11,4 %, $F = 4,55$, $P = 0,07$). Под действием Т-2 смертность самок составила 0,3 % с учётом гибели в контроле.

При изучении влияния микотоксинов на репродуктивный потенциал самок злаковой тли установлено, что ЗЕН существенно снижал численность потомства тли — на 62,8 % по сравнению с водой ($F = 12,85$, $P < 0,001$) и на 44,7 % — при сопоставлении с 1%-м ацетонитрилом ($F = 42,21$, $P < 0,001$). В этой же концентрации ДОН и Т-2 токсин не оказывали существенного влияния на дочернее поколение вредителя (ДОН: $F = 0,09$, $P = 0,76$; Т-2: $F = 2,12$, $P = 0,16$) (рис. 2).

Обсуждение

Совместное сосуществование в одном агроценозе разнообразных организмов приводит к возникновению различных типов взаимоотношений. В частности, проведённые ранее исследования, доказывают важную роль биологически активных ЛОС грибов в поддержании взаимоотношений с насекомыми [Bruce et al., 2005; Drakulic et al., 2015]. Дистанционно действующие хемосигналы способны определённым образом модифицировать поведение особей. В наших экспериментах, проводимых в полевых услови-

ях, была выявлена тенденция к аттрактивности для цикадок у грибов *F. langsethiae*, *F. poae*, а для злаковых мух — у *F. langsethiae*, *F. poae* и *F. graminearum*. Представители этих семейств насекомых широко распространены в посевах зерновых культурах и являются фитофагами, способными наносить существенный вред растениям. Однако негативная роль цикадок и злаковых мух значительно возрастает, если они являются векторами распространения инфекции, способствуя увеличению инфицированности растений токсинопродуцирующими видами *Fusarium* и, как следствие, контаминации их микотоксинами.

Размножению злаковых тлей, как и развитию грибов, благоприятствует теплая и влажная погода. Это даёт основание предполагать, что данные объекты тесно связаны не только общностью пищевых ресурсов, но и требованиями к абиотическим факторам.

Фузариоз зерновых культур в полях ВИЗР наблюдается ежегодно, но инфицированность зерна не столь высока — 5–10 %. Как правило, на зерне овса доминирует вид *F. poae*, а на пшенице — вид *F. avenaceum*. В годы проведения полевых опытов численность злаковых тлей на посевах зерновых в Ленинградской области была незначительной (<http://vizr.spb.ru/nashi-publikaczii/prognozyi/godovoj-2012.html>, <http://vizr.spb.ru/nashi-publikaczii/prognozyi/oktyabr-2013.html>), вследствие чего не удалось в полной мере оценить влияние грибов *Fusarium* на этих насекомых. В наших ольфакторных экспериментах выявлено, что при культивировании грибов на питательной среде КСА аттрактивные свойства для злаковой тли характерны для штаммов *F. langsethiae*, *F. sporotrichioides*, *F. culmorum* и *F. graminearum*. В тоже время, некоторые штаммы грибов *F. graminearum*, *F. culmorum* и *F. cerealis*, характеризующиеся относительно высокой агрессив-

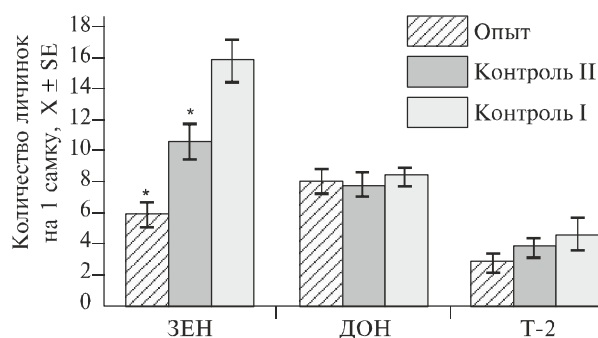


Рис. 2. Влияние микотоксинов грибов рода *Fusarium* на численность дочернего поколения обыкновенной злаковой тли *S. graminum* (опыт — микотоксин, контроль 1 — ацетонитрил, контроль — вода; * — различия достоверны при $P \leq 0,05$).

Fig. 2. Influence of *Fusarium* mycotoxins on the number of *S. graminum* offspring (experiment — mycotoxin, control 1 — acetone, control — water, * — differences are significant at $P \leq 0,05$).

ностью, вызывали у тли достоверную репеллентную реакцию. Ранее показано, что летучие метаболиты слабопатогенных грибов *F. langsethiae* и *F. poae* были аттрактивными для жуков рисового долгоносика *Sitophilus oryzae* L. [Selitskaya et al., 2014]. Идентификация ЛОС грибов рода *Fusarium*, выращенных на КСА, выявила не менее 107 различных соединений. Показано, что профили ЛОС грибов насыщены легколетучими спиртами, альдегидами, кетонами и среднелетучими сесквитерпенами, но роль конкретных веществ в обеспечении сигнальных функций во взаимоотношениях с насекомыми пока не установлена. Экспериментально подтверждено, что штамм *F. langsethiae* (MFG 93001), проявляющий аттрактивные свойства по отношению к насекомым, характеризовался наибольшим разнообразием выделяемых сесквитерпенов [Savelieva et al., 2014].

Микотоксины грибов отмечены во всех вегетативных органах растений и распространяются по их сосудистым тканям [Kang, Buchenauer, 1999; Snijders, 2004; Moretti et al., 2014]. Установлено, что в результате инфекции *F. graminearum* количество ДОН в зерне было меньше, чем в осях и соломе [Ludewig et al., 2005]. Таким образом, их присутствие в тканях и соке растений может оказывать влияние на насекомых-фитофагов. Тем не менее, сведений о влиянии фузариотоксинов на жизненные функции фитофагов немного. Недавно было показано, что развитие большой злаковой тли *Sitobion avenae* F. на пшенице, заражённой *F. graminearum*, приводит к снижению выживаемости и плодовитости вредителя [Drakulic et al., 2015].

В наших экспериментах из трёх протестированных микотоксинов (ЗЕН, ДОН, Т-2), синтезируемых различными видами грибов рода *Fusarium*, ни один не обладал прямым имагоцидным действием на самок злаковой тли, и только ЗЕН проявил способность подавлять развитие вредителя, снижая плодовитость самок. Используемая нами концентрация микотоксинов при пересчёте на сухой вес растения соответствует содержанию 90 мкг/г. Для сравнения, максимальное содержание ДОН при искусственной инокуляции пшеницы грибом *F. graminearum*, выявленное в стадии молочной спелости в стеблях растений, составляло 23,8 мкг/г сухого веса [Moretti et al., 2014], а заражение озимой пшеницы *F. culmorum* приводило к накоплению этого микотоксина в стеблях в количестве 8,7–17,1 мкг/г сухого веса [Winter et al., 2013]. Отсутствие влияния используемой нами высокой дозировки микотоксинов свидетельствует о маловероятности негативного действия данных веществ на обыкновенную злаковую тлю в природе.

В литературе известны факты инсектицидного действия метаболитов фузариевых грибов. Так экстракты *F. sporotrichioides* оказывали токсическое действие на личинок комаров *Anopheles stephensi* Liston и *Culex quinquefasciatus* Say [Maurya et al., 2012]. Питание жуков долгоносика амбарного *Sitophilus granarius* L. на зёрнах пшеницы, инокулированных

грибами *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. и *F. tricinctum* (Corda) Sacc., приводило к снижению его репродуктивного потенциала [Olejarski et al., 2010]. Показано, что Т-2 токсин проявил слабо токсическое действие на жуков мучного хрущака *Tribolium confusum* Duv. [Wright et al., 1976]. Однако подобные примеры, как правило, связаны с насекомыми-вредителями запасов, которые долгое время сосуществуют совместно в процессе хранения зерна с грибами в замкнутых пространствах. По всей видимости, решающую роль в конкретных случаях играет то, какой именно вторичный метаболит и в каком количестве образует гриб/штамм при заселении растительной ткани.

Интересен факт выявления негативного воздействия микотоксина ЗЕН на плодовитость злаковой тли и достоверное репеллентное воздействие образующего его *F. graminearum* (и нейтральное — *F. culmorum*), что можно рассматривать как проявление антагонистических отношений между ними [Dowd, 2003]. В отличие от слабопатогенных видов грибов (*F. langsethiae*, *F. poae*, *F. sibiricum*), высокопатогенный для злаковых культур *F. graminearum* не нуждается в трансмиссионном пути передачи инфекции. Различия между этими группами видов проявляются и в жизненных стратегиях, которые можно описать *K*- и *r*-типами стратегий [Bigon et al., 1989]. Быстрое и избыточное образование грибами *F. langsethiae*, *F. poae*, *F. sibiricum* только многочисленных микроконидий (размер 3–8 мкм), относительно низкие их конкурентноспособность и устойчивость к изменяющимся условиям среды по сравнению с макроконидиями и, следовательно, слабая выживаемость характеризуют эти филогенетически близкие виды как *r*-стратеги. Виды *F. graminearum* и *F. culmorum*, формирующие только макроконидии (30–50 мкм длиной) и аскоспоры (*F. graminearum*), требующие для их образования относительно длительного промежутка времени, можно отнести к *K*-стратегам.

Вполне вероятно, что фитофаги способствуют горизонтальной передаче инфекции, что особенно важно для грибов *r*-стратегов. Наличие вектора инфекции может особенно сильно проявляться, если на покровах насекомых присутствуют споры грибов, а это более вероятно для видов, которые оказывают аттрактивное влияние на переносчиков. Кроме того, повреждая покровы, насекомые облегчают процесс проникновения спор грибов в ткани растений и усиливают инфекционный процесс. Для тлей, питающихся соком растений, характерной способностью является выделение пади, что создаёт благоприятные условия для развития грибов.

Полученные нами результаты позволили установить влияние ЛОС грибов рода *Fusarium* на формирование поведения насекомых и возможное поддержание ими вектора распространения фузариозной инфекции. В частности, выявленный нами аттрактивный эффект слабоагрессивных грибов для злако-

вой тли может свидетельствовать об участии этого насекомого в процессе пассивного переноса спор и микроконидий грибов. Данные о взаимоотношениях фитофагов и грибов имеют важное значение для прогнозирования и ограничения путей распространения токсинопродуцирующих грибов рода *Fusarium* и могут быть полезны для изучения факторов формирования эколого-биохимических взаимодействий в экосистемах.

Благодарности

Работа была поддержана грантом РФФИ № 12-04-00927 и проектом № 665-2014-0004 Государственного задания ФГБНУ ВИЗР на 2015–2017 гг. по Программе фундаментальных научных исследований государственных академий.

Литература

- Abbott W.S. 1925. A method for computing the effectiveness of insecticides // *Journal of Economic Entomology*. Vol.18. P.265–267.
- Ameen M.K.M. 2012. Screening of *Fusarium* isolates pathogenicity *in vitro* by using the larvae of *Galleria mellonella* L. // *Decision Sciences*. Vol.38. No.3A. P.19–28.
- Audenaert K., Vanheule A., Höfte M., Haesaert G. 2014. Deoxynivalenol: a major player in the multifaceted response of *Fusarium* to its environment // *Toxins*. Vol.6. No.1. P.1–19.
- Bartelt R.J., Wicklow D.T. 1999. Volatiles from *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. and their attractiveness to *Nitidulid* beetles // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol.47. P.2447–2454.
- Bigon M., Harper G., Taundsen K. 1989. Ecology. Individuals, populations and communities. M.: Mir. Vol.2. 477 p. [In Russian].
- Bruce T.J.A., Wadhams L.J., Woodcock C.M. 2005. Insect host location: a volatile situation // *Trends Plant Science*. Vol.10. P.269–274.
- Burkin A.A., Kononenko G.P., Gavrilo O.P., Gagkaeva T.Yu. 2015. [About accumulation of zearalenone in herbal feed and toxigenic activity of *Fusarium* fungi] // *Selskohozyaystvennaya biologiya*. Vol.50. No.2. P.255–262. [In Russian].
- D’Mello J.P.F., Placinta C.M., MacDonald A.M.C. 1999. *Fusarium* mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. // *Animal Feed Science and Technology*. Vol.80. P.183–205.
- Dowd P.F. 2003. Insect management to facilitate preharvest mycotoxin management // *Journal of Toxicology Toxin Reviews*. Vol.22. Nos 2–3. P.327–350.
- Dowd P.F., Miller J.D., Greenhalgh R. 1989. Toxicity and interactions of some *Fusarium graminearum* metabolites to caterpillars // *Mycologia*. Vol.1. No.4. P.646–650.
- Drakulic J., Caulfield J., Woodcock C., Jones S.P.T., Linforth R., Bruce T.J.A., Ray R.V. 2015. Sharing a host plant (wheat [*Triticum aestivum*]) increases the fitness of *Fusarium graminearum* and the severity of Fusarium Head Blight but reduces the fitness of grain aphids (*Stobion avenae*) // *Applied and Environmental Microbiology*. Vol.81. No.10. P.3492–3501.
- Fornelli F., Minervini F., Logrieco A. 2004. Cytotoxicity of fungal metabolites to lepidopteran (*Spodoptera frugiperda*) cell line (SF-9) // *Journal of Invertebrate Pathology*. Vol.85. P.74–79.
- Gagkaeva T.Yu., Gannibal P.B., Gavrilo O.P. 2009. [PCR diagnosis of pathogenic fungi genera *Fusarium* and *Alternaria*] // *Bulletin of plant protection method. Application. High-performance and high-precision technologies and phytosanitary monitoring methods*. SPb. P.4–14. [In Russian].
- Gagkaeva T.Yu., Shamshev I.V., Gavrilo O.P., Selitskaya O.G. 2014. [Biology of relationship between *Fusarium* fungi and insects] // *Selskohozyaystvennaya biologiya*. No.3. P.13–23. [In Russian].
- Gavrilo O.P., Gagkaeva T.Yu. 2010. [*Fusarium* infection on the north of Nechernozemie and in Kaliningrad region in 2007–2008] // *Zashchita i karantin rasteniy*. No.2. P.23–25. [In Russian].
- Gupta S., Krasnoff S.B., Underwood N.L., Renwick J.A., Roberts D.W. 1991. Isolation of beauvericin as an insect toxin from *Fusarium semitectum* and *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* // *Mycopathologia*. Vol.115. No.3. P.185–189. <http://vizr.spb.ru/nashi-publikaczii/prognozyi/godovoj-2012.html>.
- <http://vizr.spb.ru/nashi-publikaczii/prognozyi/oktyabr-2013.html>.
- Kang Z., Buchenauer H. 1999. Studies on the infection process of *Fusarium culmorum* in wheat spikes: degradation of host cell wall components and localization of trichothecene toxins in infected tissue // *European Journal of Plant Pathology*. Vol.108. P.653–660.
- Ludewig A., Kabsch U., Verreet J.-A. 2005. Comparative deoxynivalenol accumulation and aggressiveness of isolates of *Fusarium graminearum* on wheat and the influence on yield as affected by fungal isolate and wheat cultivar // *Journal of Plant Diseases and Protection*. Vol.112. No.4. P.329–342.
- McFarlane S.A., Rutherford R.S. 2006. Attraction of *Eldana saccharina* (Lepidoptera: Pyralidae) to certain *Fusarium* isolates in olfactory choice assays // *Proceeding of South African Sugarcane Research Institute*. Vol.80. P.196–198.
- Mongrain D., Couture L., Dubuc J.-P., Comeau A. 1997. Occurrence of the orange wheat blossom midge (Diptera: Cecidomyiidae) in Quebec and its incidence on wheat grain microflora // *Phytoprotection*. Vol.78. P.17–22.
- Moretti A., Panzarini G., Somma S., Campagna C., Ravaglia S., Logrieco A.F., Solfrizzo M. 2014. Systemic growth of *F. graminearum* in wheat plants and related accumulation of deoxynivalenol // *Toxins*. Vol.6. P.1308–1324.
- Mulè G., D’Ambrosio A., Logrieco A., Botalico A. 1992. Toxicity of mycotoxins of *Fusarium sambucinum* for feeding in *Galleria mellonella* // *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol.62. No.1. P.17–22.
- Maurya P., Sharma P., Mohan L., Verma M.M., Srivastva C.N. 2012. Larvicidal efficacy of *Ocimum basilicum* extracts and its synergistic effect with neonicotinoid in the management of *Anopheles stephensi* // *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. No.2. P.110–116.
- Olejarski P., Horoszkiewicz-Janka J., Bocianowski J. 2010. Wpływ grzybow zasiedlających ziarno zboż na zerwanie i rozwój wolka zbożowego (*Sitophilus granarius* L.). Progress in Plant Protection // *Postępy w Ochronie Roślin*. Vol.50. No.4. P.1711–1718.
- Pascual-Villalobos M.J., Robledo A. 1998. Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants // *Industrial Crops and Products*. Vol.8. P.183–194.
- Piesik D., Lemńczyk G., Skoczek A., Lamparski R., Bocianowski J., Kotwica K., Delaney K.J. 2011. *Fusarium* infection in maize: volatile induction of infected and neighboring uninfected plants has the potential to attract a pest cereal leaf beetle, *Oulema melanopus* // *Journal of Plant Physiology*. Vol.168. No.13. P.1534–1542.
- Puntener W. 1981. Manual for field trials in plant protection. Second edition. Basle: Ciba-Geigy Limited. 205 p.
- Ramgareeb S., McFarlane S.A., Conlong D.E., Rutherford R.S. 2010. Identification of herbivore induced plant volatiles from push-pull plants and *Fusarium* species: aids for the management of *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) in sugarcane? // *Proceeding of South African Sugar Technologists’ Association*. Vol.83. P.262–266.

- Savelieva E.I., Gavrilova O.P., Gagkaeva T.Yu. 2014. [Application of solid-phase microextraction with GC-MS for study of volatile products of biosynthesis of plant and microorganisms. Review] // Zhurnal analiticheskoi khimii. Vol.69. No.7. P.675–682. [In Russian].
- Selitskaya O.G., Gavrilova O.P., Shchennikova A.V., Shamshiev I.V., Gagkaeva T.Yu. 2014. [Olfactory communication between *Fusarium* fungi and rice weevil (Coleoptera: Curculionidae)] // Entomologicheskoe obozrenie. Vol.93. No.2. P.303–310. [In Russian].
- Smith J.E., Solomons G., Lewis C., Anderson J.G. 1995. Role of mycotoxins in human and animal nutrition and health // Natural Toxins. Vol.3. No.4. P.187–192.
- Snijders C.H.A. 2004. Resistance in wheat to *Fusarium* infection and trichothecene formation // Toxicology Letters. Vol.153. P.37–46.
- Winter M., Koopmann B., Döll K., Karlovsky P., Kropf U., Schlüter K., von Tiedemann A. 2013. Mechanisms regulating grain contamination with trichothecenes translocated from the stem base of wheat (*Triticum aestivum*) infected with *Fusarium culmorum* // Phytopathology. Vol.103. No.7. P.682–689.
- Wright V.F., De Las Casas E., Harein P.K. 1976. The Response of *Tribolium confusum* to the mycotoxins zearalenone (F-2) and T-2 toxin // Environmental Entomology. Vol.5. No.2. P.371–374.
- Yli-Mattila T., Gavrilova O., Hussien T., Gagkaeva T. 2015. Identification of the first *Fusarium sibiricum* isolate in Iran and *Fusarium langsethiae* isolate in Siberia by morphology and species-specific primers // Journal of Plant Pathology. Vol.97. No.1. P.143–147.
- Zhao F., Li R., Xiao S., Diao H., Viveiros M. M., Song X., Ye X. 2013. Postweaning exposure to dietary zearalenone, a mycotoxin, promotes premature onset of puberty and disrupts early pregnancy events in female mice // Toxicological Sciences. Vol.132. No.2. P.431–442.

Поступила в редакцию 30.11.2016