

In connection with the trends that have been developed in recent decades towards ecologized food production, as well as in order to reduce the pesticide load on the agrocenosis, plant immunity inducers applications are being relevantly researched. Albite, Immunotsifit and Ecogel preparations applied in apple trees agrocenoses ('Red Chief' and 'Early Red' cultivars) increased the yield of apple trees four times in the spring and summer period in comparison with the control and production processing. Plant immunity inducers influenced the fruits weight specifically for each cultivar. On scab-susceptible cultivar 'Early Red', the best indicators were consistently obtained when applying Ecogel (an increase was 6.9–36.7 % compared to the standard), and on the relatively resistant cultivar 'Red Chief', Albite was distinguished among plant immunity inducers (an increase in fruits weight was 4.7–9.5 %). Plant immunity inducers increased the yield of the investigated apple cultivars by 13.9–46.8 % compared to the production processing of apple plantations.

Key words: apple tree, plant immunity inducer, resistance, 'Red Chief', 'Early Red', yield, plant protection, Abkhazia.

УДК 632

doi: 10.31360/2225-3068-2020-74-170-178

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
НЕКОТОРЫХ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ И ИХ КОМПОНЕНТОВ
В ОТНОШЕНИИ ДУБОВОГО КЛОПА-КРУЖЕВНИЦЫ
CORYTHUCHA ARCUATA SAY (HEMIPTERA : TINGIDAE)**

Падалка С. Д., Беседина Е. Н.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений»,
г. Краснодар, Россия, e-mail: scientistchem@inbox.ru*

Североамериканский инвазивный дубовый клоп-кружевница *Corythucha arcuata* Say проник и широко распространился на юге России. Насекомые наносят существенный вред кронам деревьев: вызывают хлороз и раннее опадание листьев. Эта экологическая ситуация для города Краснодара грозит уничтожением дубов черешчатых *Quercus robur* L. В настоящее время данные по химической коммуникации этого вида клопов отсутствуют в литературе. Актуально изучать данный вопрос через поиск биологических средств защиты от этих вредителей. Достаточно безопасными средствами являются соединения, встречающиеся в природе. Компонентом феромона тревоги платанового клопа-кружевницы *Corythucha ciliata* Say является гераниол, широко распространённый компонент природных эфирных масел. Поэтому в работе исследована активность терпеноидов (гераниола, цитронеллола и (+)-цитронеллала), их производных (альфа-ионона, бета-ионона), природных эфирных масел (кориандровое, апельсиновое) и смеси эфирных масел кориандра, фенхеля, укропа и ромашки (30 % : 10 % : 10 % : 1 %) в отношении дубового клопа-кружевницы. В экспериментальной

дозировке 0,5 мкл на чашку Петри выявлена репеллентная активность (+)-цитронеллала. Показано, что углеводород n-гексан и этиловый спирт обладают репеллентной активностью в больших концентрациях. Этим свойством гексана можно объяснить отсутствие инвазий дубов, расположенных вдоль сильно нагруженных автомобильных трасс. Для больших концентраций эфирных масел апельсина и гераниола установлено наличие убивающего действия.

Ключевые слова: терпеноиды, (+)-цитронеллаль, репеллент, дубовый клоп-кружевница, *Corythucha arcuata*.

На сегодняшний день известно, что североамериканские инвазивные клопы рода *Corythucha* (Hemiptera : Tingidae) проникли и широко распространились на территории юга России. К ним относятся насекомые двух видов: платановый (*Corythucha ciliata* Say) и дубовый клоп-кружевницы (*Corythucha arcuata* Say). Личинки и взрослые особи этих насекомых питаются листьями деревьев, вызывая хлороз с последующим ранним опаданием заражённых листьев, что возможно приведёт к постепенной ранней гибели деревьев.

Платановая кружевница впервые обнаружена в 1999 г. в городе Краснодаре на кроне деревьев платана (*Platanus*) [15]. В 2017 г. этот вредитель был отнесён Евразийским экономическим союзом к карантинным видам насекомых. В свою очередь, имаго и нимфы дубового клопа-кружевницы, выявленного в 2016 г., сильно повреждают кроны дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) города Краснодара. Оценка глубины инвазии в России нами не проводилась, так как для исследований использована Краснодарская популяция.

Из всех альтернативных способов защиты леса от вредных членистоногих одним из самых безопасных в экологическом отношении является применение феромонных препаратов [2]. В практике защиты растений феромоны используют для надзора за развитием вредителей для определения оптимальных сроков подавления численности путём массового отлова, дезориентации, а также комбинированных методов защиты таких, как стерилизация и др. По мнению многих исследователей, метод дезориентации самцов является наиболее перспективным [5, 11, 9]. Поэтому для поиска биологических средств защиты возникает необходимость изучения хемокоммуникационных связей клопов-кружевниц, в частности дубового клопа-кружевницы.

В качестве объекта исследования нами был выбран дубовый клоп-кружевница (*Corythucha arcuata* Say). Данный вид клопов рода *Corythucha* распространён в Краснодаре и Краснодарском крае. Информация о феромонах данного вредителя во всемирной феромонной базе отсутствует [14].

Из литературы известно, что нимфы клопов-кружевниц обладают двумя спинными и брюшными ароматическими выделительными железами (dorsal abdominal glands (DAGs) secretions), которые крепятся к 3–4 и 4–5 межсегментным мембранам. DAGs имеют в первую очередь оборонительную функцию у нимф и одновременно защитную и сексуальную у взрослых особей клопов. Описано, как с помощью микрооборудования были получены образцы секрета передних и задних брюшных желез нимф боярышничкового клопа-кружевницы *Corythucha cydoniae* (Fitch., 1861). Анализ образцов показал, что в передних парных железах содержался (*E*)-2-гексеналь и (*E*)-4-оксо-2-гексеналь, а в задних – β -форма гераниола ((*E*)-3,7-диметил-2,6-октадиен-1-ол) и альдегид неролидола [12]. Через 20 лет другими учёными было открыто, что гераниол является феромоном тревоги платановой кружевницы [13]. Один нанограмм гераниола из раствора в гексане в эксперименте вызывал уклончивое поведение нимф. Авторы работы не представили информации о способе разведения гераниола до нанограммовых концентраций и контрольных опытов с самим растворителем.

Гераниол является компонентом многих природных эфирных масел [8, 6, 3, 10]. Например, он содержится в пальмарозовом (до 95 %), гераниевом (40–50 %) и цитронелловом (30–40 %) эфирных маслах. Поэтому нами была проведена работа по оценке биологической активности гераниола, компонентов эфирных масел и некоторых эфирных масел в отношении взрослых особей и нимф дубового клопа-кружевницы. Целью проведённой работы являлся поиск биорациональных средств защиты дуба черешчатого от дубового клопа-кружевницы.

Материалы и методы. Материал в виде срезанных листовых пластинок с инвазией взрослых особей и нимф дубового клопа-кружевницы *Corythucha arcuata* Say. был собран в г. Краснодаре на территории Всероссийского научно-исследовательского института биологической защиты растений (ФГБНУ ВНИИБЗР).

Листовые пластинки с клопами помещались в чашки Петри. Исследуемое индивидуальное химическое вещество или эфирное масло наносили в центр чашки, закрывали и помещали её в затемнённое место. Необработанные листовые пластинки использовались в качестве контроля.

Чистоту веществ и их идентификацию в эфирных маслах проводили с помощью газожидкостной хроматографии (ГЖХ) [7, 1].

Для записи хроматограмм использовано разведение веществ в *n*-гексане.

Пробоподготовка. Для хроматографического анализа приготовлены растворы с массовой долей около 50 ppm: 5 мкл индивидуального жидкого вещества или эфирного масла отмеряли микрошприцом в виалу и растворяли в 1 мл гексана. Для анализа были использованы пробы объёмом 0,3 мкл.

Выжимка эфирного масла апельсина получена методом ручного прессования.

Условия анализа веществ методом ГЖХ. Хроматографический эксперимент был выполнен на приборе «Кристалл-2000М», оснащённом капиллярной колонкой “Zebron™ IFERNO”: длина, м = 30; диаметр, мм = 0,25; жидкая фаза, мкм = 0,10 (ZB-5HT, содержащая 5 % – фенил, 95 % – диметилполисилоксана; возможность применения: алкалоиды, диоксины, эфирные масла, эфиры жирных кислот, пестициды, гербициды, фенолы, остаточные растворители). Продолжительность анализа проб была 30 минут, где программа термостата колонки: анализ при 60 °С в течение 5 мин, затем нагревание со скоростью 20 °С/мин до 120 °С, анализ при 120 °С в течение 10 мин, последующее нагревание со скоростью 20 °С/мин до 260 °С. Таким образом, хроматографирование при 260 °С составило 5 мин. Программа испарителя: 250 °С в течение 15 мин, затем нагревание со скоростью 20 °С/мин до температуры 330 °С. Детектирование осуществляли на пламенно ионизационном детекторе (ПИД) при 320 °С. Давление газа-1 (гелий), кПа: 60; расход газа-2 (гелий), кПа: 12,6; расход газа-5 (водород), мл/мин: 20,00; расход газа-6 (воздух), мл/мин: 200,00. Деление потока: 1/20.

Расчёт концентрации веществ осуществляли по площади пиков.

Результаты и их обсуждение. Анализ записанных газожидкостных хроматограмм позволил стандартизировать компоненты и их концентрации в природных маслах. Это связано с тем, что массовое содержание веществ в эфирных маслах может сильно варьироваться в зависимости от партии природного сырья. Например, гераниол был представлен только одной β-формой ((*E*)-3,7-диметил-2,6-октадиен-1-олом) с ~95%-ной чистотой (рис. 1). Расчётная концентрация гераниола, попавшего в пламенно-ионизационный детектор (ПИД), составила около 36 нг.

Установлено, что гексан и этанол в дозировке 1 мкл обладают репеллентными свойствами. Поэтому анализ биологической активности веществ проводили без их растворения.

Отметим, что инсектицидная активность гераниола в отношении взрослых особей и нимф дубовой кружевницы проявляется следующим образом: при 30 мкл гераниола в чашке Петри было замечено уклончивое поведение, 90 мкл вызывает гибель насекомых на уровне LD_{50} через 9 минут, а 120 мкл приводит к 100 % смертности (LD_{100}) через 16 минут.

Установлена инсектицидная активность выжимки эфирного масла апельсина из кожуры. Известно, что в состав масла входят гераниол, (+)-лимонен, цитраль, мирцен, α-пинен, фарнезен, линалоол, нерол [4]. Оно обладает убивающим действием в отношении взрослых особей клопов. Работа по определению эффективных инсектицидных концентраций масла апельсина и его отдельно взятых компонентов будет продолжена.

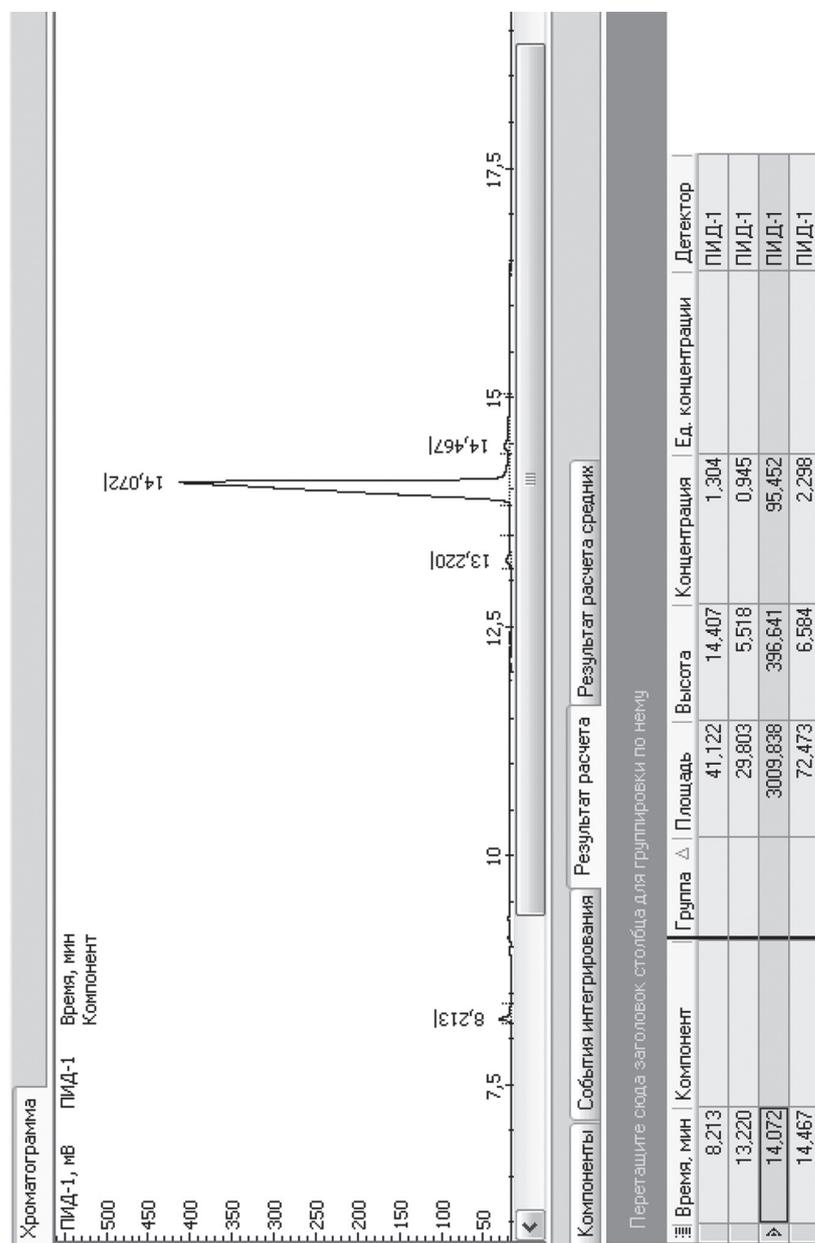


Рис. 1.
Газожидкостная хроматограмма гераниола (Е,Е-3,7-диметил-2,6-октадиенола - β-форма)

Для смеси эфирных масел кориандра посевного (*Coriandrum sativum* L.), фенхеля обыкновенного (*Foeniculum vulgare* Mill.), укропа пахучего (*Anethum graveolens* L.) и ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.) в соотношении 30 % : 10 % : 10 % : 1 % получена газожиждкостная хроматограмма. Анализ показал, что смесь состоит из мирцена (22,3 %), цитраля (3,9 %), (S)-(+)-линалоола (кориандрол) (40,9 %), цитронеллола (4,1 %) и (S)-(+)-карвона (11,8 %). Содержание остальных компонентов менее 3 %. Инсектицидная активность у препарата в дозах 0,5; 1,0; 3,0 и 5,0 мкл полностью отсутствует.

Газожиждкостная хроматограмма эфирного масла кориандра посевного (*Coriandrum sativum*) показала, что оно состоит из мерцена (1,7 %), (S)-(+)-линалоола (кориандрола) (71,1 %) и цитраля (6,9 %). Содержание остальных компонентов менее 3 %. Инсектицидная активность также не обнаружена. Масло эфирное кориандровое в виде 25 % эмульсии является основным рабочим компонентом биопестицида “Биостат”.

Экспериментальные данные по активности биологических средств: терпеноидов (гераниол, цитронеллол, (+)-цитронеллаль), их производных (альфа-ионон, бета-ионон), природных эфирных масел (кориандровое, апельсиновое) и смеси эфирных масел кориандра, фенхеля, укропа и ромашки (30 % : 10 % : 10 % : 1 %) в отношении *C. arcuata* представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Биологическая активность
эфирных масел и их компонентов в отношении
дубового клопа-кружевницы
(*Corythucha arcuata* Say)**

Название эфирного масла и компонентов; чистота (%) и плотность использованных образцов (ρ)	Объём образца	Эффект в отношении имаго дубового клопа-кружевницы (<i>Corythucha arcuata</i> Say)	Общая оценка реакции клопов*
Апельсиновое масло	0,5 мкл	LD ₁₀₀ за 2 часа	(±)
Смесь эфирных масел кориандра, фенхеля, укропа и ромашки: 30 % : 10 % : 10 % : 1 %	0,5 мкл	LD ₀ за 12 часов	(-)
	1,0 мкл		(-)
	3,0 мкл		(-)
	5,0 мкл		(-)
Кориандровое масло, сырец	0,5 мкл	LD ₀ за 12 часов	(-)
	1,0 мкл		(-)
	3,0 мкл		(-)
	5,0 мкл		(-)

Гераниол, $\omega = 95 \%$, $\rho = 0,889$ г/мл	0,5 мкл	LD ₀ за 12 часов	(-)
	1,0 мкл		(-)
	3,0 мкл	LD ₀ за 12 часов	(±)
	5,0 мкл	LD ₀ за 12 часов	(-)
	30 мкл	LD ₀ за 12 часов	(±)
	90 мкл	LD ₅₀ = 9 мин	(±)
	120 мкл	LD ₁₀₀ = 16 мин	(±)
α -Ионон, $\omega = 75-90 \%$, $\rho = 0,931$ г/мл	0,5 мкл, 1,0 мкл, 3,0 мкл, 5,0 мкл	LD ₀ за 12 часов	(-)
β -Ионон, $\omega = 90 \%$, $\rho = 0,945$ г/мл	0,5 мкл, 1,0 мкл, 3,0 мкл, 5,0 мкл	LD ₀ за 12 часов	(-)
Цитронеллол (2,3-дигидрогераниол), $\omega = 90-95 \%$, $\rho = 0,85$ г/мл	0,5 мкл	LD ₀ за 12 часов	(-)
	1,0 мкл	LD ₀ за 12 часов	(±)
	3,0 мкл	LD ₅₀ за 1 час 12 мин	(±)
	5,0 мкл	LD ₃₀ за 12 часов	(-)
(+)-Цитронеллаль ((R)-3,7-диметил-6-октеналь)	0,5 мкл	LD ₀ за 12 часов	(+)
	1,0 мкл		(+)
	3,0 мкл	LD ₃₀ за 12 часов	(±)
	5,0 мкл	LD ₁₀₀ за 12 часов	(-)

Примечание: * где: (-) – отсутствие реакции,
(±) – частичная реакция,
(+) – явное изменение в поведении

Таким образом, установлено, что геранирол, являющийся основным компонентом феромона тревоги платанового (*C. ciliata* Say) и боярышничкового (*C. cydoniae* Fitch.) клопов-кружевниц не проявляет биологической активности в отношении дубового клопа-кружевницы *C. arcuata* Say.

(+)-цитронеллаль ((R)-3,7-диметил-6-октеналь) в дозировке 0,5 мкл и выше на чашку Петри обладает выраженной репеллентной активностью. Апельсиновое эфирное масло, содержащее (+)-цитронеллаль, в дозировке 0,5 мкл обладает частичной биологической активностью.

Работа по определению эффективных концентраций (+)-цитронеллала и апельсинового эфирного масла для создания биопрепаратов против дубовых клопов-кружевниц будет продолжена.

Работа выполнена при частичной поддержке грантом № 19-44-233009 p_мол_a РФФИ и администрации Краснодарского края.

Библиографический список

1. Великородов А.В., Ковалев В.Б., Курбанова Х.Ф. и Щепетова Е.В. Химический состав эфирного масла *Hyssopus officinalis* L., культивируемого в Астраханской области // Химия растительного сырья. – 2015. – № 3. – С. 71-76. – doi: 10.14258/jcprgm.201503749.
2. Гниненко Ю.И. Выявление инвазивных клопов в лесах России. – Пушкино: ВНИИЛМ, 2018. – 32 с.
3. Ефремов А.А., Зыкова И.Д., Горбачев А.Е. Компонентный состав эфирного масла мелиссы лекарственной окрестностей Красноярска по данным хромато-масс-спектрометрии // Химия растительного сырья. – 2015. – № 1. – С. 77-81. – doi: 10.14258/jcprgm.201501415.
4. Кароматов И.Д., Ражабова Г.Х., Хошимова Н. Медицинское значение апельсина // Биология и интегративная медицина. – 2016. – № 1. – С. 109-121. – ISSN 2181-8827.
5. Лебедева К.В., Вендило Н.В., Плетнев В.А. Феромоны лесных насекомых и их применение в защите леса от вредителей // Агрохимия. – 2012. – № 8. – С. 77-89. – ISSN 0002-1881.
6. Мустафаев С.К., Пелипенко Т.В., Усов А.П., Калиенко Е.А. Выход и состав эфирного масла из расколотых плодов кориандра // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2016. – № 118 (04). – С. 1-13. – URL: <http://ej.kubagro.ru/2016/04/pdf/49.pdf>.
7. Писарев Д.И., Новиков О.О. Методы выделения и анализа эфирных масел // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2012. – Т. 18. – № 10(129). – С. 25-30. – ISSN 2075-4728.
8. Пономарева Е.И., Молохова Е.И., Холов А.К. Идентификация компонентов эфирного масла герани душистой (*Pelargonium graveolens* L'Her) методом тонкослойной хроматографии // Химия в интересах устойчивого развития. – 2015. – Т. 23. – № 5. – С. 527-532. – doi: 10.15372/KhUR20150504.
9. Пятнова Ю.Б., Лебедева К.В., Каракотов С.Д. Феромоны насекомых: на службе защиты растений // Защита и карантин растений. – 2016. – № 5. – С. 37-40. – ISSN 1026-8634.
10. Федянина Е.П., Ефремов А.А., Соколова Л.С. Химический состав эфирного масла тимьяна енисейского // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы IV Всероссийской конференции, г. Барнаул, 21-23 апреля 2009 г. – Барнаул: изд-во Алтайского гос. ун-та, 2009. – Кн. 2. – С. 140-141. – ISBN 978-5-7904-0903-5.
11. Шамшев И.В., Гричанов И.Я. Место феромонов в фитосанитарных технологиях // Защита и карантин растений. – 2008. – № 9. – С. 22-23. – ISSN 1026-8634.
12. Aldrich J.R., Neal, J.W., Oliver, J.E. and William R.L. Chemistry vis-à-vis maternalism in lace bugs (Heteroptera : Tingidae): Alarm pheromones and exudate defense in *Corythucha* and *Gargaphia* species // Journal of chemical ecology. – 1991. – Vol. 17. – № 11. – P. 2307-2322. – doi: 10.1007/BF00988010.
13. Kuwahara Y., Kawai A., Shimizu N., Tokumaru S. and Ueyama H. Geraniol, E-3, 7-dimethyl-2, 6-octadien-1-ol, as the alarm pheromone of the sycamore lace bug *Corythucha ciliata* (Say) // Journal of chemical ecology. – 2011. – Vol. 37. – № 11. – P. 1211-1215. – doi: 10.1007/s10886-011-0025-2.
14. Pherobase: всемирная база данных по изучению феромонов насекомых и способам их синтеза. – 2020. – [Electronic Resources]. – Access mode: <https://www.pherobase.com/database/genus/genus-Corythucha.php> (accessed: 10.05.2020).
15. Voigt K. The first russian record of *Corythucha ciliata* (Say) from Krasnodar (Heteroptera : Tingidae) // Zoosystematica Rossica. – 2001. – Vol. 10. – № 1. – P. 76. – ISSN 2410-0226.

**BIOLOGICAL ACTIVITY
OF SOME ESSENTIAL OILS AND THEIR COMPONENTS
IN RELATION TO OAK BUG LACE *CORYTHUCHA ARCUATA* SAY
(HEMIPTERA : TINGIDAE)**

Padalka S. D., Besedina Ye. N.

*Federal State Budgetary Scientific Institution
"Russian Research Institute of Biological Plant Protection",
Krasnodar, Russia, e-mail: scientistchem@inbox.ru*

The North American invasive oak bug lace *Corythucha arcuata* Say has penetrated and spread widely in southern Russia. The insects significantly damage tree crowns, causing chlorosis and early leaf fall. For the city of Krasnodar, this ecological situation threatens with the destruction of common oaks *Quercus robur* L. At present, data on the chemical communication of this bug species are not available in the literature. It is actual to study this issue through the search for biological remedies against these pests. Quite safe means are compounds found in nature. For the sycamore bug *Corythucha ciliata* Say a component of the anxiety pheromone is geraniol, which is a widespread component of natural essential oils. Therefore, this paper studied the activity of terpenoids (geraniol, citronellol and (+)-citronellal), their derivatives (alpha-ionon, beta-ionon), natural essential oils (coriander, orange) and a mixture of essential oils of coriander, fennel, dill and chamomile (30 % : 10 % : 10 % : 1 %) in relation to the oak bug lace. At an experimental dosage of 0.5 µl per petri dish, the repellent activity of (+)-citronellal was revealed. It was shown that the hydrocarbon n-hexane and ethyl alcohol have a repellent activity in high concentrations. This property of hexane can explain the absence of invasions among oaks located along highways with heavy traffic. For large concentrations of essential oils of orange and geraniol, a killing effect has been established.

Key words: terpenoids, (+)-citronellal, repellent, oak bug lace, *Corythucha arcuata*.