Հայաստանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիա
Национальная Академия Наук Армении
National Academy of Sciences of Armenia

Հայաստանի Կենսաբանական Հանդես
Биологический Журнал Армении
Biological Journal of Armenia

• Փորձարարական և տեսական հոդվածներ • Экспериментальные и теоретические статьи •
• Experimental and theoretical articles •

Биолог. журн. Армении, 4 (74), 2022

DOI:10.54503/0366-5119-2022.74.4-12

ОЦЕНКА ИНСЕКТИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ СОВМЕСТНО С ИХ ЭФИРНЫМИ МАСЛАМИ В РЕГУЛЯЦИИ ЧИСЛЕННОСТИ ЛИЧИНОК КОЛОРАДСКОГО ЖУКА (*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* SAY.)

А.М. АВЕТИСЯН[1], А.Ф. ГРИГОРЯН[1], И.Э. СТЕПАНЯН[2]

[1] *Фонд «Ширакский государственный университет имени М. Налбандяна», г. Гюмри, Армения*
Arevavetisyan24@gmail.com,angingrigoryan@mail.ru
[2] *Научный центр зоологии и гидроэкологии НАН РА, г. Ереван, Армения*
ilonastepanyan37@gmail.com

Изучена инсектицидная активность комплексных растительных экстрактов совместно с их эфирными маслами, выделенных из *Artemisia absinthium* L., *Achillea biebersteinii Afan*., *Ocimum basilicum* L., произрастающих в Армении, в отношении личинок колорадского жука. Высокая биологическая активность против личинок выявлена у комплексного экстракта вместе с его эфирным маслом, полученного из растения *O. basilicum* – 44 % после второй обработки и 100 % – после пятой. Предложено использовать растение *O. basilicum* в биологической борьбе с личинками колорадского жука.

Колорадский жук – растения — инсектициды – биологическая борьба – Армения

Հետազոտված է Հայաստանում հանդիպող *Artemisia absinthium* L., *Achillea biebersteinii Afan*., *Ocimum basilicum* L. բույսերից ստացված համալիր մզվածքների և եթերայուղերի համատեղ միջատասպան ակտիվությունը կոլորադյան բզեզի թրթուրների հանդեպ: Թրթուրների դեմ բարձր կենսաբանական ակտիվություն դրսևորվել է *O. basilicum*-ից ստացված համալիր մզվածքի և նրա եթերայուղի համատեղ ազդման դեպքում՝ 44 % երկրորդ և 100 % հինգերորդ մշակման արդյունքում: Առաջարկվում է *O. basilicum*-ը կիրառել կոլորադյան բզեզի թրթուրների դեմ կենսաբանական պայքարում:

Կոլորադյան բզեզ – բույսեր – միջատասպաններ – կենսաբանական պայքար – Հայաստան

The insecticidal activity of compound plant extracts with their essential oils in complex, isolated from *Artemisia absinthium* L., *Achillea biebersteinii Afan*., *Ocimum basilicum* L. growing in Armenia against Colorado potato beetle reddish larvae was studied. High insecticidal activity against larvae of the Colorado potato beetle was found in complex extract with her essential oil obtained from *O. basilicum* plant – 44 % after the second treatment and 100 % after the fifth treatment. It is proposed to use the plant *O. basilicum* in the biological control of Colorado potato beetle larvae.

Colorado potato beetle – plants – insecticides – biological control – Armenia

Колорадский жук *Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824) – злостный вредитель-фитофаг, причиняющий урон посевам картофеля в различных странах Евразии и Америки [6]. Насекомое обладает высокой резистентностью к различным традиционным синтетическим пестицидам [6], что затрудняет борьбу с ним. В нас-

тоящее время, для борьбы с колорадским жуком используется большое количество синтетических пестицидов, наносящих вред окружающей среде и здоровью человека, и способствующих образованию резистентных к этим химикатам популяций вредителя [12, 14, 15]. Вследствие этого, необходимым является поиск новых безопасных средств борьбы с жуком, способных преодолеть его высокую резистентность и минимизировать ущерб, наносимый экосистеме вследствие использования пестицидов.

Многие ароматические и лекарственные растения, благодаря составу химических компонентов, могут быть потенциально пригодными для использования в качестве инсектицидов для борьбы и отпугивания различных насекомых вредителей, при этом имея минимальный риск для здоровья человечества и окружающей среды [7-9, 13, 16, 17]. Особенно актуальны те растения, которые произрастают на территориях, прилежащих к полям с насекомыми вредителями: таким образом, можно облегчить затраты, связанные с использованием этих растительных средств в борьбе с колорадским жуком.

В связи с этим, целью работы является изучение инсектицидной активности комплексных экстрактов в совокупности с их эфирными маслами, полученных из растений, произрастающих в Армении, против личинок колорадского жука, с дальнейшим предложением этих растений к использованию в биологической борьбе.

Материал и методика. В опытах были использованы виды растений – полынь горькая (*Artemisia absinthium* L.), желтый тысячелистник (*Achillea biebersteinii Afan*.), базилик (*Ocimum basilicum* L.), произрастающие и культивирующиеся в Ширакском (сс. Анушаван, Исаакян, Баяндур, Паник), Тавушском (г.Дилижан) и других марзах Армении, которые могут обладать инсектицидной активностью за счет содержания специфических соединений – вторичных метаболитов [3]. Растения были собраны с мая по июнь 2021 в период цветения.

Из каждого растения были получены водные экстракты и спиртовые вытяжки (комплексные экстракты), приготовленные согласно модифицированному протоколу А.С. Акопян и соавторов [1]. Кроме того, в опытах использовали эфирные масла вышеуказанных растений, которые выделили методом экстракции с использованием аппарата ARM ESSENCE в лаборатории биотехнологии Госуниверситета Ширака. Личинки 4-го возраста колорадского жука были собраны в окрестностях сел Паник, Аревик, Анушаван, Исаакян, Баяндур с июня по июль 2021. Действие комплексных экстрактов на личинок оценивали в лабораторных условиях, с использованием метода погружения листовой пластинки кормового растения в испытуемый экстракт [2] и биоанализ с использованием пропитанной тестируемыми эфирными маслами фильтровальной бумаги (модификация метода В.И.Чои с соавторами [11]. Использовали стеклянные боксы (объём 1,5 л) с фильтровальной бумагой на дне и на него высаживали личинок. В контроле и каждом опыте тестировали по 15 личинок последней стадии развития. Лист картофеля брали в качестве кормового растения. В контрольных опытах использовали дистиллированную воду (300 мл.) и 70% этиловый спирт (2.5 мл.). В опытных сериях использовали водную вытяжку (300 мл.), 70% спиртовую вытяжку (2.5 мл) и эфирное масло (100 мкл), полученные из каждого тестируемого растения.

Число обработок кормового растения определяли экспериментальным путем для достижения полной гибели личинок. Концентрации компонентов комплексных экстрактов, полученных из растений, определяли экспериментальным путем с учетом данных И. Степанян, Г. Карагян [4]. В итоге число обработок кормового растения с личинками составило шесть раз, по одной обработке в день. Число выживших в конце всех обработок личинок определяли по числу куколок и вышедших из них имаго жуков. Учет результатов (подсчет мёртвых, “пьяных” и живых личинок) проводили через сутки после каждой обработки. Для изучения антифидантной активности тестируемых комплексных экстрактов против личинок использовали модификацию метода П.И. Бозова с соавторами [10]. Учет съеденной части кормового листа проводили через 24 ч – помещали лист на белую бумагу и переснимали съеденные части (Т %). В контрольном опыте также учитывали съеденную часть листа кормового растения (К %). Расчет Антифидантного эффекта (АФ %) действия

экстрактов на основе вышеуказанных растений проводили по формуле (АФ % = Т/ К [10]. Расчет биологической эффективности тестируемых комплексных экстрактов в комплексе с их эфирными маслами проводили согласно формуле, предложенной Эбботом [5] используемой для оценки эффективности действия различных токсичных реагентов на жуков вредителей [8]. БЭ = ((А – В) / А) × 100, где: БЭ – биологическая эффективность (%), А – число насекомых вредителей до обработки растений тестируемым препаратом, В – число насекомых вредителей, через определенное время после обработки растений. Все лабораторные опытные серии проводили в трех проворностях, расчеты параметров в соответствии с каждым опытом проводили в каждом эксперименте в отдельности и рассчитывали средний показатель. Рассчитывали следующие параметры – Mean – среднее арифметическое, STD – стандартное отклонение, SE – стандартная ошибка среднего. Средняя температура во время проведения лабораторных опытов – + 22^0С.

Были проведены также предварительные полевые испытания комплексных экстрактов в совокупности с их эфирными маслами, полученными от вышеуказанных растений. Для каждого опытного случая был взят один ряд кустов картофеля (длиной 2 м, шириной 1м.) и на эти кусты подсаживали по 25 личинок колорадского жука. Также и в случае с контролем. Вокруг каждого ряда опытных картофельных кустов была сделана буферная зона, состоящая из очищенной от растительности почвы. Обработка кустов с личинками проводилась в утренние часы один раз в сутки, таким образом в течение 6 дней. Учет погибших, “пьяных” и “удравших” личинок проводили к вечеру того же дня, после обработки растений. В процессе обработки растений (метод опрыскивания), в опытных сериях использовали комплексные экстракты в следующих пропорциях – на 3л. водной вытяжки добавляли 25 мл спиртовой вытяжки и 1000 мкл. эфирного масла по каждому растению. Тестирование экстрактов в комплексе с их эфирными маслами в полевых условиях было проведено единожды, в связи с этим, статистические расчеты не проводили.

Результаты и обсуждение. Лабораторные условия. Результаты тестирования комплексных экстрактов в совокупности с эфирными маслами, полученными из *A. absinthium, A. biebersteinii, O. basilicum* против личинок колорадских жуков в лабораторных условиях показаны в таблицах 1-3 и на рисунках 1-2. Наилучший биологический эффект выявлен для комплексного экстракта с эфирным маслом, полученным из *O. basilicum* (44% эффект после второй обработки и 100% – после пятой). Экстракт в комплексе с эфирным маслом, полученным из растения *A. Absinthium,* показал низкую эффективность после второй обработки (16.6%), после трех обработок эффективность возросла до 42 %, а после пятой стала 74.1%. При тестировании комплексного экстракта с эфирным маслом, полученного из растения *A. biebersteinii* высокая эффективность 58,6% выявлена после третьей обработки, а после пятой стала 65.1%. Повторные обработки личинок колорадского жука и кормового растения значительно повышают эффективность действия тестируемых экстрактов в совокупности с их эфирными маслами. В целом, комплексные экстракты в совокупности с их эфирными маслами, полученным из трех вышеуказанных растений, показали высокую эффективность при обработке кормовых растений с личинками колорадского жука на 6-ые сутки обработки (табл. 1, рис. 1).

Для выяснения степени поедания личинками *L. decemlineata* кормового растения, обработанного тестируемыми комплексными растительными экстрактами совместно с их эфирными маслами, был проведен Атифидантный тест – модификация метода Бозова с соавторами [10]. Исходя из результатов Атифидантного теста было выявлено, что листья кормового растения, обработанные комплексными экстрактами тестируемых 3-х видов растений в совокупности с их эфирным маслом, оказались в различной степени по вкусу личинкам колорадского жука (табл. 2-3, рис. 2).

На рис. 2 и в табл. 2 показана степень поедания личинками листовой пластинки кормового растения, обработанного различными комплексными растительными экстрактами с их эфирными маслами. Через сутки после обработки кормового растения, в меньшей степени были съедены пластинки кормового растения в

Таблица 1. Биологическая Эффективность (БЭ%) комплексных экстрактов совместно с их эфирными маслами, выделенными из *A. biebersteinii, A. absinthium* и *O. Basilicum* против личинок колорадского жука в лабораторных условиях

	Биологическая Эффективность (БЭ%) (Mean ±SE)			
	1-ые сутки после обработки (24_I)	2-ые сутки после обработки (48_II)	5-тые сутки после обработки (120_V)	6-ые сутки после обработки (144_VI)
A. biebersteinii	2.2 ±0.3	9.3±0.7	65.1±0.9	70±0.9
A. absinthium	4.6±0.7	16.6±0.6	74.1 ±0.9	100±0.7
O. basilicum	31.6±1.8	Вид растений	66.6 ±0.9	100±0.3

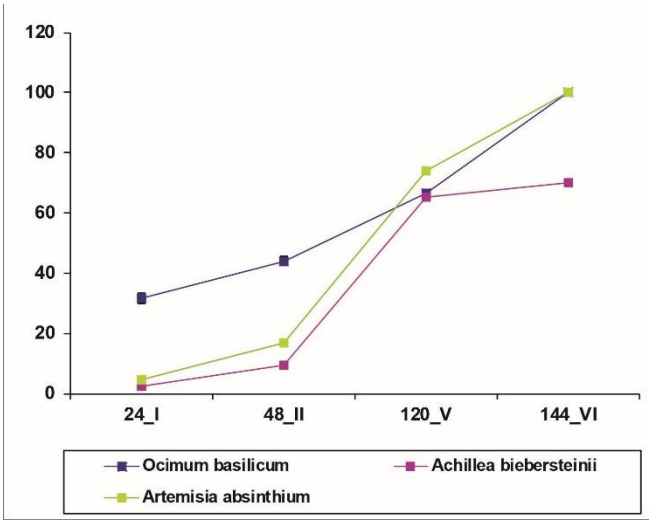

Рис. 1. Оценка биологической эффективности (БЭ%) экстрактов в комплексе с их эфирными маслами, выделенными из 3-х видов растений, в отношении личинок колорадских жуков в лабораторных условиях. На оси абсцисс (OX) представлено число обработок личинок комплексными экстрактами.
На оси ординат (OY) – процент выживших особей.

двух опытных сериях: обработки комплексными экстрактами, полученными от растений *O. basilicum* и *A. absinthium* вместе с их эфирными маслами – 40% и 50% соответственно. Через двое суток повторных обработок кормового растения, в меньшей степени были повреждены кормовые растения в двух опытных сериях: обработки комплексными экстрактами, полученными от растений *A. biebersteinii* и *A. absinthium* с их эфирными маслами – 10 % и 16.6 % соответственно.

Таким образом, комплексные экстракты в совокупности с эфирным маслом, полученным от растений *O. basilicum* и *A. absinthium* и *A. biebersteinii* показали значительный репеллентный эффект воздействия на личинок *L. decemlineata* уже через 48ч. после повторных обработок (табл. 2, рис. 2).

Для выяснения степени поедания личинками *L. decemlineata* кормового растения, обработанного тестируемыми комплексными растительными экстрактами совместно с их эфирными маслами, был проведен Атифидантный тест – модификация метода Бозова с соавторами [10]. Исходя из результатов Атифидантного теста было выявлено, что листья кормового растения, обработанные комплексными экстрактами тестируемых 3-х видов растений в совокупности с их эфирным маслом, оказались в различной степени по вкусу личинкам колорадского жука (табл. 2-3, рис. 2).

Таблица 2. Результаты антифидантного теста (% съеденной части листа кормового растения личинками колорадских жуков) после обработок кормового растения экстрактами выделенных из 3-х видов растений в комплексе с их эфирными маслами в лабораторных условиях

	Процент съеденной части листа кормового растения (Mean ±SE)		
	24 ч.	48 ч.	96 ч.
Контроль	80 ± 0.04	40±0.035	10±0.02
A. biebersteinii	66.7±0.02	10±0.06	6.7±0.03
A. absinthium	50.0±0.08	16.6±0.03	1.3±0.01
O. basilicum	40±0.07	26.7±0.09	0

Таблица 3. Результаты антифидантного теста – АФ (%)

Сутки и число обработок	*O. basilicum*	*A. biebersteinii*	*A. absinthium*
24_I	0.5	0.84	0.63
48_II	0.67	0.25	0.43
96_IV	0	0.7	0.1

На рис. 2 и в табл. 2 показана степень поедания личинками листовой пластинки кормового растения, обработанного различными комплексными растительными экстрактами с их эфирными маслами. Через сутки после обработки кормового растения, в меньшей степени были съедены пластинки кормового растения в двух опытных сериях: обработки комплексными экстрактами, полученными от растений *O. basilicum* и *A. absinthium* вместе с их эфирными маслами – 40 % и 50 % соответственно. Через двое суток повторных обработок кормового растения, в меньшей степени были повреждены кормовые растения в двух опытных сериях: обработки комплексными экстрактами, полученными от растений *A. biebersteinii* и *A. absinthium* с их эфирными маслами – 10 % и 16.6 % соответственно.

Таким образом, комплексные экстракты в совокупности с эфирным маслом, полученным от растений *O. basilicum* и *A. absinthium* и *A. biebersteinii* показали значительный репеллентный эффект воздействия на личинок *L. decemlineata* уже через 48 ч после повторных обработок (табл. 2, рис. 2).

Полевые условия. Результаты тестирования экстрактов в совокупности с эфирными маслами, полученными из *A. absinthium, A. biebersteinii, O. basilicum* против личинок колорадского жука в полевых условиях показаны на рис. 3. При воздействии на кормовое растение с личинками комплексными экстрактами в совокупности с эфирным маслом, полученным из трех вышеуказанных растений, было выявлено следующее поведение личинок – особи падали на землю в пьяном виде, иногда оставались на самом листе и умирали в течение нескольких часов, а наиболее активные пытались убежать на соседние растения или в буферную зону.

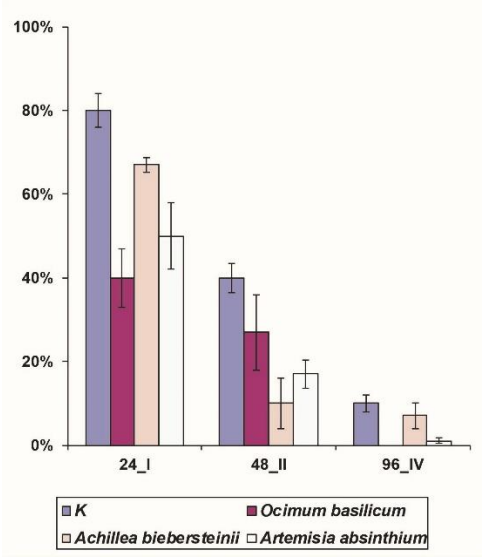

Рис. 2. Графическое представление процента съеденной части листа кормового растения личинками колорадского жука после обработок кормового растения и личинок тестируемыми экстрактами в комплексе с их эфирными маслами в лабораторных условиях.

Наибольший мортальный эффект был выявлен при воздействии на личинок комплексными экстрактами в совокупности с эфирным маслом, полученным из растения *O. basilicum* (через сутки после обработки – 16 %, через двое – 28 %). Комплексные экстракты в совокупности с эфирным маслом, полученным из *A. Biebersteinii* показали хороший мортальный эффект через двое суток после обработки (32 %), а из растения *A. absinthium* – через трое (40 %).

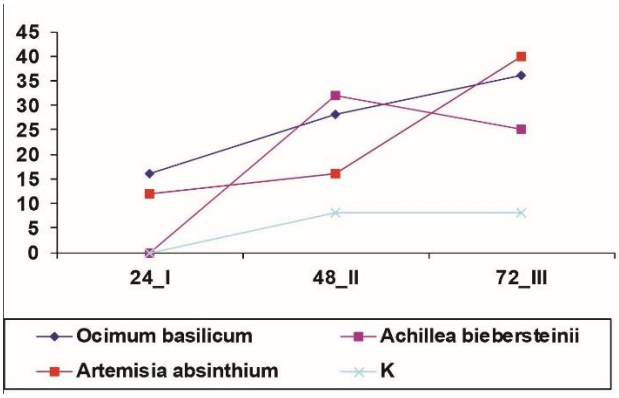

Рис. 3. Графическое представление мортального воздействия (в %) тестируемых экстрактов в комплексе с их эфирными маслами на личинок колорадского жука в полевых условиях.

Таким образом, в результате оценки инсектицидных свойств экстрактов в комплексе с их эфирными маслами, выделенными из трех видов растений (*A. absinthium, A. biebersteinii, O. basilicum*), произрастающих и культивируемых в Армении, на личинок 4-го возраста колорадского жука в лабораторных и полевых условиях было выявлено, что все эти экстракты имеют инсектицидную активность и

репеллентный эффект (табл. 2-3, рис. 1-2). Наши эксперименты показали, что наибольший биологический эффект от комплексных экстрактов проявляется при обработке ими кормовых растений с личинками – раз в день в течение недели. Нами было выявлено, что наибольшей мортальной активностью обладали комплексные экстракты, полученные из *O.basilicum* – 44 % по сравнению с 9,3 % (*Achillea biebersteinii*) и 16,6 % (*A. absinthium*) соответственно, уже на вторые сутки после обработки в опытных условиях. В полевых условиях было выявлено, что высокий процент погибших личинок колорадского жука в результате обработки растений картофеля с личинками, экстрактами в комплексе с их эфирными маслами высок в случае использования растения *O.basilicum* уже через сутки после обработки, а также и в течение всех трех суток обработки. Экстракты в комплексе с их эфирными маслами, выделенными из растения *A. biebersteinii* – показали мортальную эффективность через двое суток после обработки, а из растения *A. absinthium* – через трое суток после обработки. Лучшее мортальное воздействие на личинок *L. decemlineata* проявилось на четвертые сутки после трех обработок кормового растения с личинками в полевых условиях.

Комплексные экстракты, полученные из *O.basilicum* и *A. Biebersteinii,* могут быть предложены для биологической борьбы с личинками колорадского жука в качестве альтернативы традиционно используемым синтетическим инсектицидным средствам. Предлагается использовать экстракт из базилика (показавший мортальный эффект в течение трех суток обработки) совместно с его эфирным маслом, путем опрыскивания кустов картофеля с личинками колорадского жука раз в день (с утра до 12.00) в течение 4-х -6-ти дней в зависимости от степени гибели личинок. Кроме того, исходя из наших опытов, помимо опрыскивания, можно/нужно высаживать базилик по периметру от участка с кустами картофеля и в междурядьях кустов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность сотруднику Института ботаники имени А. Тахтаджяна НАН РА д.б.н. И.Г. Габриеляну и сотруднику Ширакского государственного университета им. М. Налбандяна, к.б.н. А.С. Хачатряну за консультации при проведении опытов. Работа выполнена частично в рамках базовой научной темы Е-14.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Акопян А.С., Казарян Л.А., Степанян И.Э., Дилбарян К.П*. Оценка инсектицидной активности экстрактов некоторых растений (*Lantana* L., *Radermachera* Zool. & Mor., *Mandevilla* Lindl., *Dieffenbachia* Schott., *Geranium* L., *Narcissus* L.) против бобовой тли (*Aphis fabae* Scopoli, 1763). Материалы международной научной конференции “Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны – 3”, Ереван, 27-29 сентября, Армения, с. 88-92, 2017.
2. *Воронова Н.В., Степанян И.Э., Дилбарян К.П*. Оценка эффективности масел растений в отношении тлей в лабораторных условиях. Учебно-методическое пособие Минск. БГУ. 20 с., 2020.
3. *Золотницкая С.Я.* Лекарственные ресурсы флоры Армении. Ереван, *1*, 223 с., 2014.
4. *Степанян И.Э., Карагян Г.А.* Оценка инсектицидных свойств комплексных растительных экстрактов некоторых растений, произрастающих в Армении, как агентов регуляции численности личинок колорадского жука // Сборник статей по материалам XLVI международной научно-практической конференции. Химия, Физика, Биология, Математика: Теоретические и Прикладные Исследования. М., 2021, "Интернаука", *35*, 3, с. 25-32, 2021.

5. *Abbott, W.S.* A method of computing the effectiveness of an insecticide. // Journal of Economic Entomology, *18*, p. 265-267, 1925.
6. *Alyokhin A., Dively G., Patterson M., Castaldo C., Rogers D., Mahoney M., Wollam J.* Resistance and cross-resistance to imidacloprid and thiamethoxam in the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. Pest Manag. Sci. *63*, 1, p. 32-41. 2007.
7. *Aydin, T., Cakir, A., Kazaz, C., Bayrak, N., Bayir, Y., & Taşkesenligil, Y.* Insecticidal metabolites from the rhizomes of Veratrum album against adults of colorado potato beetle, Leptinotarsa decemlineata. Chemistry & biodiversity, 11, (8), p. 1192-1204, 2014.
8. *Basiev, S. S., Bekmurzov, A. D., Bekuzarova, S. A., Dulaev, T. A., Sokolova, L. B., Bolieva, Z. A., & Khodova, L. D.* Phytoinsecticides to Fight Against Colorado Beetle. Life Sciences, p. 562-569, 2019.
9. *Bouda H., Tapondjou L.A., Fontem D.A., & Gumedzoe M.Y. D*. Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). Journal of Stored Products Research, *37*, 2, p. 103-109, 2001.
10. *Bozov, P.I., Vasileva, T.A. and Iliev, I.N.* Structure and antifeedant activity relationship of neo-clerodane diterpenes against Colorado potato beetle larvae. Chemistry of Natural Compounds, *50*, 4, p.762-764, 2014.
11. *Choi, W.I., Lee, E.H., Choi, B.R., Park, H.M. and Ahn, Y.J.* Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). Journal of Economic Entomology, *96*, 5, p. 1479-1484, 2003.
12. *Huseth A.S., R.L. Groves*. Effect of insecticide management history on emergence phenology and neonicotinoid resistance in Leptinotarsa decemlineata (Coleoptera: Chrysomelidae) J. Econ. Entomol., *106*, 6, p. 2491-2505, 2013.
13. *Isman M.B.* Plant essential oils for pest and disease management. Crop Prot. 19, p. 603-608, 2000.
14. *Kadoić Balaško, M., Mikac, K. M., Bažok, R., & Lemic, D*. Modern techniques in Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) control and resistance management: history review and future perspectives. Insects, *11*, 9, 581 p., 2020.
15. *Stankovic S, Zabel A, Kostic M, Manojlovic B and Rajkovic S*. Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say)) resistance to organophosphates and carbamates in Serbia. J Pestic Sci, 77, p., 11-15, 2004.
16. *Tampe J., Parra L., Huaiquil K., Quiroz, A.* Potential repellent activity of the essential oil of *Ruta chalepensis* (Linnaeus) from Chile against *Aegorhinus superciliosus* (Guérin) (Coleoptera: Curculionidae). J. Soil Sci. Plant Nutr., *16*, 1, p. 48-59, 2016.
17. Waligóra-Rosada, D. Saponins as the agents influencing the fecundity of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). Progress in Plant Protection, *50*, 1, p. 394-397, 2010.

Поступила 12.09.2022