

Изучение полифункциональных свойств перспективных бактериальных агентов в отношении фитофагов и возбудителей болезней плодового ценоза*

Е. Ю. ГЫРНЕЦ, А. М. АСАТУРОВА

Федеральный научный центр биологической защиты растений, Краснодар, п/о 39, 350039, Российская Федерация

Резюме. Исследование проводили с целью изучения инсектицидных и фунгицидных свойств перспективных штаммов бактерий в качестве потенциальных биоагентов, основы полифункциональных микробиопрепаратов. Эксперимент по определению энтомопатогенной активности штаммов бактерий *in vitro* был поставлен на природной популяции яблонной плодовой гусеницы (*Cydia pomonella* L.), которая повсеместно выступает экономически значимым фитофагом плодовых культур. Гусеницы заражали перорально, путем нанесения водной суспензии бактерий на искусственную питательную среду. Изучаемые штаммы проявили различную степень инсектицидной активности в отношении *C. pomonella* L., которая на пятые сутки составила 48,8...74,4 %. В опытах по оценке биологической эффективности перспективных штаммов бактерий в зависимости от количества колониеобразующих единиц микроорганизмов и возраста гусениц использовали лабораторную популяцию большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) и природную популяцию яблонной плодовой гусеницы. В опытах применяли водные суспензии бактерий в концентрации 10^5 и 10^8 КОЕ/мл и использовали гусениц 2...3, и 5...6 возрастов. Чувствительность испытываемых насекомых различалась в зависимости от возраста: на гусеницах 5...6 возраста эффективность составила 37,5...85,0 %, 2...3 возраста – 75,0...89,5 %. Эффективная концентрация суспензии штаммов бактерий в отношении всех видов насекомых была равна 10^5 КОЕ/мл. Для определения возможного полифункционального действия биоагентов была изучена их антифунгальная активность методом встречных культур *in vitro* в отношении экономически значимых возбудителей болезней яблони. Выявлен штамм, у которого отмечена высокая антагонистическая активность в отношении грибов родов *Fusarium*, *Alternaria* *Trichothecium* – 42,2...84,8 %. Проведенные исследования подтвердили потенциальную перспективность штаммов бактерий *Bacillus* sp. BZR 1159, *Bacillus* sp. BZR 936, *B. thuringiensis* G3 в качестве полифункциональных агентов биологического контроля вредных организмов плодового ценоза.

Ключевые слова: биологическая защита растений, энтомопатогенные микроорганизмы, *Bacillus* sp., полифункциональность, *Cydia pomonella* L., бактерии, плодовой ценоз, болезни яблони.

Сведения об авторах: Е. Ю. Гырнец, аспирант (e-mail: alena_fox95@mail.ru); А. М. Асатунова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник.

Для цитирования: Гырнец Е. Ю., Асатунова А. М. Изучение полифункциональных свойств перспективных бактериальных агентов в отношении фитофагов и возбудителей болезней плодового ценоза // Достижения науки и техники АПК. 2023. Т. 37. № 5. С. 39–45. doi: 10.53859/02352451_2023_37_5_39

*исследования выполнены согласно Государственному заданию Министерства науки и высшего образования РФ в рамках НИР по теме № FGRN-2022-0005 при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям в рамках Договора № 17858ГУ/2022 от 18 мая 2022 г. (конкурс «УМНИК»).

Study of the polyfunctional properties of promising bacterial agents in relation to phytophages and pathogens of fruit cenosis

E. Yu. Gyrnets, A. M. Asaturova

Federal Scientific Center of Biological Plant Protection, Krasnodar, p/o 39, 350039, Russian Federation

Abstract. The study aimed to study the insecticidal and fungicidal properties of promising bacterial strains as potential bioagents, the basis of polyfunctional microbiological preparations. An experiment to determine the entomopathogenic activity of bacterial strains *in vitro* was carried out on the natural population of the codling moth (*Cydia pomonella* L.), which everywhere acts as an economically significant phytophage of fruit crops. Caterpillars were infected orally by applying an aqueous suspension of bacteria to an artificial nutrient medium. The studied strains showed different degrees of insecticidal activity against *C. pomonella* L., which on the fifth day was 48.8–74.4%. In experiments to assess the biological effectiveness of promising bacterial strains, depending on the number of colony-forming units of microorganisms and the age of caterpillars, a laboratory population of the greater wax moth (*Galleria mellonella* L.) and a natural population of the codling moth were used. In the experiments, aqueous suspensions of bacteria were used at a concentration of 10^5 and 10^8 CFU/ml and caterpillars of 2–3 and 5–6 instars were used. The sensitivity of the tested insects differed depending on the age: on caterpillars of 5–6 instar the efficiency was 37.5–85.0%, 2–3 instar – 75.0–89.5%. The effective concentration of the suspension of bacterial strains in relation to all insect species was 10^5 CFU/ml. To determine the possible polyfunctional action of bioagents, their antifungal activity was studied by the method of *in vitro* counter cultures against economically significant pathogens of apple diseases. A strain has been identified that has a high antagonistic activity against fungi of the genera *Fusarium*, *Alternaria* *Trichothecium* – 42.2–84.8%. The conducted studies confirmed the potential prospects of *Bacillus* sp. BZR 1159, *Bacillus* sp. BZR 936, *B. thuringiensis* G3 as multifunctional agents for the biological control of pests in fruit cenosis.

Keywords. biological protection of plants; entomopathogenic microorganisms; *Bacillus* sp.; polyfunctionality; *Cydia pomonella* L.; bacteria; fruit cenosis; apple tree diseases.

Author Details: E. Yu. Gyrnets, post graduate student (e-mail: alena_fox95@mail.ru); A. M. Asaturova, Cand. Sc. (Biol.), leading research fellow.

For citation: Gyrnets EYu, Asaturova AM [Study of the polyfunctional properties of promising bacterial agents in relation to phytophages and pathogens of fruit cenosis]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2023;37(5):39–45. Russian. doi: 10.53859/02352451_2023_37_5_39

Плодовые культуры на протяжении всего периода вегетации могут подвергаться негативному влиянию различных факторов, в том числе воздействию деятельности фитофагов и возбудителей

болезней. Среди чешуекрылых яблонная плодовая гусеница (*Cydia pomonella* L.) выступает наиболее опасным вредителем садов во всем мире. При неправильном контроле численности этого фитофага, ежегодные

потери урожая в некоторых хозяйствах могут достигать 85 % [1].

Начиная с 2009 г. в плодовых насаждениях южного региона РФ отмечено увеличение распространения и расширение видового разнообразия грибов рода *Fusarium*, вызывающих корневые гнили, трахеомикозные увядания, а также гниль сердцевинных плодов. Видовой состав возбудителей в основном представлен *F. oxysporum*, *F. sambusinum*, *F. avenaceum* [2].

В последние десятилетия повсеместно отмечается увеличение распространенности и вредоносности альтернариоза яблони, особенно в зонах с теплым и влажным климатом. Болезнь проявляется преимущественно в виде пятнистости листьев, кроме того, патогены, – грибы из рода *Alternaria*, вызывают поражение плодов в виде сердцевинной и поверхностной гнилей [3].

Во время сбора и транспортировки урожая плоды яблони восприимчивы к заражению патогенами, что может привести к гниению плодов во время хранения. Гриб *Trichothecium roseum* преобладает в патоккомплексе возбудителей гнили сердцевинных плодов, который включает широкий спектр поражаемых культур [4].

Разработка биотехнологических подходов получения экологически безопасных биопрепаратов нового поколения выступает одним из путей решения проблемы защиты сельскохозяйственных культур от вредных организмов. При этом стоит учесть, чем выше степень экологической безопасности биопрепарата, тем уже спектр его действия. В экономическом отношении этот аспект часто становится недостатком, так как требует более разнообразного ассортимента биопрепаратов по сравнению с химическими пестицидами [5].

Преодоление такой ситуации требует поиска природных биологических агентов (основы биопрепаратов), которые наряду с действием на одну мишень, например, фитофага, способны одновременно проявлять антагонистическое влияние на возбудителя болезни того же растения. Примером таких перспективных микроорганизмов могут выступать бактерии, которые, наряду с фунгицидным и инсектицидным действием, способны стимулировать рост и развитие растений [6, 7, 8].

В связи с этим, актуален поиск и изучение высокоэффективных штаммов бактерий с полифункциональными свойствами для разработки на их основе экологически безопасных биопрепаратов для защиты сельскохозяйственных культур.

Цель исследования – изучение инсектицидных и фунгицидных свойств перспективных штаммов бактерий в качестве потенциальных биоагентов, основы полифункциональных микробиопрепаратов.

Условия, материалы и методы. Работу проводили на базе лаборатории микробиологической защиты растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (ФГБНУ ФНЦБЗР) с использованием материально-технической базы уникальной научной установки «Технологическая линия для получения микробиологических средств защиты растений нового поколения» (<http://ckp-rf.ru/usu/671367>) и уникальной научной установки «Технологическая линия по массовому разведению насекомых-энтомофагов» (<http://ckp-rf.ru/usu/671922>). Исследования проводили в 2020–2022 гг. Объекты исследования – три абригенных штамма бактерий из биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов». Штаммы выделены из различных станций Краснодарского края.

Для получения водной суспензии на основе исследуемых штаммов бактерии высевали в чашки Петри (ЧП) методом штриха на мясо-пептонный агар (МПА). Культивирование осуществляли в термостате при температуре +28 °C в течение 48 ч. По окончании культивирования получали водную суспензию методом смыва и определяли численность бактериальных клеток глубинным методом по Нетрусову А. И. (2005).

Для оценки инсектицидной активности перспективных биоагентов в отношении яблонной плодовой гнили (*Cydia pomonella* L.) извлекали гусениц природной популяции из яблок, выращенных на стационарной базе ФГБНУ ФНЦБЗР. В опытах по оценке биологической эффективности перспективных штаммов бактерий в зависимости от количества колониеобразующих единиц микроорганизмов и возраста гусениц использовали лабораторную популяцию большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) и природную популяцию яблонной плодовой гнили. Эксперименты проводили по общепринятым методикам оценки энтомопатогенных микроорганизмов [9]. Для выявления инсектицидного действия штаммов в отношении *G. mellonella* L. использовали гусениц 2...3 и 5...6 возрастов. Насекомых рассаживали в ЧП на искусственную питательную среду, предварительно обработанную бактериальной суспензией из расчета 5:3. В контрольном варианте использовали стерильную воду. ЧП с гусеницами большой восковой моли содержали при температуре +25...27 °C и относительной влажности воздуха 60...80 %. Оценку энтомопатогенности штаммов бактерий в отношении *C. pomonella* L. проводили на гусеницах природной популяции 2...3 и 5...6 возрастов. Насекомых содержали индивидуально в 24-луночных планшетах (Nunc™ Cell-Culture Treated) по 1 гусенице на лунку, по 15 особей на планшет. В качестве кормового субстрата использовали искусственную питательную среду (ИПС) Митрофанова (1976), которую раскладывали в лунки из расчета 1 г на гусеницу. Заражение производили перорально путем нанесения водной суспензии штаммов на ИПС с использованием дозатора по 0,3 мл на лунку. Эксперименты проводили в пятикратной повторности. В опытах по определению биологической эффективности перспективных штаммов бактерий в зависимости от количества колониеобразующих единиц микроорганизмов использовали концентрации суспензий 10^5 и 10^8 КОЕ/мл.

При оценке биологической эффективности наблюдали за поведением и проводили визуальный осмотр гусениц, для выявления меланизации покровов.

Расчет биологической эффективности осуществляли по формуле Хендерсона и Тилтона, которая учитывает изменения численности как в опытном, так и контрольном вариантах [10]:

$$\mathcal{E} = 100 \times (1 - \text{ОпКд} / \text{ОдКп}),$$

где $\mathcal{E}$ – эффективность, выраженная процентом снижения численности вредителя с поправкой на контроль; Оп – число живых особей после обработки в опыте, шт.; Од – число живых особей перед обработкой в опыте, шт.; Кп – число живых особей насекомого в контроле после обработки, шт.; Кд – число живых особей насекомого в контроле до обработки, шт.

Для выявления возможного полифункционального действия энтомопатогенных биоагентов была оценена их антагонистическая активность *in vitro* в отношении грибов родов *Fusarium*, *Alternaria* и *Trichothecium*. Фунгицидную активность перспективных штаммов

Таблица 1. Биологическая эффективность штаммов бактерий в отношении гусениц природной популяции яблонной плодовой гусеницы *C. pomonella* L.

Вариант	КОЕ/мл	Живые гусеницы, шт. *		Биологическая эффективность, %		
		до обработки	после обработки, сут.		3	5
			3	5		
Bacillus sp. BZR 1159	(6,5±0,3) × 10 ⁹	15	6,7 ^a	3,7 ^a	54,5	74,4
Bacillus sp. BZR 936	(6,7±0,1) × 10 ⁹	15	6,3 ^a	4,7 ^a	56,8	67,4
B. thuringiensis G3	(2,8±0,1) × 10 ¹⁰	15	9,7 ^b	7,3 ^b	34,1	48,8
Контроль (обработка водой)	-	15	14,7 ^c	14,3 ^c	-	-

*здесь и в таблицах 2, 3, 4 и 5 между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистически достоверных различий по критерию Дункана при 95 %-ном уровне вероятности ($p=0,05$).

бактерий определяли методом двойных (встречных) культур по Егорову (2005). В ЧП с застывшей питательной средой помещали агаровый блок с мицелием патогена с одной стороны, а с другой стороны наносили штамм бактерий на расстоянии 6 см от блока патогена. Культуры инкубировали в течение десяти дней при температуре +28,0 °С. Контрольные варианты – чистые культуры гриба патогена и бактерии, посеянные отдельно. Опыты проводили в трехкратной повторности. Учет двойных культур осуществляли на пятые, седьмые и десятые сутки. Степень ингибирования мицелия патогена рассчитывали по формуле:

$$И = (1 - (A / B)) \times 100,$$

где И – % ингибирования; А – рост мицелия в варианте, мм; В – рост мицелия в контроле, мм.

Таблица 2. Биологическая эффективность штаммов бактерий в зависимости от количества колониеобразующих единиц микроорганизмов в отношении *G. mellonella* L.

Вариант	Титр, КОЕ/мл	Живые гусеницы, шт.				Биологическая эффективность, %			
		после обработки, сут.				3	5	7	10
<i>Bacillus</i> sp. BZR 1159	$(3,4 \pm 0,3) \times 10^8$	12,3 ^{ab}	10,0 ^{abde}	7,3 ^{abd}	0,7 ^a	11,9	28,6	47,6	95,0
	$(1,9 \pm 0,3) \times 10^5$	13,0 ^a	5,7 ^{acf}	3,3 ^{abc}	1,0 ^a	7,1	59,5	76,2	92,5
<i>Bacillus</i> sp. BZR 936	$(2,8 \pm 0,1) \times 10^8$	9,0 ^{bc}	7,3 ^{abc}	3,7 ^{abc}	0,7 ^a	35,7	47,6	73,8	95,0
	$(3,5 \pm 0,3) \times 10^5$	3,0 ^d	1,7 ^f	0,3 ^c	0 ^a	78,6	88,1	97,6	100
<i>B. thuringiensis</i> G3	$(1,9 \pm 0,1) \times 10^8$	13,0 ^a	9,7 ^{abde}	8,0 ^{bde}	2,3 ^{ab}	7,1	31,0	42,9	82,5
	$(1,2 \pm 0,2) \times 10^5$	12,3 ^{ab}	8,3 ^{abc}	5,7 ^{abd}	2,0 ^{ab}	11,9	40,5	59,5	85,0
Контроль (обработка водой)	-	14,0 ^a	14,0 ^e	14,0 ^f	13,3 ^c	-	-	-	-

Математическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2019 и Statistica 13.3 EN trial-version (StatSoft Russia). Принадлежность к нормальному распределению определяли по критерию Колмогорова-Смирнова. Статистическую значимость различий между группами определяли с применением критерия Дункана [11]. Между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистически достоверных различий. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. После первичного скрининга было отобрано три штамма бактерий с

Таблица 3. Биологическая эффективность штаммов бактерий в зависимости количества колониеобразующих единиц бактерий в отношении *C. pomonella* L.

Вариант	Титр, КОЕ/мл	Живые гусеницы, шт.				Биологическая эффективность, %			
		после обработки, сут.				3	5	7	10
<i>Bacillus</i> sp. BZR 1159	$(3,4 \pm 0,3) \times 10^8$	5,0 ^b	5,0 ^a	3,5 ^{bc}	3,0 ^{bc}	0	0	22,2	33,3
	$(1,9 \pm 0,3) \times 10^5$	3,5 ^{ab}	3,0 ^{ab}	2,5 ^{ab}	2,0 ^{ab}	22,2	33,3	44,4	55,6
<i>Bacillus</i> sp. BZR 936	$(2,8 \pm 0,1) \times 10^8$	3,5 ^{ab}	3,5 ^{ab}	2,5 ^{ab}	2,5 ^{ab}	22,2	22,2	44,4	44,4
	$(3,5 \pm 0,3) \times 10^5$	4,0 ^{ab}	3,0 ^{ab}	1,5 ^a	1,5 ^a	11,1	33,3	66,7	66,7
<i>B. thuringiensis</i> BZR G3	$(1,9 \pm 0,1) \times 10^8$	2,5 ^a	2,5 ^b	2,5 ^{ab}	2,5 ^{ab}	44,4	44,4	44,4	44,4
	$(1,2 \pm 0,2) \times 10^5$	2,5 ^a	2,5 ^b	1,5 ^a	1,5 ^a	44,4	44,4	66,7	66,7
Контроль (обработка водой)	-	4,5 ^{ab}	4,5 ^a	4,5 ^c	4,0 ^c	-	-	-	-

разной степенью вирулентности в отношении большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) и большого мучного хрущака (*Tenebrio molitor* L.) – *Bacillus* sp. BZR 936, *Bacillus thuringiensis* G3 и *Bacillus* sp. BZR 1159 [12].

Для изучения чувствительности фитофагов на действие биоагентов был выбран целевой объект – яблонная плодовая

C. pomonella. При подготовке смывов исследуемых штаммов бактерий определяли количество колониеобразующих единиц в одном миллилитре суспензии – титр был в диапазоне от $6,5 \times 10^9$ до $2,8 \times 10^{10}$ КОЕ/мл (см. табл. 1).

Максимальный инсектицидный эффект был отмечен у штамма *Bacillus* sp. BZR 1159. Гибель гусениц в варианте с применением суспензии этого биоагента была на уровне 54,5 % к третьим суткам и 74,4 % к пятым суткам. У биоагента *Bacillus* sp. BZR 936 биологическая эффективность составила 56,8 % и 67,4 % на третьи и пятые сутки соответственно. В то же время штамм *Bacillus* sp. BZR 936 проявил слабую инсектицидную активность, смертность гусениц яблонной плодовой гусеницы к пятым суткам была менее 50,0 %.

Была проведена оценка инсектицидной активности трёх штаммов бактерий *Bacillus* sp. BZR 1159, *Bacillus* sp. BZR 936 и *B. thuringiensis* G3 в зависимости от количества колониеобразующих единиц в отношении *G. mellonella* L. (табл.2) и *C. pomonella* L. (табл. 3). Во всех вариантах опыта концентрация суспензии 10^5 КОЕ/мл была эффективнее в сравнении с концентрацией 10^8 КОЕ/мл.

Максимальная гибель гусениц большой восковой моли была отмечена после инокуляции ИПС штаммом *Bacillus* sp. BZR 936 и составила 100 % на десятые сутки эксперимента (см. табл. 2). Высокая эффективность в этом варианте отмечена и на третьи сутки опыта – 78,6 %. Об-

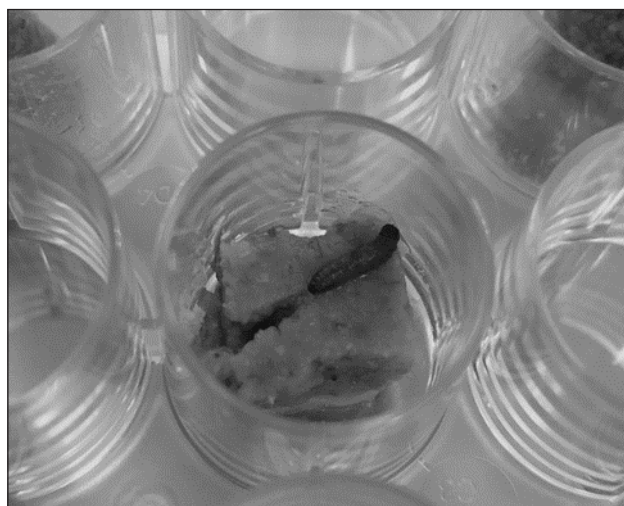


Рис. 1. Гусеница *C. pomonella* L. на десятые сутки после инокуляции ИПС штаммом BZR 936 в суспензии с титром 10^5 КОЕ/мл в лунке планшета.

работка бактериальной суспензией *Bacillus* sp. BZR 1159 в концентрации 10^8 КОЕ/мл приводила к гибели гусениц большой восковой моли постепенно, что свидетельствует о возможном пролонгированном эффекте штамма. Так, в течение первых суток после обработки смертность гусениц составила только 11,9 %, на пятые и седьмые сутки – 28,6 и 47,6 %, а на десятые сутки она достигала 95,0 %. В то же время у штамма *Bacillus* sp. BZR 1159 в концентрации 10^5 КОЕ/мл была отмечена сопоставимая эффективность в отношении *C. pomonella* L. В этом варианте смертность была отмечена на третьи сутки после обработки – 22,2 %, тогда как в варианте, где применяли водную суспензию с титром 10^8 КОЕ/мл, – только на седьмые сутки.

Таблица 4. Биологическая эффективность штаммов бактерий в зависимости от возраста гусениц большой восковой моли *G. mellonella* L.

Вариант/ титр суспензии	Возраст	Живые гусеницы, шт.				Биологическая эффективность, %			
		после обработки, сут.							
		3	5	7	10	3	5	7	10
<i>Bacillus</i> sp. BZR 1159 ($1,9 \times 10^5$ КОЕ/мл)	2...3	11,7 ^{ab}	8,3 ^a	3,3 ^a	1,3 ^{ab}	14,6	39,0	73,7	89,5
	5...6	13,0 ^{ab}	10,3 ^a	6,3 ^b	2,0 ^{ab}	7,1	24,4	53,7	85,0
<i>Bacillus</i> sp. BZR 936 ($3,5 \times 10^5$ КОЕ/мл)	2...3	5,7 ^c	3,0 ^c	1,7 ^a	0,7 ^a	58,5	78,0	86,8	94,7
	5...6	9,3 ^{ac}	9,3 ^a	3,7 ^{ab}	2,0 ^{ab}	33,3	31,7	73,2	85,0
<i>B. thuringiensis</i> G3 ($1,2 \times 10^5$ КОЕ/мл)	2...3	9,7 ^{abc}	7,0 ^a	2,3 ^a	2,0 ^{ab}	29,3	48,8	81,6	84,2
	5...6	11,7 ^{ab}	9,3 ^a	4,3 ^{ab}	3,0 ^b	16,7	31,7	68,3	77,5
Контроль (обработка водой)	2...3	14,0 ^b	13,7 ^b	13,7 ^c	13,3 ^c	-	-	-	-
	5...6	13,7 ^{ab}	13,7 ^b	12,7 ^c	12,7 ^c	-	-	-	-

Штамм *B. thuringiensis* G3 показал незначительную разницу погибших особей *G. mellonella* L. в зависимости от титра бактериальной суспензии – 82,5 и 85,0 %, но при этом обладал минимальным энтомоцидным эффектом среди всех исследуемых штаммов. В опыте с яблонной плодовой гусеницей этот штамм обладал максимальной биологической эффективностью наряду со штаммом *Bacillus*

Таблица 5. Оценка биологической эффективности штаммов бактерий в зависимости от возраста гусениц *C. pomonella* L.

Вариант	Возраст	Живые гусеницы, шт.				Биологическая эффективность, %			
		после обработки, сут.							
		3	5	7	10	3	5	7	10
<i>Bacillus</i> sp. BZR 1159 ($1,9 \times 10^5$ КОЕ/мл)	2...3	2,0 ^a	1,0 ^a	1,0 ^{ab}	0,5 ^a	55,6	75,0	75,0	87,5
	5...6	3,0 ^{ab}	2,0 ^{ab}	2,0 ^{bc}	1,5 ^{ab}	33,3	55,6	50,0	62,5
<i>Bacillus</i> sp. BZR 936 ($3,5 \times 10^5$ КОЕ/мл)	2...3	2,5 ^a	2,0 ^{ab}	0,5 ^a	0,5 ^a	44,4	55,6	87,5	87,5
	5...6	3,5 ^{ab}	2,0 ^{ab}	1,5 ^{abc}	1,0 ^a	22,2	50,0	62,5	75,0
<i>B. thuringiensis</i> G3 ($1,2 \times 10^5$ КОЕ/мл)	2...3	2,5 ^a	1,5 ^{ab}	1,0 ^{ab}	1,0 ^a	44,4	62,5	75,0	75,0
	5...6	3,5 ^{ab}	3,0 ^{bc}	2,5 ^c	2,5 ^b	22,2	33,3	37,5	37,5
Контроль (обработка водой)	2...3	4,5 ^b	4,0 ^d	4,0 ^d	4,0 ^c	-	-	-	-
	5...6	4,5 ^b	4,5 ^{cd}	4,0 ^d	4,0 ^c	-	-	-	-

sp. BZR 936, которая в обоих случаях составила 66,7 % на десятые сутки (см. табл. 3).

В результате исследований по оценке энтомопатогенной активности штаммов бактерий в зависимости от титра было установлено, что титр 10^5 КОЕ/мл был эффективнее по сравнению с 10^8 КОЕ/мл во всех вариантах опыта [13, 14]. Вероятно, такой эффект обусловлен специфичностью и индивидуальными особенностями исследуемых биоагентов, а также с различными механизмами внешней и внутренней систем защиты насекомых от энтомопатогенов. Кроме того, был выделен штамм *Bacillus* sp. BZR 936, обладающий высокой биологической эффективностью в отношении *G. mellonella* L. и *C. pomonella* L., которая составляла от 66,7 до 100 % к десятым суткам эксперимента.

В результате визуального осмотра погибших после инокуляции гусениц были выявлены симптомы бактериальной инфекции – патологические изменения покровов, в том числе меланизация (рис. 1).

Известно, что насекомые имеют достаточно совершенную иммунную систему от различных инфекционных заболеваний, которая зависит от онтогенетических, возрастных и физиологических особенностей [15].

В результате исследований по оценке чувствительности насекомых в зависимости от фазы развития, было выявлено, что гусеницы младших возрастов более уязвимы к действию штаммов бактерий в разной степени (табл. 4 и 5).

В ходе эксперимента на большой восковой моли значительных различий между исследуемыми группами по критерию биологической эффективности отмечено не было (табл. 4). Однако в варианте с применением штамма *Bacillus* sp. BZR 936 смертность гусениц второго и третьего возрастов на пятые сутки после инокуляции была в 2,5 раза выше, чем особей

старшего возраста, но к десятым суткам эта разница нивелировалась.

В опыте с яблонной плодовой гусеницей было установлено различие чувствительности испытуемых насекомых в зависимости от возраста гусеницы (табл. 5). Вероятно, это связано с физиологией насекомого, так как 2...3 возраст у яблонной плодовой гусеницы выступает периодом

активного кормления, что и способствует повышению инсектицидного эффекта штаммов. Такая закономерность была отмечена в вариантах с применением штамма *B. thuringiensis* G3, где биологическая эффективность в отношении особей 2...3 возраста была в два раза выше, чем на гусеницах старших возрастов.

У штаммов *Bacillus* sp. BZR 1159 и *Bacillus* sp. BZR 936 смертность на младших возрастах была в среднем выше на 18,7 %. Это свидетельствует о высокой эффективности и преимуществе применения биологических агентов именно на ранних стадиях развития фитофагов-вредителей.

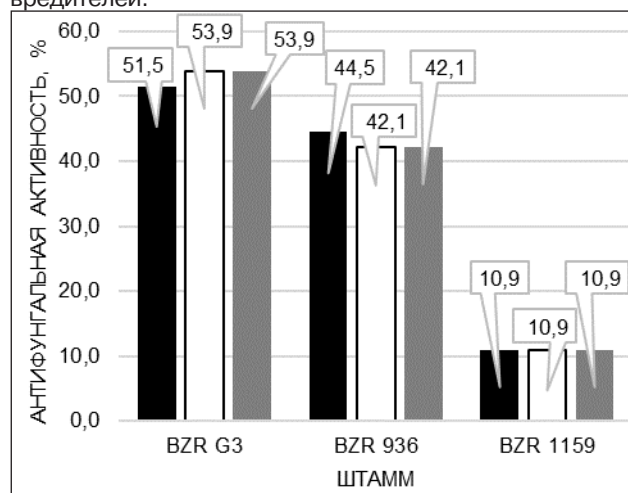


Рис. 2. Антифунгальная активность перспективных штаммов бактерий в отношении *F. graminearum* BZR F-4: ■ – 5 сутки; □ – 7 сутки; ▒ – 10 сутки.

По результатам оценки фунгицидной активности штаммов бактерий в отношении *F. graminearum* BZR F-4 установлено, что штамм *B. thuringiensis* G3 обладал максимальной антагонистической активностью, которая достигла пика к седьмым суткам 53,9 % (рис. 2). Для штамма *B. thuringiensis* BZR G3 было отмечено ингибирование фитопатогенного гриба на уровне 44,5 % к пятым суткам, к седьмым суткам величина этого показателя снизилась до 42,1 % и оставалась стабильной до конца эксперимента. При этом антифунгальная активность штамма *Bacillus* sp. BZR 1159 была значительно ниже, чем у других штаммов – менее 11 %, что свидетельствует о слабом фунгицидом действии в отношении *F. graminearum* BZR F-4.

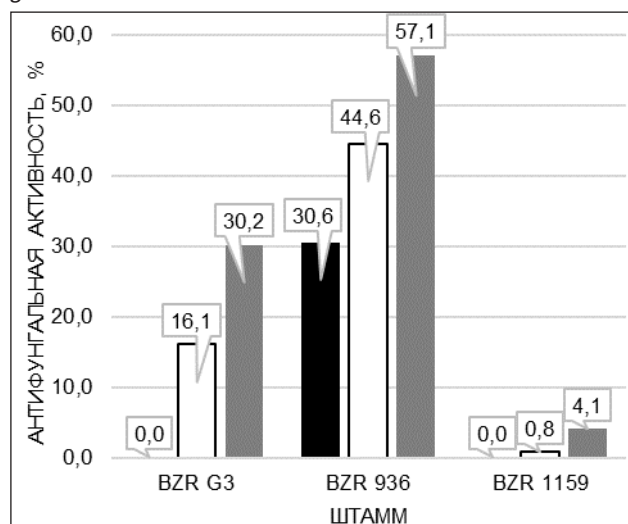


Рис. 3. Антифунгальная активность перспективных штаммов бактерий в отношении *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6: ■ – 5 сутки; □ – 7 сутки; ▒ – 10 сутки.

В ходе эксперимента по оценке фунгицидной активности перспективных биоагентов в отношении *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6, в целом у всех штаммов было отмечено повышение ингибирования роста мицелия к десятым суткам (рис. 3).

Однако максимальным антагонистическим действием обладал штамм *Bacillus* sp. BZR 936, который стабильно показывал высокое ингибирование мицелия гриба на протяжении всего эксперимента: 30,6 % – на пятые, 44,6 % – на седьмые сутки и 57,1 % – на десятые сутки. При этом штамм *B. thuringiensis* BZR G3 показал антифунгальную активность, которая достигла 30,2 % только к десятым суткам эксперимента. В варианте со штаммом *Bacillus* sp. BZR 1159 ингибирующее действие на тест-объект составило не более 4,1 % на протяжении всего исследования.

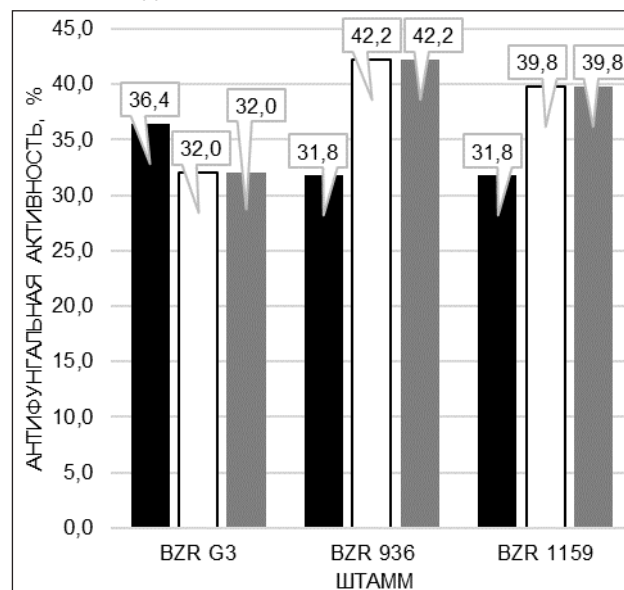


Рис. 4. Антифунгальная активность перспективных штаммов бактерий в отношении *Fusarium avenaceum* BZR-F 19: ■ – 5 сутки; □ – 7 сутки; ▒ – 10 сутки.

В отношении фитопатогенного гриба *F. avenaceum* BZR-F 19 антагонистическая активность перспективных биоагентов составляла 32...42,2 % (рис. 4). Для штаммов *Bacillus* sp. BZR 936 и *Bacillus* sp. BZR 159 отмечено повышение ингибируемого действия к седьмым суткам: 42,2 и 39,8 % соответственно. Вместе с тем у штамма *B. thuringiensis* BZR G3 зафиксировано снижение фунги-

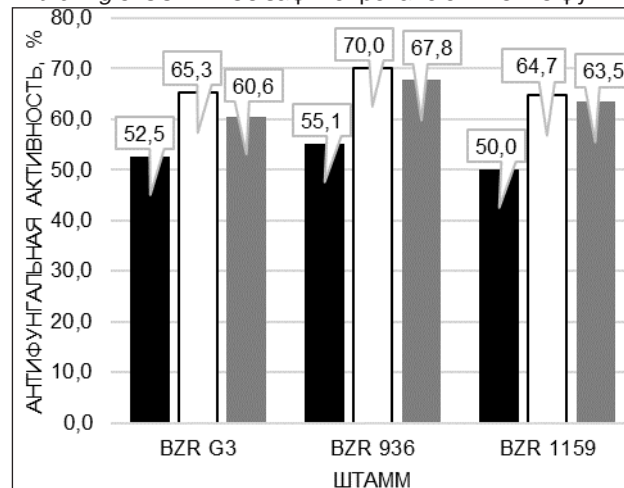


Рис. 5. Антифунгальная активность перспективных штаммов бактерий в отношении *Alternaria alternata* BZR-F 12: ■ – 5 сутки; □ – 7 сутки; ▒ – 10 сутки.

цидной активности с 36,4 % до 32,0 % на седьмые сутки и оставалось на этом уровне до конца эксперимента.

В результате оценки антифунгальной активности перспективных штаммов бактерий в отношении гриба *A. alternata* BZR-F 12 все исследуемые штаммы оказали высокое ингибирующее действие на возбудителя альтернариоза, которое составляло 60,6...67,8 % на десятые сутки эксперимента (рис. 5). Максимальный эффект был отмечен на пятые сутки – у штамма *Bacillus* sp. BZR 936 – 70,0 %, у штамма *B. thuringiensis* BZR G3 – 65,3 %, а у штамма *Bacillus* sp. BZR 1159 – 64,7 %.

В опыте по определению антифунгальной активности штаммов бактерий в отношении *T. roseum* стоит

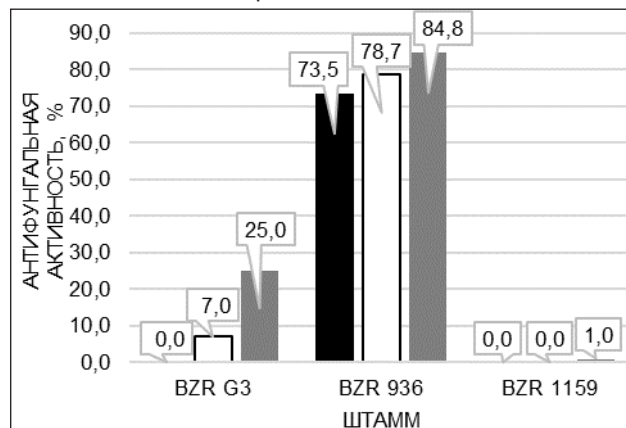


Рис. 6. Антифунгальная активность перспективных штаммов бактерий в отношении *Trichothecium roseum* BKM F-428. ■ – 5 сутки; □ – 7 сутки; ▒ – 10 суток.

Литература

1. Закономерности формирования фитосанитарно устойчивых энтомоценозов садовых культур в регионе юга России / М. Е. Подгорная, С. В. Прах, Е. Г. Юрченко и др. // Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. 2022. Т. 34. С. 151–157. doi: 10.30679/2587-9847-2022-34-151-157.
2. Якуба Г. В., Мищенко И. Г. Распространение грибов рода *Fusarium* на плодовых культурах юга России // Плодоводство и ягодоводство России. 2020. Т. 58. С. 206–211. doi: 10.31676/2073-4948-2019-58-206-211.
3. Антоненко В. В., Зубков А. В., Кручина С. Н. Альтерналиоз семечковых культур // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2020. № 3. С. 70–80. doi: 10.26897/0021-342X-2020-3-70-80.
4. The pH signalling transcription factor PacC modulate growth, development, stress response and pathogenicity of *Trichothecium roseum* / B. Wang, Z. Han, D. Gong, et al. // Environmental Microbiology. 2022. Vol. 24. No. 3. P. 1608–1621. doi: 10.1111/1462-2920.15943.
5. Microbial biopesticides: current status and advancement for sustainable agriculture and environment / N. Thakur, S. Kaur, P. Tomar, et al. // New and future development in microbial biotechnology and bioengineering. Elsevier, 2020. P. 243–282. doi: 10.1016/B978-0-12-820526-6.00016.
6. Rui L. Microbial biopesticides in agroecosystems // Agronomy. 2018. Vol. 8. No. 11. Article 235. URL: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201900385892> (дата обращения: 19.06.2023). doi: 10.3390/agronomy8110235.
7. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species / D. Fira, I. Dimkic, T. Beric, et al. // Journal of biotechnology. 2018. Vol. 285. P. 44–55. doi: 10.1016/j.jbiotec.2018.07.044.
8. Перспективы применения бактерий-продуцентов липопептидов для защиты растений (обзор) / И. В. Максимов, Б. П. Сингх, Е. А. Черепанова и др. // Прикладная биохимия и микробиология. 2020. Т. 56. № 1. С. 19–34. doi: 10.31857/S0555109920010134.
9. Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты / под ред. В. В. Глухова. М.: Круглый год, 2001. С. 352–427.
10. Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и родентицидов в сельском хозяйстве / В. И. Долженко, А. Б. Лаптев, Л. А. Буркова и др. М.: Российский научно-исследовательский институт информации и технико-экономических исследований по инженерно-техническому обеспечению агропромышленного комплекса (Правдинский), 2019. С. 354–355.
11. Баврина А. П. Современные правила применения параметрических и непараметрических критериев в статистическом анализе медико-биологических данных // Медицинский альманах. 2021. № 1 (66). С. 64–73.
12. Гырнец Е. Ю., Асатурова А. М. Скрининг штаммов бактерий по критерию энтомопатогенной активности в отношении *Galleria mellonella* L. и *Tenebrio molitor* L. // Достижения науки и техники АПК. 2022. Т. 36. № 3. С. 53–60. doi: 10.24411/0235-2451-2020-11108.
13. The investigation of factors potentially affecting the susceptibility of native *Plutella xylostella* populations to *Bacillus thuringiensis* cry toxins / C. P. De Bortoli, R. A. Polanczyk, N. Crickmore, et al. // International Journal of Agriculture Innovations and Research. 2014. Vol. 3. No. 3. P. 823–832. URL: https://www.ijair.org/administrator/components/com_jresearch/files/publications/IJAIR_1058_Final.pdf (дата обращения: 14.03.2023).
14. Восприимчивость разных видов чешуекрылых насекомых к штамму *Bacillus thuringiensis* ssp. *Aizawai* / И. В. Андреева, Е. И. Шаталова, Г. В. Калмыкова и др. // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2020. Т. 49. № 6. С. 44–52. doi: 10.26898/0370-8799-2019-6-5.

отметить активный антагонизм штамма *Bacillus* sp. BZR 936 (рис. 6).

В этом варианте ингибирование роста гриба уже на пятые сутки составило 73,5 % и последовательно возрастало к десятым суткам до 84,8 %. При этом штаммы *Bacillus* sp. BZR 1159 и *B. thuringiensis* BZR G3 не проявили эффективности в сдерживании роста этого фитопатогенного гриба.

Выводы. В результате проведенных исследований показана потенциальная перспективность использования штаммов бактерий *Bacillus* sp. BZR 1159, *Bacillus* sp. BZR 936, *B. thuringiensis* G3 в качестве продуцентов биопрепаратов для защиты плодовых культур от основных фитофагов и возбудителей болезней. Инсектицидная активность биоагентов в отношении природной популяции яблонной плодовой гнили на третьи сутки эксперимента составляла 34,1...56,8 %, на пятые сутки – 48,8...74,4 %. Наиболее эффективный штамм *Bacillus* sp. – BZR 1159 (62,5...95,5 %), который проявлял максимальную активность на гусеницах младших возрастов при концентрации суспензии 10^5 КОЕ/мл.

Антагонистическая активность перспективных штаммов бактерий в отношении экономически значимых болезней яблони, вызываемых грибами родов *Fusarium*, *Alternaria* *Trichothecium* варьировала от 0,0 до 84,8 %. У штамма *Bacillus* sp. BZR 936 выявлены полифункциональные свойства: инсектицидное действие в отношении большой восковой моли и яблонной плодовой гнили составляло 66,7...100 %, фунгицидное – в отношении фитопатогенов родов *Fusarium*, *Alternaria* *Trichothecium* варьировало в диапазоне 42,2...84,8 %.

15. Immuno-physiological adaptations confer wax moth *Galleria mellonella* resistance to *Bacillus thuringiensis* / I. M. Dubovskiy, E. V. Grizanov, M. M. Whitten, et al. // *Virulence*. 2016. Vol. 7. No. 8. P. 860–870. doi: 10.1080/21505594.2016.1164367.

References

1. Podgornaya ME, Prakh SV, Yurchenko EG, et al. [Patterns of the formation of phytosanitary-resistant horticultural entomocenoses in the region of southern Russia]. *Nauchnye trudy Severo-Kavkazskogo federal'nogo nauchnogo tsentra sadovodstva, vinogradarstva, vinodeliya*. 2022;34:151-7. Russian. doi: 10.30679/2587-9847-2022-34-151-157.
2. Yakuba GV, Mishchenko IG. [Distribution of fungi of the genus *Fusarium* on fruit crops in the south of Russia]. *Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii*. 2020;58:206-11. Russian. doi: 10.31676/2073-4948-2019-58-206-211.
3. Antonenko VV, Zubkov AV, Kruchina SN. [Alternariosis of pome crops]. *Izvestiya Timiryazevskoi sel'skokhozyaistvennoi akademii*. 2020;(3):70-80. Russian. doi: 10.26897/0021-342X-2020-3-70-80.
4. Wang B, Han Z, Gong D, et al. The pH signalling transcription factor PacC modulate growth, development, stress response and pathogenicity of *Trichothecium roseum*. *Environmental Microbiology*. 2022;24(3):1608-21. doi: 10.1111/1462-2920.15943.
5. Thakur N, Kaur S, Tomar P, et al. Microbial biopesticides: current status and advancement for sustainable agriculture and environment. In: *New and future development in microbial biotechnology and bioengineering*. [place unknown]: Elsevier; 2020. p. 243-82. doi: 10.1016/B978-0-12-820526-6.00016.
6. Rui L. Microbial biopesticides in agroecosystems. *Agronomy [Internet]*. 2018 [cited 2023 Jun 19];8(11): Article 235. Available from: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201900385892>. doi: 10.3390/agronomy8110235.
7. Fira D, Dimic I, Beric T, et al. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. *Journal of biotechnology*. 2018;285:44-55. doi: 10.1016/j.jbiotec.2018.07.044.
8. Maksimov IV, Singh BP, Cherepanova EA, et al. [Prospects for the use of lipopeptide-producing bacteria for plant protection (review)]. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2020;56(1):19-34. Russian. doi: 10.31857/S0555109920010134.
9. Glupov VV, editor. *Patogeny nasekomykh: strukturnye i funktsional'nye aspekty [Insect pathogens: Structural and functional aspects]*. Moscow: Kruglyi god; 2001. p. 352-427. Russian.
10. Dolzhenko VI, Laptiev AB, Burkova LA, et al. *Metodicheskie ukazaniya po registratsionnym ispytaniyam insektitsidov, akaritsidov, molluskotsidov i rodentsidov v sel'skom khozyaistve [Guidelines for registration testing of insecticides, acaricides, molluscicides and rodenticides in agriculture]*. Moscow: Rossiiskii nauchno-issledovatel'skii institut informatsii i tekhniko-ekonomicheskikh issledovaniy po inzhenerno-tekhnicheskemu obespecheniyu agropromyshlennogo kompleksa (Pravdinskii); 2019. p. 354-5. Russian.
11. Bavrina AP. [Modern rules for the use of parametric and non-parametric criteria in the statistical analysis of biomedical data]. *Meditinskii al'manakh*. 2021;(1):64-73. Russian.
12. Gyrnets EYu, Asaturova AM. [Screening of bacterial strains according to the criterion of entomopathogenic activity against *Galleria mellonella* L. and *Tenebrio molitor* L.]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2022;36(3):53-60. Russian. doi: 10.24411/0235-2451-2020-11108.
13. De Bortoli CP, Polanczyk RA, Crickmore N, et al. The investigation of factors potentially affecting the susceptibility of native *Plutella xylostella* populations to *Bacillus thuringiensis* cry toxins. *International Journal of Agriculture Innovations and Research [Internet]*. 2014 [cited 2023 Mar 14];3(3):823-32. Available from: https://www.ijair.org/administrator/components/com_jresearch/files/publications/IJAIR_1058_Final.pdf.
14. Andreeva IV, Shatalova EI, Kalmykova GV, et al. [Susceptibility of different species of Lepidoptera insects to the strain *Bacillus thuringiensis* ssp. *Aizawai*]. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki*. 2020;49(6):44-52. Russian. doi: 10.26898/0370-8799-2019-6-5.
15. Dubovskiy IM, Grizanov EV, Whitten MM, et al. Immuno-physiological adaptations confer wax moth *Galleria mellonella* resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Virulence*. 2016;7(8):860-70. doi: 10.1080/21505594.2016.1164367.

Требования к оформлению статей в журнале «Достижения науки и техники АПК»

В статье должно быть кратко изложено состояние дел по изучаемой проблеме со ссылками на публикации (желательно не менее трех ссылок). Затем указаны цели, задачи, условия и методы исследований. Подробно представлены результаты экспериментов и их анализ. Сделаны выводы и даны предложения производству. В статье следует по возможности выделять следующие блоки: введение; цель и задачи исследований; условия, материалы и методы исследований; результаты исследований; выводы.

Вместе со статьей должны быть представлены перевод названия на английский язык; аннотация (200-250 слов) на русском и английском языках; ключевые слова на русском и английском языках; полные почтовые адреса всех учреждений, в которых работают авторы, на русском и английском языке; ученые степени и должности авторов на русском и английском языке код УДК; библиографический список.

В тексте ссылка на источник отмечается соответствующей цифрой в квадратных скобках в порядке цитирования. В списке литературы приводятся только те источники, на которые есть ссылка в тексте. Использование цитат без указания источника информации запрещается.

Материал для подачи в журнал набирается в текстовом редакторе Word версия не ниже 97 файл с расширением *.rtf.

Объем публикации 12-16 стр. машинописного текста набранного шрифтом Times New Roman, размер кегля 14 с полуротным интервалом. На 2,5 страницы текста допускается не более 1 рисунка или таблицы.

Статьи необходимо направлять с сопроводительным письмом с указанием сведений об авторах (фамилия, имя, отчество – полностью, ученая степень, место работы и занимаемая должность) на русском и английском языке, контактных телефонов и адреса электронной почты для обратной связи.

На публикацию представляемых материалов необходимо письменное разрешение и рекомендация руководства организации, на средства которой проводились исследования. Его вместе с одним экземпляром рукописи, подписанным авторами, и статьей в электронном виде нужно отправлять по адресу: 101000, г. Москва, Моспочтамт, а/я 166, ООО «Редакция журнала «Достижения науки и техники АПК». Для ускорения выхода в свет материалы в электронном виде можно направлять по адресу: agroark@mail.ru.

Плата с аспирантов за публикацию рукописей не взимается.

Несоответствие статьи по одному из перечисленных пунктов может служить основанием для отказа в публикации.

Все рукописи, содержащие сведения о результатах научных исследований, рецензируются, по итогам рецензирования принимается решение о целесообразности опубликования материалов.