

ЕНТОМОПАТОГЕННІ БАКТЕРІЇ *BACILLUS THURINGIENSIS* – РЕГУЛЯТОР ЧИСЕЛЬНОСТІ НУТОВОГО МІНЕРА (*LIRIOMYZA CICERINA* RD.) В БІОЦЕНОЗІ

М.М. Лісовий¹, О.П. Таран¹, О.С. Дем'янюк²

¹ Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони, 13, Київ, 03041, Україна

² Інститут агроєкології і природокористування НААН,
вул. Метрологічна, 12, Київ, 03143, Україна
e-mail: lisova106@ukr.net

Мета. Визначити патогенність нового штаму *Bacillus thuringiensis* 0376 та порівняти його властивості з відомими штамами *B. thuringiensis* var. *kurstaki* 0293 і *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994 для біологічного регулювання чисельності нутового мінера. **Методи.** Польову вибірку, збір, аналіз та зберігання зразків природних популяцій комах проводили за загальноприйнятими методиками в ентомології, екології, мікробіології. Скринінг штамів-ентомопатогенів здійснювали в місцях масового розмноження та чисельності комах, де можливі спалахи спонтанних епізоотій, за оригінальними методиками. Мікробіологічні аналізи (отримання чистих культур, приготування послідовних розведень мікробних суспензій, культивування на рідких та агаризованих поживних середовищах та ін.) здійснювали загальноприйнятими методами. **Результати.** З трупів імаго зернової молі виділено бактерії штаму (0376), який за ознаками споро- і кристалоутворення віднесений до групи *B. thuringiensis*. На 10 добу досліду загибель личинок колорадського жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) при використанні штаму *B. thuringiensis* 0376 складала 100% (при загибелі у контролі – 2,3%). Перевірено ефективність отриманої рідкої спорової культури на личинках колорадського жука. Досліджено вплив бактеризації мікроорганізмами різної функціональної дії насіння і вегетативної маси на урожайність різних сортів нуту. Встановлено, що обробка рослин нуту бактеріями штаму *B. thuringiensis* 0376 дозволяє знизити їх ураженість мінуючим фітофагом *Liriomyza cicerina* Rd. на 44,4–71,2% і підвищити урожайність сортів в середньому на 0,9–6,2 ц/га порівняно до контролю. **Висновки:** Інсектицидна ефективність бактерій штаму *B. thuringiensis* 0376 проявлялась в кількості мін на рослину нуту (111,6–152,4) залежно від сорту, тоді як в контрольному варіанті ці показники становили 202,0–342,0 мін. Проведені дослідження свідчать про те, що новий штам *B. thuringiensis* 0376 проявляє суттєву біологічну ефективність щодо регуляції чисельності нутового мінера (*Liriomyza cicerina* Rd.).

Ключові слова: *Bacillus thuringiensis*, ентомотоксична дія, штам, препаративна форма, фітофаг, нут.

До основних шкідників сільськогосподарських культур відносять не більше 1 % видів загалом комах-фітофагів агроландшафтів, але під час хімічних обробок агроценозів під пестицидний прес підпадає майже вся ентомофауна, що призводить до збіднення агробіорізноманіття і подальшого зростання популяцій шкідливих організмів [9]. Гармонізація концепції інтегрованого захисту сільськогосподарських культур від шкідни-

ків із «Конвенцією про біорізноманіття» може базуватися на екологізації заходів контролю шкідливих видів комах-фітофагів, зокрема, підвищенні ефективності та широкому впровадженні біологічних методів захисту рослин. В умовах екологічної кризи, яка обумовлює погіршення здоров'я населення країни, надзвичайно актуальним є отримання екологічно безпечної продукції.

Відома велика група біологічних агентів, які здатні істотно впливати на динаміку чисельності різних видів шкідливих комах [1, 2]. Значний інтерес для біологічного контролю мають ентомопатогенні бактерії, що з кормом проникають до організму комах і викликають патологічні зміни і загибель особини [3]. Так, дія ентомопатогену *Bacillus thuringiensis* складається не тільки з антифідантного і летального ефектів, що проявляються на організмовому рівні, а також метатоксичного і епізоотичного ефектів на популяційному рівні [1, 4]. Водночас доведено відсутність негативного впливу спор, кристалічних комплексів та інших продуктів метаболізму штамів *B. thuringiensis* на хребетних (риб, птицю, ссавців, людину) [5].

У сучасних умовах найбільш екологічно виправданим і перспективним методом контролю чисельності комах-фітофагів бобових культур є застосування мікробних препаратів. Нут (*Cicer arietinum* L.) є перспективною продовольчою культурою. В останні роки набуває актуальності проблема ураження нуту нутовим мінером (*Liriomyza cicerina* Rd.), широко розповсюдженим на півдні України (рис.1).



Рис. 1 Ушкодження рослин нуту нутовим мінером (*Liriomyza cicerina* Rd.)

У зв'язку з цим метою досліджень був пошук ефективних штамів *B. thuringiensis* і розробка на їх основі біологічних препаратів для захисту нуту.

Матеріали і методи. Польову вибірку, збір, аналіз та зберігання зразків природних популяцій комах проводили за загальноприйнятими методиками в ентомології, екології, мікробіології [6, 7, 8]. Скринінг штамів-енто-

мопатогенів здійснювали в місцях масового розмноження та чисельності комах, де можливі спалахи спонтанних епізоотій, за оригінальними методиками [9]. Мікробіологічні аналізи (отримання чистих культур, приготування послідовних розведень мікробних суспензій, культивування на рідких та агаризованих поживних середовищах та ін.) здійснювали загальноприйнятими методами.

У роботі використано референтний екзотоксигенний штам *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994 із колекції корисних ґрунтових мікроорганізмів Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН (ІСГМАПВ НААН). Для ідентифікації нововиділеного штаму були використані штами з колекції ІСГМАПВ НААН – I серотипу: *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994, III серотипу: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* 0293.

Об'єктом досліджень були штами *B. thuringiensis* var. *kurstaki* 0293 – аналог штаму-основи біопрепарату Лепідоцид, *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994 – аналог штаму-основи біопрепарату Бітоксидацилін, новий штам *B. thuringiensis* 0376. У лабораторно-польових дослідах вивчали ефективність дії ентомопатогенних бактерій на нутового мінера (*Liriomyza cicerina* Rd.) та личинок колорадського жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say.).

Вивчення морфологічних ознак штаму та ідентифікацію проводили згідно Лескової А.Я. та ін. [6]. Первинне визначення патогенності нового штаму *B. thuringiensis* 0376 досліджували в лабораторних дослідах на личинках колорадського жука молодшого віку. Пагони нуту обробляли методом обприскування суспензією з титром спор 2×10^8 в 1 мл. Об'єм витраченої суспензії складав 5 мл на повторення. Ефективність визначали протягом 10 діб.

Досліди проводили на рослинах нуту наступних сортів: Пам'ять, Буджак, Розанна, Тріумф і Антей. Рослини нуту обробляли одноразово по вегетації робочими суспензіями штамів бактерій з титром 400 млн спор/мл. Контрольний варіант обробляли водою. Збір і зберігання хворих і мертвих комах проводили за загальноприйнятою методикою [10].

Облік заселеності рослин нутовим мінером проводили перед обробкою, а також після обробки на 5, 10, 15 і 20 добу за методикою [11].

Польовий дрібноділянковий дослід проводили на чорноземі південному у восьми повтореннях, по 16 облікових рослин в кожному, площа одного повторення – 3,35 м².

Польовий дослід з захисту рослин нуту від нутового мінера проводили на ділянці ІСГМ НААН, ґрунт – чорнозем південний, у восьми повтореннях, площа ділянки – 135 м².

Обробку ентомопатогенними штамми проводили по вегетуючих рослинах нуту в період масового розвитку фітофага одноразово робочими розчинами з титром 400 млн спор/мл. Контрольний варіант обробляли водою. Облік кількості мін на листках рослин проводили перед обробкою та на 5, 10, 15 і 20 добу після обробки [10].

Для бактеризації насіння нуту використовували наступні біопрепарати: Ризобофіт, Фосфоентерин, Біополіцид, Поліміксобактерин, Альбобактерин (оригінатор ІСГМ АПВ НААН, Україна). Урожай збирали вручну в

снопи, які підсушували і обмолочували на сноповій молотарці. Отриману масу зерна перераховували на 1 га [5]. Статистична обробка отриманих результатів проводилася методами описовим (варіаційним), дисперсійного аналізу на персональному комп'ютері з використанням програм MS Excel 10.0 та STATISTICA.

Результати. Із загиблих імаго і личинок картопляної молі, зібраних в агроценозах картоплі півдня України, було виділено 24 ізоляти мікроорганізмів, серед яких один за первинними ознаками споро- та кристалоутворення був віднесений до бактерій групи *B. thuringiensis* та зареєстрований за номером 0376.

Результати первинного визначення патогенності нового штаму *B. thuringiensis* 0376 наведено в табл. 1. Встановлено, що загибель личинок колорадського жука складала 100% на 10-ту добу дослідів у порівнянні до еталонного штаму *B. thuringiensis* 994 – 98% та контролю – 2%.

Таблиця 1

Ефективність бактерій штаму *B. thuringiensis* 0376 проти личинок колорадського жука (лабораторний дослід, L_{1,2})

Варіанти дослідів	Загибель личинок на... добу, %			
	3	5	7	10
Контроль (вода)	0,0	0,0	2,3±0,1	2,3±0,1
<i>B. thuringiensis</i> 994 (еталон)	10,7±0,3	69,7±0,1	91,7±0,1	98,3±0,3
<i>B. thuringiensis</i> 0376	20,0±0,3	76,7±0,7	95,0±1,0	100

На нуті сортів Пам'ять, Буджак, Розанна, Триумф і Антей було проведено одноразову обробку рослин по вегетації ентомопатогенними штамами *B. thuringiensis*. Показано, що всі досліджені штами зменшували ураженість рослин фітофагом. На початку дослідів кількість мін за варіантами на сортах Антей, Пам'ять і Розанна істотно не відрізнялась. Так, на рослинах нуту сорту Пам'ять кількість мін складала 115–136 шт./рослину, на сорті Антей – 92–118 шт./рослину, на сорті Розанна 85–119 шт./на рослину (табл. 2).

На рослинах нуту сорту Пам'ять кількість мін у контролі склала 136 шт./рослину, потім збільшувалась до 232, 271, 298 і 342 шт./рослину на 5, 10, 15 і 20 добу обліку відповідно. Дія бактерій нового штаму *B. thuringiensis* 0376 була найбільш ефективною – на 5 добу обліку кількість мін складала 123 шт./рослину, що було на рівні початку дослідів – 115 шт./рослину. На 10 добу обліку кількість мін збільшувалась до 142 шт., на 15 добу становила 149 шт., на 20 добу – 152 шт./рослину. Кількість мін на 20 добу дослідів у варіантах зі штамами *B. thuringiensis* 0293 і 994 складала 195 і 186 шт./рослину відповідно. Необхідно відмітити, що кількість мін на протязі експерименту (з 5 до 20 доби обліку) у варіантах із всіма штамами істотно відрізнялась від їх кількості у контролі. В цей же час істотна різниця між референтними штамами і новим штамом *B. thuringiensis* 0376 була зареєстрована на 15 і на 20 добу дослідів (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив обробки ентомопатогенними штамами *Bacillus thuringiensis* на кількість мін нутового мінерала (*Liriomyza cicerina* Rd.) на різних сортах нуту (польовий дослід)

Варіант досліджу	Кількість мін за добою обліку, шт./рослину,				
	До обробки	5 доба	10 доба	15 доба	20 доба
Антей					
Контроль	118,6±22,7	179,6±17,8	211,6±18,6	238,4±21,5	258,4±21,5
<i>B. thuringiensis</i> 0293	91,8±23,2	118,2±19,6	136,4±20,4	146,8±20,6	154,8±19,8
<i>B. thuringiensis</i> 994	94,0±2,6	99,4±3,6	132,6±7,3	142,0±7,0	145,6±7,1
<i>B. thuringiensis</i> 0376	94,4±4,3	95,0±4,7	109,8±5,0	117,2±4,8	119,2±4,8
Буджак					
Контроль	96,4±5,8	151,8±6,9	188,0±11,5	219,4±13,1	263,8±22,7
<i>B. thuringiensis</i> 0293	106,2±9,0	125,2±8,5	145,0±9,1	156,2±10,7	175,2±13,6
<i>B. thuringiensis</i> 994	119,4±13,0	126,4±13,5	149,6±16,2	156,6±16,2	164,0±16,5
<i>B. thuringiensis</i> 0376	96,6±6,6	99,8±7,0	123,4±8,7	135,4±9,1	138,8±9,3
Пам'ять					
Контроль	135,6±14,1	232,2±26,1	271,2±30,7	298,0±34,0	342,0±39,2
<i>B. thuringiensis</i> 0293	136,0±17,0	149,0±17,5	174,6±18,8	183,4±19,5	194,8±21,6
<i>B. thuringiensis</i> 994	134,4±12,8	139,2±12,8	162,8±12,3	179,8±12,9	186,2±13,0
<i>B. thuringiensis</i> 0376	114,6±13,6	123,40±8,9	141,8±11,0	149,0±10,4	152,4±10,8
Розанна					
Контроль	104,8±17,1	141,6±18,8	172,8±26,0	201,2±29,7	231,0±31,5
<i>B. thuringiensis</i> 0293	118,8±17,5	130,0±18,3	147,4±18,9	160,0±21,4	173,2±22,1
<i>B. thuringiensis</i> 994	97,6±7,9	105,4±8,1	126,2±10,5	137,6±10,0	144,0±10,7
<i>B. thuringiensis</i> 0376	85,2±23,4	88,8±24,0	102,8±25,5	108,2±25,9	111,6±25,8
Тріумф					
Контроль	78,8±15,1	115,2±22,2	143,2±20,2	170,8±19,2	202,0±18,8
<i>B. thuringiensis</i> 0293	132,6±17,8	144,6±18,2	169,4±19,8	182,2±20,7	193,6±19,2
<i>B. thuringiensis</i> 994	134,0±15,8	143,2±17,3	171,4±17,6	183,4±17,2	210,6±19,7
<i>B. thuringiensis</i> 0376	113,6±4,6	118,8±5,2	133,6±5,9	141,4±8,2	144,4±8,2

Використання ентомопатогенних штамів дозволило підвищити урожайність нуту сорту Пам'ять у контрольному варіанті: при використанні бактерій штаму *B. thuringiensis* 994 – на 2 ц/га, штаму *B. thuringiensis* 0376 – на 4,5 ц/га. Оскільки перед посівом насіння нуту обов'язково обробляється препаратами бульбочкових бактерій і мікробними препаратами іншої функціональної дії, досліджено вплив захисної обробки в цих варіантах. Максимальне підвищення урожаю від використання бактерій штамів *B. thuringiensis* 994 і 0376 отримане у варіанті з обробкою насіння Ризобіфітом + Фосфоентерин + Біополіцид – по 12,5 ц/га (у контролі – 10,0 ц/га) (табл. 3).

Для рослин нуту сорту Антей кількість мін у варіанті з використанням бактерій штаму *B. thuringiensis* 0376 на 5 і 10 добу обліку були на рівні початку досліджу – 95–109 шт./рослину, в порівнянні з контрольним варіантом, де кількість мін зростає з 119 шт./рослину до 180, 212 і 238 шт./рослину, на 5, 10 і 15 добу обліку.

На 20 добу досліджень кількість мін у контролі складала 258 шт./рослину, у варіанті зі штамом *B. thuringiensis* 0293 – 115 шт., у варіанті зі штамом *B. thuringiensis* 994 – 146 шт., зі штамом *B. thuringiensis* 0376 – 119 шт./рослину (табл. 2).

Таблиця 3

Вплив бактеризації мікроорганізмами різної функціональної дії насіння і вегетативної маси на урожайність нуту сорту Пам'ять, ц/га (польовий дослід)

Передпосівна обробка (фактор А)	Обробка по вегетації (фактор В)			
	контроль (вода)	штами <i>B. thuringiensis</i>		
		0293	994	0376
Контроль (вода)	10,0	10,0	12,0	14,5
Штам <i>Mesorhizobium ciceri</i> 065 (R) (<i>M. ciceri</i> 065 (R))	6,5	8,0	9,0	12,5
R+Фосфоентерин+Біополіцид	10,0	9,0	12,5	12,5
R+Поліміксобактерин+Біополіцид	9,5	7,1	11,5	11,8
R+Альбобактерин+Біополіцид	9,0	8,5	12,5	12,5
НІР ₀₅	1,83	1,50		

НІР₀₅ по фактору А – 1,83

$r_{(A)} = 0,37$

НІР₀₅ по фактору В – 1,50

$r_{(B)} = 0,72$

НІР₀₅ по факторам АВ – 3,66 $r_{(AB)} = 0,29$

На рослинах нуту сорту Антей використання ентомопатогенних штамів дозволило підвищити урожайність у контрольному варіанті: при використанні бактерій штаму *B. thuringiensis* 0293 – на 3,5 ц/га, штаму *B. thuringiensis* 994 – на 4,5 ц/га, штаму *B. thuringiensis* 0376 – на 4,0 ц/га в порівнянні з контролем без обробки, де урожайність складала 6,0 ц/га. При використанні комплексної передпосівної обробки насіння найкращі прибавки урожаю отримані у варіантах з обробкою насіння Ризобофітом + Фосфоентерин + Біополіцид і Ризобофіт + Альбобактерин + Біополіцид від бактерій штаму *B. thuringiensis* 0376 – 1,5 і 9,5 ц/га відповідно в порівнянні до контролю без обробки, де урожайність була 14,0 і 12,0 ц/га (табл. 4).

Таблиця 4

Вплив бактеризації мікроорганізмами різної функціональної дії насіння і вегетативної маси на урожайність нуту сорту Антей, ц/га (польовий дослід)

Передпосівна обробка (фактор А)	Обробка по вегетації (фактор В)			
	контроль (вода)	штами <i>B. thuringiensis</i>		
		0293	994	0376
Контроль (вода)	6,0	9,5	10,5	10,0
Штам <i>M. ciceri</i> 065 (R)	8,0	12,5	13,0	11,5
R+Фосфоентерин+Біополіцид	14,0	14,5	12,0	15,5
R+Поліміксобактерин+Біополіцид	12,0	13,0	10,0	11,0
R+Альбобактерин+Біополіцид	12,0	13,5	13,0	21,5
НІР ₀₅	2,30	1,87		

НІР₀₅ по фактору А – 2,30

$r_{(A)} = 0,36$

НІР₀₅ по фактору В – 1,87

$r_{(B)} = 0,62$

НІР₀₅ по факторам АВ - 4,59 $r_{(AB)} = 0,53$

Чисельність мін на рослинах нуту сорту Буджак істотно знижувалась у всіх варіантах з обробкою бактеріями штамів *B. thuringiensis* з п'ятої до двадцятої доби досліді. На двадцяту добу кількість мін знижувалась у ва-

ріанті із штамом *B. thuringiensis* 0293 – на 33%, із штамом *B. thuringiensis* 994 – на 38%, із штамом *B. thuringiensis* 0376 – на 47% в порівнянні з контролем без обробки, де кількість мін становила 264 шт./рослину (табл. 2). Так, від використання бактерій штаму *B. thuringiensis* 994 урожайність зростала у контрольному варіанті (без обробки насіння) на 1,0 ц/га, при використанні штаму *B. thuringiensis* 0376 – на 6 ц/га порівняно з варіантом без обробки ентомопатогенними штамми, де урожайність складала 8,0 ц/га (табл. 5).

Найкраща прибавка від обробки бактеріями штамів *B. thuringiensis* 0293, 994 і 0376 спостерігалась у варіанті з передпосівною обробкою Ризобіофітом – 4,0 ц/га, 6,0 ц/га і 8,0 ц/га відповідно, у варіанті без обробки цими штамми урожай зерна нуту становив 12,0 ц/га (табл. 5).

Таблиця 5

Вплив бактеризації мікроорганізмами різної функціональної дії насіння і вегетативної маси на урожайність нуту сорту Буджак, ц/га (польовий дослід)

Передпосівна обробка (фактор А)	Обробка по вегетації (фактор В)			
	контроль (вода)	штами <i>B. thuringiensis</i>		
		0293	994	0376
Контроль (вода)	8,0	8,0	9,0	14,0
Штам <i>M. ciceri</i> 065 (R)	12,0	16,0	18,0	20,0
R+Фосфоентерин+Біополіцид	13,5	14,5	13,0	16,0
R+Поліміксобактерин+Біополіцид	7,5	13,5	11,5	16,5
R+Альобактери+Біополіцид	8,5	12,0	11,0	13,1
НІР ₀₅	1,78	1,45		

НІР₀₅ по фактору А – 1,78

$r_{(A)} = 0,59$

НІР₀₅ по фактору В – 1,45

$r_{(B)} = 0,67$

НІР₀₅ по факторам АВ – 3,56 $r_{(AB)} = 0,33$

Чисельність мін на рослинах нуту сорту Розанна істотно знижувалась у всіх варіантах з обробкою бактеріями штамів *B. thuringiensis* 994 і 0376 з п'ятої до двадцятої доби досліді, у варіанті з використанням штаму *B. thuringiensis* 0293 – на двадцяту добу. На двадцяту добу кількість мін була значно нижче за контроль (231,0 шт./рослину) у варіанті з штамом *B. thuringiensis* 0293 – на 25%, з штамом *B. thuringiensis* 994 – на 38%, з штамом *B. thuringiensis* 0376 – на 52% (табл. 2). Урожайність на рослинах цього сорту була найнижчою і у контролі складала 4,5 ц/га. При використанні бактерій штаму *B. thuringiensis* 994 урожайність підвищилась на 3,5 ц/га, при використанні штаму *B. thuringiensis* 0376 – на 4,5 ц/га (табл. 6). Істотна прибавка від обробки бактеріями штаму *B. thuringiensis* 0376 на фоні передпосівної обробки насіння спостерігалась у варіантах з інокуляцією сумішшю Ризобіофіт + Фосфоентерин + Біополіцид – 3,5 ц/га і сумішшю Ризобіофіт + Поліміксобактерин + Біополіцид – 3,0 ц/га (табл. 6).

Чисельність мін на рослинах нуту сорту Тріумф на початку досліді у варіантах з обробкою бактеріями штамів *B. thuringiensis* була істотно вищою за контроль. Впродовж досліді кількість мін у варіантах з штамми *B. thuringiensis* 0293 і 994 була на рівні контрольного варіанту. При використанні бактерій штаму *B. thuringiensis* 0376 кількість мін істотно зменшувалась на п'ятнадцяту – двадцяту добу досліді – на 17 і 28% від-

Таблиця 6

Вплив бактеризації мікроорганізмами різної функціональної дії насіння і вегетативної маси на урожайність нуту сорту Розанна, ц/га

Передпосівна обробка (фактор А)	Обробка по вегетації (фактор В)			
	контроль (вода)	штами <i>B. thuringiensis</i>		
		0293	994	0376
Контроль (вода)	4,5	6,5	7,5	9,0
Штам <i>M. ciceri</i> 065 (R)	7,0	6,0	6,5	9,0
R+Фосфоентерин+Біополіцид	5,5	5,0	6,5	9,0
R+Поліміксобактерин+Біополіцид	7,0	5,5	7,0	10,0
R+Альбобактерин+Біополіцид	7,0	6,5	6,0	7,0
НІР ₀₅	1,40	1,14		

НІР₀₅ по фактору А – 1,40

$r_{(A)} = 0,19$

НІР₀₅ по фактору В – 1,14

$r_{(B)} = 0,67$

НІР₀₅ по факторам АВ – 2,80 $r_{(AB)} = 0,44$

повідно (табл. 2). На двадцять добу досліду відмічено, що кількість мін у контрольному варіанті цього сорту була нижчою в порівнянні з іншими сортами, урожайність була на середньому рівні і у контролі складала 6,5 ц/га. При використанні бактерій штаму *B. thuringiensis* 0293 урожайність зростала у контрольному варіанті (без обробки насіння) на 2,0 ц/га, при використанні штаму *B. thuringiensis* 994 – на 7,5 ц/га, при використанні штаму *B. thuringiensis* 0376 – на 9,0 ц/га (табл. 7). Прибавка за варіантами досліду з передпосівною інокуляцією Ризобофітом і сумішню препаратів від обробки бактеріями штамів *B. thuringiensis* 994 і 0376 спостерігалась приблизно на однаковому рівні і перевищувала за урожайністю відповідні варіанти без обробки вдвічі (табл. 7).

Таблиця 7

Вплив бактеризації мікроорганізмами різної функціональної дії насіння і вегетативної маси на урожайність нуту сорту Тріумф, ц/га

Передпосівна обробка (фактор А)	Обробка по вегетації (фактор В)			
	контроль (вода)	штами <i>B. thuringiensis</i>		
		0293	994	0376
Контроль (вода)	6,5	8,5	14,0	15,5
Штам <i>M. ciceri</i> 065 (R)	11,0	11,5	18,5	19,0
R+Фосфоентерин+Біополіцид	9,0	11,0	19,5	18,0
R+Поліміксобактерин+Біополіцид	10,0	13,5	18,0	17,5
R+Альбобактерин+Біополіцид	4,5	10,0	11,0	11,0
НІР ₀₅	1,69	1,38		

НІР₀₅ по фактору А – 1,69

$r_{(A)} = 0,52$

НІР₀₅ по фактору В – 1,38

$r_{(B)} = 0,77$

НІР₀₅ по факторам АВ – 3,39 $r_{(AB)} = 0,25$

В результаті проведених досліджень встановлено, що обробка рослин нуту сортів Антей, Буджак, Пам'ять, Розанна, Тріумф бактеріями штамів *B. thuringiensis* 0376 дозволяє знизити їх ураженість мінуючим фітофагом *Liriomyza cicerina* Rd. і підвищити урожайність на 66,7%, 75,0%, 45,0%, 100,0%, 138,5% відповідно в порівнянні до контролю (табл. 3-7).

Таким чином, отримані експериментальні дані свідчать про доцільність застосування бактерій штамів *B. thuringiensis* для захисту рослин

проти *Liriomyza cicerina*. Для контролю чисельності та попередження шкідливої діяльності фітофагів прийнятні терміни, протягом яких вони не встигають нанести рослинам істотної шкоди, в які доцільне застосування біопрепаратів на основі штамів *B. thuringiensis* 0376. Щоб отримати належний фітозахисний ефект від застосування біопрепарату, потрібно знати основні біологічні особливості шкідників, проти яких буде застосований препарат, його характер дії на фази розвитку комахи та терміни, найбільш оптимальні для застосування.

Дослідженнями показано, що обробка рослин препаративними формами на основі ентомопатогенних бактерій *B. thuringiensis* проти фітофага *Liriomyza cicerina* Rd. на фоні комплексного застосування біопрепаратів різної функціональної дії активно сприяла збільшенню урожайності нуту в середньому за сортами: Антей – на 2,2 ц/га (21%), Буджак – 3,8 ц/га (38,4%), Пам'ять – на 1,9 ц/га (21,1%), Розанна – на 0,9 ц/га (14,5%), Триумф – на 6,2 ц/га (75,6%).

Обговорення. Як зазначалося вище, надійною гарантією екологічної безпеки може бути застосування біологічних засобів в інтегрованих системах захисту рослин, зокрема, використання біопрепаратів на основі ентомопатогенних бактерій – природних паразитів шкідливих комах [2, 5].

B. thuringiensis є факультативною грам-позитивною бактерією, що характеризується утворенням ендоспор. Підвиди *B. thuringiensis* продукують більше одного параспорального включення. Генетично *B. thuringiensis* близька до *B. cereus*, виключаючи здатність *B. thuringiensis* продукувати параспоральні кристалічні включення, які мають токсичність до безхребетних, особливо до видів комах рядів Coleoptera, Diptera і Lepidoptera. Параспоральні включення формуються різноманітними інсектицидними кристалічними протеїнами (ІКП). Кристали можуть мати форму біпірамідальну, кубовидну, ромбовидну, сферичну або складену з двох типів кристалів, залежних від композиції кристалічних протеїнів. Було встановлено кореляцію між морфологією, композицією інсектицидних кристалічних протеїнів і біологічною активністю проти комах. Гени, що кодують ІКП, знаходяться у плазмідах. Кожен ІКП кодується одним геном. Більшість плазмід і ІКП передаються при кон'югації між штамми *B. thuringiensis* і можуть передаватися до споріднених видів бактерій.

Ми проаналізували 15 ознак штамів *B. thuringiensis*. Отримані результати були використані для кластерного аналізу. Оскільки ознаки, за якими штамми не відрізняються один від одного, не вносять до матриці, останню було побудовано за 7 ознаками (ферментація сахарози і маннози, ферментація ескуліна, лецитіназна, протеолітична, амілолітична та уреазна активність). Кластерний аналіз показав високий рівень подібності (S) штамів *B. thuringiensis* I серотипу і 0376.

Тестування *B. thuringiensis* на багатьох видах хребетних тварин (риб, птиць, ссавців та на людині) показало відсутність негативного впливу спор, кристалічних комплексів та інших продуктів метаболізму. Бактерії *B. thuringiensis* мають високу специфічність дії до комах та деяких представників артропод [4].

Доведено патогенність *Bacillus thuringiensis* для широкого спектру комах-фітофагів: личинок колорадського жука на пасльонових культурах; гусеницях капустиної совки, капустиної молі, хрестоцвітих блішок, капустиної попелиці на овочевих культурах, листогризухих фітофагів сої; плодової молі, білянок, американського білого метелика, листокрутки, шовкопрядів, п'ядунів на плодкових культурах; павутинних кліщів на огірках в закритому ґрунті, гусениці лучного метелика на буряку, моркві, капусті, соняшнику і на багаторічних травах; гусениці листокрутки на виноградниках та багатьох інших фітофагів [3].

Патогенна дія *Bacillus thuringiensis* на комах пов'язана з токсинами і іншими метаболітами, які вони продукують. Бактерії утворюють термолабільний білковий ендотоксин, термостабільний екзотоксин, термолабільні ферменти типу лецитинази і протеази і продукують антибіотик типу пеніциліну [3]. Кристалічні білки (δ -ендотоксини) вважаються головними токсикологічними міокомпонентами біоінсектицидів. Серед інших токсинів найбільш істотний вплив спричиняють: термолабільний водорозчинний *b* - екзотоксин нуклеотидного походження, який виділяється у навколишнє середовище, *a* - екзотоксин – фермент бактерії, що росте, а саме фосфоліпаза *C*, *g* - екзотоксин - неідентифікована фосфоліпаза, а також VIP – токсини (білки, що декретуються під час фази вегетативного росту клітин *Bacillus thuringiensis*). Зараз досконало вивчені лише *d* і *b* -токсини, про *a*- і *g*- токсини відомо небагато [11].

Отже, вид *B. thuringiensis* за характером проникнення і первісного ураження комах відноситься до патогенів кишкової дії. При попаданні в кишечник комахи і маючи систему хітинолітичних ферментів, ентомопатоген руйнує мембрани і епітелій кишечника, проникає у гемолімфу, визиваючи септицемію. Основне місце локалізації – середній відділ кишечника. В ньому протоксин розчиняється на ентомоцидні фрагменти, склад яких залежить від набору ферментів у кишечковому соці комахи і неоднаковий у різних видів. Від моменту розпаду кристалу протоксину, виділення токсичних компонентів, їх дії на мембрану і клітини епітелію і починається патологічний процес. В першу чергу уражуються стовбурові клітини. Зміни у клітинних мембранах реєструються вже через 15 хвилин після початку інтоксикації. Через 2-3 години у стінках клітин утворюються тріщини, клітини зморщуються і не розриваються. В інкубаційний період комахи стають в'ялими, малорухомими, перестають харчуватись, відбувається рвота, пронос, затримується ріст і розвиток. Комахи, які отримали летальну дозу патогена, гинуть через 2-15 діб в залежності від величини дози і сприйнятливості особини.

ЭНТОМОПАТОГЕННЫЕ БАКТЕРИИ *BACILLUS THURINGIENSIS* – РЕГУЛЯТОР ЧИСЛЕННОСТИ НУТОВОГО МИНЁРА (*LIRIOMYZA CICERINA* RD.) В БИОЦЕНОЗЕ

Н.М. Лесовой¹, О.П. Таран¹, Е.С. Демянюк²

¹Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
ул. Героев Оборонь, 13, Киев, 03041, Украина

²Институт агроэкологии и природопользования НААН,
ул. Метрологическая, 12, Киев, 03143, Украина

Резюме

Цель. Определить патогенность бактерий нового штамма *Bacillus thuringiensis* 0376 и сравнить его свойства с известными штаммами *B. thuringiensis* var. *kurstaki* 0293 и *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994 для биологической регуляции численности нутового минёра. **Методы.** Полевые учёты, сбор, анализ и хранение образцов природных популяций насекомых проводили согласно общепринятым методикам в энтомологии, экологии, микробиологии. Скрининг штаммов-энтомопатогенов осуществляли в местах массового размножения и численности насекомых, где возможны вспышки спонтанных эпизоотий, оригинальными методиками. Микробиологические анализы (получение чистых культур, приготовление последовательных разведений микробных суспензий, культивирование на жидких и агаризованных питательных средах и др.) осуществляли при помощи общепринятых методов. **Результаты.** Из трупов имаго зерновой моли выделены бактерии штамма (0376), который по признакам споро- и кристаллообразования относится к группе *Bacillus thuringiensis*. На 10 сутки опыта гибель личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) при использовании бактерий штамма *B. thuringiensis* 0376 составляла 100% (при гибели в контроле – 2,3%). Проверена эффективность полученной жидкой споровой культуры на личинках колорадского жука. Изучено влияние бактеризации микроорганизмами разного функционального действия семян и вегетативной массы на урожайность различных сортов нута. Определено, что обработка растений нута бактериями штамма *B. thuringiensis* 0376 способствует снижению пораженности минирующим фитофагом *Liriomyza cicerina* Rd. на 44,4–71,2% и повышению урожайности сортов в среднем на 0,9–6,2 ц/га по отношению к контролю. **Выводы.** Инсектицидная эффективность бактерий штамма *B. thuringiensis* 0376 проявлялась в количестве мин на растение нута (111,6–152,4) в зависимости от сорта, тогда как в контрольном варианте эти показатели составили 202,0–342,0 мин. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что новый штамм *B. thuringiensis* 0376 проявляет существенную биологическую эффективность в отношении регуляции численности нутового минера (*Liriomyza cicerina* Rd.)

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*, энтомотоксическое действие, штамм, пре-паративная форма, фитофаг, нут.

THE ENTOMOPATHOGENIC BACTERIA *BACILLUS THURINGIENSIS* –REGULATOR OF CHICKPEA LEAF MINER (*LIRIOMYZA CICERINA* RD.) IN THE BIOCENOSES

Mykola Lisovyy¹, Oksana Taran¹, Olena Demyanyuk²

¹ National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
13 Heroyiv Oborony Str., Kyiv, 03041, Ukraine

²Institute of Agroecology and Enviromental Management, NAS of Ukraine,
12 Metrologichna Str., Kyiv, 03143, Ukraine

Summary

Objective. To determine the pathogenicity of a new strain of bacteria *Bacillus thuringiensis* 0376 and to compare its properties with known strains of *B. thuringiensis* var. *kurstaki* 0293 and *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994 for the biological control of chickpea miners population. **Methods.** Field surveys, collection, analysis and storage of samples of natural populations of insects have been carried out using generally accepted entomological, ecological and microbiological methods. Screening of entomopathogenic strains has been carried out using original methods in places of mass reproduction and inhabitation of insects, where outbreaks of spontaneous epizootics were possible. Microbiological analyzes (production of pure cultures, preparation of successive dilutions of microbial suspensions, cultivation on liquid and nutrient agar media, etc.) have been carried out using conventional methods. **Results.** Bacterial strain (0376), which has been isolated from the corpses of grain moth imago, due to spore and crystal formation features belongs to the *Bacillus thuringiensis* group. On the 10th day of the experiment, the death rate of the Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) larvae was 100% while using the bacteria of *B. thuringiensis* 0376 strain (with the death rate in control samples – 2.3%). Effectiveness of obtained liquid spore culture on the Colorado potato beetle larvae has been verified. The effect of microorganismal bacterization of different functional actions of seeds and vegetative mass on the yield of different types of chickpea has been studied. It was determined that the chickpea plants treatment with *B. thuringiensis* 0376 strain bacteria aided to reduce contamination rates by phytophages *Liriomyza cicerina* Rd. by 44.4-71.2% and to increase the yield of varieties on average by 0.9-6.2 q / ha, in comparison to the control. **Conclusions:** The insecticidal potency of *B. thuringiensis* strain 0376 has been shown in the number of mines per chickpea plant (111.6-152.4), depending on the variety, whereas in the control variant these numbers were 202.0-342.0 mines per plant. Studies have shown that a new strain of *B. thuringiensis* 0376 demonstrates significant biological efficiency of chickpea miners (*Liriomyza cicerina* Rd.) population control.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, entomotoxic action, strain, preparation form, phytophage, chickpea.

1. Burtseva LI. [Methods of isolation and biotesting of entomopathogenic bacteria. Insect Pathogens: Structural and Functional Aspects], Ed. VV Stupid - Moscow: all year round; 2001. Russian.
2. Vyhera SM. [Environmental control of cultural phytocoenoses] - K.: CP “Komprint”; 2015. Ukrainian.
3. Hlupov VV. [Insect Pathogens: Structural and Functional Aspects]. Moscow: all year round; 2001. Russian.

4. Gorbachev IV, Grishchenko VV, Zakhvatkin YUA. [Protection of plants from pests]. Ed. VV Isachev. Moscow: Kolos; 2002. Russian.
5. [Plant protection guide]. Ed. M.P. Lisovyy. – C.: Harvest; 1999. Ukrainian.
6. Dyatlova KD. [Microbial preparations in plant growing] Sorovsky educational Z. 2001; 14:17-22. Russian.
7. Kandybin NV, Patyka TI, Yermolova VP, Patyka VF. [Microbiocontrol of the number of insects and its dominant *Bacillus thuringiensis*]. Ed. NV Kandybin. St. Petersburg – Pushkin: Innovative Center for Plant Protection; 2009. Russian.
8. Leskova A. YA. [Methodological guidelines for the identification of *B. thuringiensis* cultures and estimates of their pathogenic properties]. – Leningrad; 1984. Russian.
9. Lisovyy MM. [Entomological diversity and its ecological and economic significance] Agroecol Z. 2007; 4:18-24. Ukrainian.
10. Patyka TI, Patyka VF. [Theoretical foundations for the effective use of *Bacillus thuringiensis* for phytoprotection against insect pests]. In: Patyka VF, editor. Zb. sciences. ave. Umansky state agrarian university; - 2008. p. 258-262. Ukrainian.
11. Patyka TI, Patyka VF. [Ecology of *Bacillus thuringiensis*]. – K. Publishing house of the PDAA; 2007. Ukrainian.
12. Zeddani JL, Vasquez Soberon RM, Vargas Ramos Z, Lagnaoui A. [Producciyn viral y tasas de aplicaciyn del granulovirus usado para el control biolygico de las polillas de la papa *Phthorimaea operculella* (*Tecia solanivora*) (Lepidoptera: Gelechiidae)] Bol. Sanidad Vegetal Plagas. 2003; 29:659-667. Italian.

Отримано 21.03.2017