

АНТАГОНІСТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ *BACILLUS THURINGIENSIS* ПРОТИ НУТОВОГО МІНЕРА (*LIRIOMIZA CICERINA* RD.)

М.М. ЛІСОВИЙ,

доктор сільськогосподарських наук, професор

<https://orcid.org/0000-0002-7289-1098>

В.М. ЧАЙКА,

доктор сільськогосподарських наук, професор

<https://orcid.org/0000-0003-4324-5529>

Національний університет біоресурсів та природокористування України

E-mail: lisova106@ukr.net

Анотація. Ззагиблих особин імаго зернової молі виділено штам бактерій (0376), який за ознаками споро- і кристалоутворення віднесений до групи *B. thuringiensis*. На 10 добу досліджу загинув 100% личинок колорадського жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) при використанні штаму *B. thuringiensis* 0376 (при загибелі у контролі 2,3%). Показано доцільність культивування штаму *B. thuringiensis* 0376 в об'ємі поживного середовища 600 мл. Перевірено ефективність отриманої рідкої спорової культури на личинках колорадського жука. Показано інсектицидну ефективність штаму *B. thuringiensis* 0376, яка проявлялась у зменшенні кількості мін нуттового мінера (*Liriomiza cicerina* Rd.) на рослинах нуту – 111,6-152,4 мін/рослину, залежно від сорту, тоді як в контрольному варіанті ці показники становили 202,0-342,0 мін/рослину. Проведені дослідження свідчать, що новий штам *B. thuringiensis* 0376 проявляє високу біологічну ефективність щодо регуляції чисельності нуттового мінера.

Ключові слова: *Bacillus thuringiensis*, штам, біологічна ефективність, *Liriomiza cicerina* Rd., нут.

Вступ.

На сьогодні відома велика група біологічних агентів, які здатні регулювати чисельність різних видів шкідливих комах [1, 2]. Значний інтерес для біологічного контролю мають ентомопатогенні бактерії, які з кормом проникають до організму

комахи і спричиняють патологічні зміни і загибель особини [3]. Так, дія ентомопатогену *Bacillus thuringiensis* складається не тільки з антифідантного і летального ефектів, що проявляються на рівні організму, 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 застосування мікробних препаратів вважається найбільш екологічно виправданим і перспективним методом контролю чисельності комах-фітофагів бобових культур. Нут (*Cicer arietinum* L.) є перспективною продовольчою культурою. В останні роки в Україні набуває актуальності проблема ураження нуту нутовим мінером (*Liriomiza cicerina* Rd.), який широко розповсюджений на півдні країни.

Мета роботи – виділити та дослідити ефективні штами *B. thuringiensis* для створення біологічних препаратів захисту нуту.

Матеріали і методи дослідження.

Збір, аналіз та зберігання комах природних популяцій проводили за загальноприйнятими методиками [6, 7, 9]. Скринінг штамів-ентомопатогенів здійснювали в місцях масового розмноження та високої чисельності комах, де можливі спалахи спонтанних епізоотій, за [10]. Мікробіологічні аналізи (отримання чистих культур, приготування послідовних розведень мікробних суспензій, культивування на рідких та агаризованих поживних середовищах тощо) здійснювали загальноприйнятими методами [12-18].

У роботі використано референтний екзотоксигенний штам *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994 (біоагент препарату Бітоксикацилін) із колекції корисних ґрунтових мікроорганізмів Інституту сільськогоспо-

дарської мікробіології і агропромислового виробництва Національної академії аграрних наук України.

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

Вивчення морфологічних ознак штаму та ідентифікацію проводили за [7]. Первинне визначення патогенності нового штаму *B. thuringiensis* 0376 досліджували в лабораторних дослідках на личинках колорадського жука молодшого віку. Рослини 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 сортів: Пам'ять, Буджак, Розанна, Триумф і Антей. Використовували рекомендовану агротехніку вирощування нуту за [8]. 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, 11].

Польовий дрібноділянковий дослід проводили у восьми повтореннях, по 16 облікових рослин в кожному, площа одного повторення – 3,35 м². Облік заселеності рослин нутовим мінером проводили перед

обробкою, а також після обробки на 5,10,15 і 20 добу за рекомендованою методикою [11]. Статистична обробка отриманих результатів проводилась методами описової (варіаційної) обробки, дисперсійного аналізу на персональному комп'ютері з використанням програм MS Excel 10.0 та STATISTICA.

Результати дослідження та їх обговорення.

Із загиблх 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, в порівнянні до еталонного штаму *B. thuringiensis* 994 – 98 % та контролю – 2,3 %.

Досліджували вплив обробок ентомопатогенними штамми *B. thuringiensis* на кількість мін нутового мінера *Liriomiza cicerina* Rd. на рослинах нуту сорту Пам'ять (рис. 1). Встановлено, що кількість мін упродовж експерименту (з 5 до 20 доби обліку) у варіантах зі всіма штамми істотно відрізнялась від їхньої кількості у контролі. У цей же час достовірна різниця

1. Ефективність штаму *B. thuringiensis* 0376 проти личинок колорадського жука (лабораторний дослід, L1-2)

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

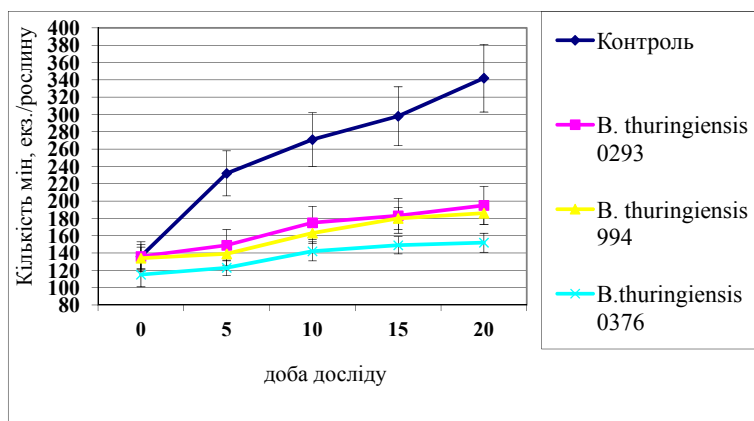


Рис. 1 Вплив обробки ентомопатогенними штамми *B. thuringiensis* на кількість мін нутового мінера (*Liriomiza cicerina* Rd.) на рослинах нуту сорту Пам'ять

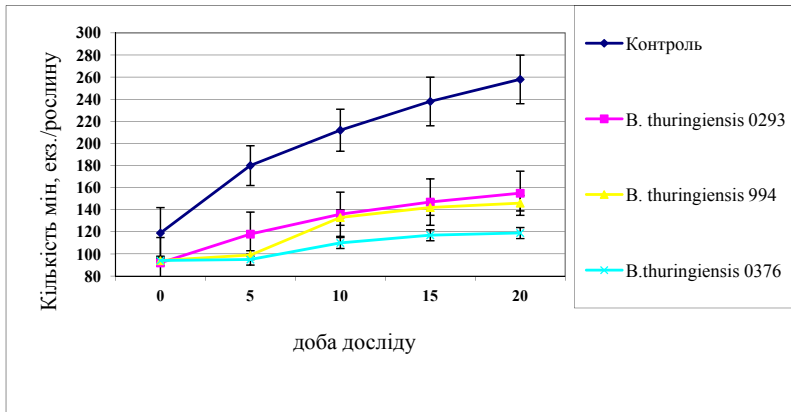


Рис. 2 Вплив обробки ентомопатогенними штамами *B. thuringiensis* на кількість мінь нутового мінери *Liriomyza cicerina* Rd. на рослинах нуту сорту Антей (польовий дослід)

між референтними штамами і новим штамом *B. thuringiensis* 0376 була зареєстрована на 15 і на 20 добу дослідження.

Результати дослідження впливу обробок ентомопатогенними штамами *B. thuringiensis* на кількість мінь нутового мінери *Liriomyza cicerina* Rd. на рослинах нуту сорту Антей наведено на рис. 2.

Для рослин нуту сорту Антей кількість мінь у варіанті з використанням штаму *B. thuringiensis* 0376 на 5 і 10 добу обліку була на рівні початку дослідження – 95-10⁹ екз./рослину, в по-

рівнянні з контрольним варіантом, де кількість мінь зростає з 119 екз./рослину до 180, 212 і 238 екз./рослину відповідно на 5, 10 і 15 добу обліку.

На 20 добу спостережень кількість мінь у контролі складала 258 екз./рослину, у варіанті зі штамом *B. thuringiensis* 0293 – 115 екз., у варіанті зі штамом *B. thuringiensis* 994 – 146 екз., зі штамом *B. thuringiensis* 0376 – 119 екз./рослину (див. рис. 2).

В результаті проведених досліджень встановлено, що обробка рослин нуту сортів Антей, Буджак,

2. Вплив обробки ентомопатогенними штамами *B. thuringiensis* на урожайність нуту (польовий дослід)

Варіант дослідження	Урожайність за сортами, ц/га, (% до контролю)				
	Пам'ять	Антей	Буджак	Розанна	Тріумф
Контроль (вода)	10,0 (100%)	6,0 (100%)	8,0 (100%)	4,5 (100%)	6,5 (100%)
Штам <i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 0293	10,0 (100,0%)	9,5 (158,3%)	8,0 (100,0%)	6,5 (144,5%)	8,5 (130,8%)
Штам <i>B. thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> 994	12,0 (120,0%)	10,5 (175,0%)	9,0 (112,5%)	7,5 (166,7%)	14,0 (215,4%)
Штам <i>B. thuringiensis</i> 0376	14,5 (145,0%)	10,0 (166,7%)	14,0 (175,0%)	9,0 (200,0%)	15,5 (238,5%)
НІР ₀₅	1,50	1,87	1,45	1,14	1,38

Пам'ять, Розанна, Тріумф штамом *B. thuringiensis* 0376 дозволяє знизити їх ураженість мінуючим фітофагом *Liriomiza cicerina* Rd. і підвищити урожайність на 66,7%, 75,0%, 45,0%, 100,0%, 138,5% відповідно в порівнянні до контролю (табл. 2).

Отримані експериментальні дані свідчать про ефективність застосування штамів *B. thuringiensis* для захисту рослин нуту від *Liriomiza cicerina*. Для регуляції чисельності фітофага з метою попередження втрат урожаю доцільно застосування біопрепаратів на основі штаму *B. thuringiensis* 0376..

Висновки.

1. Загибель личинок *Leptinotarsa decemlineata* Say (L1-2) в лабораторії при обробленні новим штамом *B. thuringiensis* 0376 становила 20,0% на третю добу, а на 10 добу–100%, в той час як в контролі (обробка водою) ці показники становили – 0,0–2,3 % відповідно.

2. Після обробки ентомоцидна дія штаму *B. thuringiensis* 0376 на нутового мінера проявилася на 7 діб раніше, ніж у еталонного штаму *B. thuringiensis* 994.

3. Використання штаму *B. thuringiensis* 0376 проти нутового мінера достовірно підвищувало врожайність нуту в середньому за сортами на 9,0 – 15,5 ц/га, що становило 145,0 – 238,5 %, порівняно з контролем.

References

1. Khareba V.V. Vplyv strokiv i sposobiv pikiruvannya na nasinnyevu produktyvnist' ta yakist' nasinnya kapusty biloholovoyi // Visnyk ahrarnoyi nauky. [Khareba V.V. Influence of terms and methods of dictation on seed productivity and quality of seeds of cabbage of a whitehead // Bulletin of agrarian science.] - 2002. – №3 - P. 31-32. [in Ukrainian].
2. Slavgorodskaya-Kurpiyeva L.Ye. Zashchita sel'skokhozyaystvennykh kul'tur ot vreditel' i bolezney [Slavgorod-Kurpiev L.E. Protection of crops from pests and diseases] Slavgorodskaya-Kurpiyeva L.Ye., Slavgorodskiy V.Ye., Alpeyev A.Ye. - Donetsk: izdatel'stvo «Donechchina», 2003. – 480 p.
3. Zashchita rasteniy ot vreditel' / I.V. Gorbachev, V.V. Grishchenko, YU.A. Zakhvatkin i dr.; Pod red. prof. V.V.Isaicheva. [Plant protection from pests / I.V. Gorbachev, V.V. Grishchenko, Yu.A. Zakhvatkin et al.; Ed. prof. V.V. Isaicheva.] Kolos, 2002. - 472 p.
4. Fedorov L.A. Pestitsidy - toksicheskiy udar po biosfere i cheloveku / Fedorov L.A., Yablokov A.V. - M.: Nauka [Fedorov L.A. Pesticides - toxic impact on the biosphere and man / Fedorov L.A., Yablokov A.V.: Science] 1999. - 462 p..
5. Dovidnyk iz zakhystu roslyn. / [L.I.Bublyk, H.I.Vasechko, V.P.Vasyl'yev ta in.]; pid red. M.P. Lisovoho. - K.:Urozhay [Plant protection guide. / [L.I.Bublik, G.I.Vasechko, V.P. Vasiliev and others]; ed. MP Forestry - K.: Harvest] 1999. - 744 pp. [in Ukrainian].
6. Dovidnyk iz pestytsydiv / [M.P. Sekun, V.M. Zherebko, O.M. Lapa ta in.]. – K.: Kolobih [Handbook on pesticides / [MP Secun, V.M. Zherebko, O.M. Lap and others.] - K.: Kolobig] 2007. - 360 p. [in Ukrainian].
7. Ahroekolohichna otsinka mineral'nykh dobryv ta pestytsydiv: Monohrafiya / [Patyka V.P., Makarenko N.A. Moklyachuk L.I. ta in.]: za red. V.P.Patyky. – K.: Osnova [Agroecological assessment of mineral fertilizers and pesticides: Monograph / [Patty V.P., Makarenko N.A. Moklyachuk L.I. et al.]: ed. VPPatika - K.: Basis] 2005. - 300 p. [in Ukrainian].
8. Zeddarn, J.-L., Vasquez Soberon, R.M., Vargas Ramos, Z., Lagnaoui, A., 2003. Producciyon viral y tasas de aplicaciyon del granulovirus usado para el control biolgyico de las polillas de la papa Phthorimaea operculella y Tecia solanivora (Lepidoptera: Gelechiidae). Bol. Sanidad

- Vegetal Plagas. 29, 659–667. [in English].
9. Das, G.P., Magallona, E.D., Raman, K.V., Adalla, C.B., 1992. Effects of different components of IPM in the management of the potato tuber moth, in storage. *Agr. Ecosyst. Environ.* 41, 321–325. [in English].
 10. Patyka V.F. *Ekologiya Bacillus thuringiensis* / V.F.Patyka, T.I. Patyka – K.: Izd-vo PDAA. [Patyka V.F. Ecology of *Bacillus thuringiensis* / V.F. Patyka, T.I. Patyka - K.: Publishing House PDAA.] - 2007. - 216 p.
 11. Misra H. S., Khairnar N. P., Mathur M., Vijayalakshmi N., Hire R. S., Dongre T. K. and Mahajan S. K. 2002 Cloning and characterization of an insecticidal crystal protein gene from *Bacillus thuringiensis* subspecies *kenyae*. *Journal of Genetics*, Vol. 81, No. 1, April 2002, P. 5–11. [in English].
 12. Kandybin N.V. *Bakterial'nyye sredstva bor'by s gryzunami i vrednymi nasekomyymi: teoriya i praktika* / N.V. Kandybin - M.: Agropromizdat [Kandybin N.V. Bacterial means of rodent and pest control: theory and practice / N.V. Kandybin -: Agropromizdat] 1989. - 172 p.
 13. B.A.Federici. *Bacillus thuringiensis* in Biological Control / B.A.Federici // *Handbook of Biological Control. Principles and Applications of Biological Control.* – 1999., P. 575-593.
 14. Environmental Health Criteria 217 Microbial Pest Control Agent *BACILLUS THURINGIENSIS* Published under the joint sponsorship of the United Nations Environment Programme, the International Labour Organisation, and the World Health Organization, and produced within the framework of the Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals. World Health Organization Geneva, 1999.- 109 P. [in English].
 15. Lebedev S.N. *Primeneniye mikrobiologicheskikh preparatov v bor'be s grozdevoy listovertkoy v usloviyakh predgornogo Kryma.* Nauchnyye trudy uchenykh Krymskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. Vypusk 75 [Lebedev S.N. The use of microbiological preparations in the fight with a moth leafworm in the conditions of the piedmont Crimea. Scientific works of scientists of the Crimean State Agrarian University. Issue 75.] - S. 2002 - p. 43 - 46.
 16. Burtseva L. I. *Metody vydeleniya i biotestirovaniya entomopatogennykh bakteriy. // Patogenny nasekomykh: strukturnyye i funktsional'nyye aspekty* / Pod red. V.V. Glupova. M.: Kruglyy god [Burtseva L. I. Methods for the isolation and biotesting of entomopathogenic bacteria. // Insect pathogens: structural and functional aspects / Ed. V.V. Foolov. All year] 2001. 736 p.
 17. Leskova A.Ya., Rybina L.M., Stroyeva I.A. *Identifikatsiya kul'tur Bacillus thuringiensis i otsenka ikh patogennykh svoystv. (Metodicheskiye ukazaniya).* L.: Izd. Vsesoyuz.NII Zashchity rasteniy. [17. Leskova A.Ya., Rybina L.M., Stroeveva I.A. Identification of *Bacillus thuringiensis* cultures and assessment of their pathogenic properties. (Methodical instructions). Izd. Vsesoyuz.NII Institute of Plant Protection.] - 1984. - 21 p.
 18. *Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy).* 5-ye izd. M.: Agropromizdat. [Methods of field experience (with the basics of statistical processing of research results). 5th ed. Agropromizdat.] - 1985. - 352 p.

Lisovsky M., Chaika V. (2022).

ANTAGONISTIC PROPERTIES OF *BACILLUS THURINGIENSIS* AGAINST *LIRIOMIZA CICERINA* RD.

BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 13(3-4): 119-125.

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/article/view/16757>

[https://doi.org/10.31548/biologiya13\(3-4\).2022.149](https://doi.org/10.31548/biologiya13(3-4).2022.149)

Abstract. From the corpses of the imago of grain moth the selected strain of bacteria (0376), which on the grounds of spore and crystal formation were referred to the group of *B. thuringiensis*. On the 10th day of the experiment the death of the larvae of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) when using a strain of *B. thuringiensis* 0376 accounted for 100% (if deaths in the control to 2.3%). The expediency of cultivation of a strain of *B. thuringiensis* 0376 in the volume of the nutrient medium 600ml. Tested the effectiveness of the obtained liquid spore culture on the larvae of Colorado potato beetles. Shown the insecticidal efficacy of *B. thuringiensis* 0376, which was evident in the number of mines per plant of chickpea – 111,6-152,4 min. per plant, depending on cultivar, whereas in the control variant, the figures were 202,0-342,0 min. studies have shown that a new strain of *B. thuringiensis* 0376 exhibits substantial biological efficacy in relation to the regulation of the number of gram miner (*Liriomiza cicerina* Rd.)

Key words: *Bacillus thuringiensis*, entomotoxic action, strain, formulation, phytophage, chickpeas
