



НАУЧНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ И УПРАВЛЕНИЕ АГРОПРОМЫШЛЕННЫМ КОМПЛЕКСОМ

Научная статья

УДК 631.872

doi: 10.55186/25876740_2024_67_3_268

РАЗРАБОТКА БИОПРЕПАРОВ ДЛЯ ИНТЕГРИРОВАННОЙ ЗАЩИТЫ КАРТОФЕЛЯ ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ

И.В. Бойкова, И.И. Новикова, А.К. Лысов, Н.И. Наумова

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,
Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

Аннотация. В статье приведены результаты исследований биологической эффективности 2-х биологических препаратов в Ленинградской области. Это биопрепарат Ириард, Ж на основе *Streptomyces loidenis* штамм P-56 — против проволочника и препарат на основе штамма — *Streptomyces sp.* 0952 (далее 0952). Штаммы для новых биопрепараторов были отобраны сотрудниками в результате многоступенчатого скрининга по признаку энтомоцидной и антифидантной активности. Были выделены моно-клоновые изоляты, на основе которых получали лабораторные образцы культуральной жидкости. Сотрудниками ФГБНУ ВИЗР проведены лабораторные и мелкоделяльные полевые опыты в 2022-2023 годах по оценке эффективности лабораторных образцов новых биопрепараторов на основе актиномицетов рода *Streptomyces*. Опыты проводились с целью расширения недостаточного ассортимента новых биопрепараторов для защиты картофеля от наиболее опасных для этой культуры вредителей: проволочника и колорадского жука. Препарат Ириард, Ж применяли для обработки клубней сорта картофеля «Невский» перед посадкой. По результатам полевой оценки установлено, что биопрепарат Ириард, Ж снижает численность проволочника, так как количество неповрежденных клубней было в два раза больше, чем в контроле. Другой препарат на основе штамма 0952, показал так же высокую биологическую эффективность против личинок младших возрастов колорадского жука. В результате обработки этим биопрепаратором вариантов опыта через 5 суток погибло 80% — 92% личинок 1-2 возраста. Установлена зависимость энтомоцидной и антифидантной активности от концентрации препарата. Опытным путем доказаны перспективы использования исследованных препаратов в защите картофеля от этих вредителей.

Ключевые слова: картофель, биопрепарат, стрептомицеты, штамм, микроорганизм, скрининг, проволочник, колорадский жук, интегрированная защита, биологическая эффективность

Original article

DEVELOPMENT OF BIOLOGICAL PRODUCTS FOR INTEGRATED PROTECTION OF POTATOES FROM PESTS

И.В. Boikova, И.И. Novikova, А.К. Lysov, Н.И. Naumova

All-Russian Research Institute of Plant Protection, St. Petersburg-Pushkin, Russia

Abstract. The article presents the results of a study of the biological effectiveness of 2 biological drugs in the Leningrad region. This is a biological product Iriard, L. based on *Streptomyces loidenis* strain P-56 — against wireworms and a drug based on the strain — *Streptomyces sp.* 0952 (hereinafter referred to as 0952). Strains for new biological products were discovered by colleagues as a result of multi-stage screening based on entomocidal and antifeedant activity. Monoclonal isolates were isolated, based on which samples of the cultural liquid were formed. In 2022-2023, employees of the FGBI VIZR conducted laboratory and finely differentiated field experiments on the effectiveness of laboratory new samples of biological products based on actinomycetes of the *Streptomyces* type. The experiments are aimed at expanding the insufficient range of new biological products for protection against the most dangerous pests for this crop: wireworms and the Colorado potato beetle. Application of the drug of Iriard, L. was presented for processing the tubers of the «Nevsky» tubers before planting. Based on the field assessment, it was established that the biological product Iriard, L. reduces the number of wireworms increased, since the number of intact tubers was twice as large as in the control. Another drug based on strain 0952 demonstrated the same biological effectiveness against younger Colorado potato beetle larvae. As a result of treatment of these variants with a biological preparation, 80% — 92% of larvae of 1-2 instars died after 5 days. The dependence of entomocidal and antifeedant activity on the concentration of the drug has been established. The use of research drugs to protect against these harmful factors has been experimentally proven.

Keywords: potato, biologic, *Streptomyces* strain, microorganism, screening, wireworm, Colorado potato beetle, integrated protection, biological efficacy

Введение. Существенный вред картофелеводству наносят такие опасные вредители как проволочник *Agriotes* spp. и колорадский жук *Leptinotarsa decemlineata* Say, для борьбы с которыми в зонально-сортовых системах защиты в настоящее время недостаточен ассортимент эффективных биологических препаратов.

Вредоносность проволочника на посадках картофеля ощущима уже при численности 3-6 личинок/м². При численности вредителей, превышающей этот экономический порог вредоносности (ЭПВ), потери урожая на пропашных культурах могут составлять 30 — 60%. При высокой численности вредителя повреждается до 60% клубней, что отрицательно сказывается на их качестве, а также облегчается проникновение

патогенной бактериальной и грибной микрофлоры внутрь клубней, способствуя формированию очагов смешанных (сухой и мягкой) гнилей в период хранения картофеля. За рубежом ведутся работы по созданию биопрепараторов против проволочника. Так, Samuel Pallis с соавторами для получения биопрепарата использовали энтомопатогенный гриб *Metarhizium brunneum* (Hypocreales: Clavicipitaceae) [1]. Показано, что энтомопатогенные грибы (EPF) весьма перспективны для борьбы с проволочником, но результаты полевых экспериментов зачастую очень нестабильны. Было отмечено, что физиологическое состояние целевого насекомого имеет решающее значение для его способности противостоять грибной инфекции.

Большие потери урожая картофеля связаны с вредоносностью колорадского жука — *L. decemlineata* Say. (Coleoptera, Chrysomelidae), личинки и имаго которого могут за короткий срок полностью уничтожить растения, причём, наибольший вред наносят личинки 3-4 возраста [2].

В настоящее время в нашей стране и за рубежом для борьбы с вредными насекомыми, в том числе с колорадским жуком, широко используется химический метод борьбы, благодаря высокой производительности и быстрому получению защитного эффекта. Однако широкое и систематическое применение инсектицидов приводит к нарушению естественной регуляции всех видов насекомых, в том числе и к формированию генетически устойчивых популяций вредителя



к этим инсектицидам [3]. В настоящее время резистентность вредных организмов к пестицидам носит глобальный характер [4]. Значительная часть используемых пестицидов при массированном их применении представляет угрозу для теплокровных животных и человека.

Для снижения негативных последствий масштабного применения химических средств защиты растений необходимо использовать интегрированную систему защиты картофеля, которая базируется на обязательном проведении комплекса профилактических и защитных мероприятий, включающих использование оптимального сорта с учетом агроклиматических и фитосанитарных рисков возделывания, высокий уровень агротехники, повышение плодородия почвы, использование для защиты, прежде всего биологических и малоопасных химических средств подавления вредных организмов.

Применение биопрепаратов по сравнению с химическими средствами защиты имеет ряд существенных преимуществ. Это, прежде всего, экологическая безопасность для окружающей среды, теплокровных животных и человека, а также возможность их применения на протяжении всего вегетационного периода развития растений, в том числе и во время цветения и плодоношения. В связи с тем, что биопрепараты содержат комплекс биологически активных соединений, формирование резистентности к ним у вредных организмов наблюдается в очень редких случаях. Хорошие результаты показывает совместное применение химических и биологических препаратов в системе защиты, что позволяет до 50% снизить норму расхода химических препаратов. Следует отметить, что химические фирмы США и Западной Европы для увеличения производства биопрепаратов активно покупают компании, специализирующиеся на производстве биологических средств защиты растений. Недавно Госсоветом КНР принята программа, направленная на развитие биологической отрасли промышленности Китая [5]. Таким образом, исследования по созданию новых биопрепаратов для защиты растений являются актуальной задачей.

В результате многолетнего скрининга в ВИЗР сформирована коллекция, включающая более 200 активных штаммов разной таксономической принадлежности, перспективных для создания биопрепаратов для защиты растений от вредителей и болезней [6]. Особый интерес вызывает группа стрептомицетов. Широкое распространение в природе, богатое функциональное разнообразие, высокая биосинтетическая активность и простота культивирования делает их ценными продуцентами новых высокоеффективных биологических средств защиты растений. Стрептомицеты продуцируют огромное разнообразие биологически активных метаболитов: антибиотиков, ингибиторов ферментов, инсектицидов, гербицидов и др., перспективных для разработки на их основе новых биопрепаратов для защиты растений и стимуляции их роста и развития. Так в результате исследования *S. sp. P-56* ВИЗР показано, что штамм продуцирует нонактин, обладающий инсектицидными, акарицидными, антимикробными и фиторегуляторными свойствами, что делает его перспективным для использования в качестве полифункционального препарата в сельском хозяйстве [7].

В результате поиска штаммов с антифидантной активностью против колорадского жука актиномицеты рода *Streptomyces* были выделены из свежих образцов почв, собранных в различ-

ных географических регионах: Вьетнаме, Индии, Египте, Китае, Сибири, Крыму, Молдавии, Казахстане, Волгоградской области, Коми, Ростовской области, а также изолированы из почвенных образцов, собранных в Болгарии и на Украине в районе г. Луганска и хранившихся в лаборатории при 12-25 °C в течение 25 лет. Штамм *S. sp* 0952, проявивший высокую антифидантную и энтомоцидную активность исследовали в данной работе.

Цель настоящей работы — оценка эффективности перспективных штаммов рода *Streptomyces* для разработки на их основе инсектицидных биопрепаратов против проволочника и колорадского жука.

Материалы и методы, условия эксперимента. Исследования по определению эффективности биопрепаратов проводились в 2022-2023 годах в лаборатории ФГБНУ ВИЗР, в полевых условиях Ленинградской области и в Предгорном районе Ставропольского края.

В работе использовали отселектированный штамм *S. sp. P-56* ВИЗР — продуцент препарата Ириард и штамм *S. sp. 0952* ВИЗР, выделенный из почвы и отобранный в результате многоступенчатого скрининга по признаку энтомоцидной и антифидантной активности. Для получения изолированных культур использовали методы последовательных разведений, центрифугирования взвеси и посева поверхностью пленки. Чистые культуры сохраняли при 4 — 6°C на агаризованных питательных средах — 19/6 и Чапека с крахмалом. Штаммы хранятся в «Государственной коллекции микроорганизмов, патогенных для растений и их вредителей» ВИЗР. Тест-объектами служили проволочники *Agriotes spp.* и личинки и имаго колорадского жука *L. decemlineata* Say, собранные в естественных условиях.

Культивирование микроорганизмов и получение лабораторных образцов. Наработку лабораторных образцов препаратов Ириарда, Ж и 0952 осуществляли в лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ ВИЗР. Штаммы-продуценты *S. sp. P-56* ВИЗР и *S. sp. 0952* ВИЗР выращивали в пробирках на скошенном агаре 19/6 при температуре 28±2°C в течение 7-10 суток, а затем хранили при температуре 4 — 6°C [8]. Культивирование штаммов в глубинных условиях проводили в колбах Эрленмейера объемом 750 мл со 150 мл среды, на роторной качалке (230 об/мин), в течение 72 часов, на питательной среде № 5, при температуре 28±2°C, в течение 4-х суток. Состав среды № 5: соевая мука (1%), глюкоза (1%), NaCl (0,5%), мел (0,3%), pH до стерилизации — 7,2. Ежесуточно оценивали рост и развитие культур с помощью световой микроскопии (Axio Imager, Karl Zeiss, Германия). Препараты культур окрашивали фуксином. Лабораторные образцы препаратов получали в виде культуральной жидкости, содержащей мицелий и споры, стабилизированной 0,2% сорбатом калия. Титр готового биопрепарата Ириард, Ж составлял $(7,2-6,8) \times 10^9$ КОЕ/мл, *S. sp. 0952* — $4,6 \times 10^9$ КОЕ/мл. Лабораторный образец 0952 испытывали в виде культуральной жидкости, высущенной культуральной жидкости, метанольного (в 2022 г.) и этанольного (в 2023 г.) экстракта мицелия. Культуральную жидкость сушили методом лиофилизации на лабораторной распылительной сушилке YC-015. Для получения лабораторного образца 0952 в виде экстракта мицелий отделяли от нативного раствора с помощью центрифуги Liston C2203 при комнатной температуре в течение 15 мин (5000 об/мин),

экстрагировали метиловым или этиловым спиртом (1 : 5) в течение 30 мин при постоянном перемешивании (1500 об/ мин), отделяли органический экстракт от мицелия и концентрировали его на лабораторной вакуумно-выпарной установке RE200-Pro DLAB при $t=45-55^{\circ}\text{C}$ и давлении 0,03 — 0,005 МПа. Перед упариванием в колбу с экстрактом добавляли 10 весовых % дистиллированной воды от объема экстракта. После удаления органической фазы водный остаток лиофильно сушили. В результате получали гигроскопичный порошок жёлтого цвета. Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с использованием стандартных методов.

Метод контроля проволочника. Для учета исходной численности проволочника отбирали 8 проб почвы, массой 3,0 кг каждая, с учетных площадок размером 0,25 м² (50 x 50 см) и глубиной 30 см, расположенных на участке поля в шахматном порядке. Всех обнаруженных личинок собирали в сосуд, на котором отмечали номер пробы. В лабораторных условиях определяли видовую принадлежность личинок щелкунов по определителю Долина В.Г. (1978) [9]. Биологическую эффективность Ириарда, Ж определяли при уборке урожая по пораженности клубней проволочником в контроле и вариантах после обработки исследуемым биопрепаратором.

Определение энтомоцидной и антифидантной активности 0952 проводили в лабораторных опытах с использованием в качестве тест-объектов имаго и личинок колорадского жука *L. decemlineata* 1-4 возраста [10]. Личинок 1-4 возраста мягкой кисточкой снимали с ботвы, на которой они подкармливались, и подсаживали на листья картофеля по 20 особей на одну повторность. Энтомоцидную активность изолятов в отношении личинок колорадского жука и имаго определяли, используя свежие листья картофеля, которые вместе с вредителем опрыскивали культуральной жидкостью в разном разведении или водной суспензией упаренного спиртового экстракта мицелия в соответствующей концентрации. Через 1-5 суток учитывали гибель или прекращение развития личинок (энтомоцидные свойства) и процент съеденной поверхности листьев — поедаемость, характеризующую антифидантные свойства штамма. В случае имаго учитывали гибель жуков и поедаемость листьев. Опыты ставили в трёх повторностях. Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы пробит-анализа с учетом гибели личинок насекомых в контроле.

В исследованиях 2023 г. для оценки биологической активности препарата использовали следующую методику. Трёхлистные веточки картофеля обрабатывали препаратом, помещали в пенициллиновые фланончики с водой. Личинки мягкой кисточкой снимали с ботвы, на которой они подкармливались и помещали на обработанные веточки картофеля. Систему накрывали сверху марлей. Испытания образца препарата проводили в трёх повторностях. Контролем служили личинки того же расплода, помещённые на ветки картофеля без обработки их препаратом. Результаты учитывали описанным выше способом. Аналогично оценивали активность образцов препарата против имаго.

Мелкоделячные опыты проводили летом 2022 г. на полях «Меньковского филиала АФИ» Ленинградской области согласно методикам Б.А. Доспехова [11] и «Методических указаний по регистрационным испытаниям





инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и родентицидов в сельском хозяйстве» [12]. Перед посадкой клубни картофеля сорта «Невский» обрабатали с помощью ручного опрыскивателя «SOLO-456» (объем резервуара 5 л) препаратом Ириард, Ж из расчета 6 л препарата на 1 тонну клубней. Для обработки 140 клубней использовали 50 мл препарата, 40 контрольных клубней препаратуре не обрабатывали.

Полевые опыты в 2023 году по оценке антифидантной и энтомоцидной активности препарата 0952 против колорадского жука проводили в Предгорном районе Ставропольского края на растениях картофеля сорта «Коломба» на площади 0,14 га. Обработку растений культуральной жидкостью, разбавленной в 10 раз водопроводной водой, проводили 14.07.2023 г. при температуре воздуха +26°C, после захода солнца, в сухую безветренную погоду, путём однократного опрыскивания заселённых колорадским жуком растений, с помощью ранцевого опрыскивателя Gigant 16 л GS-07, при норме расхода рабочей жидкости 200 л на 1 га. Эталоном служил участок, обработанный Битоксибациллином при норме расхода 2,0 кг на 1 га и расходе рабочей жидкости 200 л на 1 га. Контрольный участок поля не обрабатывали биопрепаратами. Учёт снижения численности вели на 3-и и 5-е сутки после обработки.

Результаты и обсуждение.

Испытания лабораторных образцов препарата Ириард, Ж против проволочника. На опытном поле «Меньковского филиала АФИ» Ленинградской области перед посадкой картофеля 30 мая 2022 г. отобрали 8 проб почв с целью учёта и определения вида личинок щелкунов. Всего обнаружили 12 личинок первого года развития. Расчётная заселенность участка составила в среднем 6 личинок на 1 м², что превысило ЭПВ — 5 экз./м². Определили видовой состав жука-щелкун: темный (*Agriotes obscurus* L.) — 83%, полосатый (*A. lineatus* L.) — 17% от общего количества личинок. Уборку картофеля проводили 20 августа. Клубневой анализ полученного урожая показал, что картофель во всех вариантах был повреждён проволочником. Тем не менее, отмечено, что Ириард, Ж проявил защитное действие против вредителя (табл. 1).

Анализ полученных результатов показал, что в двух вариантах опыта количество неповреждённых клубней (39,6% и 41,6%) было в два раза больше, чем в контроле (20,0%). В третьем варианте количество неповреждённых клубней было на уровне контроля (18,6% и 20,0%). В весовом соотношении (кг) во всех трех вариантах обработки урожай (12,6%, 23,6%, 30,0%) превышал контроль (6,8%) в 2 — 4 раза.

Испытания лабораторных образцов препарата 0952 против колорадского жука.

Результаты исследований биологической активности культуральной жидкости штамма *S. sp.* 0952 приведены в табл. 2.

Полученные результаты эксперимента свидетельствуют о высокой энтомоцидной и антифидантной активности культуральной жидкости штамма *S. sp.* 0952 против личинок колорадского жука 1-2 возраста.

Сразу после обработки препаратом личинки стали менее подвижны, неохотно питались, медленно бродили по листу, в то время как в контроле скорость поедания листьев была значительно выше, личинки мало передвигались.

Через 5 суток после обработки листьев не-разведённой культуральной жидкостью, разведённой в 2 и в 4 раза, личинки съели соответ-

ственно 5%, 15%, 25% поверхности листьев, в то время как в контроле были полностью съедены все листья. При этом наблюдали высокий энтомоцидный эффект (ЭА), в результате обработки через 5 суток погибло 80% — 92% личинок 1-2 возраста.

Результаты исследования биологической активности высушенной культуральной жидкости штамма *S. sp.* 0952 приведены в табл. 3. Личинок 1-2 возраста, высаженных по 20 штук на лист, опрыскивали водной суспензией высушенной культуральной жидкости в концентрации 5,0% — 0,05%.

Данные, представленные в табл. 3, свидетельствуют о зависимости энтомоцидной и антифидантной активности от концентрации препарата. При увеличении концентрации от 0,05% до 5,0% антифидантный эффект, который выражается поедаемостью листьев возрастает от 50% до 0 на 3 сутки и от 80% до 0 на 5 сутки.

При этом энтомоцидная активность на 3 сутки проявляется только при высоких концентрациях препарата (5,0% и 2,5%). На 5 сутки она существенно возрастает, а именно, обработка листьев с личинками препаратом в концентрации 5,0% вызвала гибель на 5 сутки 90% личинок

Таблица 1. Биологическая эффективность Ириарда, Ж против проволочника, Ленинградская область, 2022 год
Table 1. Biological effectiveness of Iriad, W against wireworm, Leningrad Region, 2022

№	Вариант опыта	Процент клубней в количественном соотношении		Сохраненных клубней, %	Процент клубней в весовом соотношении		Сохраненных клубней, %
		Поврежденных	Неповрежденных		Поврежденных	Неповрежденных	
1	Ириарт-1, ж	29,8	70,8	41,6	35,0	65,0	30,0
2	Ириарт-2, ж	30,2	69,8	39,6	38,2	61,8	23,6
3	Ириарт-3, ж	40,7	59,3	18,6	43,7	56,3	12,6
4	Контроль	40,0	60,0	20,0	46,6	53,4	6,8

Таблица 2. Энтомоцидная и антифидантная активность культуральной жидкости штамма *S. sp.* 0952 в отношении личинок колорадского жука 1-2 возраста, ВИЗР, 2022 год
Table 2. Entomocidal and antifidant activity of culture fluid of strain *S. sp.* 0952 concerning the larvae of the Colorado potato beetle of 1-2 ages, VISR, 2022

№	Образец	Разведение культуральной жидкости	Биологическая активность					
			Через 3 суток			Через 5 суток		
			поедаемость, %	живые/мертвые	ЭА, %	поедаемость, %	живые/мертвые	ЭА, %
1	<i>S. sp.</i> 0952, кж	б/р	5	23/37	62	5	5/55	92
2	<i>S. sp.</i> 0952, кж	х 2	10	45/15	25	15	8/52	87
3	<i>S. sp.</i> 0952, кж	х 4	25	50/10	17	25	12/48	80
4	Контроль		60	60	-	100	60	-

Таблица 3. Энтомоцидная и антифидантная активность высушенной культуральной жидкости штамма *S. sp.* 0952 против личинок колорадского жука 1-2 возраста, ВИЗР, 2022 год
Table 3. Entomocidal and antifidant activity of dried culture fluid of *S. sp.* 0952 strain against larvae of Colorado beetle 1-2 age, VISR, 2022

№	Образец	Концентрация, %	Биологическая активность					
			Через 3 суток			Через 5 суток		
			поедаемость, %	живые/мертвые	ЭА, %	поедаемость, %	живые/мертвые	ЭА, %
1	<i>S. sp.</i> 0952	5,0	0	8/12	60	0	2/18	90
2	<i>S. sp.</i> 0952	2,5	2	16/4	20	4	4/16	80
3	<i>S. sp.</i> 0952	1,0	20	20/0	0	40	8/12	60
4	<i>S. sp.</i> 0952	0,5	35	20/0	0	70	10/10	50
5	<i>S. sp.</i> 0952	0,1	40	20/0	0	80	18/2	10
6	<i>S. sp.</i> 0952	0,05	50	20/0	0	80	20/0	0
8	Контроль	-	60	20/0	-	100	20/0	-

Таблица 4. Энтомоцидная и антифидантная активность метанольного экстракта мицелия *S. sp.* 0952 в отношении личинок колорадского жука 1-2 возраста, ВИЗР, 2022 год
Table 4. Entomocidal and antifidant activity of methanol extract of mycelium *S. sp.* 0952 against larvae of Colorado beetle 1-2 age, VISR, 2022 year

№ п/п	Штамм	Концентрация, %	Биологическая активность					
			Через 3 суток			Через 5 суток		
			поедаемость, %	живые/мертвые	ЭА, %	поедаемость, %	живые/мертвые	ЭА, %
1	<i>S. sp.</i> 0952	1,0	5	0/60	100	-	-	-
2	<i>S. sp.</i> 0952	0,5	15	0/60	100	-	-	-
3	<i>S. sp.</i> 0952	0,1	20	41/19	50	30	0/60	100
4	<i>S. sp.</i> 0952	0,01	20	60/0	0	40	19/41	68
5	Контроль	-	40	60/0	0	100	60/0	-



1-2 возраста, при концентрации 0,1% гибель личинок составила только 10%.

Экстракцией метанолом выделили из мицелия штамма *S. sp.* 0952 комплекс продуцируемых им метаболитов. Рабочую суспензию готовили путем разведения высушенного метанольного экстракта в водопроводной воде до концентраций 1,0% — 0,01%. Результаты исследования биологической активности водной суспензии высушенного метанольного экстракта представлены в табл. 4.

Полученные данные свидетельствуют о высокой антифидантной и энтомоцидной активности метанольного экстракта штамма *S. sp.* 0952.

Сразу после обработки препаратом во всех концентрациях личинки потеряли подвижность и перестали питаться. Через 2-3 часа личинки продолжали питаться, но вяло, с длительными перерывами. Из таблицы 5 видно, что обработка листьев с личинками 1,0% и 0,5% суспензией препарата уже на 3-и сутки вызвала 100-ную гибель личинок.

Сразу после обработки препаратом во всех концентрациях личинки потеряли подвижность и перестали питаться. Через 2-3 часа личинки продолжали питаться, но вяло, с длительными перерывами. Из табл. 5 видно, что обработка листьев с личинками 1,0% и 0,5% суспензией препарата уже на 3-и сутки вызвала 100-ную гибель личинок. На 5-е сутки наблюдали высокий энтомоцидный эффект (100% гибель личинок при концентрации препарата 0,1%) и существенное антифидантное действие: при концентрации 0,01% поедаемость была в 2,5 ниже, чем в контроле.

В 2023 г. продолжили исследование биологической активности штамма *S. sp.* 0952 в лабораторных и полевых условиях. В процессе стабилизирующего отбора штамма выделяли моноклоновые изоляты, на основе которых получали лабораторные образцы культуральной жидкости. Их биологическая активность приведена в табл. 5.

Из данных табл. 5 видно, что высокой антифидантной и энтомоцидной активностью обладает клон 28-8.

Через 1 сутки личинками было съедено 2-5% поверхности листьев, через 3 суток этот показатель увеличился незначительно (5-8%), в то время как в контроле листья были съедены полностью (100%).

Обращает на себя внимание высокая энтомоцидная активность клона 28-8. Через 3 суток

смертность личинок 1-2 возраста составляла 50% — 90% в зависимости от разведения культуральной жидкости.

С целью исследования биологической активности вторичных метаболитов, продуцируемых штаммом *S. sp.* 0952, провели экстракцию этанолом из мицелия. В табл. 6 приведена биологическая активность лабораторных образцов препарата, полученных на основе отобранных клонов штамма против личинок колорадского жука

3-4 возраста. Образцы *S. sp.* 0952-1, 2, 4, 5, 6 получены на основе клона № 5, *S. sp.* 0952-3 — клона № 28-8, *S. sp.* 0952-7 — клона 26. Приведенные данные подтверждают высокую антифидантную и энтомоцидную активность отобранного клона № 28-8 штамма *S. sp.* 0952. Через 3 суток личинки уничтожили всего 2% листовой поверхности, смертность их составляла 85%. Причем личинки переставали питаться через 2-3 часа после обработки и не росли.

Таблица 5. Антифидантная и энтомоцидная активность образцов культуральной жидкости штамма *S. sp.* 0952, Ставропольский край, 2023 год

Table 5. Antifidant and entomocidal activity of culture fluid samples of strain *S. sp.* 0952, Stavropol Territory, 2023

№	Образец	Разведение культуральной жидкости	Биологическая активность			
			Поедаемость через 1 сутки, %	Поедаемость через 2 суток, %	Поедаемость через 3 суток, %	ЭА, %
1		6/р	2	5	5	90
2	<i>S. sp.</i> 0952-1	3	5	5	5	90
3	клон 28-8	10	5	8	8	50
		20	5	5	8	50
4		6/р	10	30	40	20
5	<i>S. sp.</i> 0952-2	3	20	50	50	16
6	клон 26	10	20	70	70	0
		20	50	60	60	0
7		6/р	40	40	50	0
8	<i>S. sp.</i> 0952-3	3	40	50	50	0
9	клон 5	10	40	60	70	0
		20	40	70	70	0
10	Контроль	-	40	90	100	-

Таблица 6. Антифидантная и энтомоцидная активность 0,1% водных суспензий сухих этанольных экстрактов мицелия штамма *S. sp.* 0952 в отношении личинок колорадского жука 3-4 возраста, Ставропольский край, 2023 год

Table 6. Antifidant and entomocidal activity of 0.1% aqueous suspensions of dry ethanol extracts of mycelium strain *S. sp.* 0952 concerning the larvae of the Colorado beetle of 3-4 ages, Stavropol Territory, 2023

№	Образец	Биологическая активность через 3 суток		Примечание
		Поедаемость, %	ЭА, %	
1	<i>S. sp.</i> 0952-1	20	40	
2	<i>S. sp.</i> 0952-2	30	25	Личинки перестали питаться через 2-3 часа после обработки, не растут. Мёртвые личинки почернели
3	<i>S. sp.</i> 0952-3	2	85	
4	<i>S. sp.</i> 0952-4	20	0	
5	<i>S. sp.</i> 0952-5	10	0	
6	<i>S. sp.</i> 0952-6	20	0	Личинки живы, но не питаются
7	<i>S. sp.</i> 0952-7	95	0	
8	Контроль	100	-	Листья полностью съедены к концу 2-х суток



Рисунок 1. Оценка биологической активности клона 28-8 штамма *S. sp.* 0952

против имаго колорадского жука

Figure 1. Assessment of the biological activity of clone 28-8 strain *S. sp.* 0952 against Colorado potato beetle imago

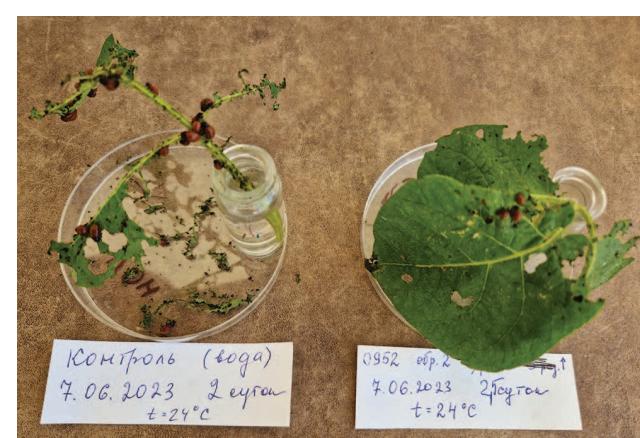


Рисунок 2. Оценка биологической активности штамма *S. sp.* 0952

против личинок колорадского жука 1-2 возраста

Figure 2. Assessment of biological activity of the *S. sp.* strain. 0952 against Colorado potato beetle larvae of 1-2 instars





Отмечено, что на обработанных растениях личинки пробовали отдельные участки листа и повреждения выглядели точечными. Личинки переползали с одного листа на другой, в то время как, на необработанных растениях они питались на одном листе, съедая его полностью.

В лабораторных условиях института испытывали образец на основе клона 28-8 против имаго колорадского жука. На рис. 1 ясно видно, что поедаемость листа имаго колорадского жука значительно ниже данного показателя в контроле. Листья картофеля в контроле жуком были съедены полностью. Так же в лабораторных условиях определяли биологическую активность штамма *S. sp.* 0952 против личинок 1 и 2 возраста вредителя. Где также, на 2 сутки контрольные необработанные листья культуры были съедены полностью личинками (рис.2).

В то время как, листья обработанные штаммом 0952 были повреждены в незначительной степени.

Через 24 часа после обработки, при $T=26^{\circ}\text{C}$ контрольный лист был съеден полностью, в то время как в опыте показатель поедаемости составлял всего 5-6%.

Исследования, проведенные в полевых условиях, подтвердили результаты лабораторных опытов. Перед началом полевого опыта заселенность растений картофеля колорадским жуком была средней, неравномерной. В популяции присутствовали имаго и личинки 1-4 возраста. На отдельных кустах в средней части участка их численность составляла 30-50 особей на куст, часть кустов не были заселены вредителем. Норма расхода препарата (неразбавленная культуральная жидкость) составляла 450 л на 1 га. Через 3 и 5 суток после обработки растений имаго и личинки колорадского жука на опытном участке не обнаружены.

На участке, обработанном эталонным препаратом — Битоксибациллином, присутствовали единичные имаго и личинки 3-4 возраста.

На контролльном участке к этому времени численность вредителя существенно возросла.

Выводы. В результате проведённых исследований было установлено, что препарат Ириард в жидкой препаративной форме эффективен против проволочника, в опытных вариантах численность вредителя снижалась по сравнению с контролем, а урожай превышал контроль в 2-4 раза.

Установлено, что штамм *S. sp.* 0952 образует в процессе роста и развития вторичные метаболиты с энтомоцидной и антифидантной активностью. На 3-и сутки после обработки 1,0% и 0,5% супензией препарата гибель личинок 1-2 возраста составляла концентрации 0,1%. При концентрации 0,01% поедаемость была в 2,5 ниже,

чем в контроле, что говорит об антифидантной активности препарата.

В процессе стабилизирующего отбора выделили активный клон штамма, эффективный против имаго и личинок колорадского жука 1-4 возраста.

Таким образом, показано, что штамм *S. sp.* 0952 перспективен для разработки на его основе нового биопрепарата для борьбы с колорадским жуком.

Список источников

1. Samuel Pallis, Andrei Alyokhin, Brian Manley, Thais Rodrigues, Ethann Barnes, Kenneth Narva Effects of Low Doses of a Novel dsRNA-based Biopesticide (*Calantha*) on the Colorado Potato Beetle. *Journal of Economic Entomology*, vol. 116, no. 2, pp. 456-461, <http://doi.org/10.1093/jee/toad034>.
2. Reinbacher, L., Praprotnik, E., Razinger, J., Bacher, S., Grabenweger, G. (2023). Influence of Wireworm Diet on its Susceptibility to and Control With the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium brunneum* (Hypocreales: Clavicipitaceae) in Laboratory and Field Settings. *Journal of Economic Entomology*, no. 10, 116(1), pp. 108-118. DOI: 10.1093/jee/toac198.
3. Sukhoruchenko G.I., Belyakova N.A., Ivanova G.P., Kozlova E.G. & Pazyuk I.M. (2018). *Metody otsevki toksichnosti pestitsidov dlya chlenistonogikh, primenyaemykh v bor'be s vrediteleyami kul'tur zashchishchennogo grunta* [Methods for assessing the toxicity of pesticides for arthropods used under conditions of harmful effects of protected soil crops]. *Ehntomologicheskoe obozrenie*, vol. 97, no. 4, pp. 649-657.
4. Zakharenko V.A. (2001). *Problema rezistentsnosti vrednykh organizmov k pestitsidam — mirovaya problema* [The problem of pest resistance to pesticides is a global problem]. *Vestnik zashchity rastenii*, no.1, pp. 3-17.
5. Zakharenko V.A. (2023). *Osobennosti razvitiya tekhnologii zashchity rastenii v agroekosistemakh v usloviyakh rynochnoi ekonomiki Rossii* [Features of the development of plant protection technologies in agroecosystems in the conditions of the Russian market economy]. *Agrokhimiya*, no. 8, pp. 43-57. DOI:10.31857/S0002188123080112.
6. Pavlyushin V.A., Novikova I.I., Boykova I.V. Mikrobiologicheskaya zashchita rastenii v usloviyakh rynochnoi ekonomiki Rossii [Features of the development of plant protection technologies in agroecosystems in the conditions of the Russian market economy]. *Agrokhimiya*, no. 8, pp. 43-57. DOI:10.31857/S0002188123080112.
7. Boykova I., Yuzikhin O., Novikova I., Ulianich P., Eli-seev I., Shaposhnikov A., Yakimov A. and Belimov A. Strain *Streptomyces* sp. P-56 Produces Nonactin and Possesses Insecticidal, Acaricidal, Antimicrobial and Plant Growth-Promoting Traits. *Microorganisms*, no. 11, pp. 764. <http://doi.org/10.3390/microorganisms11030764>
8. Пименова М.Н., Гречушкина Н.Н., Азова Л.Г., Нетрусов А.И., Семенова Е.В., Захарчук Л.М., Зинченко В.В., Колотилова Н.Н., Мыльникова С.И., Нефелова М.В., Ботвинко И.В. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. М.: Изд-во МГУ. 1995. 224 с.
9. Долин В.Г. Определитель личинок жуков-щелкунов фауны СССР. Киев: Урожай. 1978. 124 с.
10. Бойкова И.В., Новикова И.И., Фасулати С.Р., Павлюшин В.А. 2012. Биологическая эффективность новых препаративных форм биоинсектицида на основе *Bacillus thuringiensis* против колорадского жука // Вестник защиты растений. № 4. С.57-60.
11. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. Москва: Колос, 1985. С. 351.
12. Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и родентицидов в растениеводстве, М, ФГБНУ «Росинформагротех». 2022. 508 с.

Информация об авторах:

Бойкова Ирина Васильевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологической защиты растений, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6268-7301>, irina_boikova@mail.ru

Новикова Ирина Игоревна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологической защиты растений, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2816-2151>, irina_novikova@inbox.ru

Лысов Анатолий Константинович, кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории интегрированной защиты растений, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5920-3342>, lysov4949@yandex.ru

Наумова Надежда Ивановна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории интегрированной защиты растений, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2799-168X>, nadya.naumova.58@inbox.ru

Information about the authors:

Irina V. Boykova, candidate of biological sciences, leading researcher of the laboratory of microbiological, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6268-7301>, irina_boikova@mail.ru

Irina I. Novikova, doctor of biological sciences, leading researcher of the laboratory of microbiological, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2816-2151>, irina_novikova@inbox.ru

Anatoly K. Lysov, candidate of technical sciences, leading researcher at the laboratory of integrated, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5920-3342>, lysov4949@yandex.ru

Nadezhda I. Naumova, candidate of biological sciences, researcher at the laboratory of integrated, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2799-168X>, nadya.naumova.58@inbox.ru

irina_boikova@mail.ru