ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ БАКТЕРИИ *BACILLUS THURINGIENSIS* И ГИФОМИЦЕТА *LECANICILLIUM LECANII* С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ КОМПЛЕКСНОЙ СМЕСИ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

DETERMINING THE RELATIONSHIP BETWEEN THE BACTERIA *BACILLUS THURINGIENSIS* AND THE HYPHOMYCETE *LECANICILLIUM LECANII* WITH THE AIM OF CREATING A COMPLEX MIXTURE FOR PLANT PROTECTION

CZU: 579.64:632.937 **https://doi.org/10.59295/spd2024n.29**

Татьяна ЩЕРБАКОВА,
ORCID: 0000-0002-2632-325X
e-mail: tatiana.scerbacova@sti.usm.md
Институт Генетики, Физиологии и Защиты Растений,
Государственный Университет Молдовы

Summary. *The relationship between the bacterium Bacillus thuringiensis and the hyphomycete Lecanicillium lecanii was determined in order to create a complex mixture for protecting plants from pests in a greenhouse. The studies were carried out in laboratory conditions using the double culture method. The nutrient medium used was potato-glucose agar. From the studies conducted it follows that entomopathogenic microorganisms do not exhibit antagonism to each other and can be used in a complex mixture to protect plants from sucking pests in closed ground conditions.*

Keywords: *bacterium, compatible, hyphomycete, pests, plant protection*

ВВЕДЕНИЕ

Экологизация растениеводства ставит задачу получения эффективных биологических средств защиты растений, конкурентоспособных с химическими пестицидами. Особенно это актуально в условиях закрытого грунта. В теплицах ограничен видовой и сортовой набор культур, отсутствует севооборот, бессменно используется грунт, регулируются параметры среды: температура, влажность, освещенность, минеральный состав субстрата и др. Количество видов вредителей и возбудителей болезней в закрытом грунте значительно меньше, чем в открытых агроценозах. Однако искусственно созданный микроклимат и круглогодичное использование таких сооружений способствуют массовому развитию вредных организмов и значительно повышают их вредоносность. Потери урожая от них могут достигать от 30-40% до 80% [1].

Комплекс вредителей закрытого грунта практически одинаков. Это паутинные клещи, оранжерейная белокрылка, бахчевая, персиковая, бобовая тля, галло-

вые нематоды, табачный трипс и др. Один из самых злостных врагов тепличных культур – обыкновенный паутинный клещ *Tetranychus urticae* (Koch.), приносит весьма ощутимый ущерб из-за высокой плодовитости. Имаго и личинки прокалывают эпидермис с нижней стороны листа и высасывают сок одновременно с зернами хлорофилла, что приводит к нарушению процесса фотосинтеза, растения ослабевают и легко поражаются различными инфекциями. Продолжительность жизненного цикла паутинного клеща зависит от окружающей температуры: при 20^0C вредитель проходит все стадии развития за 20 суток, при 25^0C – за 10-12 суток, при 30-32^0C – за 5-6 дней, даёт до 20 поколений в год, быстро приобретает резистентность ко многим ядохимикатам [1].

Бахчевая тля *Aphis gossypii* Glov. повреждает клетки листьев и молодых побегов, высасывая из них сок. Пораженные листовые пластины и верхушки растений скручиваются, засыхают и отмирают, цветки и завязи опадают, побеги деформируются. В процессе питания тли выделяют сахаристые вещества - падь или, медвяную росу. На этих выделениях поселяются сажистые грибы, покрывая поверхность листьев чёрным слоем, что существенно снижает интенсивность фотосинтеза и ухудшает товарные качества продукции. Тля – переносчик опасных вирусных заболеваний, чем усугубляется наносимый вред [1].

Тепличная белокрылка *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, в закрытом грунте вредит всем тепличным культурам. Питается соком растений, вредоносность усиливается выделением липкой сладкой массы, на которой поселяются сажистые грибы (сем. *Asterinaceae, Davidiellaceae, Meliolaceae* и др. отдела *Ascomycota*).

Ощутимый вред наносят табачный и оранжерейный трипсы.

Для борьбы с вредителями тепличных культур используют, в основном, химические пестициды, применение которых особо опасно в условиях закрытого грунта из-за загрязнения ограниченного воздушного бассейна теплиц и накопления токсических остатков в овощной продукции. К тому же частые обработки пестицидами приводят к появлению устойчивых к химикатам популяций вредных организмов и этот процесс может быть достаточно быстрым. Иногда в течение одного вегетационного периода после начала использования химиката эффект его применения значительно снижается [2].

Альтернативой химическим средствам защиты растений являются биопестициды на основе живых микроорганизмов и продуктов их метаболизма. Биологические методы контроля вредных объектов широко применяются в тепличном овощеводстве, где существует много ограничений по применению химических средств защиты. Интерес к биопестицидам растет из-за их преимуществ, связанных с экологической безопасностью, целевой специфичностью и эффективностью применения в малых количествах для комплексной борьбы с вредителями, и это одна из многообещающих альтернатив для борьбы с загрязнением окружающей среды.

В последние годы приоритетным направлением биологической защиты растений является создание и использование смесевых комплексных биосредств,

повышающих биологическую эффективность, расширяющих спектр действия и полифункциональность. Поэтому задачей исследований являлось определение совместимости двух биологических агентов с целью создания микробиологического комплекса для защиты растений от сосущих вредителей в тепличных условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводились в лабораторных условиях Института Генетики, Физиологии и Защиты Растений в составе Государственного Университета. Объекты исследований: 1) энтомопатогенный гриб *Lecanicillium lecanii* R. Zare & W. Gams (2001), штамм 2T20, коллекционный номер в Национальной коллекции CNMN-FE-03, выделен из природной популяции оранжерейной белокрылки с последующим отбором методом пассажей через тест-насекомое. Проведено три пассажа через обыкновенного паутинного клеща и три пассажа через бахчевую тлю, штамм проявляет патогенность в отношении оранжерейной белокрылки.

2) энтомопатогенная бактерия *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* (*Bt*) относится к семейству *Bacillaceae* и роду *Bacillus*, выделена из погибшей личинки колорадского жука.

Эксперименты по определению совместимости гриба и бактерии (наличие или отсутствие антагонизма, образование биологически активных веществ для угнетения или подавления одного организма другим) проводили на агаризованной питательной среде картофельно-глюкозный агар методом агаровых блочков, обе культуры на этой среде проявляют активный рост. Для получения агаровых блочков изучаемые микроорганизмы высевали сплошным «газоном» на поверхность питательной среды в чашки Петри, после хорошего развития культур пробочным сверлом диаметром 8 мм вырезали агаровые блоки.

Варианты двойных культур: 1) блоки, заросшие культурой бактерии, помещали на агаровые пластинки, засеянные суспензией конидий гриба *L. lecanii*, по 4 блока на чашку, 2) посев культур блоками: 1 блок, заросший грибом в центре и 4 блока, заросшие культурой бактерии у стенок чашки. 3) блоки, заросшие культурой гриба, размещали на среде, засеянной суспензией спор бактерии *B. thuringiensis* var. *thuringiensis*. Через 5-6 суток проводили учеты наличия антагонизма, стерильных зон отсутствия роста между микроорганизмами [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гифомицет *Lecanicillium lecanii* является представителем отдела *Ascomycota*, класса *Sordariomycetes*, семейства *Cordycipitaceae*, изначально был описан как *Cephalosporium lecanii* (Zimmermann), затем был отнесен к роду *Verticillium* (Zimm.) Viegas (1939), в 2001 году утвердили название рода как *Lecanicillium*, к которому могут относиться изоляты *L. lecanii, L. attenuatum, L. longisporum, L. muscarium* или *L. nodulosum* [4].

Большинство видов *Lecanicillium* энтомопатогенны и являются возбудителями микозов насекомых: тлей, белокрылок, клещей, нематод, некоторые виды и штаммы видоспецифичны по патогенности к различным насекомым. При попадании гриба на тело вредителя происходит прорастание конидий и ростовая трубка внедряется в хитиновый покров насекомого, образуя апрессории. В полости тела образуются гифальные тела – бластоспоры, которые разносятся по телу вредителя, гриб продуцирует токсины, приводящие хозяина к гибели, после чего происходит колонизация внутренних органов. После гибели насекомого гифы энтомопатогена прорастают на поверхность кутикулы и труп обрастает белым мицелием гриба *L. lecanii.* Для активного роста гифомицета и поражения вредителей необходима относительная влажность воздуха не менее 85% [5].

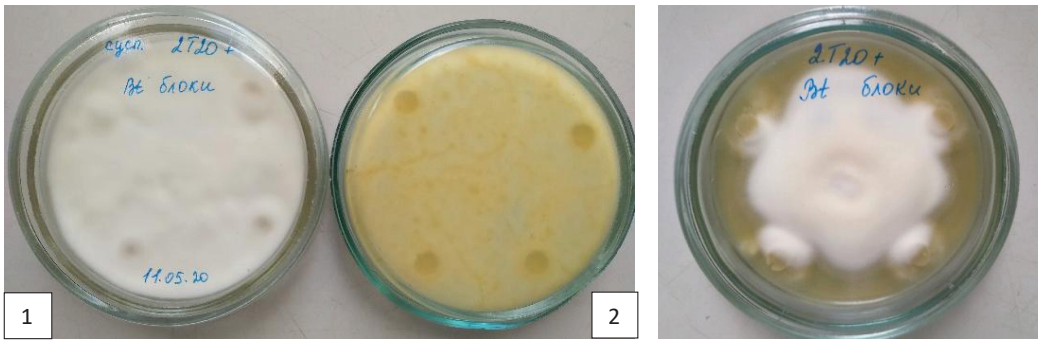
Энтомопатогенная бактерия *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* (*Bt*) аэробная, грамположительная, в конце вегетативного роста образует споры. Бактерии *Bt* отличаются от других родственных видов формированием в течение споруляции кристалических параспоральных включений (дельта-эндотоксинов), это наиболее распространенный вид энтомопатогенных бактерий, широко используемый в качестве препаратов для биологического контроля растительноядных и кровососущих насекомых по всему миру благодаря своей способности эффективно бороться с целевыми вредителями экономически важных культур [6, 7].

Биопестициды на основе бактерий *Bt* проявляют ярко выраженный механизм кишечного действия. Во время питания обработанными биопестицидами растениями эндотоксины попадают в кишечник насекомого, где активируются пищеварительными ферментами и приводят к образованию пор в клеточной мембране, нарушается осмотическое равновесие, целостность кишечника, за которым следует паралич и гибель вредителя [7].

Для усиления биологической эффективности биопестицидов в настоящее время отмечена тенденция создания смесевых комплексов для защиты растений. Это могут быть бактериально-грибные смеси, грибные смеси одной видовой принадлежности продуцентов, но с различной эффективностью, грибные смеси с принадлежностью продуцентов к различным классам грибов, бактериальные смеси и т.д. Применение бактериально-грибных смесей биопрепаратов способствует подавлению иммунных защитных систем насекомых вследствие развития бактериозов, увеличение их восприимчивости к грибной инфекции и это выражается в повышении смертности вредителей [8].

Для создания и применения смесевых комплексных биосредств необходимо иметь сведения о взаимоотношениях агентов, составляющих смеси. Проведенные эксперименты по совместному культивированию гифомицета *Lecanicillium lecanii* и энтомопатогенной бактерии *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* показали, что при засеве картофельно-глюкозной агаровой пластинки суспензией гриба *Lecanicillium lecanii* сплошным «газоном» с последующим посевом блочками бактериальной культуры *B. thuringiensis* (4 блочка), наблюдался быстрый рост гриба, в

течение нескольких дней заселивших бактериальные блоки. Было определено, что обе культуры не проявляют антагонизм по отношению друг к другу, не продуцируют биологически активные вещества для угнетения или подавления одного организма другим, не образуют стерильных зон отсутствия роста. При посеве культур блоками: 1 блок гриба *L. lecanii* в центре и 4 блока бактерии *B. thuringiensis* у стенок чашки Петри антагонизма также не наблюдалось (рис. 1, a, b).



a) b)

Рис. 1. a) Двойная культура энтомопатогенного гриба *L.lecanii* 2T20 (суспензия) и бактерии *B. thuringiensis var. thuringiensis* (блоки), 1 – лицевая сторона чашки, 2 – реверс, b) посев двух культур блоками

При засеве картофельно-глюкозной агаровой пластинки бактериальной суспензией *Bt* и посеве грибной культуры блочками (4 блочка), отмечен хороший рост грибного штамма по засеянной бактерией агаровой пластинке без проявлений антагонизма (рис. 2).

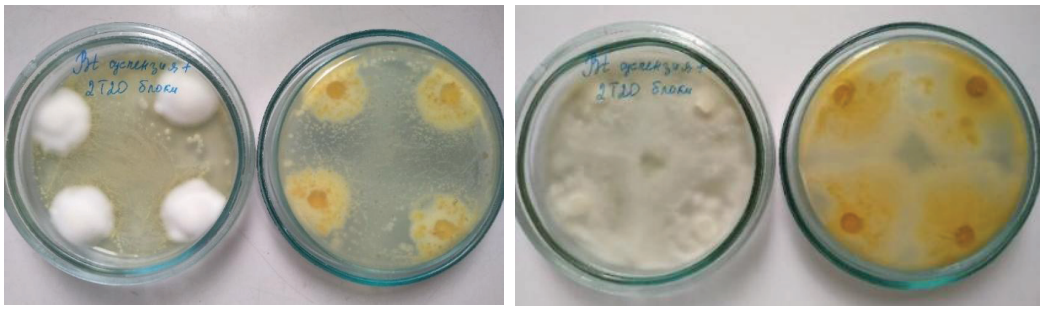


Рис. 2. Двойная культура бактерии *B. thuringiensis var. thuringiensis* (суспензия) и энтомопатогенного гриба *L. lecanii* 2T20 (блоки), a) 11 - й день роста, b) 30 - й день роста

ВЫВОДЫ

Из проведенных исследований следует, что энтомопатогенные микроорганизмы – гифомицет *Lecanicillium lecanii* и бактерия *Bacillus thuringiensis var.*

thuringiensis не проявляют антагонизма друг к другу и могут применяться в комплексной смеси для защиты растений от сосущих вредителей в условиях закрытого грунта.

Nota bine: Исследования проведены в рамках проекта Государственной Программы 011103 «Elaborarea mijloacelor ecologic inofensive de reducere a impactului organismelor dăunătoare ale culturilor agricole pe fondalul schimbărilor climatice».

БИБЛИОГРАФИЯ

1. АХАТОВ, А.К., ИЖЕВСКИЙ, С.С., МЕШКОВ, Ю.И., БОРИСОВ, Б.А., ВОЛКОВ, О.Г., ЧИЖОВ, В.Н. *Защита тепличных и оранжерейных растений от вредителей.* М: Товарищество научных изданий КМК. 2004. 307 с. ISBN 5-87317-161-0.
2. ИВАНОВА, Г.П., ВЕЛИКАНЬ, В.С., КОРНИЛОВ, В.Г., МАММАЕВА, Н.Л. Скорость формирования резистентности и ее реверсии в популяциях вредителей тепличных культур. В: *Вестник защиты растений*. №1, 2002, с. 15-21. ISSN 1727-1320.
3. ЕГОРОВ, Н.С. *Основы учения об антибиотиках*. М: «Наука». МГУ, 2004. 528 с. ISBN 5-211-04669-2.
4. ZARE R. and GAMS W. A revision of *Verticillium* sect. *Prostrata*. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen. nov. In: *Nova Hedwigia*. 2001. v. 73 (1), p. 1-50. doi: 10.1127/nova.hedwigia/71/2001/1.
5. ЛЕДНЕВ, Г.Р., ДОЛГИХ, В.В., ПАВЛЮШИН, В.А. Стратегии паразитизма энтомопатогенных микроорганизмов и их роль в снижении численности фитофагов. В: *Вестник защиты растений*. 2013, nr. 3, с. 3-17. ISSN 1727-1320.
6. ПАВЛЮШИН, В.А., НОВИКОВА, И.И., БОЙКОВА, И.В. Микробиологическая защита растений в технологиях фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: теория и практика (обзор). В: *Сельскохозяйственная биология*, 2020, т. 55, № 3, с. 421-438. doi: 10.15389/agrobiology.2020.3.421rus.
7. ORTIZ, A., SANSINENEA, E. *Bacillus thuringiensis* based biopesticides for integrated crop management. In: J. *Biopesticides*, 2022, v.2, P. 1-6. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823355-9.00015-8.
8. КРЮКОВ, В.Ю., ХОДЫРЕВ, В.П., ЯРОСЛАВЦЕВА, О.Н., КАМЕНОВА, А.С., ДУЙСЕМБЕКОВ, Б.А., ГЛУПОВ, В.В. Синергическое действие энтомопатогенных гифомицетов и бактерий *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* при инфицировании личинок колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata*. В: *Прикладная биохимия и микробиология*. 2009, т. 45, №5, с. 571-576. ISSN print: 0555-1099.