

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА БАЦИКОЛА*

С.Д. ГРИШЕЧКИНА

Для биологической защиты сельскохозяйственных культур применяют различные группы агентов. Одни из наиболее перспективных и широко используемых для создания микробиологических препаратов — бактерии рода *Bacillus*, обладающие патогенными свойствами в отношении вредных насекомых и фитопатогенов. Доминирующая роль принадлежит биопрепаратам, созданным на основе *Bacillus thuringiensis* (Bt). Идентифицировано более 70 разновидностей Bt. Эти бактерии способны длительное время сохранять жизнеспособность после обработки растений. Для биоконтроля насекомых в агроценозах чаще всего применяются препараты на основе трех патовариантов Bt: патовар А (подвиды Bt, кристаллы эндотоксинов которых с наибольшей активностью влияют на чешуекрылых из отряда *Lepidoptera*), патовар В (подвиды Bt, которые поражают личинок кровососущих комаров и мошек, а также растительноядных комаров из отряда *Diptera*) и патовар С (подвиды Bt, активные против жуков *Coleoptera*). Выявлен также новый патовар этой бациллы — F (fungi, грибы). *B. thuringiensis* обладает физиологическими и биохимическими свойствами, обеспечивающими усвоение питательных субстратов, а также антибиоз в отношении партнеров по биоценозу. Во Всероссийском НИИ сельскохозяйственной микробиологии (г. Санкт-Петербург—Пушкин) создан биопрепарат бацикол энтомопатогенного действия на основе *B. thuringiensis* var. *darmstadensis* (H₁₀), содержащий компоненты культуральной жидкости, споры, энтомоцидные и фунгицидные экзо- и эндотоксины, благодаря которым он обладает полифункциональными свойствами. В настоящей работе обобщены полученные нами данные по эффективности препарата бацикол (на основе BtH₁₀) против различных вредителей сельскохозяйственных культур. В исследованиях использовали биопрепарат в жидкой форме (титр спор $3,5 \times 10^9$ /мл). Полевые и вегетационные испытания проводили в 1994-2013 годах в разных регионах РФ (Ленинградской, Новосибирской, Волгоградской областях, Северной Осетии, Ставропольском и Приморском краях). Против вредителей-фитофагов вегерирующие растения опрыскивали бациколом. В борьбе с фитопатогенами использовали разные технологии применения препарата в соответствии с типом паразитизма и экологическими особенностями грибов: опрыскивание, полив почвы, обработку семенного материала. Эффективность бацикола против фитофагов варьировала от 50 до 100 %. В полевых опытах при опрыскивании растений земляники против серой гнили этот показатель составил 60-74 %. В вегетационных условиях против фузариозного увядания эффективность исследуемого биопрепарата составляла на томатах 74-87 %, на льне — 34-42 %. При замачивании семян ячменя в бациколе его эффективность против гельминтоспориозной корневой гнили оказалась равной 66-71 %, при замачивании клубней картофеля против ризоктониоза — 40-45 %. На основании полученных результатов выявлен спектр активности бацикола. Наши данные позволяют расширить представления о биологических особенностях Bt и, в частности, о его действии на представителей различных групп вредителей и возбудителей опасных заболеваний многих культурных растений. Представленные материалы дают возможность рассматривать *B. thuringiensis* в качестве основы микробиологических препаратов с полифункциональной активностью, что позволит расширить сферу его применения и будет способствовать улучшению экологической обстановки в агроценозах.

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*, бацикол, насекомые-фитофаги, фитопатогенные грибы, биологическая эффективность.

Для биологической защиты сельскохозяйственных культур применяют различные группы агентов контроля вредных объектов. В настоящее время значительное внимание уделяется бактериям, выполняющим фито-защитные функции. Бактерии рода *Bacillus* — одни из наиболее перспективных и широко используемых для создания биопрепаратов. Они обладают патогенными свойствами в отношении вредных насекомых-фитофагов и фитопатогенов (1-14). Доминирующая роль принадлежит препаратам на основе *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt). В мировой практике Bt исполь-

* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Соглашение № 14.604.21.0024, RFMEFI60414X0024).

зуют в качестве безопасного энтомоцидного средства, его доля на рынке биопестицидов — около 90-95 %.

Высокие адаптивные возможности аэробных спорообразующих бактерий группы тюрингиенсис в различных экстремальных условиях обуславливают их широкое распространение в природе. Наибольшее количество бактерий изолируется из почвы, они часто встречаются в воде, а также выделяются из больных насекомых и их трупов. Идентифицировано более 70 разновидностей Bt, в значительной степени эффективных против фитофагов из отрядов *Lepidoptera*, *Coleoptera*, *Diptera* и *Hymenoptera*. Бактерии Bt способны длительное время сохранять жизнеспособность после обработки растений. Они обладают высокой селективностью, эффективны в отношении целевых объектов, безопасны для человека, теплокровных животных и полезных организмов (15). Антифидантное, тератогенное и дерепродуктивное свойства обеспечивают их высокую биологическую эффективность. Биопрепараты, созданные на основе Bt, технологичны при производстве и применении.

Для биоконтроля насекомых в агроценозах наиболее широко используются препараты на основе трех патовариантов Bt. Патовар А — подвиды Bt, кристаллы эндотоксинов которых с наибольшей активностью влияют на чешуекрылых (*Lepidoptera*). Они служат продуцентами таких биопрепаратов, как битоксибациллин (Bt var. *thuringiensis*), дендробациллин (Bt var. *dendrolimus*), энтобактерин (Bt var. *galleria*), лепидоцид (Россия), дипел (США), бактоспеин (Bt var. *kurstaki*) (Франция) и ряд других. Насчитывается свыше 70 видов насекомых, чувствительных к этому патоварианту. Патовар В — подвиды Bt (Bt var. *israelensis*), применяемые как продуценты ларвицидных биопрепаратов: бактокулицида, бактицида (Россия), бактимоса (Франция), текнара (Швейцария), вектобака (США) и др., которые поражают личинок кровососущих комаров и мошек, а также растительноядных комаров (рисового и шампиньонного) (*Diptera*). Патовар С — подвиды Bt (Bt var. *tenebrionis*, Bt var. *darmstadiensis*), активные против жуков (*Coleoptera*), служат продуцентами биопрепаратов децимид, колорадо, бацикол (Россия), новодор (Дания) и др. (2). Выявлен также новый патовар этой бациллы — F (fungi, грибы) (1).

Во Всероссийском НИИ сельскохозяйственной микробиологии (ВНИИСХМ) создан бацикол — биопрепарат энтомопатогенного действия на основе *B. thuringiensis* var. *darmstadiensis* (H₁₀), содержащий компоненты культуральной жидкости, споры, энтомоцидные и фунгицидные экзо- и эндотоксины, благодаря которым он обладает полифункциональными свойствами. Предлагаются следующие формы бацикола: сухой порошок, паста и жидкий препарат.

Бацикол по назначению и эффективности подобен битоксибациллину (БТБ). Последний обладает энтомоцидным действием в отношении широкого круга вредителей-фитофагов. Он рекомендован для применения против гусениц капустной совки (*Mamestra brassicae* L.), капустной и репной белянок (*Pieris brassicae*, *P. rapae* L.) на капусте; гусениц лугового мотылька (*Loxostege sticticalis* L.) на посевах свеклы, люцерны, подсолнечника, моркови, капусты; гроздевой листовертки (*Polychrosis botrana* Schiff.) на винограде; гусениц хлопковой совки (*Heliothis zea* F.), озимой совки (*Scotia segetum* Schiff.) и карадрины (*Laphigma exigua* Hb.) на хлопчатнике; гусениц яблонной и плодовой молей (*Yponomeuta malinellus* Zell., *Y. padellus* L.), боярышницы (*Aporia crataegi* L.), американской белой бабочки (*Hypanthria cunea* Drury) на плодовых деревьях и ягодных кустах; боярышниковой листовертки (*Archips crataegana* Hb.), непарного и кольчатого шелко-

прядов (*Ocneria dispar* L. и *Malacosoma neustria* L.), зимней пяденицы (*Operophtera brumata* Cl.), пяденицы обдирало (*Erannis defoliaria* L.), златогузок (*Euproctis chrysorrhoea* L., *E. karghalica* M.) на плодовых и древесных растениях, личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) на картофеле, томатах, баклажанах; паутиного клеща (*Tetranychus urticae* Koch) на огурцах в закрытом грунте, бледноногого крыжовникового пилильщика (*Pristiphora pallipes* Lep.), желтого крыжовникового пилильщика (*Pteronidea ribesii* Scop.) на смородине, крыжовнике и других вредителей (2). Кроме того, на смородине отмечена эффективность БТБ против смородинной узкотелой златки (*Agrilus ribesi* Schaefer) (16). Широкие испытания БТБ, проведенные в различных регионах Российской Федерации и ближнего зарубежья (Краснодарский, Ставропольский край, Северная Осетия, Ленинградская обл. республика Крым, Закарпатье, Беларусь, Литва), показали его высокую эффективность — от 80 до 100 % (2).

Для успешного использования биопрепаратов в защитных мероприятиях необходимо учитывать особенности как самих патогенов, так и насекомых, против которых они применяются. В связи с этим важно знать механизмы их взаимоотношений друг с другом, а также с окружающей средой. *B. thuringiensis*, подобно другим бациллам, обладает физиологическими и биохимическими свойствами, обеспечивающими усвоение питательных субстратов, а также антибиоз в отношении партнеров по биоценозу. Бактерии из рода *Bacillus* характеризуются полиферментативными свойствами. У них обнаружены различные ферменты из класса гидролаз, благодаря чему одновременно проявляется активность против вредных насекомых и фитопатогенных грибов (1, 17-19).

Действие *Bt* на вредителей обуславливается энтомотоксическим, энтомопатогенным и метатоксическим эффектами за счет наличия кристаллов эндотоксина, экзотоксина, фосфолипазы С и спор. Такой набор факторов вирулентности действует в разной степени и в разных сочетаниях на насекомых разных видов. Бактерии вызывают заболевания, которые сопровождаются септициемией — сильным поражением, при котором гемолимфа и ее фагоцитарные и неспецифические механизмы иммунитета уже не в состоянии подавлять размножение микроорганизмов, непрерывно проникающих в нее. Клетки пораженных тканей разрываются, и бактерия-паразит переходит в больших количествах в гемолимфу, вызывая септициемию. Бактерии проникают в эпителий кишечника, где интенсивно размножаются и вызывают гибель насекомых (2).

Механизм антифунгального действия *Bt* связан с рядом факторов. Бактерии продуцируют и выделяют во внешнюю среду литические ферменты, в частности протеазу и хитиназу, которые лизируют клеточные стенки фитопатогенных грибов (20-24). При лизисе содержимое гиф гриба становится источником питания и энергии бацилл. Кроме того, бациллы могут вырабатывать антибиотики, которые угнетающе действуют на грибы (25).

В последнее время много внимания уделяется исследованиям, посвященным образованию бактериями рода *Bacillus* липопептидных циклических антибиотиков, отвечающих за антагонистический эффект (26-32).

Влияние *B. subtilis* на *Fusarium oxysporum* объясняют совместным действием миколитических ферментов и антибиотических веществ (33). Некоторые авторы указывают на связь антибиотической активности с δ -эндотоксином: возможно, у *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* его антифунгальный эффект обусловлен разобщением окислительного фосфорилирования и дыхания у объектов действия (34).

Высокие потери урожая из-за вредителей и болезней в сочетании с

потребностью в экологически чистой продукции делают использование микробиологических препаратов крайне актуальным. Однако по сравнению с химическими пестицидами их ассортимент меньше, поэтому необходимо создавать и использовать новые рецептуры.

Наши исследования позволили оценить спектр действия и выявить эффективность разработанного во ВНИИСХМ биопрепарата бацикола в отношении массовых вредителей, преимущественно вредителей фитофагов из отряда жесткокрылых (*Coleoptera*) (35), а также против фитопатогенов, вызывающих болезни растений (36), что расширяет возможности его применения.

В настоящей работе мы обобщили результаты изучения эффективности бацикола против вредителей и фитопатогенов на ряде сельскохозяйственных культур в разных зонах и при различных технологиях выращивания.

Методика. Полевые и вегетационные испытания проводили в 1994–2013 годах в разных областях России. В исследованиях использовали инсектицидный биопрепарат бацикол (ВНИИСХМ) в жидкой форме (титр спор $3,5 \times 10^9$ /мл). Опыты проводили в 3-кратной повторности.

На картофеле (сорта Невский, Луговской, Елизавета) действие бацикола против колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) изучали в хозяйствах Ленинградской и Новосибирской областей. Посадки картофеля площадью 200 м², заселенные колорадским жуком, опрыскивали препаратом из расчета 12–15 л/га с расходом рабочей жидкости 400 л/га. Учеты осуществляли на 25 растениях, отобранных по диагонали участка, до обработки и на 5–10-е сут после нее.

У земляники сорта Царскосельская растения опрыскивали в период выдвижения бутонов в Ленинградской области на участках площадью 100 м². Норма применения препарата — 15 л/га. Поврежденность бутонов землянично-малинным долгоносиком (*Anthonomus rubi* Hbst.) учитывали до обработки, а также на 10-е и 20-е сут на 25 растениях. Поражение ягод серой гнилью оценивали до обработки и на 20-е сут.

На брюкве, рапсе, горчице, капусте эффективность препарата (12 л/га) против крестоцветных блошек (*Phyllotreta*), капустного листоеда (*Phaedon cochleariae* F.) изучали в Ленинградской, Новосибирской, Волгоградской областях на участках площадью 50 м². Учеты проводили до обработки, на 5-е и 10-е сут после нее. Просматривали по 20 растений и подсчитывали процент заселенных.

Обработку растений моркови (15 л/га) против морковной листоблошки (*Trioza apicalis* Frst.) проводили на делянках площадью 25 м² (учеты до обработки и на 10-е сут на 20 растениях).

Растения малины против малинного клеща *Eriophyes gracillus* Nal. обрабатывали бациколом (15 л/га). В выборке из 10–30 листьев подсчитывали число клещей до и после обработки.

Цветочные культуры против трипсов (*Thysanoptera*) опрыскивали (20 л/га) в теплицах. Процент заселенных растений подсчитывали до обработки и на 10-е сут.

На гречихе сорта Изумруд в Приморском крае (г. Уссурийск) испытывали действие бацикола (20 л/га) против гречишного долгоносика (*Rhinoncus sibiricus* Faust). Обрабатывали вегетирующие растения. Поврежденность учитывали в фазу всходов на листьях, в период цветения и перед уборкой на стеблях.

При оценке эффективности бацикола против фитопатогенных грибов использовали технологии применения, соответствующие типу паразитизма и экологическим особенностям патогена. Вегетирующие растения

земляники сорта Царкосельская обрабатывали бациколом (15 л/га) против серой гнили (*Botrytis cinerea*), распространение которой оценивали по числу пораженных ягод. Против возбудителя фузариозного увядания томатов и льна (*Fusarium oxysporum*) почву, инфицированную фитопатогеном, поливали препаратом из расчета 100 мл/кг. Эффективность предпосевной обработки семян изучали на льне — против фузариозного увядания, на ячмене — против гельминтоспориозной корневой гнили (*Bipolaris sorokiniana*) и на картофеле — против ризоктониоза (*Rhizoctonia solani*). Семенной материал 3 ч замачивали в препарате. Искусственные инфекционные фоны создавали согласно методическим указаниям (37, 38).

Распространение (Р) и развитие (R) болезни оценивали по формулам (39): $P = A \times 100/N$, где Р — доля больных растений, %, А — число больных растений, N — общее число растений в пробах; $R = \Sigma(a \times v)/N \times K$, где R — степень развития болезни, %; $\Sigma(a \times v)$ — сумма произведения числа пораженных растений (а) на соответствующий балл (v); N — общее число учтенных растений; K — высший балл поражения шкалы.

Пораженность фузариозным увяданием на льне учитывали по шкале Н.И. Лошаковой с соавт. (40), на томатах — по С.Д. Гришечкиной с соавт. (36). Пораженность растений ячменя корневой гнилью оценивали по шкале ВИЗР (Всероссийский НИИ защиты растений, г. Санкт-Петербург) (41). Пораженность клубней картофеля ризоктониозом учитывали в соответствии с методическими указаниями (42).

Результаты. Ранее было установлено действие бацикола на Colorado Colorado жука. Обработки растений картофеля, проведенные в Ставропольском и Краснодарском краях, Волгоградской и Ленинградской областях, в Северной Осетии показали высокую (до 96-100 %) активность препарата против этого вредителя (2).

Бацикол проявил эффективность в отношении опасных массовых вредителей: крестоцветных блошек из рода *Phyllotreta* (43), восточного горчичного листоеда *Colaphellus hoefti* Men., хлебной полосатой блошки *Phyllotreta vittula* Redt., рапсового цветоеда *Meligethes aeneus* F., капустного листоеда *Phaedon cochleariae* F., ильмового листоеда *Xanthogaleruca luteola* Müller (44), злаковой пядицы *Oulema melanopus* L., крестоцветных клопов (*Eurydema*), щитовок (*Diaspididae*) (2), землянично-малинного долгоносика *Anthonomus rubi* Hbst. (45), гречишного долгоносика *Rhinoncus sibiricus* Faust (46), морковной листоблошки *Trioza apicalis* Frst., малинного клеща *Eriophyes gracilis* Nal. (47), трипсов *Thysanoptera* (48) (табл.).

Эффективность жидкой формы препарата бацикола на основе *Bacillus thuringiensis* var. *darmstadiensis* (H₁₀), разработанного во Всероссийском НИИ сельскохозяйственной микробиологии (г. Санкт-Петербург) против вредителей-фитофагов на различных сельскохозяйственных культурах (1994-2013 годы)

Вредитель	Культура	Место проведения испытаний	Биологическая эффективность, %
Колорадский жук <i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say	Картофель	Новосибирская и Ленинградская обл.	96-100
Крестоцветные блошки из р. <i>Phyllotreta</i>	Капуста	Новосибирская и Ленинградская обл.	92-96
Восточный горчичный листоед <i>Colaphellus hoefti</i> Men.	Горчица	Волгоградская обл.	98
Хлебная полосатая блошка <i>Phyllotreta vittula</i> Redt.	Яровые зерновые	Ставропольский край	89
Злаковая пядица <i>Oulema melanopus</i> L.	Зерновые	Ставропольский край	82-100
Рапсовый цветоед <i>Meligethes aeneus</i> F.	Рапс	Волгоградская обл.	75-80
Капустный листоед <i>Phaedon cochleariae</i> F.	Капуста	Волгоградская обл.	82,5-98,9
Ильмовый листоед <i>Xanthogaleruca luteola</i> Müller	Капуста	Волгоградская обл.	86-90

Землянично-малинный долгоносик <i>Anthonomus rubi</i> Hbst.	Земляника	Ленинградская обл.	75-80
Гречишный долгоносик <i>Rhinoncus sibiricus</i> Faust	Гречиха	Приморский край	56
Морковная листоблошка <i>Trioza apicalis</i> Frst.	Морковь	Ленинградская обл.	47,2
Малинный клещ <i>Eriophyes gracilis</i> Nal.	Малина	Ленинградская обл.	96,3
Трипсы <i>Thysanoptera</i>	Цветочные культуры	Ленинградская обл.	80-90

При изучении эффективности биопрепарата против землянично-малинного долгоносика было выявлено его действие на возбудителя серой гнили *Botrytis cinerea* Pers. у земляники. Ранее в опытах *in vitro* мы наблюдали антифунгальное действие бацикола в отношении ряда фитопатогенных грибов. При внесении препарата в среду в концентрации 10 % отмечали ингибирование роста колоний грибов *Botrytis cinerea* Pers. на 100 %, *Pythium* sp. — на 80 %, *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker — на 70 %, *Verticillium dahliae* Kleb. — на 52 %, *Rhizoctonia solani* Kuhn — на 42 %, *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. — на 51 %, *F. oxysporum* Schlecht. — на 43 %, *F. solani* App. et Wr. — на 26 % (49).

Эффективность препарата в отношении ряда фитопатогенов была подтверждена в полевых и вегетационных опытах. При опрыскивании растений земляники против возбудителя серой гнили она составляла 60-74 % (44); при поливе почвы против фузариозного увядания на томатах — 74-87 % (50), на льне — 34-42 % (51); при замачивании семян ячменя против возбудителя корневой гнили — 66-71 % (52); при обработке клубней картофеля против ризоктониоза — 40-45 % (53).

Таким образом, полученные результаты расширяют представления о биологических особенностях *Bacillus thuringiensis* и, в частности, о его действии на представителей различных групп вредителей и возбудителей опасных заболеваний многих культурных растений. Препарат бацикол наряду с энтомоцидной обладает также и антифунгальной активностью, что имеет технологическую перспективу. Нами было обнаружено его действие на землянично-малинного и гречишного долгоносиков, крестоцветных блошек, морковную листоблошку, малинного клеща, трипсов, а также на возбудителей заболеваний — *Botrytis cinerea* Pers., *Pythium* sp., *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker, *Verticillium dahliae* Kleb., *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. oxysporum* Schlecht, *F. solani* App. et Wr. Включение бацикола в перечень микробиологических препаратов может расширить ассортимент биологических средств защиты растений и сферу их применения, что будет способствовать получению экологически чистого продовольствия и охране окружающей среды.

ЛИТЕРАТУРА

- Смирнов О.В., Гришечкина С.Д. Полифункциональная активность *Bacillus thuringiensis* Berliner. Сельскохозяйственная биология, 2011, 3: 123-126.
- Кандыбин Н.В., Патыка Т.И., Ермолова В.П., Патыка В.Ф. Микробиоконтроль численности насекомых и его доминанта *Bacillus thuringiensis* /Под ред. Н.В. Кандыбина. СПб—Пушкин, 2009.
- Штерншис М.В. Микробные препараты для управления здоровьем растений. В сб. науч. тр.: Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. Т. 5. Минск, 2013: 394-410.
- Бахвалов С.А., Цветкова В.П., Шпатова Т.В., Штерншис М.В., Гришечкина С.Д. Экологические взаимоотношения в системе: энтомопатогенная бактерия *Bacillus thuringiensis* — фитопатогенный гриб *Rhizoctonia solani* — растение-хозяин *Solanum tuberosum*. Сибирский экологический журнал, 2015, 4: 643-650.
- Polanczyk R.A., Pires da Silva R.F., Fiuza L.M. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* against *Spodoptera frugiper* (Lepidoptera: Noctuidae). Brazil. J. Microbiol., 2000, 31: 165-167 (doi: 10.1590/S1517-8382200000300003).

6. Zhong C.H., Ellar D.J., Bishop A., Johnson C., Lin S.S., Hart E.R. Characterization of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin which is toxic to insects in three orders. *J. Invert. Pathol.*, 2000, 76: 131-139.
7. Yoshida S., Hiradate S., Tsulamoto T., Hatakeda K., Shirata A. Antimicrobial activity of culture filtrate of *Bacillus amyoligaeufaciens* Rc-2 isolated from mulberry leaves. *Phytopathol.*, 2001, 91: 181-187.
8. Knaak N., Rohr A., Fiuza L. In vitro effect of *Bacillus thuringiensis* strains and Cry-proteins in phytopathogenic fungi of paddy rice-field. *Brazil. J. Microbiol.*, 2007, 38(3): 526-530 (doi: 10.1590/S1517-83822007000300027).
9. Mojica-Marin V., Luna-Olvera H., Sandoval-Coronado C., Pereyra-Alferes B., Morales-Ramos L., Hernandez-Luna C., Alvarado-Gomez O. Antagonistic activity of selected strains of *Bacillus thuringiensis* against *Rhizoctonia solani* of chili pepper. *Afr. J. Biotechnol.*, 2008, 7(9): 1271-1276.
10. Eswarapriya B., Gopalsamy B., Kameswari B., Meera R., Devi P. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* IBt-15 strain against *Plutella xylostella*. *Int. J. Pharm Tech Res.*, 2010, 2(3): 2048-2053.
11. Heydari A., Pessarakli M. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. *J. Biol. Sci.*, 2010, 1(4): 273-290 (doi: 10.3923/jbs.2010.273.290).
12. Pane C., Vilecco D., Campanile F., Zaccardelli M. Novel strains of *Bacillus* isolated from compost and compost-amended soils as biological control agents against soil-borne phytopathogenic fungi. *Biol. Sci. Technol.*, 2012, 22(12): 1373-1388 (doi: 10.1080/09583157.2012.729143).
13. Akram W., Mahboob A., Javed A. *Bacillus thuringiensis* strain 199 can induce systemic resistance in tomato against *Fusarium* wilt. *Eur. J. Microbiol. Immunol.*, 2013, 3: 275-280 (doi: 10.1556/EuJMI.3.2013.4.7).
14. Tao A., Pang F., Huang S., Yu G., Li B., Wang T. Characterization of endophytic *Bacillus thuringiensis* strains isolated from wheat plants as biocontrol agents against wheat flag smut. *Biocontrol Sci. Technol.*, 2014, 24(8): 901-924 (doi: 10.1080/09583157.2014.904502).
15. Siegel J.P. The mammalian safety *Bacillus thuringiensis* based insecticides. *J. Invert. Pathol.*, 2001, 77: 13-21 (doi: 10.1006/jipa.2000.5000).
16. Зейналов А.С., Чурилина Т.Н. Экологизированная защита черной смородины от смородинной узкотелой златки (*Agrius ribesi* Schaefer). *Плодоводство и ягодоводство России (М.)*, 2012, 2(1): 192-199.
17. Loseva O., Ibrahim M., Candas M., Koller C.N., Bauer L.S., Bulla L.A. Changes in protease activity and Cry3Aa toxin binding in the Colorado potato beetle: implications for insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2002, 32: 567-577 (doi: 10.1016/S0965-1748(01)00137-0).
18. Wagner W., Möhrle F., Schnetter W. Characterization of the proteolytic enzymes in the midgut of the European Cockchafer, *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabidae). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2002, 32: 803-814 (doi: 10.1016/S0965-1748(01)00167-9).
19. Saguez J., Hainez R., Cherqui A., Van Wuytswinkel O., Jeanpierre H., Lebon G., Noiraud N., Beaujean A., Jouanin L., Laberche J.-C., Vincent C., Giordanengo P. Unexpected effects of chitinases on the peach-potato aphid (*Myzus persicae* Sulzer) when delivered via transgenic potato plants (*Solanum tuberosum* Linne) and in vitro. *Transgenic Research*, 2005, 14: 57-67 (doi: 10.1007/s11248-004-3100-4).
20. Reyes-Ramirez A., Escudero-Abarca B.L., Aguilar-Uscanga G., Hayward-Jones P.M., Barboza-Corona J.E. Antifungal activity of *Bacillus thuringiensis* chitinase and its potential for the biocontrol of phytopathogenic fungi in soybean seeds. *J. Food Sci.*, 2004, 69(5): M131-M134 (doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb10721.x).
21. Xiao L., Xie C.C., Cai J., Lin Z.J., Chen Y.H. Identification and characterization of chitinase producing *Bacillus* slowing significant antifungal activity. *Cur. Microbiol.*, 2009, 58(5): 528 (doi: 10.1007/s00284-009-9363-5).
22. Seo D.J., Nguyen D.M., Song Y.S., Jung W.J. Induction of defense response against *Rhizoctonia solani* in cucumber plant by endophytic bacterium *Bacillus thuringiensis* GS1. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, 22(3): 407-415 (doi: 10.4014/jmb.1107.07027).
23. Martinez-Absalón S., Rojas-Solis D., Hernandez-León R., Prieto-Barajas C., Orozco-Mosqueda M., Peña-Cabriales J., Sakuda S., Valencia-Cantero E., Santoyo G. Potential use and mode of action of the new strain *Bacillus thuringiensis* UM96 for the biological control of the grey mould phytopathogen *Botrytis cinerea*. *Biocontrol Sci. Technol.*, 2014, 24(12): 1349-1362 (doi: 10.1080/09583157.2014.940846).
24. Yu G.Y., Sinclair J.B., Hartman G.L., Bertagnolli B.L. Production of iturin A by *Bacillus amyoliquefaciens* suppressing *Rhizoctonia solani*. *Soil Biol. Biochem.*, 2002, 34: 955-963 (doi: 10.1016/S0038-0717(02)00027-5).
25. Shrestha A., Sultana R., Chae J.-C., Kim K., Lee K.J. *Bacillus thuringiensis* C25 which is rich in cell wall degrading enzymes efficiently controls lettuce drop caused by *Sclerotinia minor*. *Eur. J. Plant Pathol.*, 2015, 142: 577-589 (doi: 10.1007/s10658-015-0636-5).
26. Hathout Y., Ho Y., Ryzhov V., Demirev P., Fenselau C. Kurstakins: a new

- class of lipopeptides isolated from *Bacillus thuringiensis*. J. Nat. Products, 2000, 63: 1492-1496.
27. Kim P.I., Bai H., Bai D., Chae H., Chung S., Kim Y., Park R., Chi Y.-T. Purification and characterization of a lipopeptide produced by *Bacillus thuringiensis* CMB26. J. Appl. Microbiol., 2004, 97: 942-949 (doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02356.x).
 28. Stein T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. Molecular Microbiology, 2005, 56(4): 845-857 (doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04587.x).
 29. Zhou Y., Choi Y., Sun M., Yu Z. Novel role of *Bacillus thuringiensis* to control plant diseases. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2008, 80(4): 563-572 (doi: 10.1007/s00253-008-1610-3).
 30. Kim P.I., Ryu J., Kim Y.H., Chi Y.-T. Production of biosurfactant lipopeptides Iturin A, fengycin and surfactin A from *Bacillus subtilis* CMB32 for control of *Colletotrichum gloeosporioides*. J. Microbiol. Biotechnol., 2010, 20(1): 138-145.
 31. Yáñez-Mendizábal V., Zerriouh H., Viñas I., Torres R., Usall J., de Vicente A., Pérez-García A., Teixidó N. Biological control of peach brown rot (*Monilinia* spp.) by *Bacillus subtilis* CPA-8 is based on production of fengycin-like lipopeptides. Europ. J. Plant Pathol., 2012, 132: 609-619 (doi: 10.1007/s10658-011-9905-0).
 32. Elkahoui S., Djébalin N., Karkouch I., Hadj Ibrahim A., Kalai L., Bachkouel S., Tabbene O., Limam F. Mass spectrometry identification of antifungal lipopeptides from *Bacillus* sp. BCLR2 against *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*. Appl. Biochem. Microbiol., 2014, 50(2): 161-165 (doi: 10.1134/S0003683814020082).
 33. Ассатурова А.М. Перспективные штаммы бактерий — продуценты микробиопрепаратов для снижения вредоносности фузариоза на подсолнечнике. Автореф. канд. дис. СПб—Пушкин, 2009.
 34. Каменек Л.К., Каменек Д.В., Тюльпинаева А.А., Терпиловский М.А. Действие дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* в отношении фитопатогенных грибов родов *Phytophthora* и *Fusarium*. Биотехнология, 2008, 5: 76-83.
 35. Кандыбин Н.В., Смирнов О.В., Барбашова Н.М. Новый энтомоцидный препарат со специфическим действием на жесткокрылых. Мат. Всерос. науч.-практ. совещания. Пушкино, 1994: 179-181.
 36. Гришечкина С.Д., Смирнов О.В., Кандыбин Н.В. Фунгистатическая активность различных подвидов *Bacillus thuringiensis*. Микология и фитопатология, 2002, 36(1): 58-62.
 37. Котова В.В. Методические указания по изучению вредоносности корневой гнили яровой пшеницы и ячменя и методы расчета потерь от болезней. Л., 1979.
 38. Сидорова С.Ф., Попов В.И. Методические указания по изучению вертициллезного и фузариозного увядания сельскохозяйственных растений. Л.—Пушкин, 1980.
 39. Власов Ю.И., Гаврилова Е.А., Минкевич И., Чумаков А.Е. Основные методы фитопатологических исследований. М., 1974.
 40. Лошакова Н.И., Крылова Т.В., Кудрявцева Л.П. Методические указания по фитопатологической оценке устойчивости льна-долгунца к болезням. Торжок, 2006.
 41. Тупеневич С.М., Хохряков М.К., Чумаков А.Е. Рекомендации по борьбе с корневыми гнилями пшеницы и ячменя. Л., 1962.
 42. Методические указания по оценке селекционного материала на устойчивость к фитофторозу, ризоктониозу, бактериальным болезням и механическим повреждениям. М., 1980.
 43. Смирнов О.В., Бородавко Н.Б., Гришечкина С.Д. Бацикол в защите капусты от крестоцветных блошек. Тез. докл. 1-го Всерос. съезда по защите растений. СПб, 1995: 367-368.
 44. Смирнов О.В. Патотипы *Bacillus thuringiensis* и экологические основы их использования в защите растений. Автореф. докт. дис. СПб—Пушкин, 2000.
 45. Гришечкина С.Д. Эффективность микробиологического препарата *Bacillus thuringiensis* H₁₀ на землянике. Мат. Межд. науч.-практ. конф. «Агротехнический метод защиты растений». Краснодар, 2013: 313-316.
 46. Гришечкина С.Д., Кузнецова А.В. Бацикол против гречишного долгоносика. Защита и карантин растений, 2012, 3: 28-29.
 47. Анисимов А.И., Доброхотов С.А., Гришечкина С.Д. Эффективность микробиологических препаратов в борьбе с основными вредителями овощных, ягодных культур и картофеля в Ленинградской области. Мат. Межд. конф. «Инфекционная патология членистоногих». СПб—Пушкин, 2012: 9-11.
 48. Кандыбин Н.В., Смирнов О.В., Гришечкина С.Д., Столова О.В., Красавина Л.П. Испытание микробиологического препарата бацикол на цветах против трипсов (*Thysanoptera*). Мат. VII съезда Российского энтомологического общества. СПб, 1997: 177-178.
 49. Гришечкина С.Д., Смирнов О.В., Кандыбин Н.В. Перспективы применения *Bacillus thuringiensis* против некоторых фитопатогенных грибов. Тез. докл. 2-го Всерос. съезда по защите растений. СПб, 2005: 155-157.
 50. Гришечкина С.Д., Смирнов О.В. Вегетационная и полевая оценка антифунгального эффекта *Bacillus thuringiensis*. Вестник защиты растений, 2010, 3: 44-50.
 51. Гришечкина С.Д., Лошакова Н.И. Эффективность микробиопрепарата на осно-

- ве ВТ в борьбе с фузариозным увяданием льна. Агро XXI, 2013, 10-12: 18-19.
52. Гришечкина С.Д. Эффективность *Bacillus thuringiensis* H₁₀ в борьбе с гельминтоспориозной корневой гнилью зерновых культур. Мат. Межд. науч.-практ. конф. «Защита растений в современных технологиях возделывания сельскохозяйственных культур». Краснообск, 2013: 112-114.
53. Цветкова В.П., Штерншис М.В., Гришечкина С.Д. Проявление полифункциональной активности бацикола на картофеле. Мат. Межд. науч.-практ. конф. «Инновационные технологии применения биологических средств защиты растений в производстве органической сельскохозяйственной продукции». Краснодар, 2014: 301-305.

ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной
микробиологии,

196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3,
e-mail: svetagrishechkina@mail.ru

Поступила в редакцию
17 июня 2015 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2015, V. 50, № 5, pp. 685-693

MECHANISM AND ACTIVITY SPECTRUM OF MICROBIOLOGICAL PREPARATION BATSIKOL WITH PHYTOPROTECTIVE ACTION

S.D. Grishechkina

All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Federal Agency of Scientific Organizations, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail svetagrishechkina@mail.ru

Acknowledgements

Supported by Ministry of Education and Sciences of the Russian Federation (Agreement No 14.604.21.0024, RFMEFI60414X0024).

Received June 17, 2015

doi: 10.15389/agrobiology.2015.5.685eng

Abstract

Various groups of agents are involved in biological crop protection to control pests and diseases. Of them, *Bacillus* genus possessing activity against harmful insects and phytopathogens is most promising and widely used. In this, the biologicals based on *Bacillus thuringiensis* (Bt) dominate. More than 70 varieties of Bt have been identified. These bacteria can survive for a long time after treatment. Preparations based on three Bt serovars (A, B, C) are mostly used for insects' biocontrol. Serovar A Bt subspecies can form crystal endotoxins which are active against *Lepidoptera*; serovar B Bt subspecies attack the larvae of mosquitoes and black flies, and phytophagous *Diptera*; and serovar C Bt subspecies are active against *Coleoptera* beetles. A new serovar F (fungi) of this bacillus was identified. Physiological and biochemical properties of *Bacillus thuringiensis* provide the assimilation of nutrient substrates and antibiosis against biocenosis partners. Batsikol, the biological preparation based on *B. thuringiensis* var. *darmstadiensis* (H₁₀) with entomopathogenic action, was created at All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology (St. Petersburg). Batsikol contains components of culture liquid, spores, insecticidal and fungicidal exo- and endotoxins, due to which it possesses multifunctional properties. The article presents the mechanisms of entomopathogenic and antifungal action of microbial preparations based on Bt. Results of testing Batsikol effectiveness against various pests and diseases in field trials and vegetation experiments are shown. Liquid form of biological product was used in the study (spore titer of 3.5×10^9 /ml). Field and vegetation tests were carried out in 1994-2013 in different regions of Russia (Leningrad, Novosibirsk, Volgograd region, North Ossetia, Stavropol and Primorsky regions). Batsikol was sprayed against phytophagous pests on vegetating plants. The efficacy against pests varied from 50 to 100 %. Different modes of application against phytopathogen were tested according to the type of parasitism and environmental characteristics of fungi (i.e., spraying, irrigation, seed treatment). In field experiments the efficacy of spraying strawberry plants against gray mold was 60-74 %. Soil watering was used against Fusarium wilt on tomatoes and flax with efficacy of 74-87 % and 34-42 %, respectively. When seeds were treated prior to sowing the efficacy was 66-71 % in case of soaking barley seeds against root rot, and 40-45 % while soaking potato tubers against damping-off. Based on the tests conducted with Batsikol in different regions of Russia, the spectrum of its activities against wide range of phytophagous pests and pathogenic fungi was revealed on different crops. The obtained data expand the understanding of Bt biology and, in particular, the action spectrum against various pests and diseases dangerous for many cultivated plants. Presented materials allow considering *Bacillus thuringiensis* as the basis of microbiological preparations with a multifunctional activity. The obtained data will allow expanding the scope of its application, and it will help to improve ecological situation.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, Batsikol, phytophagous insects, phytopathogenic fungi, biological efficiency.