

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный научный центр биологической защиты растений»

На правах рукописи



ГЫРНЕЦ Елена Юрьевна

**БИОЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ,
ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ СОЗДАНИЯ
ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ЗАЩИТЫ ЯБЛОНИ
ОТ *VENTURIA INAEQUALIS* (COOKE) G. WINTER (1875)
И *CYDIA POMONELLA* (LINNAEUS, 1758)**

4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

**Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
Асатурова Анжела Михайловна

Краснодар – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗАЩИТА ЯБЛОНИ <i>MALUS DOMESTICA</i> ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ И БОЛЕЗНЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	11
1.1 Вредители и болезни яблони <i>Malus domestica</i>	16
1.2 Бактерии, обладающие инсектицидной и фунгицидной активностью.....	20
1.3 Методические подходы к изучению инсектицидной и фунгицидной активности микроорганизмов в отношении вредных объектов.....	26
1.4 Микробиопрепараты на основе бактерий с энтомопатогенным и фунгицидным действием для защиты плодовых культур	52
ГЛАВА 2. МЕСТО, УСЛОВИЯ, ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	55
2.1 Место и условия исследований	55
2.2 Объекты исследований	57
2.3 Материалы и методы исследований.....	59
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	73
3.1 Скрининг штаммов бактерий по критерию ферментативной активности для отбора культур с полифункциональным биоконтрольным потенциалом	73
3.2 Идентификация штаммов бактерий	76
3.2.1 Морфолого-культуральная характеристика штаммов бактерий	76
3.2.2 Молекулярно-генетическая идентификация штаммов бактерий	80
3.3 Оценка биоцидного потенциала штаммов бактерий <i>in vitro</i> в отношении экономически значимых возбудителей болезней и вредителя яблони	93

3.3.1 Фунгицидная активность штаммов бактерий в отношении фитопатогенных грибов родов <i>Venturia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Trichothecium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Monilinia</i>	93
3.3.2 Бактерицидная активность штаммов бактерий в отношении фитопатогенных бактерий родов <i>Erwinia</i> , <i>Xantamonas</i> , <i>Pseudomonas</i>	106
3.3.3 Инсектицидная активность штаммов бактерий в отношении <i>Galleria mellonella</i> , <i>Tenebrio molitor</i> , <i>Cydia pomonella</i>	108
3.3.4 Эффективность штаммов бактерий в сравнении с биологическими инсектицидами	115
3.4 Оценка фитотоксичности и совместимости штаммов бактерий для обоснования возможности их использования при создании полифункциональных микробных препаратов	117
3.5 Эффективность полифункциональных экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий в условиях полевых мелкоделяночных опытов на яблоне в отношении возбудителя парши <i>Venturia inaequalis</i> и яблонной плодожорки <i>Cydia pomonella</i> L.....	127
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	138
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДЦИИ	140
СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ.....	141
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	142
ПРИЛОЖЕНИЕ А	186
ПРИЛОЖЕНИЕ Б	187
ПРИЛОЖЕНИЕ В	188
ПРИЛОЖЕНИЕ Г	231
ПРИЛОЖЕНИЕ Д	237

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследований. Яблоня в течение вегетационного периода подвергается воздействию двух основных вредных организмов: яблонной плодожорки *Cydia pomonella* (Linnaeus, 1758) и возбудителя парши *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter (1875), которые способны значительно снижать урожайность и качество плодов. Хотя химические пестициды демонстрируют высокую эффективность против этого возбудителя и фитофага, их применение сопряжено с рядом экологических рисков, включая полное уничтожение полезной энтомофауны и почвенного микробиома [Рославцева С. А., 2006; Occupational exposure of farm..., 2009; Cholinesterase levels and morbidity..., 2011, Seasonal variations in cholinesterase activity..., 2013; Adverse respiratory health..., 2013, Мировой рынок химических средств..., 2024]. При этом анализ литературы подтверждает отсутствие зарегистрированных биопрепараторов на основе микроорганизмов, обладающих одновременной эффективностью против парши и яблонной плодожорки в РФ [Штерншиц М. В., 2012; Овсянникова Е. И., Смирнов С. Н., Гричанов И. Я., 2013.; Перспективы применения бактерий..., 2020; Szpyrka E., Migdal-Pecharroman S., Książek-Trela P., 2025; Государственный каталог пестицидов..., 2025]. В связи с этим перспективным направлением является поиск биоагентов, обладающих комплексом полезных свойств, включая фунгицидную, инсектицидную активность [Plant growth promoting bacteria..., 2017, Долженко Т. В., 2021; Characterization of *Paenibacillus polymyxa*..., 2021, Kamboj N. et al., 2025]. Таким образом, поиск и изучение штаммов бактерий, обладающих полифункциональной активностью в отношении парши и яблонной плодожорки, представляет актуальную научно-практическую задачу, направленную на разработку экологически безопасных биопрепараторов для комплексной защиты яблони.

Степень разработанности темы. Отечественные ученые и практики Мечников И. И., Красильщиков И. М., Талалаев Е. В., Исси И. В., Гукасян А. Б., Евлахина А. А., Павлюшин В. А., Новикова И.И., Долженко В. И., Долженко Т. В.,

Маслиенко Л. В. и др. разработали основополагающие принципы применения энтомопатогенных бактерий, грибов и вирусов для биологического контроля фитофагов сельскохозяйственных и лесных культур.

Большое количество работ посвящено использованию микроорганизмов в сельскохозяйственной практике [Влияние лабораторных образцов биопрепаратов..., 2010; Штерншиц М. В., 2012; Азизбекян Р. Р., 2013; Characterization of multifunctional *Bacillus*..., 2016; Plant growth promoting bacteria..., 2017; Ruiu L., 2018; Fallahzadeh-Mamaghani V., Golchin S., Shirzad A., 2021; Штаммы бактерий из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР..., 2023; Щербакова Т., 2024; Chaudhary A., 2024]. В публикациях многих исследователей рассматривается эффективность применения биоагентов с инсектицидной [Höfte H., Whiteley H. R., 1989; Baum J. A., Carlton J. A., 1999; Pathogenicity and characterization..., 2015; Shapiro-Ilan D., Arthurs S. P., Lacey L. A., 2017; Пат. № 2692655 Рос. Федерация, 2019] и фунгицидной активностью [Discovery and development..., 2003; Якуба Г. В., Маслиенко Л. В, Гусин Д. Н., 2013; Петенко А. И., Гнеуш А. Н., Дмитриев В. И., 2014; Complete genome sequence..., 2025; Design, synthesis, and biological..., 2025], механизмам их действия [Ertürk Ö., Demirba Z., 2006; Bravo A., Gill S. S., Soberon M., 2007; Pathogenicity and characterization..., 2015; Entomopathogenic bacteria species..., 2025]. Представлены работы, направленные на изучение полифункциональных свойств штаммов бактерий [Новикова И.И., 2005; Штерншиц М. В., 2012; Пат. № 2692655 Рос. Федерация, 2019; Deng X., Wang X., Li G., 2022; Volatile metabolites from *Brevundimonas*..., 2023]. На сегодняшний день в Государственном каталоге пестицидов и агрохимикатов РФ отсутствуют зарегистрированные препараты на основе штаммов бактерий, сочетающих одновременно фунгицидную и инсектицидную активность против парши и яблонной плодожорки на культуре яблоня.

Цель работы – осуществить комплексную биоцидную оценку штаммов бактерий, перспективных для создания микробиопрепаратов с полифункциональными свойствами для снижения вредоносности парши *V. inaequalis* и яблонной плодожорки *C. pomonella*.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Осуществить скрининг штаммов бактерий по критерию ферментативной активности для отбора культур с полифункциональным биоконтрольным потенциалом.
2. Провести идентификацию и биоинформационический анализ генетических последовательностей штаммов бактерий, включающий поиск генов, кодирующих белки с потенциальными фунгицидными и инсектицидными свойствами.
3. Оценить биоцидный потенциал штаммов бактерий *in vitro* в отношении экономически значимых возбудителей болезней и вредителя яблони.
4. Оценить фитотоксичность и совместимость штаммов бактерий для обоснования их использования при создании полифункциональных микробных препаратов.
5. Оценить биологическую эффективность экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий в отношении яблонной плодожорки *C. pomonella* и парши *V. inaequalis* в условиях полевого мелкоделяночного опыта на яблоне.

Научная новизна. Впервые дана комплексная оценка штаммов бактерий из биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакариофагов и микроорганизмов» (БРК ФГБНУ ФНЦБЗР), обладающих высокой инсектицидной и фунгицидной активностью *in vitro* в отношении возбудителя парши *V. inaequalis* и яблонной плодожорки *C. pomonella*, перспективных в качестве штаммов-продуцентов бактериальных полифункциональных препаратов. Проанализированы гены штаммов бактерий, кодирующие белки с инсектицидной активностью, а также последовательности генов, отвечающие за синтез фунгицидных липопептидов: итуринов, фенгицинов, сурфактинов. Доказано высокое защитное действие экспериментальных образцов на основе штаммов *Bacillus velezensis* BZR 936, *Bacillus velezensis* BZR 277, *Brevundimonas naejangsanensis* BZR 1159 на яблоне в условиях полевого мелкоделяночного опыта в отношении парши и яблонной плодожорки.

Теоретическая значимость. Впервые исследован фунгицидный и инсектицидный потенциал 17 штаммов бактерий из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР в

отношении основных фитофагов и возбудителей болезней яблони. Получены новые знания о видовом и генетическом разнообразии штаммов бактерий с полифункциональным действием, что расширяет фундаментальные знания о механизмах действия биоагентов в отношении фитопатогенов и фитофагов. Полученные результаты исследований дополняют теоретические представления о возможности разработки новых биологических средств защиты растений с полифункциональным действием в отношении яблонной плодожорки *C. pomonella* и парши яблони *V. inaequalis*.

Практическая значимость. Данные, полученные в ходе полногеномного секвенирования и аннотации геномов, внесены в международную базу данных National Center for Biotechnology Information, что обеспечивает верификацию результатов и создает основу для дальнейшего научно-практического использования. Установлена перспективность использования штаммов бактерий *B. paengsanensis* BZR 1159, *B. velezensis* BZR 277, *B. velezensis* BZR 936 в качестве основы микробиопрепараторов полифункционального действия для защиты яблони от парши *V. inaequalis* и яблонной плодожорки *C. pomonella*. По результатам исследований создана база данных, которая используется преподавателями, аспирантами и студентами в качестве теоретического и практического материала в образовательном процессе – при подготовке бакалавров, магистров ФГБОУ ВО Кубанского государственного университета (КубГУ) по направлению «Биология» и аспирантов ФГБНУ ФНЦБЗР по специальности «Агрохимия, почвоведение, защита и карантин растений».

Методология и методы исследований. Методологической и теоретической основой диссертационной работы являлись труды отечественных и зарубежных ученых. При выполнении работы использовали общепринятые микробиологические, фитопатологические, энтомологические, молекулярно-генетические и статистические методы исследований.

Положения, выносимые на защиту:

1. Генетическая основа полифункционального действия штаммов из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР обусловлена наличием генов, кодирующие белки, ответственных

за инсектицидную (GroEL, Spp1Aa1, Spp1Aa2, Vpb1Ab1, Vpb4Ca1 и др.) и фунгицидную (YxjF, YxjC, ScoA, ScoB, Fengycin, Surfactin, Iturin, Bacillomycin и Mycosubtilin synthetases и др.) активность штаммов бактерий, подтверждающая их потенциальную эффективность в качестве основы биопрепаратов.

2. Штаммы бактерий *B. velezensis* BZR 936, *B. velezensis* BZR 277, *B. naejangsanensis* BZR 1159, характеризующиеся высокой инсектицидной и фунгицидной активностью в условиях *in vitro* и *in vivo*, перспективные в качестве продуцентов полифункциональных биопрепаратов для защиты и сохранения урожайности яблони.

3. Совместимость новых штаммов бактерий из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР с действующими веществами фунгицидов классов стробилуринов, фталимида, триазолов, а также инсектицидов классов фосфорорганических соединений, авермектинов, неоникотиноидов, ингибиторов синтеза хитина.

Степень достоверности и аprobация работы. Объективность и достоверность результатов диссертационной работы подтверждается комплексным подходом, включающим многократное повторение лабораторных и полевых мелкоделяночных экспериментов, использование современных методов исследования (полногеномное секвенирование, биоинформационический анализ, филогенетическое моделирование), а также обработку данных с использованием общепринятых статистических критериев и программного обеспечения.

Основные результаты исследований были представлены на всероссийских и международных конференциях: 9-я Международная научно-практическая конференция «Защита растений от вредных организмов», г. Краснодар, 17-21 июня 2019 г.; 4 Всероссийский съезд по защите растений с международным участием «Фитосанитарные технологии в обеспечении независимости и конкурентоспособности АПК России», г. Санкт-Петербург, 9-11 сентября 2019 г.; International Conference on Advances in Agrobusiness and Biotechnology Research (ABR 2021), Krasnodar, May 24-26, 2021; 10-я Международная научно-практическая конференция «Защита растений от вредных организмов», г. Краснодар, 21-25 июня 2021 г.; Международный научно-практический форум «Биологизация процессов

интенсификации в садоводстве и виноградарстве», посвященный 90-летию со дня образования научного учреждения, г. Краснодар, 21-23 сентября 2021 г.; III-ая Международная научная конференция «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» PLAMIC2022, г. Санкт-Петербург, 1-8 октября 2022 г.; XI Международной научно-практической конференции «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем», г. Краснодар, 13-15 сентября 2022 г.; XIII Международной научной конференции «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты», г. Минск, 6–9 июня 2023 г.; Международной научно-практической конференции «Защита и карантин растений», Московская обл., р.п. Быково, 26-28 октября 2023 г.; XII Международной научно-практической конференции «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем», г. Краснодар, 17-19 сентября 2024 г.; V Всероссийском конгрессе по защите растений, г. Санкт-Петербург, 16-19 апреля 2024 г.; Международной научно-практической конференции «Защита и карантин растений. Здоровые растения – здоровая нация», Московская обл., р.п. Быково, 10-13 декабря 2024 г.; V Международной конференции по цифровизации сельского хозяйства и органическому производству (ADOP 2025), г. Барнаул 3-6 июня 2025 г.; 12-й Международной научно-практической конференции «Защита растений от вредных организмов», г. Краснодар, 16-20 июня 2025 г.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ №19-416-233037 р_мол_а «Исследование инсектицидных и стрессовых свойств новых штаммов бактерий и энтомопатогенных вирусов для биологического контроля яблонной плодожорки в ценозах юга России», РНФ № 23-16-00260 «Изучение особенностей строения генетического аппарата аборигенных для юга России энтомопатогенных штаммов бактерий рода *Bacillus* и вирусов гранулемы яблонной плодожорки *Cydia pomonella*», Фонда содействия инновациям в рамках Договора № 17858ГУ/2022 от 18 мая 2022 г. («УМНИК»).

Публикация результатов исследований. По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в т.ч.: 4 – в изданиях, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные

научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук; 9 – в других научных изданиях; получено свидетельство на 1 базу данных.

Личный вклад автора. Автор принимала личное участие в постановке и проведении опытов, учетах, обработке полученных данных, подготовке публикаций, написании диссертации. Разработка программы исследований и необходимых для её осуществления методов исследований выполнены при участии научного руководителя.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 240 страницах машинописного текста и состоит из введения, трёх глав, заключения, практических рекомендаций, списка литературы, 5 приложений, содержит 17 таблиц, 41 рисунок. Перечень библиографических ссылок включает 347 источников, в том числе 194 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю, канд. биол. наук Асатуровой А. М. за научно-методическое руководство и содействие в выполнении диссертационной работы. Отдельная признательность выражается сотрудникам лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ ФНЦБЗР за помошь в проведении экспериментальных исследований, а также канд. биол. наук Исмаилову В. Я., канд. биол. наук Агасьевой И. С., канд. биол. наук, Пушне М. В., канд. с.-х. наук Ермоленко С. А. – за консультации и практическое содействие. Автор также благодарит сотрудников ИЦиГ СО РАН: академика РАН, д-р. биол. наук Кочетова А. В., канд. биол. наук Васильева Г. В., д-р. биол. наук Лашина С. А., Лахову Т. Н., канд. биол. наук Клименко А. И., а также представителей ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет»: канд. физ.-мат. наук Алиева М. В. и Лобанова А. Г. за содействие в реализации отдельных этапов исследований.

ГЛАВА 1. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗАЩИТА ЯБЛОНИ *MALUS DOMESTICA* ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ И БОЛЕЗНЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Развитие отечественного садоводства, в частности производство яблок, относится к приоритетам государственной аграрной политики. Особое внимание уделяется вопросам обеспечения граждан страны качественной витаминной продукцией и поддержки российских плодовых производителей. Яблоня *Malus domestica* – главная плодовая культура в рационе населения. Ежегодная потребность населения Российской Федерации в плодах и ягодах, в соответствии с рациональными нормами потребления, утвержденными Приказом Минздрава России от 19 августа 2016 № 614, из расчета 100 кг на человека в год, составляет 13,8 млн. т, в том числе потребность в свежих яблоках составляет 7,3 млн. т (50 кг на человека в год). Удовлетворение потребностей населения страны в свежих плодах и ягодах составляет около 50 %, что значительно отстает от показателей развитых стран ЕС (85-90 %), США (до 90 %) и Китая (до 100 %) [Слинько О. В., Кондратьева О. В., Федоров А. Д., 2019; Неумынин Д. С., 2020; Ушачёв И. Г., М. В. Харина, В. С. Чекалин, 2022]. Увеличение государственной поддержки развития садоводства и других отраслей плодоконсервного подкомплекса, обеспечивающие доведение продукции до потребителя позволило увеличить валовой сбор фруктов. За период с 2000 по 2020 гг. производство плодов и ягод в России возросло до 3,3 млн. т или почти на 22 % за счет роста урожайности за указанный период она увеличилась более чем в два раза и достигла 96,0 ц с 1 га [Минаков И. А., Азжеурова М. В., 2019; Яроменко Н. Н., Сидорчукова И. Г., 2020]. Яблоня вносит наибольший вклад в этот рост: по данным Foodand Agriculture Organization of the United Nations (FAO) 2021 г. Россия занимает седьмое место в мире по производству яблок с объемом до 1,5 млн т, войдя в десятку мировых лидеров [Атажанова Е. В., Лукичева Л. А., 2021]. Крупнейшими отечественными регионами-производителями яблок являются Кабардино-Балкарская Республика –

413,3 тыс. т, Краснодарский край, который производит 286,8 тыс. т, Волгоградская область – 162 тыс. т (4,9 %), Республика Крым – 84,7 тыс. т [Антамошкина Е. Н., 2013; Минаков И. А., Азжеурова М. В., 2019; Мережко О. Е., Аминова Е. В., 2023]. Экономическое значение яблони определяется не только объемом производства, но и ключевой ролью в решении задач импортозамещения. Хотя в последние годы наблюдается устойчивый рост отечественного производства, еще в начале 2020-х годов около 30% яблок на российском рынке составлял импорт. Активное развитие современных интенсивных садов, особенно в южных регионах (включая Краснодарский край), направлено на решение двух стратегических задач: повышение уровня самообеспечения страны яблоками и создание условий для круглогодичного снабжения потребителей высококачественной продукцией [Назаренко А. В., Грудина О. Н., Кенина Д. С., 2021; Луковникова Н. С., Луканова Е. А., 2021]. Эти факторы подчеркивают особую актуальность научных исследований, направленных на интенсификацию производства яблок, совершенствование технологий их выращивания, защиты и хранения, что в конечном итоге должно обеспечить полное импортозамещение и стабильное предложение на внутреннем рынке.

Раннеспелые сорта яблони занимают важную нишу в современном садоводстве благодаря возможности поставки свежих плодов на рынок в ранние сроки. Одним из перспективных представителей этой группы является сорт Женева Эрли американской селекции, выведенный на опытной станции в Женеве в 1967 году и районированный в Центрально-Чернозёмном регионе России. Данный сорт обладает рядом ценных хозяйственных характеристик: скороплодностью, позволяющей получать урожай в короткие сроки после посадки; высокой товарностью плодов, отвечающих требованиям рынка; и сверхдлительным сроком созревания – техническая зрелость наступает в конце июля. Эти качества делают Женеву Эрли привлекательной для коммерческого выращивания [Оценка генетического разнообразия..., 2023; Хамурзаев С. М., Долматов Е. А., Лабазанов И. И., 2023]. Однако, как и большинство раннеспелых сортов, Женева Эрли демонстрирует недостаточную устойчивость к основным заболеваниям яблони. В

условиях промышленного возделывания даже современные сорта с относительной устойчивостью требуют обязательной системы защиты, особенно от парши *Venturia inaequalis* (Cooke) – одного из наиболее распространённых и экономически значимых заболеваний культуры. Это обуславливает необходимость разработки специальных защитных мероприятий при выращивании ранних сортов.

Плодовые культуры на протяжении всего периода вегетации заселяются различными фитофагами и поражаются возбудителями болезней, которые существенно могут снизить урожайность и качество продукции. Среди наиболее экономически значимых вредных объектов яблони особую опасность представляют парша яблони *V. inaequalis* и яблонная плодожорка *C. pomonella* L. Парша яблони, вызываемая грибом *V. inaequalis*, является одним из самых распространенных и вредоносных заболеваний культуры во всех регионах возделывания. При отсутствии эффективных мер защиты средние потери урожая составляют 40-50 %, а в годы эпифитотий могут достигать 60-70 %. На восприимчивых сортах степень поражения достигает 65-97 % для листьев и 80-100 % для плодов, что приводит к полной потере товарных качеств продукции. Не менее опасным вредителем является яблонная плодожорка, способная при массовом размножении уничтожать до 75% урожая. Особенно значительный ущерб (50-80 % поврежденных плодов) отмечается на раннеспелых сортах. Гусеницы вредителя не только непосредственно повреждают плоды, вызывая их преждевременное опадение, но и способствуют развитию вторичных инфекций [Рахимов М. М., 2018; Насонов А. И., Якуба Г. В., Астапчук И. Л., 2021; Чувствительность исходной и садовых популяций..., 2024; Закономерности формирования фитосанитарно..., 2022; Инструменты биологизации систем..., 2023, Козина Т. Д., Ильницкая Е. Т., Юрченко Е. Г., 2025].

На сегодняшний день химические пестициды признаны самым эффективным средством оперативного подавления вредных организмов. Однако их применение может привести к снижению биоразнообразия и микробиоты. В конечном итоге неразумное и чрезмерное применение химических препаратов может привести к нарушению видового состава агроценозов садов, пищевых цепей, а также развитию

резистентных поколений вредных организмов [Рославцева С. А., 2006; Occupational exposure of farm..., 2009; Cholinesterase levels and morbidity..., 2011; Seasonal variations in cholinesterase..., 2013; Adverse respiratory health..., 2013; Мировой рынок химических..., 2024].

Политика в отношении сельского хозяйства постепенно меняется в сторону его биологизации. По состоянию на 2022 г. рынок биологических средств защиты растений в России оценивается в 38 млн долларов [Аспекты снижения пестицидной нагрузки..., 2022; Эколого-экономическая эффективность применения..., 2022; Ревкова М. А., 2024]. В перспективе ожидается увеличение объема их производства на 20 % до 2030 г. [Быстрицкая А. Ю., Афанасьев А. А., Макин М. В., 2020; Логвинова Т. С., Булгакова В. П., 2022]. Однако доля применения биологических средств защиты растений на данный момент не превышает 2 %. Спектр микробиологических препаратов, представленных на российском рынке, довольно узок. Стоит отметить, что на сегодняшний день в Государственном каталоге пестицидов и агрохимикатов РФ отсутствуют зарегистрированные препараты на основе штаммов бактерий, сочетающих одновременно фунгицидную и инсектицидную активность против парши и яблонной плодожорки на культуре яблоня.

Разработка биотехнологических подходов получения экологически безопасных биопрепаратов нового поколения является одним из путей решения проблемы защиты сельскохозяйственных культур от вредных организмов. Однако, стоит учесть, чем выше степень экологической безопасности биопрепарата, тем более узким является спектр его действия [Дорохов А. С., Старостин И. А., Ещин А. В., 2021]. В экономическом отношении этот аспект часто становится недостатком, так как требует более разнообразного ассортимента биопрепаратов по сравнению с химическими пестицидами. Преодоление такой ситуации требует поиска природных биологических агентов (основы биопрепаратов), которые наряду с действием на одну мишень, например, фитофага, способны одновременно проявлять антагонистическое влияние на возбудителя болезни того же растения [Поддубная Е. Н., 2007; Долженко В. И., Новожилов К. В., 2010; Долженко Т. В.,

Белоусова М. Е., Шохина М. В., 2016; Штерншис М. В., Томилова О. Г., Андреева И. В., 2018; Ануфриева В. С., Долженко Т. В., Долженко О. В., 2024].

Примером перспективных микроорганизмов, служащих основой для создания биологических средств защиты растений, являются бактерии родов *Bacillus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Yersinia*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Streptomyces* и *Saccharopolyspora* [Characterization of multifunctional..., 2016; Plant growth promoting bacteria..., 2017; Нусипжан А. К., Кукишева А. А., 2017; Ruiu L., 2018;]. При этом представители рода *Bacillus* могут выступать в качестве биоагентов с полифункциональными свойствами [Plant growth promoting bacteria..., 2017; Fallahzadeh-Mamaghani V., Golchin S., Shirzad A., 2021]. Данные микроорганизмы могут быть использованы не только для борьбы с вредителями и фитопатогенами сельскохозяйственных культур, но также для стимуляции роста и развития растений [Биопрепараты на основе бактерий..., 2016; Поиск природных изолятов *Bacillus*..., 2018; Долженко Т. В., 2021].

Возможности биологического метода защиты растений расширяются с увеличением объема научных знаний и могут быть использованы в соответствии с экономическими и социальными потребностями. Для разработки новых и эффективных полифункциональных препаратов, необходим перманентный поиск и изучение перспективных биоагентов, активных в отношении спектра вредных организмов. Актуальность данных исследований обусловлена как научным интересом, так и практическим трендом в садоводстве – переходом к устойчивым, экологически чистым технологиям защиты, позволяющим получать высокий и качественный урожай без ущерба для окружающей среды и здоровья потребителей. В связи с этим особое значение занимает поиск и изучение высокоэффективных штаммов бактерий с полифункциональными свойствами для разработки на их основе экологически безопасных биопрепаратов для защиты яблони от парши и яблонной плодожорки.

1. 1 Вредители и болезни яблони *Malus domestica*

На яблоне в мире зарегистрировано более 1500 видов вредных насекомых, на юге России, по разным данным, насчитывается более 50 видов. Вред насекомых отмечается, начиная с плодопитомника, где саженцы повреждаются в основном многоядными вредителями. Заселение яблонного ценоза вредной энтомофагой идет несколькими путями: завозом фитофагов с посадочным материалом, расселением в промышленных садах, лесополосах. Некоторые вредители заселяют сады путем пассивного переноса потоками воздуха.

Среди чешуекрылых фитофагов яблонная плодожорка является экономически значимым вредителем во всем мире, это один из наиболее лабильных представителей вредной фауны [Beers E. H., Horton D. R., Miliczky E., 2016; Константинов Г. М., 2016; Черкезова С. Р., 2019; Негреску М. А., Вовк М. Г., Язловецкий И. Г., 2019; Эколо-экономическая оценка эффективности..., 2024]. Одной из причин этого является повсеместная экологическая нестабильность агроэкосистем садов за счет высокой химизации, а также устойчивости яблонной плодожорки ко многим инсектицидам [Экологическая защита яблоневых садов..., 2014; Эколо-экономическая оценка эффективности..., 2024]. *C. pomonella* L. – хозяйственно значимый фитофаг садов юга России. В частности, в Краснодарском крае, ежегодные потери урожая в некоторых хозяйствах могут составить более 85,0 % [Закономерности формирования фитосанитарно устойчивых энтомоценозов..., 2022; Эколо-экономическая оценка эффективности..., 2024]. Гусеницы яблонной плодожорки питаются мякотью, прогрызая ход в семенную камеру, и, в зависимости от размеров и спелости плодов, одна особь способна повреждать до пяти яблок. При этом поврежденные незрелые плоды опадают, а созревающие – теряют товарные качества [Охлопкова О. В., Моисеева А. А., Колесов А. В., 2015; Черкезова С. Р., 2019]. Важно отметить, что в условиях Ставропольского края в среднем развивается два поколения этого вредителя, тогда как в Московской области полноценно развивается только одно. В Краснодарском

крае яблонная плодожорка способна развиваться в трех полных генерациях, что подчеркивает опасность этого фитофага на юге России.

Значительный ущерб садам может нанести яблонный плодовый пилильщик (*Haplocampa testudinea* K.). Повреждения личинок этого фитофага схожи с вредоносностью яблонной плодожорки, однако пилильщики не питаются содержимым семенной камеры, а выедают мякоть вблизи ее. Стоит отметить, что против яблонного плодового пилильщика на сегодняшний день нет разрешенных к применению на территории РФ микробиологических препаратов. Тем не менее своевременные защитные мероприятия химическими инсектицидами и наличие только одного поколения в год позволяют успешно контролировать этого вредителя [Бондарева Л. М., 2010; Зейналов А. С., Орел Д. С., 2021].

Ежегодную потенциальную угрозу представляют тли: зеленая яблонная (*Aphis pomi* D.), красногалловая или серая яблонная (*Dysaphis devecta* W.) и др., запятовидная щитовка (*Lepidosaphes ulmi* L.), горностаевая (*Yponomeuta malinellus* Z.) и плодовая горностаевая (*Yponomeuta padellus* L.) моли, в отдельные годы – минирующие моли, листовертки и пяденицы [Зейналов А. С., 2019].

Увеличивается вредоносность со стороны тетранихоидных клещей (надсемейство Tetranichoidea Donn.), особенно плодовых (*Panonychus ulmi* K., *Bryobia redikorzevi* R.), и четырехногих клещей (в частности яблонный ржавый клещ – *Aculus schlechtendali* N.), что, с одной стороны, связано с потеплением климата, а с другой – с частым применением химических инсектицидов или препаратов широкого спектра действия, массово уничтожающих полезную фауну и вызывающих резистентность у целевых и сопутствующих фитофагов [Черкезова С. Р., Виноградова Л. В., 2012; Морозов Д. О., Коршунов С. А., Любоведская А. А., 2019; Зейналов А. С., Орел Д. С., 2021].

Яблонный цветоед (*Anthonomus pomorum* L.) особенно опасен в годы слабого цветения яблони, прохладные весенние периоды, при смешанной закладке насаждений сортами разного срока созревания, удлиняющие период бутонизации и позволяющие вредителю максимально реализовать свой продуктивный потенциал [Попов С. Я., 2020]. Личинки повреждают бутоны яблони и груши,

питаются пестиками и тычинками, склеивая лепестки экскрементами. Вследствие чего бутон не распускается, а буреет и засыхает. Поврежденность яблонным цветоедом в благоприятный период может достигать 75-100 %. Развивается одно поколение в год [Абдурахманов Г. М., Аушева М. М., Дударова Х. Ю., 2007].

Плодовые деревья могут поражаться различными заболеваниями. Проявление болезней связано с экологическими условиями, географической средой, степенью выносливости растений, возрастом плодовых деревьев [Соколова Э. С., Рябинков В. А., 2011; Мирзаитова и др., 2019; Мирзаитова М. К., Мирзаева З. Ф. К., Алижонов А. Б. Ў., 2021; Распространенность *Erwinia amylovora*..., 2022].

Из болезней на яблоне стабильно прогрессирующей является парша яблони (*Venturia inaequalis* W.) с конидиальной стадией *Fusicladium dendriticum* W., периодически преодолевающая сопротивление отдельных иммунных и устойчивых сортов [Крюкова А. В., Николаева З. В., 2017; Зейналов А. С., 2019].

В теплых регионах России, в том числе в Краснодарском крае и Республике Крым, данное заболевание отличает высокая повторяемость эпифитотий и значительный уровень вредоносности [Иванова О. В., Балыкина Е. Б., 2019]. Ежегодно потери урожая на восприимчивых сортах яблони от этого заболевания могут достигать 80,0 % [Насонов А. И., Супрун И. И., 2015; Каширская Н. Я., Кочкина А. М., 2019; Кочкина А. М., Каширская Н. Я., 2021]. Болезнь проявляется на протяжении всего вегетационного периода и поражает все надземные части растения. При недостаточно эффективной защите растений товарные качества и сохранность плодов резко снижаются [Якуба Г. В., Маслиенко Л. В., Гусин Д. Н., 2013; Насонов А. И., Якуба Г. В., Лободина Е. В., 2019].

Монилиоз, вызываемый грибами рода *Monilia*, является одним из наиболее хозяйствственно значимых заболеваний плодовых культур. Самой вредоносной формой монилиоза является монилиальный ожог, вызываемый *Monilia laxa* Pers., *Monilia fructicola* Pers., *Monilia fructigena* Pers. В яблоневых садах Краснодарского края, начиная с начала 2000-х гг., наблюдается усиленное распространение заболевания, что значительно влияет на количество и качество урожая. В некоторых регионах потери урожая от монилиоза могут достигать 50,0 % [Зейналов

А. С., 2019]. Более того, в Республике Дагестан, данное заболевание в разных фазах развития плодовых культур может являться одним из основных причин снижения урожая [Мирзаитова М. К., Сидикова Н. К., Абдуллаева Г. Д., 2019].

Начиная с 2009 г. в плодовых насаждениях южного региона РФ, отмечено увеличение распространенности видового разнообразия грибов рода *Fusarium*, вызывающих корневые гнили, трахеомикозные увядания, а также гниль сердцевины плодов. Видовой состав возбудителей в основном представлен *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sambusinum*, *Fusarium sambusinum*, *Fusarium avenaceum* [Якуба Г. В., И. Г. Мищенко, 2019].

В последние десятилетия повсеместно наблюдается увеличение распространенности и вредоносности альтернариоза яблони, особенно в зонах с теплым и влажным климатом. Болезнь проявляется преимущественно в виде пятнистости листьев, кроме того, грибы рода *Alternaria* вызывают поражение плодов в виде сердцевинной и поверхностной гнилей. Сведения о поражении плодовых культур данным фитопатогеном в РФ начинаются с 1999 г.: с описания развития альтернариоза на яблони на юге европейской части России [Гагкаева Т. Ю., 1999; Якуба Г. В., 2005; Ганнибал Ф. Б., Бильдер И. В., Ули-Миттила Т, 2006; Антоненко В. В., Зубков А. В., Кручинина С. Н., 2020]. Из плодовых культур детально данное заболевание описано на яблоне, но сведения по устойчивости различных сортов к *Alternaria* spp. отсутствуют [Якуба Г. В., 2005; Якуба Г. В.; Якуба Г. В., 2010; Якуба Г. В., 2014; Якуба Г. В., Астапчук И. Л., Насонов А. И., 2019; Далинова А. А., Салимова Д. Р., Берестецкий А. О., 2020].

Таким образом, яблоня как плодовая культура подвергается одновременному воздействию множества вредителей и болезней, способных вызывать значительные потери урожая и снижение качества плодов. Среди них особое место занимают яблонная плодожорка и парша яблони – соответственно, наиболее опасный вредитель и наиболее вредоносное заболевание. Для обеспечения стабильных высоких урожаев необходим системный подход к защите яблоневых насаждений, включающий мониторинг, профилактические и лечебные мероприятия, а также применение современных инсектицидных и фунгицидных средств, в том числе

биопрепаратов. Без эффективной защиты от ключевых вредителей и патогенов, таких как *C. pomonella* и *V. inaequalis*, получение высокого и качественного урожая яблок в интенсивных насаждениях невозможно.

1. 2 Бактерии, обладающие инсектицидной и фунгицидной активностью

Энтомопатогенные бактерии и их специфические токсины используют в качестве основы коммерческих продуктов для защиты сада. Распространены биологические агенты инсектицидного действия родов *Bacillus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Yersinia*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Streptomyces* и *Saccharopolyspora* [Ben Khedher S., Jaoua S., Zouari N., 2014; Ruiu L., 2018; Щербакова Т., 2024; Перспективы применения различных видов..., 2024]. Токсикологические исследования, проводимые в течение 40 лет во всем мире, показали безопасность этих микроорганизмов и их метаболитов, включая инсектицидные белки и другие вещества, что позволяет широко их использовать в практике биологического контроля насекомых-вредителей [Höfte H., 1989; Baum J. A., Carlton B. C., 1999; Биопрепараты в сельском хозяйстве..., 2005; Lacev L. A., 2005; Comparative genomics of extrachromosomal elements..., 2017; Щербакова Т., 2024; Перспективы применения различных видов..., 2024].

По мнению многих исследователей, бактерии рода *Bacillus* являются одной из самых разнообразных и практически эффективных групп микроорганизмов в связи с повсеместным распространением данных бактерий, устойчивостью спор к химическим и физическим факторам, высокой конкурентоспособностью при колонизации ризосферы и ризопланы растений, возможностью полифункционального действия в отношении вредителей и болезней, а также других аспектов [Berry C., O'Neil S., Ben-Dov E., 2002; Sanahuja G., Banakar R., Twyman R., 2011; Ми Ф. Т., Емцев В. Т., Поздняков Л. А., 2014; Додонова А. Ш.,

Кабдеш И. М., 2014; Белова К. В., Феоктистова, Н. А., Золотухин, С. Н., 2016; γ -Polyglutamic acid production..., 2018; Ермолова В. П., Гришечкина С. Д., Нижников А. А., 2018].

Важным механизмом биоконтроля в отношении грибных патогенов является образование антибиотиков. Геномы бактерий рода *B. velezensis* содержат девять ключевых кластеров NRPS/PKS, синтезируемые липопептиды (итурин, фенгицин, серфактин) и поликетиды (деффицидин, макролактин), способные подавлять фитопатогенные грибы родов *Fusarium*, *Bipolaris*, *Exserohilum* и др. как *in vitro*, так и *in vivo* [*Bacillus velezensis* B105-8..., 2024; Yeo Y. J., Park A. R., Vuong B. S..., 2024]. Данные липопептиды проявляют antagonизм в отношении фитопатогенных грибов благодаря своей способности связываться с липидным слоем плазматической мембранны и изменять его структуру, образуя в нем поры. Кроме того, была отмечена способность сурфактинов и фенгицинов индуцировать системную устойчивость растений против некоторых патогенов, связанную с активацией ферментов липоксигеназного пути, ведущего к формированию широкого спектра вторичных метаболитов. Была показана высокая антрафунгальная активность штаммов *B. velezensis* в отношении патогенов рода *Fusarium*, связанная с одновременным действием трех типов липопептидов. Причем antagonистическое влияние было обусловлено не только ингибированием роста мицелия, но и снижением продукции микотоксинов [Аллахвердян В. В., Сидорова Т. М., Асатурова А. М., 2022].

Кроме того, сурфактин, итурин и фенгицин могут действовать как энтомо- и нематоциды, так была отмечена высокая гибель (до 100 %) личинок комара *Aedes aegypti*, щелкунов *Agriotes lineatus*, а чистый сурфактин вызывает системные нарушения в метаболизме у гусениц азиатской хлопковой совки *Spodoptera litura* [*Bacillus* spp. metabolites are effective..., 2021; Zhang F., Liu Q., Wang Y., 2024; Versatile role of *Bacillus velezensis*..., 2025].

Другим механизмом взаимодействия бактерий рода *Bacillus* с патогенными микроорганизмами является продукция сидерофоров – низкомолекулярных веществ, образующих в почве комплексы с ионами трехвалентного железа,

которые затем возвращаются в бактериальные клетки [Артамонова М. Н., Потатуркина-Нестерова Н. И., Беззубенкова О. Е., 2014]. Фитопатогены также продуцируют собственные сидерофоры, однако, они гораздо медленнее связываются с ионами железа, в результате чего бактерии выигрывают в конкурентной борьбе, что приводит к угнетению роста фитопатогенов. Так, установлена продукция сидерофоров бактериями *B. subtilis* и отмечена их антифунгальная активность в отношении *Cephalosporium maydis* [Ghazy N., El-Nahrawy S. 2021].

Антагонистическое действие бактерий может проявляться и в результате синтеза ими внеклеточных гидролаз, которые вызывают лизис клеточной стенки фитопатогенных грибов [Беляев А. А., Штерншиц, М. В., Шпатова, Т. В., 2015]. Высокий микролитический потенциал штамма *B. subtilis* 739 был объяснен активным участием хитиназ, хитозаназ, β -1,3-глюканаз и протеаз в лизисе нативного мицелия *Alternaria alternata*, *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium culmorum*, *Rhizoctonia solani*.

В биологической защите растений от фитофагов значительная роль отводится бактерии *Bacillus thuringiensis*. Инсектицидные свойства данного организма в значительной степени обусловлены образованием эндотоксинов, называемых ВТ-токсинами. Они входят в семейство полипептидов, в молекулах которых имеются консервативные и вариабельные домены, определяющие активность против отдельных видов насекомых [Бактериофаги рода *Bacillus*..., 2014, Бондарчук Е. Ю., Асатурова А. М., 2014; Изменение инсектицидной активности..., 2014; Феоктистова Н. А., Васильев Д. А., Золотухин С. Н., 2016]. Эти токсины распознают рецепторы кишечных энтероцитов насекомого-вредителя и создают поры на их поверхности, это и приводит к осмотическому дисбалансу и разрыву клеток, что ставит под угрозу целостность всего эпителия кишечника насекомого. Вторжение в основную полость тела и последующая септицемия, вызванная кишечно-резидентными бактериями, приводит к смерти личинки. Таким образом, была описана инсектицидная активность токсинов *B. thuringiensis* в отношении вредителей отряда *Lepidoptera* [Ertürk Ö., Demirba Z., 2006; Изменение

микрофлоры толстого кишечника..., 2011; Ruiu L., 2018; Быстрая Г. В., 2014; Pinheiro D. H., Valicente F. H., 2021; Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis*..., 2023]. Штаммы бактерий *B. thuringiensis* часто используют в качестве источников инсектицидных белков.

Кристаллы токсина, обычно локализованные на поверхности экзоспоры, являются пре-токсинами, которым необходима предварительная активация. Они практически нерастворимы в воде, а растворяются лишь в среднем кишечнике восприимчивых видов насекомых. После растворения пре-токсин расщепляется протеазами с образованием активного токсина. Последний прикрепляется к мембранам эпителия среднего кишечника насекомых и вызывает понижение pH кишечника, необходимое *B. thuringiensis* в целях создания благоприятных условий для размножения в теле хозяина. В результате нарушается работа пищеварительной системы личинки, постепенно приводя ее к смерти [Bravo A., Gill S. S., Soberon M., 2007].

Наиболее распространен контроль насекомых-вредителей, в том числе яблонной плодожорки, с помощью энтомопатогенных бактерий рода *Bacillus*: *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* и *B. thuringiensis* subsp. *aizawai*, поскольку они имеют достаточно высокую биологическую эффективность и не оказывают негативного воздействия на окружающую среду и человека. За время применения в сельском хозяйстве совершенствовался состав препаратов *B. thuringiensis* с целью оптимизации способа их применения и концентрации действующего вещества. Использовались и новые штаммы, активные против других групп насекомых (*Coleoptera* и *Diptera*), клещей (*Acari*), нематод (*Nematoda*) и печеночных сосальщиков (*Trematoda*) [Bioactive potential of some *Bacillus thuringiensis*..., 2012].

Биопрепараты, зарегистрированные в России для борьбы с вышеуказанными видами, демонстрируют эффективность до 90,0 %. К ним относится «Битоксибациллин» (*B. thuringiensis* var. *thuringiensis* штамм 98) и «Лепидоцид» (спорово-кристаллический комплекс *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* Z-52) [Долженко Т. В., 2021, Государственный каталог ..., 2025]. Итогом деятельности

энтомопатогенных бактерий служат как уменьшение численности вредителей, так и снижение плодовитости взрослых особей [Биологический контроль численности яблонной плодожорки..., 2021; Методические подходы к оценке..., 2021].

Инсектицидной активностью в отношении чешуекрылых насекомых (*Lepidoptera*) обладает кристаллообразующая бактерия *Brevibacillus laterosporus*. Помимо энтомопатогенного действия в отношении насекомых, микроорганизм активен к фитопатогенным грибам и бактериям. Обладая широким спектром антагонистической активности против различных видов организмов, *Br. laterosporus* может использоваться как эффективный биоагент и применяться в качестве биоцидного средства разной направленности. Итальянскими учеными было описано, что штамм бактерий вида *Br. laterosporus*, проявил наибольшую токсичность по отношению к гусеницам яблонной плодожорки по сравнению с другими энтомопатогенными бактериями [Shapiro-Ilan D., Arthurs S. P., Lacey L. A., 2017].

Помимо ВТ-токсинов существуют и другие метаболиты, способствующие инсектицидной активности *Bacillus spp.* Так, цвиттермицин А представляет собой биологически активную молекулу, впервые идентифицированную у *Bacillus cereus*. Это аминополиоловый антибиотик, имеющий структурное сходство с поликетидными антибиотиками (DAPG, пиолютеорин и др.) [Siddiqui K. S., Cavicchioli R., 2006]. Известно, что цвиттермицин А, кроме оказания антибиотического эффекта в отношении фитопатогенов, действует как мощный синергист инсектицидного токсина *B. thuringiensis* [Malovichko Y. V., Nizhnikov A. A., Antonets K. S., 2019].

У бактерий рода *Alcaligenes faecalis* был открыт бинарный белок AfIP-1A/1B, способный образовывать поры в кишечнике личинок западного кукурузного жука *Diabrotica virgifera*, в том числе у резистентных к *B. thuringiensis* популяций насекомых. Некоторые штаммы продуцируют экзопротеазу, вызывающую гибель галловой нематоды *Meloidogyne incognita* и почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans*. Штамм *Alcaligenes faecalis* N1-4 способен продуцировать диметилдисульфид и метилизовалерат, ингибирующий рост гриба *Aspergillus flavus*

и снижающий количество микотоксинов в зерне при хранении [*Alcaligenes faecalis* ZD02..., 2016; Inhibitory effect of volatiles emitted..., 2019; Coordinated binding of a two-component insecticidal protein..., 2021].

Почвенный штамм *Achromobacter xylosoxidans* вызывает 95 % гибели личинок и 100 % взрослых особей комнатной мухи *Musca domestica*. Летучие эфиры (S-метилтиобутират, ацетаты) способны снижать численность галловой нематоды *M. javanica* и подавляют образование галлов на томате на 60 %. Эндофитный штамм СТА8689 снижает увядание дыни, вызванное *F. Oryxporum*, на 60 %, в теплице благодаря сидерофорам и эстеразам [The screening of bacterial insecticides..., 2010; Evaluation of biocontrol potential of *Achromobacter xylosoxidans* ..., 2019; Deng X., Wang X., Li G., 2022; Evaluation of biocontrol potential of *Achromobacter xylosoxidans*..., 2022].

Бактерии рода *Brevundimonas diminuta* YYC02 продуцировали 42 летучих вещества, из которых бутил-2-метилбутоат и изоамилбутират вызывали гибель галловой нематоды *M. javanica* на 90-100% через 48 часов, а обработка почвы уменьшала количество галлов на 37% и увеличивала массу побегов огурца. *Brevundimonas* проникает в ядро микробиома энтомопатогенных нематод (*Steinernema, Meloidogyne*) и активно прилипает к кутикуле личинок J2, повышая их смертность и снижая выводимость яиц, что косвенно подтверждает анти-PPN-активность этого рода. Хотя классических Cry/Cyt-токсинов у *Brevundimonas* не обнаружено, у *B. diminuta* подробно изучена мембранныя органофосфат-гидролаза (OPH), позволяющая штамму использовать инсектициды-фосфорорганику как источник фосфора; фермент локализован в периплазме с помощью Tat-сигнала [Bacteria isolated from the cuticle..., 2019; Organophosphate hydrolase is a lipoprotein..., 2016; Volatile metabolites from *Brevundimonas*..., 2023].

Два штамма бактерий рода *Leucobacter Verde1/Verde2* вызывали гибель нематод, при помощи редкого механизма, когда липкий экзополимер склеивает хвосты нематод в «звезды», что приводит к гибели колонии. Устойчивость нематод к этим штаммам контролируется отдельными генами, что подчеркивает специализированную вирулентность этого рода. Штамм *L. aridicollis* SASBG215

ингибитирует антракноз огурца *Colletotrichum orbiculare* и вызывает лизис гиф, предположительно с помощью неизвестных поликетидов [Two *Leucobacter* strains..., 2013; *Leucobacter aridicollis* strain SASBG215..., 2022].

Ochrobactrum spp. BS-206 синтезирует гликолипид охрозин, обеспечивающий 90-100 % гибель вредителей хранилищ (*Tribolium*, *Sitophilus*, *Callosobruchus*) и инсектицидное действие против кукурузной совки *Spodoptera*. Штамм *O. pseudogrigonense* NC1 продуцирует диметилдисульфид и бензальдегид, которые вызывают гибель до 100 % молодых особей *M. incognita* и снижают образование галлов томатов более чем на 60,0 % [Ochrosin, a new biosurfactant..., 2014; Bacterial volatile-mediated suppression..., 2022].

1.3 Методические подходы к изучению инсектицидной и фунгицидной активности микроорганизмов в отношении вредных объектов

Молекулярно-генетические методы исследования бактерий. За последние два десятилетия молекулярно-генетические методы исследования бактерий претерпели качественную транформацию: от анализа отдельных маркерных генов (16S rRNA и др.) к полногеномному секвенированию и пангеномным подходам. Полногеномные данные позволяют решать комплекс задач, включая таксономическую идентификацию, оценку внутривидового полиморфизма, анализ генетического материала, вторичных метаболитов и факторов патогенности. В результате полногеномное секвенирование стало «золотым стандартом» для типирования бактериальных штаммов и изучения их эволюции [Croucher N.J., Didelot X., 2015; Fricke W.F., Rasko D.A., 2014].

Полногеномное секвенирование бактерий основано на высокопроизводительных платформах (Illumina, Oxford Nanopore, PacBio и др.), позволяющих получать миллионы прочтений длиной от десятков до тысяч пар оснований. В настоящее время наиболее распространён подход, основанный на

парно-концевом секвенировании коротких фрагментов ДНК длиной 100–300 п.н., обеспечивающий высокую точность нуклеотидных вызовов и относительно низкую стоимость анализа. Эти технологии легли в основу клинической и эпидемиологической геномики, включая анализ вспышек госпитальных инфекций и отслеживание путей передачи патогенов [Whole-genome sequencing of bacterial..., 2017; Whole-genome analysis of *Bacillus thuringiensis*..., 2018].

Одновременно с прогрессом в методах секвенирования наблюдался качественный скачок в развитии биоинформатики. Были разработаны специализированные алгоритмы и программные протоколы для обработки значительных объёмов данных, охватывающие полный цикл анализа: от контроля качества прочтений и сборки геномов до методов сравнительной и пангеномной геномики, метагеномного анализа и визуализации филогенетических взаимосвязей. Данные инструменты обеспечивают воспроизводимость результатов и позволяют проводить сопоставление вновь секвенированных геномов с постоянно расширяющимися международными референсными базами данных, такими как RefSeq NCBI [Reference sequence (RefSeq) database..., 2016].

Первым этапом любого анализа данных полногеномного секвенирования является оценка качества сырых прочтений формата FASTQ. Для этого широко применяется программа FastQC, позволяющая оценить распределение качества по позициям, содержание нуклеотидов, наличие адаптерных последовательностей, дупликации и другие параметры, влияющие на качество последующей сборки или картирования [<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>].

Для автоматизированной очистки данных используются инструменты «all-in-one»-типа fastp, которые совмещают обрезку адаптеров, фильтрацию по качеству и длине, удаление низкокачественных участков и базовую визуализацию статистики по прочтениям [Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ..., 2018]. Применение таких программ позволяет стандартизировать этап первичной обработки и минимизировать долю ошибок секвенирования, особенно критичную при дальнейшей сборке геномов и поиске малочисленных вариантов. В рамках

современных геномных проектов, включая анализ штаммов из коллекций научных центров, подобный конвейер контроля качества является обязательным предварительным этапом перед сборкой или картированием прочтений.

Для *de novo* сборки бактериальных геномов широко применяется пакет SPAdes, который использует графы де Брюйна и специализированные алгоритмы для обработки данных платформы Illumina, а также для гибридной сборки (с комбинацией коротких и длинных прочтений). Показано, что SPAdes обеспечивает высокую точность и полноту сборки как для изолированных штаммов, так и для образцов, полученных из одиночных клеток [SPAdes: a new genome assembly algorithm..., 2012].

В случаях, когда доступен близкий референсный геном, используются референс-ориентированные подходы. Они позволяют улучшить структуру сборки и восстановить небольшие участки с низким покрытием прочтениями. Примером такого инструмента является MinYS, разработанный для таргетной сборки геномов бактерий-симбионтов и других микроорганизмов из метагеномных данных на основе заданного референсного генома [MinYS: mine your symbiont by targeted genome..., 2020].

Для финализации бактериальных геномов и коррекции ошибок сборки используются специализированные инструменты. К их числу относится, например, GFinisher, который применяет анализ GC-скоса и сравнение с альтернативными сборками для выявления и исправления дисассемблированных участков. Использование подобных программ позволяет снизить фрагментированность генома и получить контиги, приближенные к полноразмерным циркулярным хромосомам и плазмидам. Это особенно важно для последующего сравнительно-геномного анализа и точной аннотации генов вирулентности и вторичного метаболизма [GFinisher: a new strategy..., 2016].

При наличии высококачественного референсного генома наиболее распространённым подходом остаётся картирование прочтений на референс с помощью алгоритмов BWA-MEM, обеспечивающих точное выравнивание парно-концевых прочтений к крупным геномам [Li H., 2013]. Обработка полученных

выравниваний выполняется с помощью пакета SAMtools/BCFtools, включающего конвертацию форматов, сортировку и индексацию файлов BAM/CRAM, вычисление статистик и вызов вариантов [Twelve years of SAMtools..., 2021]. Комбинация картирования и анализа вариабельности позволяет оценивать уровень внутривидового или внутрипопуляционного полиморфизма, выявлять SNP и малые инделы, связанные с фенотипическими признаками, в том числе с инсектицидной или фунгицидной активностью штаммов.

Качество сборок оценивается с помощью специализированных пакетов, таких как QUAST, предоставляющих набор метрик (N50, L50, длина генома, число контигов), а также возможность сравнения нескольких альтернативных сборок между собой и с референсным геномом [QUAST: quality assessment tool..., 2013].

Функциональная аннотация бактериальных геномов традиционно выполняется с помощью конвейера Prokka, автоматически предсказывающего кодирующие последовательности, тРНК, рРНК и другие функциональные элементы, и сопоставляющего аннотированные гены с профильными базами (например, UniProt) [Seemann T., 2014]. Применение Prokka и аналогичных инструментов обеспечивает стандартизированное описание генома, необходимое для дальнейшего сравнительного анализа, поиска генов вторичных метаболитов и факторов патогенности, включая гены, определяющие энтомопатогенные и фунгицидные свойства бактерий.

Имея набор полногеномных сборок, исследователи переходят к сравнительной и пангеномной геномике. Концепция «бактериального пангенома» предполагает разделение генного репертуара вида на «ядро» (core genome), присутствующее во всех штаммах, и «дополнительный» (accessory) геном, представленный в отдельных линиях и включающий, в частности, гены адаптации к специфическим экологическим нишам и мобильные элементы [Comparative genomics..., 2008].

Для количественной оценки близости геномов и уточнения видовых границ широко используются метрики средней нуклеотидной идентичности (average nucleotide identity, ANI) и тетрануклеотидной корреляции, реализованные, в

частности, в веб-сервисе JSpeciesWS. Этот ресурс позволяет сопоставлять пары геномов и проводить быстрый тетракорреляционный поиск по базе GenomesDB, что особенно важно при идентификации потенциально новых видов или подвидов бактерий [JSpeciesWS: a web server..., 2016].

Для анализа наличия/отсутствия генов в наборах фрагментированных бактериальных сборок разработан инструмент GenAPI, устойчивый к различиям в степени завершённости генома. Применение GenAPI позволяет корректно оценивать структуру пангенома и выявлять ассоциации отдельных генов или групп генов с фенотипическими признаками штаммов, включая их инсектицидную, фунгицидную активность и способность стимулировать рост растений [Gabrielaite M., Marvig R.L., 2020].

В совокупности эти подходы обеспечивают детальную характеристику генетического разнообразия бактерий, включая штаммы, обладающие полифункциональной активностью (инсектицидной, фунгицидной, стимулирующей рост растений), и позволяют проследить происхождение ключевых функциональных кластеров генов.

При анализе сложных бактериальных сообществ (почва, фитосфера, кишечник насекомых и др.) полногеномное секвенирование часто проводится в формате метагеномики, когда секвенируется суммарная ДНК, а не отдельные изоляты.

Для таксономического профилирования метагеномов широко применяется семейство инструментов MetaPhlAn, последняя версия которого (MetaPhlAn 4) интегрирует информацию из метагеномных сборок и геномов чистых культур, что позволяет повысить полноту и точность оценки видового состава микробиоты, в том числе за счёт учёта ранее неохарактеризованных видов [Extending and improving metagenomic..., 2023].

Следующим этапом анализа является восстановление (биннинг) индивидуальных метагеномно-собранных геномов (MAGs) из контигов совокупной сборки. Для этих целей разработан ряд алгоритмов, среди которых MaxBin2 занимает одно из ведущих мест, реализуя автоматизированный биннинг

на основе сочетания глубины покрытия, состава по тетрануклеотидам и информации о маркерных генах [Wu Y.-W., Simmons B.A., Singer S.W., 2016].

Использование метагеномных подходов позволяет рассматривать интересующие штаммы бактерий не только как индивидуальные объекты, но и в контексте сообщества: оценивать их роль в структуре микробных консорциумов, потенциал горизонтального переноса генов и формирование функциональных модулей, важных для биоконтроля и устойчивости агроэкосистем.

Филогенетический анализ на основе полногеномных данных предполагает множественное выравнивание нуклеотидных или аминокислотных последовательностей и построение деревьев, отражающих эволюционные отношения между штаммами и видами. Для выравнивания широко используется программа MAFFT, обеспечивающая высокую точность и гибкость настроек при работе как с небольшими, так и с крупными наборами последовательностей [Katoh K., Standley D.M., 2013].

Полученные филогенетические деревья визуализируются и аннотируются с помощью специализированных веб-сервисов. Phylo.io позволяет интерактивно сравнивать два дерева, выделяя совпадения и расхождения в топологии (Robinson O. et al., 2016). Платформа iTOL (Interactive Tree Of Life, версия 6) предоставляет расширенный функционал по отображению и аннотации деревьев, включая визуализацию метаданных, добавление внешних колец с геномными и фенотипическими признаками и др. [Letunic I., Bork P., 2024].

Дополнительно инструменты NCBI Common Taxonomy Tree позволяют сопоставлять собственные результаты с принятой таксономической иерархией NCBI, что важно для уточнения таксономического положения штаммов с энтомопатогенной и фунгицидной активностью.

Применение этих подходов критично для уточнения таксономического положения исследуемых штаммов, выявления филогенетических линий, ассоциированных с теми или иными фенотипическими особенностями (например, повышенной энтомопатогенностью или выраженной фунгицидной активностью), а также для сопоставления новых геномов с уже описанными в литературе.

Неотъемлемой частью современных молекулярно-генетических исследований бактерий является депонирование геномных данных в открытых международных базах. NCBI поддерживает несколько ключевых ресурсов: GenBank и RefSeq для геномных и аннотированных последовательностей, а также Sequence Read Archive (SRA) для сырых данных секвенирования. Коллекция RefSeq постоянно расширяется и сегодня включает десятки тысяч бактериальных геномов, что обеспечивает богатую основу для сравнительной геномики, верификации таксономической принадлежности и функциональной аннотации [Reference sequence (RefSeq) database..., 2016].

Депонирование полногеномных последовательностей энтомопатогенных и антагонистических штаммов (в том числе выделенных из коллекций научных учреждений) с присвоением им постоянных идентификаторов расширяет глобальную базу данных по биоконтрольным агентам, облегчает их сопоставление с уже описанными геномами и способствует стандартизации подходов к оценке их безопасности и эффективности. Аналогичным образом депонируются результаты сравнительного анализа (например, профили ANI и тетракорреляции, полученные с помощью JSpeciesWS), что позволяет воспроизведимо подтверждать видовой статус и оригинальность штаммов [JSpeciesWS: a web server..., 2016].

Энтомопатогенные бактерии и их геномная характеристика. Среди энтомопатогенных бактерий ключевое практическое значение имеют штаммы *B. thuringiensis*, которые уже более 70 лет используются в качестве микробиологических инсектицидов в сельском и лесном хозяйстве [Castagnola A., Stock S., 2014]. Полногеномное секвенирование и сравнительный анализ геномов *B. thuringiensis* показали, что высокотоксичные штаммы, как правило, характеризуются более крупным размером генома, развитым плазмидным аппаратом и обогащённостью кластерами генов, связанных с инсектицидной активностью, включая многочисленные *cry*, *cyt* и *vip* гены [Genomic and transcriptomic insights..., 2015].

Комплексные геномные и транскриптомные исследования промышленных штаммов *B. thuringiensis*, в частности референсного штамма HD-1 (*B. thuringiensis*

subsp. kurstaki) и высокоэффективного штамма YBT-1520, показали, что ключевые факторы патогенности представлены не только классическими кристаллическими токсинами Cry и Cyt, но и обширным набором генов [Genomic and transcriptomic insights..., 2015]. Показано, что высоковирулентные штаммы содержат большее число таких генов и их вариантов, а также демонстрируют повышенную транскрипционную активность соответствующих кластеров, что обеспечивает эффективную колонизацию кишечника насекомых, уклонение от иммунного ответа и утилизацию трупа хозяина [Genomic and transcriptomic insights..., 2015].

Полные геномные последовательности ряда энтомопатогенных штаммов *B. thuringiensis* выявили наличие нескольких плазмид, несущих многочисленные гены кристаллических токсинов (Cry), инсектицидных белков (Vip), бинарных токсинов (Vpa/Vpb) и токсин-комплексов (Tc). Для штамма *B. thuringiensis* GR007 показано, что его плазмидный репертуар включает множество сгруппированных генов биоцидных белков, что облегчает горизонтальный перенос и формирование новых комбинаций токсинов с расширенным спектром действия в отношении различных отрядов насекомых [Whole genome sequencing analysis..., 2021].

Примечательно, что не все энтомопатогенные штаммы реализуют свой потенциал через классические Cry-белки. Описаны штаммы *Bacillus* sp., обладающие выраженной энтомопатогенностью в отношении гусениц отряда Lepidoptera при отсутствии типичных cry-генов. Так, для штамма *Bacillus* sp. ABP14 показано отсутствие Cry-подобных токсинов при сохранении инсектицидной активности против гусениц *Anticarsia gemmatalis*, что связывают с альтернативными факторами патогенности, включая ферменты разрушения кутикулы и вторичные метаболиты [Genome analysis of entomopathogenic..., 2019].

В последние годы данные подходы активно применяются и к другим группам энтомопатогенных бактерий, ассоциированных с энтомопатогенными нематодами, таким как *Xenorhabdus* и *Photorhabdus*. Сравнительный геномный и пангеномный анализ штаммов этих родов выявил широкий набор шаперонов, токсинов и секрецируемых ферментов, включая варианты GroEL, которые играют ключевую роль в формировании вирулентности и адаптации к различным хозяевам

Показано, что GroEL-подобные белки могут выступать самостоятельными инсектицидными факторами и участвовать в модуляции иммунного ответа у насекомых-хозяев [Comparative genomics and pathogenicity analysis..., 2022].

Фунгицидные и полифункциональные штаммы *Bacillus* как агенты биоконтроля. Штаммы *B. velezensis* и близкородственных видов комплекса *B. subtilis* в настоящее время рассматриваются как одни из наиболее перспективных агентов биологического контроля фитопатогенов и стимуляции роста растений. Полногеномное секвенирование модельного штамма *B. velezensis* FZB42 показало, что 8-10 % его генома приходится на крупные кластеры NRPS- и PKS-генов (*srf*, *bmy*, *fen*, *dhb*, *bac*, *mln*, *bae*, *dfn* и др.), кодирующие синтез широкого спектра вторичных метаболитов: липопептидов (сурфактин, бацилломицин-D, фенгицины), сидерофора бациллибактина, макролактина, бациллаэна, диффицидина и других соединений с антибактериальной и антивандальной активностью [Genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42..., 2009; *Bacillus velezensis* FZB42 in 2018..., 2018].

Геномные исследования штаммов *B. velezensis*, выделенных из ризосферы и эндофитной микробиоты различных сельскохозяйственных культур, показали, что консервативный набор не менее 12-15 биосинтетических генных кластеров является характерной особенностью этого вида и обуславливает его многосторонний биоконтрольный потенциал [*Bacillus velezensis* FZB42 in 2018..., 2018; Two plant-associated *Bacillus velezensis* strains..., 2023].

Полифункциональные штаммы с энтомопатогенной и фунгицидной активностью. Совокупность данных для энтомопатогенных штаммов *B. thuringiensis* и фунгицидных штаммов *B. velezensis*, и родственных видов показывает, что ключевой особенностью бактериальных агентов биоконтроля является полифункциональность их геномов. В одних и тех же геномах могут существовать:

1. Кластеры синтеза кристаллических и вегетативных инсектицидных токсинов (Cry, Cyt, Vip, а также вспомогательные факторы вирулентности);

2. NRPS/PKS-кластеры, кодирующие антифунгальные и антибактериальные вторичные метаболиты;
3. Наборы ферментов, разрушающих кутикулу насекомых и клеточные стенки грибов;
4. Гены, участвующие в колонизации поверхностей растений и формировании биоплёнок [Genomic and transcriptomic insights..., 2015; Genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42..., 2009; *Bacillus velezensis* FZB42 in 2018..., 2018; Whole genome sequencing..., 2021].

Использование полногеномного секвенирования и развитых биоинформационических методов в отношении штаммов бактерий позволяет не только уточнить их таксономическое положение, но и выявить полный набор генетических детерминант, ответственных за инсектицидные и фунгицидные свойства. Так, например, для штамма *B. thuringiensis* SY49.1, обладающего одновременно инсектицидной и фунгицидной активностью, анализ выявил многочисленные гены потенциальных биоцидных токсинов и метаболитов, что подтверждает возможность сосуществования в одном геноме нескольких функциональных модулей биоконтроля [Genome analysis of entomopathogenic..., 2019; Genome sequence data..., 2022; Two plant-associated *Bacillus*..., 2023].

В совокупности эти данные создают основу для рационального отбора перспективных штаммов с полифункциональной активностью, способных одновременно подавлять ключевых фитофагов и возбудителей болезней.

Исследования биоцидной активности микроорганизмов *in vitro*.

Исследования перспективных микроорганизмов в лабораторных условиях является неотъемлемым этапом создания нового продукта при отборе штаммов для основы потенциального полифункционального препарата. Широкий спектр антагонистической активности имеет решающее значение при отборе микроорганизма в качестве агента биологического контроля. Данный показатель определяется способностью к паразитизму в отношении вредных объектов сельскохозяйственных культур, а также проявлением ростостимулирующего действия на растения. При этом биологическая активность имеет важнейшее

значение не только на начальных этапах создания биопестицида (выделение из природных источников и отбор), но и по окончанию биотехнологического процесса для определения качества продукта и его стандартизации. Основными объектами исследований энтомопатогенных микроорганизмов *in vitro* выступают грибы, бактерии и вирусы, при этом наибольшее распространение и биотехнологическая востребованность характерны для бактерий.

Инсектицидная активность

Бактерии. Инфицирование энтомопатогенными бактериями почти всех членистоногих происходит перорально, это связано с механизмом действия этих микроорганизмов. Например, жидкие культуры, растворы спорово-кристаллических комплексов или токсинов бактерий смешивают в необходимой концентрации со свежеприготовленной искусственной питательной средой (ИПС) и разливают агаризованную среду в луночные планшеты или чашки Петри (ЧП). После застывания ИПС нарезают на кусочки, равные 2,5 г на одну гусеницу и используют в качестве питательного субстрата [Activity of *Bacillus thuringiensis* δ-endotoxins..., 2006; Dubovskiy I. M., Kruckova N. A., Glupov V. V., 2008; Study of the *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa16..., 2011; An exploration of the follow-up..., 2013; Isolation and characterization of a new *Bacillus* ..., 2013; Pathogenicity and characterization of a novel *Bacillus*..., 2015]. В контрольных вариантах используют дистиллиированную воду. Насекомых содержат как изолированно, так и группами по 10-30 шт. в зависимости от их размера и биологических особенностей [Isolation and characterization of a new *Bacillus*..., 2013; Contributions of cellular and humoral immunity..., 2014; Pathogenicity and characterization of a novel *Bacillus*..., 2015].

В некоторых экспериментах авторы кормили насекомых инфицированной пищей в течение 24 ч, а затем заменяли ИПС на свежую [Ertürk Ö., Demirba Z., 2006]. Контрольные и экспериментальные варианты содержали в комфортных для личинок условиях, в зависимости от видовой принадлежности. Смертность регистрировали каждые 24 ч или через 14, 18, 24 и 32 ч после обработки, учитывая агрессивность штаммов [Broderick N. A., Raffa K. F., Handelsman J., 2010; An

exploration of the follow-up..., 2013; Isolation and characterization of a new *Bacillus*..., 2013].

Группа исследователей из Индии производила инъекции гусеницам непарного шелкопряда, при этом отбирали крупных особей четвертого-шестого возраста. Иногда личинки анестезировали перед процедурой путем охлаждения на льду в течение 15 мин, затем поверхность гусеницы стерилизовали 95,0 % этанолом [Broderick N. A., Raffa K. F., Handelsman J., 2010]. Далее вводили 10 мкл на одну гусеницу в основание последнего пролега (ложноножки) или в брюшную полость между первой и второй парой проножек, вводя иглу параллельно стенке тела во избежание повреждения пищеварительного канала. Использовали микроинъектор Буркарда с под кожным шприцем объемом 1 мл и иглами 0,45 × 12,0 мм (Terumo) или пипетку объемом 20 мкл с обрезанным наконечником объемом 200 мкл иглой 27-го калибра. Учёт смертности проводили ежедневно в течение недели. Выделение гемолимфы для дальнейшего анализа у зараженных гусениц производили через 8–24 ч после введения инъекций [PlcR is a pleiotropic regulator..., 1999; The PlcR regulon is involved..., 2000; Broderick N. A., Raffa K. F., Handelsman, J., 2010; A comprehensive transcriptome..., 2011].

Альтернативным способом инфицирования чешуекрылых является метод погружения листьев растений или листовых дисков в жидкую культуру бактерий. Методика заключается в использовании конкретной площади листа для заражения, а именно поверхности диаметром 5-10 см. При инокуляции листья/диски погружают в ёмкость с суспензией от 10 с до 10 мин с последующей сушкой до полного испарения воды [Mohammad A. K., 2006; Synergistic effect of *Azadirachtin* and *Bacillus*..., 2014; Interactions of *Bacillus thuringiensis*..., 2014, N.-F. Wan, J.-X. Jiang, B. Li, 2016]. В своих работах с капустной молью *Plutella xylostella* L. авторы использовали похожий метод поверхностного инокулирования питательного субстрата. Таким образом, на лист/диск наносили по 2 мл суспензии и полностью просушивали [An exploration of the follow-up..., 2013; Interactions of *Bacillus thuringiensis*..., 2014]. Насекомых содержали как изолированно, так и группами по 10-20 шт. Учет смертности проводили каждые 24 ч в течение недели или до

окукивания [Mohammad A. K., 2006; An exploration of the follow-up..., 2013; Interactions of *Bacillus thuringiensis*..., 2014; Interactions of *Bacillus thuringiensis*..., 2014].

В работах Magalhães с соавторами наблюдали динамику поглощения оболочек листа капусты капустной молью. Для этого листья обрабатывали погружным методом в бактериальную суспензию, а затем наносили на поверхность 1 % фуксин и выдерживали в течение 12 ч [Effect of *Bacillus thuringiensis*..., 2013]. После листья промывали водой, а количество питательных оболочек подсчитывали с помощью стереомикроскопа (Leica M 80, Leica Microsystems, Wetzlar, Германия). Обработанные листья капусты заменяли каждые два дня [Interactions of *Bacillus thuringiensis*..., 2014]. В ряде идентичных опытов с яблонной плодожоркой, гусениц ограничивали в пище в течение 2 ч до начала экспериментального кормления для более активного поглощения питательного субстрата в ходе эксперимента [Mohammad A. K., 2006; Contributions of cellular and humoral immunity..., 2013].

В большинстве исследований авторы наблюдали патогенное действие *B. thuringiensis* в отношении чешуекрылых, которое проявлялось у насекомых только после попадания токсина перорально, а органом-мишенью был кишечник. Основным симптомом токсичности являлось снижение кормовой активности с последующим параличом кишечника. В некоторых работах отмечена гибель гусениц на вторые–четвертые сутки. Различия в восприимчивости к *B. thuringiensis* зависели не только от взаимодействия «токсин-рецептор», но и от защитных иммунных механизмов хозяина [Potential of *Bacillus thuringiensis* in the management..., 2016; Методические подходы к оценке..., 2021]. В 2011 г. ученые установили, что бактериальные токсины взаимодействуют с кишечными белками чешуекрылых. Они собирали кишечный сок после кормления, вызывая отрыжку у гусениц пятого возраста путем нанесения ударов электрическим током (20-30 В). Извергнутые кишечные соки собирали и готовили супернатант центрифугированием при 13000 об./мин в течение 10 мин при температуре 4 °C. Концентрацию экстракта кишечного сока определяли по методу Брэдфорда

[Bradford M. M., 1976]. Очищенные протоксины (20 мкг) смешивали с растворимыми белками в кишечном соке личинок (3 мкг) или с трипсином поджелудочной железы крупного рогатого скота (0,5 мкг) (Amersham Pharmacia Biotech, Франция) в конечном объеме 50 мкл с использованием натрий-fosfatного буфера. Смеси инкубировали при 37 °C и постоянном перемешивании в течение 2 ч. Затем протеолиз останавливали добавлением 0,1 ммоля фенилметилсульфонилфторида (PMSF) конечной концентрации. Образцы отделяли электрофорезом в 10 %-м полиакриламидном геле и окрашивали красителем Кумасси. Оценивали протеолитическую активацию токсина (качественный анализ) [Study of the *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa16..., 2011].

Abdelkefi-Mesrati L. с соавторами обнаружил, что прототоксины меняют клеточную структуру средней кишки [Study of the *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa16..., 2011]. Для этого кишечники (3-5 мг) отделяли от личинок последнего возраста, промывали в ледяном буфере, замораживали в жидком азоте и выдерживали при температуре – 80 °C до востребованности. Мембранные везикулы с щеточным краем (МВЩК) получали методом дифференциального осаждения магния [Preparation of brush border membrane..., 1987]. Очищенные протоксины активировали протеолизом с использованием трипсина поджелудочной железы крупного рогатого скота (Amersham Pharmacia Biotech, Франция) в соотношении трипсин:протоксин 1:40 и инкубировали при 37 °C в течение 2 ч. Активированные чистые токсины разводили в бикарбонатном буфере (40 ммол) до конечной концентрации 1 мг/мл. Затем добавляли 40 мкл субстрата для биотинилирования (ECL™ protein biotinylation module: Amersham Pharmacia Biotech, Франция) и инкубировали смесь при комнатной температуре и постоянном перемешивании в течение 1 ч. Очистку биотинилированного токсина проводили путем элюирования смеси с использованием натрий-фосфатного буфера для доведения pH до 7,5. Далее токсин инкубировали с МВЩК в буфере в течение 1 ч при 28 °C. Затем несвязанный токсин удаляли центрифугированием (14000 об./10 мин) и промывали тем же буфером. После МВЩК суспендировали в 20 мкл натрий-фосфатного буфера и электротрансферировали на нитроцеллюлозную мембрану.

Биотинилированные белки, которые связаны с МВЦК, были визуализированы с помощью люминола в соответствии с протоколом производителя (ECL; Amersham Pharmacia Biotech, Франция) [Study of the *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa16..., 2011].

В своих исследованиях Xu X. X. с соавторами изучал количество антибактериального белка гловерина. Для определения индуцированной экспрессии MsGlv (гловерин *Manduca sexta*) двухдневным личинкам пятого возраста вводили внутрегемоциальную водную суспензию убитых нагреванием бактерий *B. subtilis*. Через 24 ч после инъекции гемоциты, жировое тело и кишечник собирали отдельно и промывали три раза вантикоагулянтом буфере и получали из них белковые экстракты. Экспрессию белка MsGlv в этих тканях определяли методом Вестерн-блот-анализа с использованием поликлональной кроличьей антисыворотки против рекомбинантного pro-MsGlv [Manduca sexta Gloverin binds microbial..., 2012].

Изучая энтомопатогенную активность бактериальных штаммов в отношении насекомых, большинство авторов преимущественно руководствуются подходами перорального заражения, при котором в ИПС или естественный источник питания вносят бактериальную суспензию. При этом насекомые питаются зараженным кормом до смерти или несколько часов, с последующей заменой рациона на незараженную [Activity of *Bacillus thuringiensis* δ-endotoxins..., 2006; Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Berliner., 2006; Dubovskiy I. M., Krukova N. A., Glupov V. V., 2008; Study of the *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa16 ..., 2011; An exploration of the follow-up..., 2013; Synergistic effect of Azadirachtin and *Bacillus*..., 2014; Interactions of *Bacillus thuringiensis* bioinsecticides..., 2014; Pathogenicity and characterization of a novel..., 2015; Isolation and characterization of a new *Bacillus*.., 2016; Wan N.-F., Jiang J.-X., Li B., B., 2016]. Из качественных методов оценки энтомопатогенного действия можно выделить исследование кишечника и кишечного эпителия на предмет патологий и деформаций, а также измерения уровня гловерина в организме инфицированных насекомых. В этих случаях авторы вводят в тело насекомого инъекции на основе штаммов [Mohammad

A. K., 2006; Study of the *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa16..., 2011; *Manduca sexta* gloverin binds..., 2012; Potential of *Bacillus thuringiensis* in the management..., 2016].

Грибы. Грибные энтомопатогенные агенты, используемые в защите сельскохозяйственных культур от насекомых-вредителей, представлены в большинстве случаев родами *Beauveria* и *Metarhizium* (Биологический контроль численности..., 2020]. Выбор перспективного агента в качестве основы биоинсектицида производят по критерию высокой вирулентности. Для отбора высокоэффективного изолята в отношении определенного вида или рода насекомых необходимы лабораторные исследования, которые осуществляют в несколько этапов.

Важным аспектом при планировании экспериментальной работы является выбор способа заражения насекомого и то, каким образом будет происходить контакт с культурой гриба. При инокуляции ИПС конидиальную суспензию авторы наносили на поверхность агаризованной среды с помощью аэробрафа SAGYMA из расчета 1 мл суспензии на 24-х луночную пластину. Затем личинки переносили индивидуально в лунки с помощью тонкой кончиковой щетки [Potential of endophytic fungi..., 2017]. Для изучения механизма действия грибного агента в своих работах Ренвик Ю. и Дубовский И. М. с соавторами, вводили инъекции в гусеницу большой восковой моли в гемоцель 3-20 мкл суспензии через последнюю про-ножку. В качестве шприца использовали газонепроницаемый шприц SGE 1 мл (Scientific Pty. Ltd., Мельбурн, Австралия) диаметром 0,75 мм [Susceptibility of larvae of *Galleria mellonella*..., 2006; More than a colour change: insect melanism..., 2013].

Ученые из технологического университета Кейп-Пенинсула определяли заражаемость яиц яблонной плодожорки энтомопатогенными изолятами грибов. Предварительно перед откладкой яиц обрабатывали вощеную бумагу 5 мл суспензии с 0,05 % Твина 80. Листам давали высохнуть при температуре 20°C и 50-60 % относительной влажности в течение 1 часа и переносили в места спаривания взрослых особей. Бумагу укладывали обработанной поверхностью вверх. После откладки листы извлекали и определяли количество яиц с помощью микроскопа.

Наблюдали количество отродившихся особей [Asomiba R. A., 2014]. При обработке плодов или растений, которыми питаются насекомые и/или на которые откладывают яйца, одни авторы опускали их ёмкость с суспензией на 2 ч, а затем опускали в ёмкость с прилипателем (Твин 80), а другие - наносили суспензию сразу с добавлением 0,05% Твина 80 на поверхность с помощью распылителя из расчета 4-10 мл/плод. Обработанные такими способами плоды/растения использовали после полного высыхания. В ходе исследований оценивали количество проколов (при питании), количество посещений конкретных плодов (при оценке предпочтения), количество личинок внутри плода/растения (при оценке откладки яиц, активность личинок, процент повреждения) [Effect of endophytic Beauveria bassiana..., 2008; Asomiba R. A., 2014; Hydrophobins from aerial conidia of Beauveria bassiana..., 2015].

В исследованиях, где инфицировали активно питающихся гусениц яблонной плодожорки почвенными грибами, производили непосредственный контакт с почвой. Для этого заранее отобранные образцы грунта просеивали через металлическое сито с размером ячеек 4 мм [Goettel M. S., Ingli G. D., 1997; Meyling N., 2007]. Затем их переносили в прозрачные пластиковые горшки с перфорированными крышками. Гусениц пятого возраста помещали на поверхность каждого контейнера с образцами почвы и инкубировали в темноте при температуре 25°C. Контейнеры ежедневно переворачивали вверх дном в течение первой недели, чтобы увеличить контакт между насекомыми и частицами почвы. Образцы проверяли на наличие погибших особей каждые три-четыре дня в течение трех недель. Мертвых гусениц подвергали поверхностной стерилизации 70 % этанолом с последующей инкубацией во влажной камере при температуре 25°C [Asomiba R. A., 2014]. При заражении куколок или личинок последнего возраста, использовали конические пластиковые стаканчики емкостью 200 см³. Их заполняли почвой, смешанной с водой, чтобы поддерживать влажность на уровне 70 %. В почву добавляли по 2 мл суспензии штамма и изолированно помещали личинок на поверхность почвы, а куколок внедряли в почву на глубину 2-3 см. Учёты проводили каждые три дня для наблюдения за развитием грибной инфекции,

регистрировали количество погибших насекомых и продолжительность их жизни [Laboratory evaluation of a new strain CCM 8367..., 2013; Методические подходы к оценке..., 2021].

Однако в литературных источниках самым распространенным способом заражения насекомых остаётся контакт с грибным биоагентом. Так, авторы помещали гусениц яблонной плодожорки в ёмкость с раствором, содержащим грибную культуру: в опытном варианте и 0,01-0,02 % раствор Твина 80 в контрольном на 5-30 секунд. Далее индивидуально обработанных особей переносили в ЧП с влажными кусочками ваты для увеличения скорости роста и спорообразования грибов. При необходимости насекомых снабжали искусственными или естественными источниками питания [Laboratory evaluation of a new strain CCM 8367..., 2013; Asomiba R. A., 2014; Virulence of four *Beauveria bassiana*..., 2015; Isolation and characterization of *Beauveria* and *Metarhizium*..., 2018; Методические подходы к оценке..., 2021].

В работах по исследованию адгезии и прорастания энтомопатогенных грибов на поверхности кутикулы производили обработку только внешних покровов *Rhipicephalus sanguineus*. Для этого насекомых заражали путем погружения в суспензию на 5 мин. Через месяц штаммы грибов повторно выделили с поверхности насекомого и суспендировали в стерильной дистиллированной воде, содержащей 0,01 % Тритона X-100. Затем суспензию фильтровали и полученный осадок обрабатывали ультразвуком в течение 5 мин (Ультразвуковой очиститель D80H, ChemistCo., Taipeihsien, Тайвань), чтобы разбить комки конидий. Концентрацию конидий определяли с помощью гемоцитометра. Для исследований на наличие спор, насекомое несколько раз промывали стерильной дистиллированной водой и выращивали на декстрозном агаре Сабуро [The contribution of surface waxes..., 2007; *Metarhizium anisopliae* conidial responses..., 2010].

Для оценки влияния эпикутикулярных липидов на прорастание гриба, насекомых замораживали и липиды последовательно экстрагировали н-пентаном (99,9 %, Uvasol, Merck, Германия) и дихлорметаном (DCM, 99,9 % GC grade, Bio-

LabLtd., Израиль). Насекомых погружали в пентан на 5 мин, экстракт пентана удаляли, а затем погружали в дихлорметан на 5 мин. Объем экстрагирующего растворителя вычисляли исходя из площади насекомого. Среднюю поверхность рассчитывали по формуле: $2(lb + bh + hl)$, где l-высота тела, а b и h-стороны. Экстракты концентрировали под струей азота и наносили на покровные листы. Далее использовали ЧП с агаризированной средой, на которую наносили суспензию с конидиями (0,1 мл) и сушили на воздухе в течение 1-2 ч в ламинарном боксе для удаления избытка жидкости. Сразу же после испарения растворителя на листах и после подсушивания агара в ЧП, листы помещали на агар. ЧП запечатывали парафильмом и инкубировали при температуре 25 °С. Затем покровные листы, к которым прилипли проросшие и непроросшие конидии, изымали, помещали на предметные стекла и окрашивали лактофеноловым синим (Fluka, Швейцария). Проросшие и непроросшие конидии, а также процент проросших конидий с аппрессориями подсчитывали под световым микроскопом в процентном соотношении. Прорастание конидий оценивали после 12 ч инкубации. Формирование аппрессорий оценивали после 42 ч культивирования. Подсчет и наблюдение производили при 100-кратном увеличении с использованием иммерсионного масла. Контрольные чашки, содержащие среду и конидиальную суспензию, накрывали покровным стеклом, предварительно обработав соответствующим растворителем [*Metarhizium anisopliae* conidial responses..., 2010].

Таким образом, в отношении выбора методических подходов оценки энтомопатогенных микромицетов, авторы в первую очередь, учитывали физиологические особенности насекомого, его стадию вредоносности. При изучении механизмов действия, исследователи вводили в тело насекомого инъекции с суспензией патогена. К дополнительным способам отбора можно отнести изучение прорастания и адгезии грибов на поверхности тела насекомого [The contribution of surface waxes..., 2007; *Metarhizium anisopliae* conidial responses, 2010].

Вирусы. Оценку энтомопатогенной активности вирусных штаммов в отношении лабораторных популяций насекомых-вредителей, таких как малая совка и яблонная плодожорка, используют суспензию. В зависимости от того насколько чистой и концентрированной должна быть суспензия, существует несколько способов её получения. Одни исследователи в своих работах использовали способ, в котором зараженных гусениц гомогенизировали в 10 мл стерильной воды и полученный гомогенат фильтровали через несколько слоёв марли, нейлона или через металлическую сетку с размером пор 80-500 мкм для удаления мусора. Если суспензию получали слишком густой, её дополнительно разбавляли 15 мл воды [Cydia pomonella granulovirus genotypes..., 2008; Effect of juvenile hormone..., 2016; Cool-textured diets for use in baculovirus..., 2017]. Суспензию хранили в стеклянных банках объемом 600 мл при температуре 4°C [Cool-textured diets for use in baculovirus..., 2017].

Другие авторы осуществляли измельчение гусениц в 0,01 % фосфатном буферном растворе (рН 7,0). Некоторые предварительно замораживали насекомых при – 20 °С для более эффективного высвобождения вируса из клеток [Progressive adaptation of a CpGV..., 2014]. Полученную суспензию фильтровали четыре раза через четыре слоя марли. Фильтраты дважды центрифугировали при 900 об./15 мин, а затем дважды центрифугировали супернатант в течение 30 мин (10000 об./мин) для концентрации вирусных включений. Очищенные гранулы или полиэдры дисперсировали в буфере и подвергали 50 %-му градиентному центрифугированию сахарозы. Полученный концентрат хранили при температуре 4 °С до использования [Jiang, Zeng, Ji et al., 2011].

В ряде работ вирусные тельца извлекали из мертвых гусениц путем гомогенизации трупов в 0,1-0,5 % растворе лаурилсульфата натрия и очищали фильтрацией через марлю или сетку и центрифугировали от 30 до 60 мин при 4000–40000 об. Процесс центрифугирования осуществляли на градиенте сахарозы или глицерина (30-60 %), при котором в центрифужную пробирку последовательно наливали сначала раствор с наибольшим процентом глицерина/сахарозы, затем раствор с меньшим процентом глицерина/сахарозы, а сверху – вирусный

сусpenзионный образец [Overcrowding of false codling moth..., 2013]. После цикла центрифугирования видимую полосу в середине пробирки извлекали и при необходимости ресуспенсировали в дистиллированной воде и/или повторяли цикл центрифугирования еще раз [Strand M. R., 1994; Baculovirus resistance in codling moth..., 2014; Rezapanah M., 2015; Potential of betabaculoviruses to control..., 2017; Characterization of a Betabaculovirus..., 2018]. Хранение осуществляли в холодильной камере при +4 °C или замораживали при -20 °C [Baculovirus resistance in codling moth..., 2014; Potential of betabaculoviruses to control..., 2017; Characterization of a Betabaculovirus..., 2018].

Большинство авторов в своих работах использовали способ заражения гусениц яблонной плодожорки, при котором насекомым скармливали инокулированную питательную среду. Исследователи, которые использовали для испытаний штаммов вирусов новорожденных особей или гусениц первого возраста инфицирование ИПС осуществляли путем вмешивания вирусной супензии в среду на этапе приготовления [High stability and no fitness costs..., 2012; Progressive adaptation of a CpGV isolate..., 2014; Rezapanah M., 2015; Sun X., 2015; A third type of resistance to *Cydia pomonella*..., 2017, Fan J., Wennmann J., Jehle J., 2019; Progressive adaptation of a CpGV..., 2019]. ИПС помешали в 96-, 50-, 24-луночные лотки или индивидуально в ЧП, колбы или стаканы из расчета 1 г уже зараженной среды на гусеницу или примерно 20 мкл среды и 0,06 мкл супензии на гусеницу с использованием метода поверхностного заражения [*Cydia pomonella* granulovirus genotypes..., 2008; High stability and no fitness costs..., 2012; Progressive adaptation of a CpGV..., 2014; Rezapanah M., 2015; Fan J., Wennmann J., Jehle J., 2019; Цыгичко А. А., Гырнец Е. Ю., 2024].

В своих исследованиях Yu H с соавторами изучали энтомопатогенную активность штамма NPV *Helicoverpa armigera* на гусеницах второго–шестого возраста, заражение осуществляли в основном поверхностным методом, использовали насекомых, которые голодали перед началом экспериментальной работы в течение ночи [Recombinant *Helicoverpa armigera*..., 2017]. Авторы в своих работах по оценке энтомопатогенной активности на одну гусеницу использовали

2-5 мм² или 1 мл среды, которую обрабатывали 3-50 мкл супензии [Cydia pomonella granulovirus genotypes..., 2008; Progressive adaptation of a CpGV..., 2014; Baculovirus resistance in codling moth..., 2014; Insecticidal efficacy and persistence..., 2015; Effect of juvenile hormone..., 2016]. Насекомых раскладывали индивидуально или по лункам, позволяли питаться зараженным кормом в течение 12-24 ч, а затем осуществляли замену рациона на безвирусный, или оставляли на вирусосодержащей диете без замены вплоть до гибели [Cydia pomonella granulovirus genotypes..., 2008; Nucleopolyhedrovirus infection and/or parasitism..., 2016; Recombinant *Helicoverpa armigera*..., 2017; Effect of juvenile hormone and pyriproxyfen..., 2016; Novel resistance to Cydia pomonella granulovirus..., 2017; A third type of resistance to *Cydia pomonella* granulovirus..., 2017; Cool-textured diets for use..., 2017]. Учет погибших особей проводили на первые, седьмые, десятые, 14 и 21 сутки или ежедневно в течение 1-3 недель [Baculovirus resistance in codling moth..., 2014; Insecticidal efficacy and persistence..., 2015; Effect of juvenile hormone..., 2016; Sauer, Schulze-Bopp, Fritsch et al, 2017; Novel resistance to Cydia pomonella granulovirus..., 2017; Fan J., Wennmann J., Jehle J., 2019].

В работах, где авторы использовали инъекции для инокуляции, отбирали гусениц 3-го возраста и вводили им 0,06-2 мкл или 100-500 нг супензии непосредственно в гемоцель путем прокола [Kim Y., Hepat R., 2016; Recombinant *Helicoverpa armigera*..., 2017]. Инъектирование осуществляли с помощью микроконтроллера Microsyringe PumpController (World Precision Instruments) под микроскопом (S730 Olympus, Токио, Япония). В качестве иглы был использован съемник микропипетки ПН-30 (Narishige, Япония, Токио), из которого сделали стеклянный капилляр необходимой длины и диаметра (Всемирный точные приборы, Saratosa, Флорида, США) [Kim Y., Hepat R., 2015]. Зараженных гусениц яблонной плодожорки выращивали индивидуально в 24-луночных лотках для культивирования насекомых и ежедневно осматривали, пока все гусеницы не окукливались или не умирали [Recombinant *Helicoverpa armigera*..., 2017].

Некоторые исследователи процесс инокуляции осуществляли с помощью метода капельного кормления. Для этого группе гусениц хлопковой совки 4-5

возраста давали пить из капель вирусной суспензии смешанной с раствором сахарозы в течение 10-минутного периода. Капли создавали с помощью шприца, выдавливая небольшое количество смеси на стеклянную поверхность. После этого личинок немедленно перемещали к каплям. Особей, проглотивших суспензию, переносили в индивидуализированные пластиковые стаканы, содержащие блок полусинтетической диеты, и содержали до смерти или окукливания [Hughes P. R., Wood H. A., 1981; Insecticidal efficacy and persistence..., 2015; Chemical and biological stress factors..., 2017].

При заражении яиц томатной минирующей моли, суспензию вирусных изолятов распыляли на вощеную бумагу, на которую предварительно производили откладку взрослые насекомые. После этого бумажные листы с яйцами помещали поверх чистых плодов или растений и инкубировали в пластиковых контейнерах при необходимой для того или иного вида температуре и влажности. Учет отродившихся личинок проводили через 25 суток [Potential of betabaculoviruses to control..., 2017; Бондарчук Е. Ю., Цыгичко А. А., Асатурова А. М., 2021].

В ряде работ по инокуляции гусениц малой совки, особям 1-3-го возраста скармливали обработанные разными способами листья растений. Заражение осуществляли как целого растения и затем срезали необходимое количество листьев, так и уже срезанных листьев по отдельности. Некоторые авторы использовали метод листового диска [Wan N.-F., Jiang J.-X., Li B., 2016; Recombinant *Helicoverpa armigera*..., 2017]. При обработке использовали 1 мл/лист или 60 мл/раст вирусной суспензии с добавлением 0,2 % коммерческого влажного прилипателя на основе нонилфенокси полиэтиленоксизетанола (Agral, Syngenta Agro, Мадрид, Испания) или без него [Insecticidal efficacy and persistence..., 2015; Wan N.-F., Jiang J.-X., Li B., 2016]. После обработки листа/растения вирусной суспензией с помощью небулайзера, пульверизатора или пипетки, их подсушивали на воздухе и распределяли по лоткам, пробиркам или контейнерам из расчета 1-4 гусеницы на лист. Насекомых распределяли группами или индивидуально, в зависимости от физиологии вредителя и содержали в комфортных для них условиях. В работе Bayramoglu с соавторами использовал в эксперименте гусениц

американской белой бабочки, которые предварительно голодали в течение 5 ч [Characterization of a Betabaculovirus..., 2018]. После полного или частичного поглощения зараженной пищи насекомых снабжали свежими не инокулированными листьями или искусственным субстратом по необходимости. Учет погибших особей регистрировали каждый день, пока все гусеницы не умерли или не окуклились [Insecticidal efficacy and persistence..., 2015; Wan N.-F., Jiang J.-X., Li B., 2016; Recombinant *Helicoverpa armigera*..., 2017; Characterization of a Betabaculovirus..., 2018].

В исследованиях по изучению энтомопатогенной активности вирусных штаммов в качестве объекта инокуляции использовали клеточную культуру, которую получали из лабораторной популяции насекомых. Для этого культивирование осуществляли при оптимальной температуре и на специализированных средах. Например, культуру клеток хлопковой совки культивировали при 27°C в среде TNM-FH Insect Medium (Sigma, St Louis, MO, USA) [Recombinant *Helicoverpa armigera*..., 2017]. При этом в состав среды дополнительно добавляли 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) от общего объёма. Заражение культуры осуществляли добавлением 1-2 мкг очищенной бакмидной ДНК вируса и последующей культивацией от 120 ч до 20 дней. По истечении времени часть культуры изымалась для наблюдения цитопатического эффекта – возникновение дегенеративных изменений в клеточных культурах, связанное с размножением вирусов [Recombinant *Helicoverpa armigera*..., 2017; Baculovirus resistance in codling moth..., 2014]. Если при культивировании вносили флюоресцентномеченные вирусные бакмиды, наблюдали усиленную клеточную флуоресценцию [Baculovirus resistance in codling moth..., 2014].

В ходе работ по оценке энтомопатогенной активности у инфицированных насекомых наблюдали меланизированные узелки. Для этого вводили 0, 5 мкл вирусной суспензии в гемоцель личинок 3-го возраста с помощью инжектора и инкубировали в течение 8 ч при 25°C. Затем личинок рассекали на дорсальной стороне и подсчитывали меланизированные узелки на кишечнике и жировом теле под микроскопом (SZX9, Olympus) при 50-кратном увеличении. После иссечения

желудочно-кишечного тракта узелки в ранее не подвергавшихся воздействию областях и оставшиеся внутренние ткани так же подсчитывали и добавляли к первоначальному подсчету [Kim Y., Hepat R., 2016; Бондарчук Е. Ю., Цыгичко А. А., Асатурова А. М., 2021].

Некоторые авторы в своей работе дополнительно производили учет концентрации 20-гидроксиэкдизона в гемолимфе насекомых, гормона, отвечающего за стадии линьки, а также вырабатываемого в ответ на инфицирование насекомого. Для этого из зараженных насекомых отбирали 0,5–2,0 мл гемолимфы. Сначала каждую личинку стерилизовали 75 % спиртом и очищали дистиллированной водой. Затем разрезали кожный покров между третьим и четвертым брюшными сегментами, отбирали гемолимфу с помощью капиллярной трубки в ледяной антикоагуляционный буфер (98 ммоль NaOH; 0,19 моль NaCl; 1,7 моль ЭДТА; 41 моль лимонной кислоты, pH=4,5). Образец, содержащий 50 мл гемолимфы (объединенный из 25-100 личинок), использовали для определения концентрации 20-гидроксиэкдизона. Каждый образец центрифугировали при температуре +4 °C и 800 об./мин в течение 10 мин для удаления гемоцитов и других остатков тканей, затем супернатант собирали и хранили при температуре -20 °C [Host regulation and release..., 2005]. Титры гормона определяли количественно с помощью радиоиммунного анализа по методу Borst и O'Connor [Borst D. W., O'Connor J. D., 1974; Nucleopolyhedrovirus infection and/or parasitism..., 2016].

Стоит отметить, что наиболее распространенным методом оценки действия энтомопатогенных вирусов в лабораторных условиях является метод поверхностного заражения источника питания тестируемого насекомого [*Cydia pomonella* granulovirus genotypes..., 2008; Progressive adaptation of a CpGV..., 2014; Baculovirus resistance in codling moth..., 2014; Insecticidal efficacy and persistence..., 2015; Nucleopolyhedrovirus infection and/or parasitism..., 2016; Effect of juvenile hormone..., 2016; Recombinant *Helicoverpa armigera*..., 2017; Novel resistance to *Cydia pomonella* granulovirus..., 2017; Cool-textured diets for use..., 2017]. К дополнительным критериям оценки энтомопатогенного действия энтомопатогенных вирусов относят наличие и количество меланизированных

узелков внутри зараженного насекомого, а также измерение уровня концентрации 20-гидроксиэкдизона [Nucleopolyhedrovirus infection and/or parasitism..., 2016; Kim Y., Hepat R., 2016; Бондарчук Е. Ю., Цыгичко А. А., Асатурова А. М., 2021].

Фунгицидная активность. Фунгицидная активность потенциальных биоагентов важна не только для прямой защиты растений, но и для комплексных препаратов, предназначенных одновременно подавлять грибные инфекции и ограничивать развитие насекомых-вредителей, поскольку многие фитофаги переносят фитопатогенные грибы или ослабляют растения, делая их более восприимчивыми к микозам. На раннем этапе селекции штаммов ключевую роль играет *in vitro*-оценка, позволяющая быстро отсеять культуры с низким потенциалом и перейти к всестороннему испытанию на насекомых и растениях-хозяевах.

Наиболее востребованными методами первичного скрининга остаются дисковый и лунковый диффузионные тесты. Суспензию клеток или фильтрат культуры вводят в питательный агар, предварительно инокулированный тест-грибом, а затем фиксируют диаметр зоны подавления его роста. Процедура проста, хорошо воспроизводима и позволяет оперативно оценить десятки изолятов. Вместе с тем она не даёт минимальной ингибирующей концентрации и чувствительна к диффузионной способности секреируемых метаболитов [Montealegre J. R., Reyes R., Perez L. M., 2003; Balouiri M., Sadiki M., Ibnsouda S. K., 2016; A review of commonly used methodologies..., 2022; A review on the screening methods..., 2024].

При посеве методом встречных культур биомассу бактерии или гриба-антагониста размещают на одной стороне чашки, а агаровый блок с тест-фитопатогеном – в центре, после инкубации рассчитывают процент ингибирования радиального роста. Модифицированные варианты позволяют одновременно оценивать несколько штаммов-продуцентов в отношении спектра патогенов в одной ЧП, что сокращает расход среды и время анализа [De Senna A., Lathrop A., 2017; Comparative genomic analysis..., 2024].

Для оценки ингибирующего действия жидких культур или очищенных метаболитов применяется метод внесения биоагента непосредственно в

расплавленную агаровую среду до достижения заданной конечной концентрации с последующим посевом тест-культуры гриба. Данный подход обеспечивает возможность построения кривых зависимости «доза-эффект» и определения значений EC_{50} , что позволяет проводить сравнение с химическими стандартами [Balouiri M., Sadiki M., Ibnsouda S. K., 2016; De Senna A., Lathrop A., 2017; Методические подходы ..., 2021; Antimicrobial susceptibility testing..., 2022].

1.4 Микроиопрепараты на основе бактерий с энтомопатогенным и фунгицидным действием для защиты плодовых культур

Объем мирового рынка биопестицидов оценивался в 8,73 млрд долларов США в 2024 г. Прогнозируется, что рынок вырастет с 10,12 млрд долларов США в 2025 г. до 28,61 млрд долларов США к 2032 г., показав среднегодовой темп роста в 16,0% в течение прогнозируемого периода. Северная Америка доминировала на рынке биопестицидов с долей рынка 36,8% в 2024 г. Более того, прогнозируется, что объем рынка биопрепаратов в США значительно вырастет и достигнет оценочной стоимости в 7,34 млрд долларов США к 2032 г., что обусловлено ростом спроса на органические продукты питания и более широким использованием микробиологических препаратов для выращивания сельскохозяйственных культур [Biopesticides Market Size..., 2025]. В функциональном разрезе рынок подразделяется на биофунгициды, биоинсектициды, бионематоиды и ряд прочих категорий.

Отраслевые прогнозы сходятся во мнении, что крупнейшую долю глобальных продаж в обозримой перспективе будет формировать сегмент биоинсектицидов [Biopesticides Market Size..., 2025]. На сегодняшний день в РФ наиболее распространены бактериальные инсектициды на основе спор и токсинов энтомопатогенной бактерии *Bacillus thuringiensis*. Первый коммерческий биопрепарат «Sporeine» на основе этого агента появился в 1938 г. во Франции.

Биоинсектициды на основе *B. thuringiensis* являются наиболее часто используемыми из всех биопестицидов на мировом рынке и составляют более 50,0 % от всех продаж [Zimmermann G., Huger A. M., Kleespies R. G. , 2013; Lacey L. A., 2017; Microbial pesticides: challenges and future..., 2024]. Крупной американской компанией Valent Bioscience выпускаются биоинсектициды широкого спектра действия: DiPel, DF (*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* ABTS-351) и XenTari, DF (*B. thuringiensis* subsp. *aizawai* ABTS-1857), которые применяют в биологическом контроле яблонной плодожорки. В отношении насекомых отряда *Lepidoptera* имеет большую эффективность биопрепарат DiPel, DF, его рекомендуют применять на гусеницах младших возрастов. Препарат безопасен для пчел, поэтому его применение обеспечивает сохранение полезных насекомых- опылителей. Инсектицид XenTari, DF контролирует чешуекрылых за счет группы токсинов, продуцируемых бактерией [Biofilm-forming ability of *Bacillus thuringiensis*..., 2024; Florczałk L., 2024; Verplaetse É., Slamti L., Lereclus D., 2025; Toxic and sub-toxic effects..., 2025].

На сегодняшний день в России на основе *B. thuringiensis* разработаны и широко применяются такие препараты, как «Лепидоцид» (*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* Z-52) и «Битоксибациллин» (*B. thuringiensis* var. *thuringiensis*, штамм 98) в различных препаративных формах. Эти биоинсектициды традиционно применяются в плодоводстве для защиты яблони, многие годы, показывая высокую эффективность (до 90,0 %) в отношении более 40 видов чешуекрылых [Черкезова, С. Р. 2007; Франк Р. И., Кищенко В. И., 2008; Агасьева И. С., Нефёдова М. В., 2021; Аспекты снижения пестицидной нагрузки..., 2022; Попова В. П., 2025]. Также в 2019 г. в Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов был включен новый бактериальный препарат Инсетим, Ж на основе *B. thuringiensis*, subsp. *thuringiensis* ИПМ-1140, направленный на снижение численности популяций яблонной плодожорки [Долженко Т. В., 2021; Entomopathogenic activity..., 2021; Аспекты снижения пестицидной нагрузки..., 2022; Ступенчатый скрининг..., 2024; Государственный каталог..., 2025; Цыгичко А. А., Гырнец Е. Ю., 2025].

К достоинству препаратов на основе бактерий можно отнести отсутствие фитотоксичности [Коломбет Л. В., Соколов М. С., 2006; Влияние лабораторных образцов биопрепаратов..., 2010; Сираева З. Ю., 2012; Применение биопрепарата на основе *Bacillus thuringiensis*..., 2023]. Повышение эффективности подобных средств защиты растений достигается благодаря тщательному отбору штаммов микроорганизмов и оптимизации условий их культивирования [Discovery and development of biological agents..., 2003; Петенко А. И., Гнеуш А. Н., Дмитриев В. И., 2014; Rapid and mass production of biopesticide..., 2022; Optimization of fermentation..., 2024].

В РФ против чешуекрылых вредителей и других членистоногих был разработан трёхкомпонентный препарат Биостоп, Ж, в состав которого входит комплекс природных авермектинов *Streptomyces sp.*, бактерии *B. thuringiensis* и споры энтомопатогенного гриба *B. bassiana*. [Биологический контроль численности..., 2020; Устюжанинова Л. В., Завалин Р. Ю., 2021; Гырнец, Е. Ю., Асатурова А. М., 2023; Гырнец, Е. Ю., Асатурова А. М., 2024; Роль энтомофагов в регулировании численности..., 2025; Государственный каталог пестицидов..., 2025].

На сегодняшний день отмечена позитивная тенденция на расширение ассортимента микробиологических средств для защиты сельскохозяйственных культур от различных вредных организмов [Гырнец (Бондарчук), Е. Ю., Цыгичко А. А., 2022; Исследование штаммов бактерий..., 2024; Государственный каталог пестицидов..., 2025]. Однако препаратов, которые обладают полифункциональным действием в отношении парши яблони *V. inaequalis* и яблонной плодожорки *C. pomonella*, в настоящее время не зарегистрировано, что подчеркивает актуальность исследований в этом направлении.

ГЛАВА 2. МЕСТО, УСЛОВИЯ, ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Место и условия исследований

Исследования по теме работы осуществляли на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (ФГБНУ ФНЦБЗР) в лаборатории микробиологической защиты растений и лаборатории химической коммуникации и массового разведения насекомых. Эксперименты проводили в 2019-2025 гг. с использованием материально-технической базы уникальной установки (УНУ) «Технологическая линия для получения микробиологических средств защиты растений нового поколения» [<https://fnccbzr.ru/brk-i-unu/unique-installation-2/>].

Молекулярно-генетическую идентификацию штаммов бактерий и их биоинформационический анализ, а также депонирование генетических последовательностей проводили на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск) совместно с сотрудниками сектора биоинформатики и информационных технологий в генетике и сектора геномных исследований.

Оценку фунгицидной и инсектицидной активности экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий в условиях мелкоделяночного опыта проводили на полевой базе хутора Покровского, Краснодарского края, III климатической зоны в 2023-2024 гг. В период проведения опыта отмечались характерные для данной местности погодные условия. Среднегодовая температура воздуха колебалась в пределах 13,0-14,0°C, с минимальными значениями в зимние месяцы (декабрь-февраль) и максимальными в летний период (июнь-июль). Вегетационный сезон характеризовался средними температурами 12,0-26,0°C.

Количество атмосферных осадков за год варьировало от 450 до 732 мм при 134-153 днях с выпадением осадков, при этом в вегетационный период их сумма составила 190-340 мм. Показатели относительной влажности воздуха демонстрировали стабильные значения: среднегодовая влажность находилась в диапазоне 66-71 %, а в период активной вегетации растений – 55,3-74,4 % (рисунки 1, 2) [Погода..., 2024; Rp5.ru..., 2024].

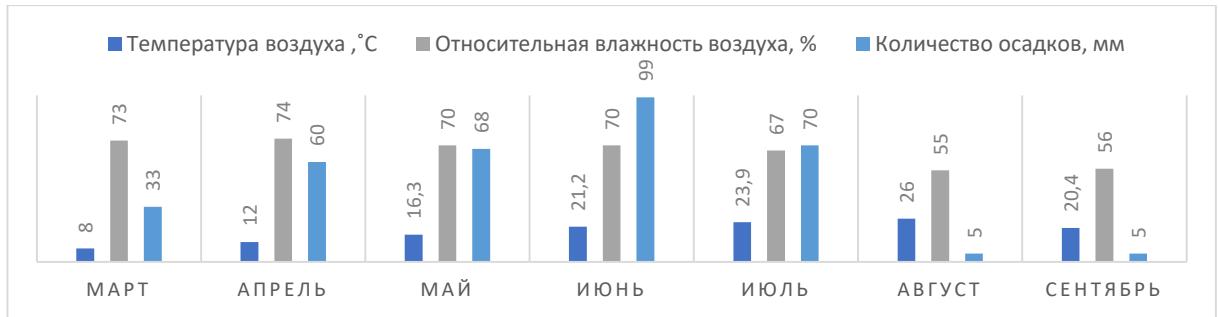


Рисунок 1 – Погодные условия, хутор Покровский, Абинский район, Краснодарский край, 2023 г.



Рисунок 2 – Погодные условия, хутор Покровский, Абинский район, Краснодарский край, 2024 г.

Мониторинг динамики лёта яблонной плодожорки *Cydia pomonella* L. проводили с помощью клеевых феромонных ловушек типа «Дельта». Ловушки устанавливали в первой декаде апреля до начала массового лёта имаго, размещая их на высоте 2 м от поверхности почвы с соблюдением следующих параметров: расстояние от края садовых насаждений – 15 м, минимальный интервал между ловушками – 20 м. Учёт отловленных особей проводили с периодичностью 1-3 раза в месяц в течение всего вегетационного периода до уборки урожая. Полученные

данные по динамике лёта вредителя представлены в таблице 1 приложения А и на рисунке 3.



Рисунок 3 – Динамика лёта *C. pomonella*, хутор Покровский, Краснодарский край, 2023-2024 гг.

Агроценоз отличался средней численностью фитофагов: яблонная плодожорка *C. pomonella* (8-12 бабочек на ловушку), зеленая яблонная тля *A. pomi* (50-80 особей на побег). Фитопатологический мониторинг выявил умеренный естественный фон в период вегетации в 2023-2024 гг., представленный преимущественно возбудителем парши яблони: развитие – от 5,3 до 26,8 %; распространенность – от 18,0 до 57 %. Важно отметить, что опытный участок характеризуется отсутствием применения органических и минеральных удобрений, а также химических средств защиты растений.

2.2 Объекты исследований

Объекты исследования – аборигенные штаммы бактерий из биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» (БРК ФГБНУ ФНЦБЗР) [<https://fnccbzr.ru/brk-i-unu/unique-installation-1/>].

Для оценки фунгицидной активности штаммов бактерий *in vitro* в качестве тест-культур использовали штаммы фитопатогенных грибов из рабочей коллекции

ФГБНУ ФНЦБЗР: *Fusarium graminearum* BZR F-4, *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6, *F. culmorum* BZR F-3, *Rhizoctonia solani* BZR F-11, *Trichothecium roseum* BKM F-428, *Cladosporium herbarum* BKM F-1688, *Alternaria* sp. (*alternata*) BZR-F 12, *F. avenaceum* BZR-F 19 и *Venturia inaequalis* BZR-F34, как одни из наиболее вредоносных фитопатогенов плодовых культур. Карантинный штамм *Monilinia fructigena* был передан из коллекции федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР») и использован в лабораторных тестах по согласию № 695-17/802 от 06.03.2023 г. в рамках договора о сотрудничестве №ХД-2022-49 от 10.06.2022 г.

В эксперименте по определению антагонистической активности *in vitro* использовали фитопатогенные штаммы бактерий *Erwinia amylovora* BZR B-1185, *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* BZR B-1192, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* BZR B-1195, *Xanthomonas arboricola* BKM B-1052.

В качестве тест-объектов по определению инсектицидной активности *in vitro* были использованы гусеницы лабораторной популяции большой восковой моли *Galleria mellonella* L. и большого мучного хрущака *Tenebrio molitor* L. Гусеницы и личинки исследуемых насекомых были предоставлены сотрудниками лаборатории химической коммуникации и массового разведения насекомых и государственной коллекции энтомоакарифагов и первичной оценки биологических средств защиты растений ФГБНУ ФНЦБЗР.

В опыте по определению инсектицидного действия в отношении целевого объекта отбирали гусениц из природной популяции яблонной плодожорки садовых насаждений ФГБНУ ФНЦБЗР.

Фитотоксичность штаммов бактерий определяли на пшенице озимой *Triticum aestivum* L. сорта Граф (оригинатор – федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Национальный центр зерна имени П. П. Лукьяненко»). Выбор пшеницы озимой в качестве тест-культуры в данном эксперименте обусловлен ее высокой чувствительностью и репрезентативностью для лабораторных тестов.

Оценку фунгицидной и инсектицидной активностей экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий проводили на яблоне раннелетнего сорта Женева Эрли, характеризующегося средней восприимчивостью к парше (*V. inaequalis*).

2.3 Материалы и методы исследований

Ферментативная активность

Анализ липолитической активности. Для выявления липолитической активности применяли желточный агар следующего состава (г/л): пептон – 40,0; глюкоза – 2,0; K₂HPO₄ – 5,0; NaCl – 2,0; 0,5% раствор MgSO₄ – 2,0 мл; агар – 25,0; дистиллированная вода – 1 л. Среду стерилизовали автоклавированием при 121 °C в течение 15 мин, после чего охлаждали до 60°С. Куриное яйцо предварительно обрабатывали 70 % этианолом для дезинфекции скорлупы. После испарения спирта яйцо вскрывали, желток отделяли от белка и асептически желток вносили в расплавленный и предварительно охлажденный до 45°С агар, тщательно перемешивая до гомогенизации. Приготовленную среду разливали в ЧП и оставляли до застывания. После посева микроорганизмов ЧП инкубировали при оптимальной температуре для исследуемого штамма в течение 14 сут. Учет результатов осуществляли визуально [Практикум по микробиологии..., 2005, Нетрусов А. И., Котова И. Б., 2025]. Критерием липолитической активности считали: появление маслянистого блеска с перламутровым отливом; формирование прозрачной зоны вокруг колоний.

Определение протеолитической активности (гидролиз казеина).

Стерильное обезжиренное молоко смешивали с равным объемом 4 %-го водного агара, предварительно расплавленного и охлажденного до 50°С. Полученную среду разливали в ЧП и после затвердевания засевали исследуемыми микроорганизмами штриховым методом. Инкубацию проводили при температуре, соответствующей оптимальным условиям роста штамма, в течение 14 сут. О наличии

протеолитической активности судили по образованию зон просветления вокруг колоний, свидетельствующих о гидролизе казеина [Практикум по микробиологии..., 2005, Нетрусов А. И., Котова И. Б., 2025].

Оценка хитинолитической активности. Для определения способности микроорганизмов гидролизовать хитин использовали синтетическую среду следующего состава (г/л): сахароза – 20,0; Na_2CO_3 – 3,0; KH_2PO_4 – 1,0; MgSO_4 – 0,3; мел (CaCO_3) – 10,0; агар – 20,0; дистиллированная вода – 1 л. После автоклавирования среду разливали в ЧП и засевали путем штрихования. Инкубацию проводили в течение 7–14 сут. Положительным результатом считали появление четких зон просветления вокруг колоний, указывающих на деградацию хитина [Практикум по микробиологии..., 2005, Нетрусов А. И., Котова И. Б., 2025].

Идентификация и биоинформационический анализ штаммов бактерий. По результатам анализа данных по ферментативной активности были отобраны 17 штаммов бактерий (BZR 588, BZR 1159, BZR 920, BZR 936, BZR 206, BZR 926, BZR 466, BZR 736, BZR 635, BZR 762, BZR 278, BZR 201, BZR 162, BZR 585, BZR G1, BZR G3, BZR G2) с комплексной ферментативной активностью и идентифицированы методом полногеномного секвенирования на базе ИЦиГ СО РАН. Штамм BZR 277 был идентифицирован на базе ФИЦ Биотехнологии РАН. Полные данные о геномной последовательности депонированы в международную базу NCBI [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NZ_CP064845.1].

Библиотеки нуклеотидов и референсные геномы. Все образцы были представлены парными чтениями длиной 150 п.н. Штаммы BZR G1, BZR G2 и BZR G3 были таксономически идентифицированы по 16S рРНК как *Bacillus thuringiensis*. Референсный геном *B. thuringiensis* был скачан из базы данных NCBI Refseq (NZ_CM000753.1). Сборка данного генома представляла полную кольцевую хромосому размером 6260142 п.н. (до 6,26 млн п.н., Мб).

Референсные геномы представлены в таблице 1 приложения Б.

Программные средства. Для сборки геномов, их аннотации и сопутствующего анализа были использованы следующие программные инструменты:

1. FastQC – инструмент оценки качества данных секвенирования [<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>].
2. Fastp – инструмент для предварительной обработки и контроля качества данных FASTQ [Fastp: an ultra-fast all-in-one..., 2018; Chen S., 2023].
3. BWA – пакет программ для картирования последовательностей ДНК на референсный геном [<https://github.com/lh3/bwa>; Li H., 2013].
4. Samtools – набор программ для работы с результатами картирования прочтений на референсные [<http://www.htslib.org/>; Twelve years of SAMtools..., 2021].
5. Spades – пакет программ для сборки геномов и метагеномов [<https://cab.spbu.ru/software/spades/>; SPAdes: a new genome assembly..., 2012; Using SPAdes de novo assembler..., 2020].
6. MinYS – инструмент для сборки геномов из коротких прочтений по референсному геному [<https://github.com/cguyomar/MinYS>; MinYS: mine your symbiont..., 2020].
7. Gfinisher – инструмент для коррекции ошибок сборки и финализации бактериальных геномов [<https://gfinisher.sourceforge.net/>; GFinisher: a new strategy ..., 2016].
8. Prokka – программный конвейер для аннотации прокариотических геномов [<https://github.com/tseemann/prokka>; Seemann T., 2014].
9. Quast – инструмент оценки качества сборок геномов [<https://cab.spbu.ru/software/quast/>; QUAST: quality assessment..., 2013].
10. Metaphlan4 – инструмент для таксономического анализа метагеномов на основе каталога кладоспецифичных маркёрных генов [<https://github.com/biobakery/MetaPhlAn>; Extending and improving metagenomic..., 2023].
11. MaxBin2 – программа, предназначенная для биннинга (извлечения геномов из метагеномов путём кластеризации контигов) [Wu Y.-W., Simmons B. A., Singer S. W., 2016].

12. GenAPI – инструмент командной строки, предназначенный для сравнения генного репертуара в бактериальных геномах, для которых доступны только фрагментарные сборки геномов [<https://github.com/MigleSur/GenAPI/tree/master>; Gabrielaite M., Marvig R. L., 2020].

13. Blast+ – программный пакет для поиска гомологов белков или нуклеиновых кислот, для которых известна или её полная или фрагментированная последовательность [BLAST+: Architecture..., 2009].

14. MAFFT – веб-сервис для множественного выравнивания [<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>; Katoh K., Rozewicki J., Yamada K. D., 2019].

15. Phylo.io – сервис для визуализации филогенетических деревьев [Robinson O., Dylus D., Dessimoz C., 2016].

16. NCBI Common Taxonomy Tree - инструмент построения общего таксономического дерева для набора таксонов [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/CommonTree/wwwcmt.cgi>].

17. iTOL - инструмент визуализации деревьев [Letunic I., Bork P., 2024].

18. JSpeciesWS – веб-сервис, позволяющий проводить тетракорреляционный поиск (TCS) с использованием базы GenomesDB, а также проводить анализ средней нуклеотидной идентичности (ANI) при полногеномном сравнении микроорганизмов [<https://jspecies.ribohost.com/jspeciesws/#home>; JSpeciesWS: a web server..., 2016].

Депонирование геномов энтомопатогенных штаммов бактерий в NCBI. Полученные результаты были отправлены в международную базу National Center for Biotechnology Information (NCBI) по стандартным протоколам [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/genomesubmit/>].

Оценка эффективности штаммов бактерий по критериям фунгицидной, инсектицидной и бактерицидной активности *in vitro*. Для наработки биоматериала штаммы бактерий высевали методом штриха на мясо-пептонный агар (МПА). Культивирование осуществляли в термостате при температуре 28°C в течение 48 ч. По окончании культивирования получали водную суспензию методом смыва и определяли численность бактериальных клеток. Численность

бактериальных клеток определяли глубинным методом [Практикум по микробиологии..., 2005, Нетрусов А. И., Котова И. Б., 2025]. Определение числа клеток этим методом включает три этапа: приготовление разведений супензий штаммов бактерий, посев на питательную среду в ЧП и подсчет выросших колоний.

Для приготовления разведений стерильную воду разливали по 9,0 мл в стерильные сухие пробирки. Затем 1,0 мл исследуемой супензии стерильной пипеткой переносили в колбу с 99,0 мл стерильной воды. После чего отбирали 1,0 мл супензии и переносили в пробирку с 9,0 мл стерильной воды. Полученное разведение тщательно перемешивали, несколько раз вбирая в пипетку и выпуская из нее полученную супензию клеток. Таким же образом готовили все последующие разведения. Высев исследуемой супензии осуществляли глубинным способом. Для этого по 1,0 мл из соответствующего разведения переносили в три стерильные ЧП. В каждую из них заливали по 15,0-20,0 мл среды, расплавленной и остуженной до +45,0 - +50,0°C, и смешивали питательную среду с посевным материалом легкими вращательными движениями, после чего ЧП оставляли на горизонтальной поверхности до застывания среды. Колонии бактерий подсчитывали через 48 часов инкубации.

Количество колониеобразующих единиц (клеток, спор) (КОЕ) в 1,0 мл исследуемой супензии вычисляли по формуле:

$$T = (a \times 10^n) / V, \quad (1)$$

где T – КОЕ в 1,0 мл;

a – среднее число колоний, выросших после посева из данного разведения;

V – объем супензии, взятый для посева;

10^n – коэффициент разведения.

Подсчет выросших колоний в ЧП осуществляли с использованием системы для автоматического подсчета колоний ColorQcount, SpiralBiotech (США).

Разведение и содержание большой восковой моли. Большую восковую моль разводят в научно-практических целях как модельный объект для физиологических и биохимических исследований, для оценки активности и качества биопрепараторов, а также как кормовую базу для хищных клопов, мух-

тахин, трихограмм и др. [Burges H. D., 1967; Хорхордин Е. Г., Шагов Е. М., 1987; Осокина А. С., Колбина Л. М., Непейвода С. Н., 2015; Оценка инсектицидной активности..., 2016].

Общее время развития насекомого составляло около 30-45 дней. Яйца развивались 5-8 суток, при этом инкубационный период мог длиться до 14-17 суток. Сильное влияние могли оказывать температурные условия, к примеру, в летний период *in vitro* этот период происходит быстрее. Гусеницы от первого до третьего возраста развивались 15 суток. Для исследования эффективности штаммов бактерий использовали гусениц второго и третьего возраста. Развитие до имаго составляло 12-18 суток. Имаго большой восковой моли развивались 7-20 дней: самки от 7 до 12 дней, а самцы от 10 до 20 дней.

При отрождении имаго пересаживали с помощью пробирок в стеклянные сосуды объёмом по 0,5 л, где предварительно помещали смоченную дистиллированной водой кальку. На один сосуд приходилось примерно 40 % самок и 60 % самцов, для более высокой вероятности оплодотворения. Затем банку прикрывали тканью (мельничный газ), сверху помещали влажную вату и каплю мёда, при этом температура содержания была 25-26 °C, а влажность 70-80 %.

Через три или четыре дня после пересаживания имаго начинали отслеживать процесс оплодотворения, откладывания яиц, а затем выхода гусениц. После чего гусениц первого возраста пересаживали на питательную среду для дальнейшего роста и развития [Осокина А. С., Колбина Л. М., Непейвода С. Н., 2015].

Разведение и содержание большого мучного хрущака. Личинки *T. molitor* являются классическими объектами содержания и разведения в качестве кормовых объектов. Высокая питательная ценность личинок, их быстрый рост, высокая продуктивность и относительная простота ухода делают культуры этого вида привлекательными как для промышленного, так и индивидуального содержания [Компанцева Т. В., 2001; Айриян Д. В., Саркисян Д. С., 2019].

Сроки развития большого мучного хрущака определяются условиями содержания. Модельные объекты содержали в оптимальных условиях – при относительной влажности 60-70 % и температуре 27 С. Регулярно поддерживали

воздухообмен, а также наличие сбалансированного корма. Таким образом, полный цикл развития мучного хрущака проходил за 10-12 недель. Жуки достигали половой зрелости через 10-12 дней после окрашивания, а через восемь дней после спаривания самки начинали откладывать яйца. Инкубация яиц занимала 5-7 дней, развитие личинок длилось 6-7 недель, куколок 6-10 дней [Методические рекомендации по разведению..., 2008; Айриян Д. В., Саркисян Д. С., 2019].

Испытание энтомопатогенной активности штаммов бактерий *in vitro* на гусеницах большой восковой моли проводили по методическим указаниям оценки экологической безопасности пестицидов при их использовании в интегрированной защите растений [Буров В. Н., Тютерев С.Л., Сухорученко Г.И., 1995; Патогены насекомых..., 2001]. Опыт проводился в пятикратной повторности (по 30 особей на повторность). ЧП с насекомыми содержали при температуре +25-27°C и относительной влажности воздуха 60-80 %. Для выявления патогенности штаммов бактерий использовали гусениц 2-3 возрастов большой восковой моли. Гусениц большой восковой моли рассаживали в ЧП по 10 шт. и добавляли 5 г ИПС, обработанной 3 мл раствора. Вид жидкости варьировал в зависимости от варианта: в контрольном варианте – вода, суспензии штаммов – в опытных вариантах. Длительность эксперимента по оценке инсектицидного действия штаммов бактерий составляла пять суток [Harris M. O., Mafile'o F., Dhana S., 1997; Патогены насекомых..., 2001; Черкезова С. Р., 2010; Isolation and characterization..., 2018].

При использовании личинок большого мучного хрущака в качестве тест-объекта инсектицидную активность штаммов оценивали, используя суспензию агента в качестве добавки к питательной среде для личинок 5-6 возраста. Возраст личинок во всех вариантах и повторностях эксперимента был одинаковый. Личинок использовали после предварительного голодания в течение 24 ч. Каждую суспензию агента смешивали с молотым геркулесом из расчета 3,0 мл исходной суспензии на 5,0 г геркулесовой муки. В каждую ЧП на пищевой субстрат помещали по десять экспериментальных личинок (30 личинок на повторность). Опыт проводили в пятикратной повторности. В контроле геркулесовую муку смешивали с 3,0 мл воды. Чашки накрывали крышками с вентиляционными

отверстиями и инкубировали при температуре 26-28°C. На трети сутки, далее на пятые сутки оценивали состояние личинок и пищевого субстрата. Длительность опыта составила пять суток [Биопрепараты для защиты растений..., 2018].

Для оценки инсектицидного действия штаммов бактерий в отношении яблонной плодожорки *C. pomonella* использовали гусениц, которых отбирали из природных популяций насекомых. Сбор яблок производили вручную с деревьев, предварительно оценив визуально точки внедрения фитофага. Далее каждый плод аккуратно разрезали ножом и при наличии гусениц извлекали их. Гусениц яблонной плодожорки содержали индивидуально в 24-луночных пластиковых планшетах (Nunc™ Cell-Culture Treated), по 1 гусенице на лунку, по 15 насекомых на планшет. ИПС раскладывали в лунки по 1 г на гусеницу [Митрофанов В. Б., 1976]. Иноокуляцию водной суспензией штаммов производили перорально, путем её нанесения на ИПС с помощью дозатора из расчета 0,3 мл на одно насекомое. Опыт проводили в трехкратной повторности. Длительность эксперимента по оценке инсектицидного действия штаммов бактерий в отношении яблонной плодожорки составляла пять суток [Harris M. O., Mafile'o F., Dhana S., 1997; Патогены насекомых..., 2001; Черкезова С. Р., 2010; Isolation and characterization..., 2018].

Расчет биологической эффективности проводили по формуле Хендерсона и Тилтона [Henderson C.F. Tilton E.W., 1995; Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов..., 2022], которая учитывает изменения численности фитофагов как в опытном, так и контролльном вариантах:

$$\mathcal{E}=100 \times (1 - \frac{\text{ОпКд}}{\text{ОдКп}}), \quad (2)$$

где \mathcal{E} – эффективность, выраженная процентом снижения численности вредителя с поправкой на контроль;

Од – число живых особей перед обработкой в опыте, шт.;

Кп – число живых особей насекомого в контроле после обработки, шт.;

Кд – число живых особей насекомого в контроле до обработки, шт.

Для расчёта биологической эффективности по показателю снижения повреждённости генеративных или вегетативных частей растений применяли

формулу Аббота [Abbott W.S., 1968]:

$$\mathcal{E} = 100 \times (A - B)/A, \quad (3)$$

где \mathcal{E} – эффективность, выраженная процентом снижения повреждённости;
 A – показатель средней повреждённости растений в контроле, балл;
 B – показатель средней повреждённости растений на обработанном участке, балл
[Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов..., 2022].

Определение патогенности штаммов проводили методом замачивания семян пшеницы озимой сорта Граф в суспензии бактерий. В приготовленной суспензии определяли титр жизнеспособных единиц. Семена пшеницы замачивали в суспензии на два часа и раскладывали во влажную камеру. Контроль – семена, замоченные в стерильной воде. Учет энергии прорастания и всхожести определяли по ГОСТ 12038-84. Опыт проводили в трехкратной повторности.

Установление токсичного действия штаммов бактерий на проростки пшеницы озимой сорта Граф определяли путем помещения в химические стаканы с бактериальной суспензией семидневных проростков пшеницы озимой с подрезанной корневой системой. Контроль – проростки пшеницы озимой, помещенные в стерильную воду. По количеству увядших растений в контроле и вариантах судили о патогенности штаммов. Продолжительность теста составила десять суток. Опыт проводили в трехкратной повторности [Практикум по микробиологии..., 2005, Нетрусов А. И., Котова И. Б., 2025].

Для оценки фунгицидной активности штаммов бактерий применяли метод двойных (встречных) культур. В ЧП с застывшей питательной средой, с одной стороны, помещали агаровый блок с мицелием патогена, с другой, наносили штамм бактерий на расстоянии 6 см от блока патогена. Культуры инкубировали в течение десяти дней при температуре 28,0 °С. Контрольные варианты – чистые культуры гриба патогена и бактерии, посевные отдельно. Опыт проводили в трехкратной повторности [Егоров Н. С., 1957; Montealegre J. R., Reyes R., Perez L. M., 2003].

Учет двойных культур осуществляли на пятые, седьмые и десятые сутки.

Степень ингибирования мицелия патогена рассчитывали с помощью формулы:

$$И = (1 - (A / B)) \times 100, \quad (4)$$

где И – ингибирование, выраженное в процентах;

А – рост мицелия в варианте, мм;

В – рост мицелия в контроле, мм.

Изучение морфолого-культуральных признаков штаммов бактерий проводили через 24 ч культивирования [Практикум по микробиологии..., 2005, Нетрусов А. И., Котова И. Б., 2025].

Совместимость штаммов бактерий с пестицидами, рекомендованными для применения в плодовых ценозах, определяли модифицированных методом диффузии в агар [Маслиенко Л. В., 2005]. Для этого в ЧП разливали МПА толстым слоем до 1 см. Температура питательной среды составляла 30-35 С для избежания появления конденсата. После застывания питательной среды делали лунки диаметром 0,8 мм специальным сверлом-пробойником, куда вносили 0,1 мл необходимого химического препарата в рабочей концентрации. Для определения совместимости с препаратами лунку делали в центре, а штамм-продуцент наносили штрихом по направлению от края лунки с внесенным препаратом к краю ЧП (рисунок 4). Опыт проводили в трехкратной повторности.

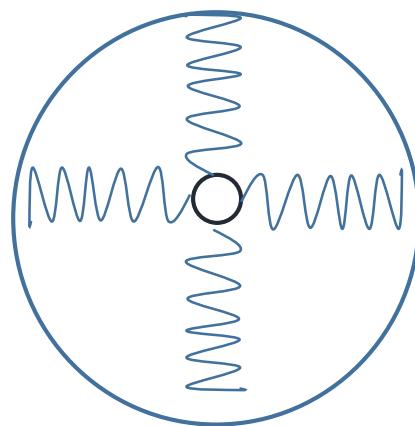


Рисунок 4 – Схема расположения лунок и культуры бактерий в ЧП для определения совместимости штаммов бактерий с пестицидами

Антагонистическую активность штаммов бактерий в отношении фитопатогенных бактерий и между собой определяли методом перпендикулярных штрихов [Практикум по микробиологии..., 2005, Нетрусов А. И., Котова И. Б.,

2025]. Сначала на поверхности агаровой среды в ЧП высевали штрихом тест-культуру фитопатогенной бактерии (рисунок 5а). Затем перпендикулярно от края ЧП к штриху фитопатогенной бактерии подсевали культуру штамма-продуцента (рисунок 5б). Культивирование осуществляли в термостате при температуре 28°C в течение 48 ч. О наличии и степени антагонистической активности судили по величине зоны ингибирования исследуемого штамма бактерий на границе со штрихом фитопатогенной бактерии. Опыт проводили в трехкратной повторности.

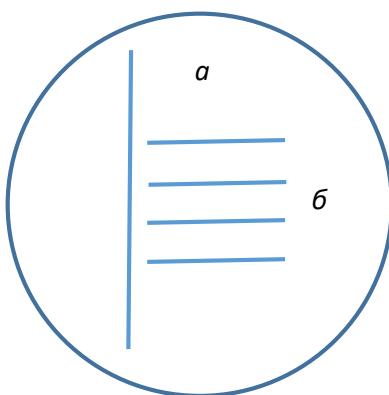


Рисунок 5 – Схема посева штаммов-продуцентов (*а*) и фитопатогенных бактерий (*б*) для определения антагонистической активности

Мелкоделячные опыты на яблоне. Исследования проводили на раннелетнем средневосприимчивом к парше сорте Женева Эрли. Клоновый подвой яблони ММ-106 – среднерослый подвой. Схема посадки деревьев – $4,5 \times 1,5$ м, густота посадки – 1481 дерево/га, площадь опытного участка. Размер опытного участка – 0,36 га, повторность четырехкратная. Почва – выщелоченный сверхмощный чернозем с содержанием гумуса 3,8 % (по Тюрину), pH = 6,7. Обработка почвы включала дискование междуурядий с последующим боронованием на глубину 10-15 см³.

Оценку эффективности по критериям фунгицидной и инсектицидной активности экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий проводили в условиях полевого мелкоделячного опыта в отношении возбудителя парши яблони и яблонной плодожорки. В качестве элементарной повторности использовали отдельные деревья, каждое из которых имело четыре учетные ветви

(на каждую по 25 листьев и/или плодов). Биологические эталоны: микробиологический фунгицид Фитоспорин-М, Ж (*B. subtilis*, штамм 26 Д), ООО «НВП»БашИнком» и инсектицид Инсетим, Ж (*B. thuringiensis* subsp. *thuringiensis*, штамм ИПМ-1140), ООО «ПАРАДИГМА». Контрольные растения обрабатывали водой [Методические указания по регистрационным испытаниям..., 2024].

В процессе вегетации проводили пять обработок экспериментальными образцами на основе исследуемых штаммов бактерий и биологическими эталонами, первую в фазу розовый бутон-начало цветения, последующие с интервалом в 7-14 дней от предыдущей. Даты обработок в 2023 г.: 21.04. (розовый бутон-начало цветения); 04.05. (опадение лепестков); 19.05. (лещина); 02.06. (лещина-грецкий орех); 15.06. (формирование и созревание плодов); в 2024 г.: 26.04. (розовый бутон-начало цветения); 08.05. (опадение лепестков-лещина); 14.05. (лещина-грецкий орех); 24.05. (грецкий орех); 07.06. (формирование и созревание плодов). Норма применения рабочей жидкости 800-1000 л/га, нормы применения препаратов и кратность обработок согласно схеме опыта представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Схема опыта

П.п	Вариант/норма применения, л/га	Титр, КОЕ/мл	Кратность обработок
1	<i>Bacillus cereus</i> BZR 736, 5,0	$1,0 \times 10^9$	5
2	<i>Brevundimonas naejangsanensis</i> BZR 1159, 5,0	$1,0 \times 10^9$	5
3	<i>Bacillus velezensis</i> BZR 920, 5,0	$1,0 \times 10^9$	5
4	<i>Bacillus velezensis</i> BZR 277, 5,0	$1,0 \times 10^9$	5
5	<i>Bacillus velezensis</i> BZR 936, 5,0	$1,0 \times 10^9$	5
6	Биологический эталон Фитоспорин-М, Ж (<i>B. subtilis</i> , 26 Д), 2,5	$1,0 \times 10^9$	5
7	Биологический эталон Инсетим, Ж (<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>thuringiensis</i> , ИПМ-1140), 2,5	$1,0 \times 10^9$	5
6	Контроль (обработка водой)	-	5

В течение вегетационного сезона проводили семь учетов развития и распространенности парши яблони на листьях и плодах. На листьях учеты

распространенности и развития болезни проводили перед каждой обработкой и через 7-15 дней после, последующие учеты проводили раз в месяц. На плодах учеты распространенности болезни и степени поражения проводили в период от начала появления первых пятен, один раз в три недели. Последний учет проводили в период съема урожая.

Распространенность болезни – количество больных растений, выраженное в процентах от общего количества учтенных растений, вычисляли по формуле:

$$P = (n \times 100)/N, \quad (5)$$

где P – распространенность болезни, %;

n – количество больных растений (листьев, плодов) в пробе, шт.;

N – общее количество больных и здоровых растений (листьев, плодов) в пробе, шт.

Развитие (интенсивность поражения или индекс развития болезни) определяли по условной шкале и выражали в баллах, где: 0 = признаков поражения нет, 5 = пятна крупные сливающиеся с темным налетом спороношения гриба, занимают более 50,0 % поверхности листа; пятна многочисленные, крупные (более 10 мм), сливающиеся, с темным налетом спороношения гриба, глубокие трещины, поражено более 50% поверхности плода

Расчет развития болезни осуществляли по формуле:

$$R = (\sum a \times b) \times 100 / N \times K, \quad (6)$$

где R – развитие болезни, %;

N – общее количество больных и здоровых растений (стеблей, листьев, плодов) в пробе, шт.;

$\sum a \times b$ – сумма произведений числа больных растений (a) на соответствующий им балл поражения (b), шт. × балл;

K – высший балл учетной шкалы, $K = 5$.

Для установки уровня повреждения плодов яблони насекомыми *C. pomonella* производили подсчет упавших с дерева плодов на площадке, равной проекции кроны учетного дерева, и подсчет плодов съемного урожая в период уборки. При этом считали общее и поврежденное число плодов [Методические указания..., 2022].

Математическая обработка данных. Математическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием стандартных компьютерных программ Microsoft Excel. Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 13.3 13.3 (StatSoft Russia). Однородность контрольных выборок в разных партиях оценивали с помощью непараметрического критерия Уилкоксона, который основан на сравнении ранговых сумм и не требует предположения о нормальном распределении данных; это позволило корректно проверить сопоставимость контрольных групп при относительно небольшом объёме выборок и возможной асимметрии распределений [Баврина А. П., 2021]. Принадлежность к нормальному распределению определяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Для множественных сравнений средних значений между вариантами использовали однофакторный дисперсионный анализ с апостериорными критериями Тьюки и Дунканна. Критерий Тьюки (Tukey HSD) применяли для строгой проверки нулевой гипотезы об отсутствии различий между средними с контролем общей ошибки первого рода при множественных сравнениях, а критерий Дунканна – для более детального разделения вариантов на однородные подгруппы по величине изучаемого признака, что важно при интерпретации биологически близких, но статистически различных эффектов. Статистически значимыми считали различия при уровне значимости $p < 0,05$ [Усманов Р. Р., Хохлов Н. Ф., 2020]. Для показателей, характеризующих время до наступления события (в частности, динамику гибели насекомых), в качестве непараметрического метода использовали анализ выживаемости методом Каплана–Майера, позволяющий оценивать вероятность «выживания» во времени без предположения о форме распределения; различия между кривыми выживаемости считали значимыми при $p \leq 0,001$.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Скрининг штаммов бактерий по критерию ферментативной активности для отбора культур с полифункциональным биоконтрольным потенциалом

Характеристика штаммов бактерий и анализ их происхождения. В ходе работы были проанализированы 107 штаммов бактерий из БРК ФНЦБЗР, которые представляют значительный научно-практический интерес для биотехнологических исследований. Большая часть штаммов бактерий принадлежала к роду *Bacillus*, включая идентифицированные штаммы *Bacillus velezensis* (3 штамма), *Bacillus thuringiensis* (3 штамма) и *Bacillus pumilus* (1 штамм), а также один представитель семейства *Rhodobacteriaceae*. Для большинства штаммов (94 из 107) родовая и видовая принадлежность на этапе скрининга не была исследована, что свидетельствовало о необходимости дальнейшей таксономической идентификации. География происхождения штаммов охватывает различные районы Краснодарского края, с преобладанием изолятов из Крыловского района (36,4 % от общего числа) и стационарного севооборота ФГБНУ ФНЦБЗР, г. Краснодар (19,6 %), а также из стаций Выселковского, Ленинградского и Павловского районов, в каждом из которых были выделены уникальные штаммы (таблица 2).

Таблица 2 – Характеристика исследуемых штаммов

Район/место выделения	Источник выделения	Количество штаммов, шт.	% от общего числа
Стационарный севооборот ФГБНУ ФНЦБЗР, г. Краснодар	Корни рапса озимого	14	13,1
	Почва/клубеньки сои	10	9,3
Крыловский район, Краснодарский край	Корни пшеницы озимой	38	36,4
Другие районы	Корни пшеницы озимой	39	35,5
	Не указан	1	0,9

Анализ источников выделения показал четкую ориентацию на возможную фунгицидную активность: 53,3 % штаммов были выделены из корневой системы озимой пшеницы, 17,8 % – из корней рапса, 18,7 % – из почвы и клубеньков сои. Особый интерес представляли три штамма *B. thuringiensis*, выделенные из инфицированных гусениц самшитовой огневки *Cydalima perspectalis* L., которые обладали потенциальными инсектицидными свойствами.

Анализ методов выделения и хранения штаммов показал, что в качестве основной питательной среды выступал МПА, примененный для хранения 94,4 % исследованных штаммов. При первичном выделении использовали дифференцированный подход с применением различных селективных сред, включая хитинсодержащие (12,1 %), казеин-аминокислотные (23,4 %), картофельно-глюкозный агар (18,7 %) и среду Кинга В (34,6 %). Такой подход обеспечил успешный отбор микроорганизмов с широким спектром биоконтрольных свойств.

Ферментативная активность. Следующим этапом стало изучение ферментативной активности штаммов с целью предварительного скрининга их метаболического потенциала и выявления продуцентов биологически активных соединений. Характеристика ферментативных профилей позволила оценить потенциальную антагонистическую активность изолятов против фитопатогенов и вредителей, а также их способность к адаптации в условиях ризосферы.

В ходе исследования была проведена оценка ферментативной активности 107 штаммов бактерий по гидролитическим ферментам трех групп: липазы, хитиназы и протеазы (рисунок 6). Активность определяли на четвертые, восьмые, 14-е и 20-е сутки инкубации. Наиболее выраженной к 20-м суткам была казеинолитическая активность, выявленная у 66 штаммов (61,7 %), что свидетельствует о широком распространении протеолитических свойств в исследуемой группе штаммов. Протеазы играют важную роль в разрушении белковых компонентов клеточных структур патогенов и могут участвовать в инактивации энзимов и токсинов у насекомых, что делает их значимыми в качестве одного из механизмов биоконтроля [Unveiling the role of hydrolytic..., 2024].

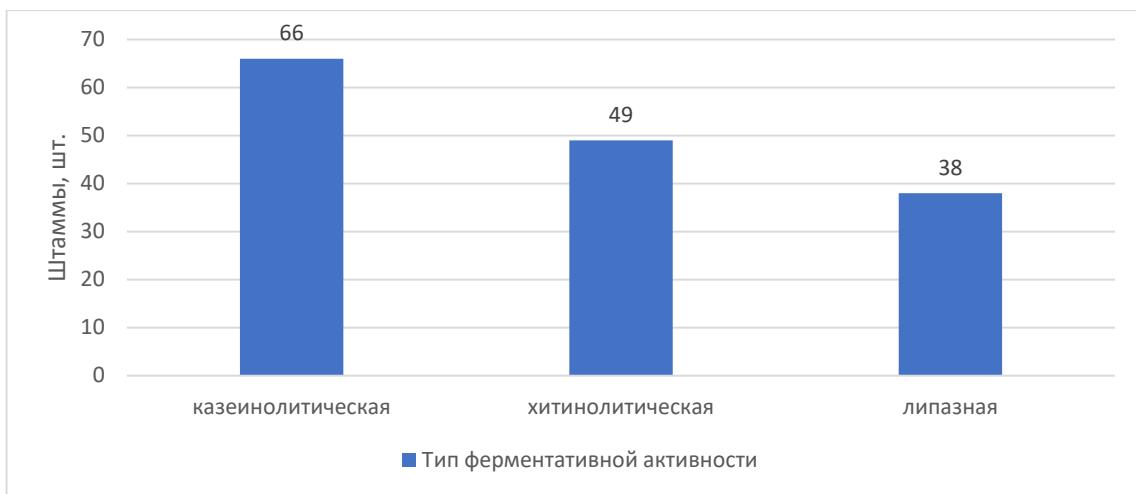


Рисунок 6 – Ферментативная активность штаммов бактерий, 20 сут. Инкубации

Хитинолитическая активность выявлена у 49 штаммов (45,8 %) и отражает способность гидролизовать хитин – структурный компонент клеточных стенок фитопатогенных грибов и кутикулы насекомых. Известно, что штаммы производящие хитиназу, являются перспективными для разработки биопрепаратов с фунгицидным и инсектицидным действием [Microbial and viral chitinases..., 2018; Microbial-based inoculants..., 2021].

Липазная активность была отмечена у 38 штаммов (35,5 %) и, как и другие гидролитические свойства, может играть важную роль в деградации липидных мембран патогенов и кутикулы вредителей. Липазы повышают проницаемость внешних барьеров, облегчая проникновение токсинов, и способствуют повышению антагонистического эффекта [Da Silva W. O. B., 2010].

В совокупности ферментативные свойства изученных штаммов бактерий являются важным функциональным показателем их биологического потенциала. Наличие ферментативной активности не только повышает антагонистическую эффективность против фитопатогенов, но и усиливает инсектицидное действие, нарушая целостность кутикулярных и кишечных мембран насекомых. Протеолитические, хитинолитические и липолитические ферменты действуют синергически, облегчая проникновение специфических токсинов и ускоряя гибель вредителей [Da Silva W. O. B., 2010, Unveiling the role of hydrolytic enzymes..., 2024].

Особую научно-практическую ценность представляют штаммы, обладающие комбинированной ферментативной активностью. Такие штаммы могут быть использованы в качестве эффективных полифункциональных агентов биологического контроля.

На основании полученных результатов 17 штаммов бактерий, продемонстрировавших комплексную ферментативную активность, были отобраны для последующих этапов исследований, включающих молекулярно-генетическую идентификацию и скрининг на фунгицидную, инсектицидную и бактерицидную активность. Их комплексная характеристика позволит выявить перспективные штаммы бактерий с целью разработки на их основе биологических средств защиты растений для устойчивого сельского хозяйства, в частности для контроля *V. inaequalis* и *C. pomonella* в ценозе яблони.

3.2 Идентификация штаммов бактерий

3.2.1 Морфолого-культуральная характеристика штаммов бактерий

Клетки исследуемых бактерий палочковидные, продолговатые или короткие, одиночные и соединены в цепочки. Размеры клеток у штаммов различались – от 0,4 до 1,0 мкм в ширину и от 1,2 до 4,3 мкм в длину (рисунок 7).

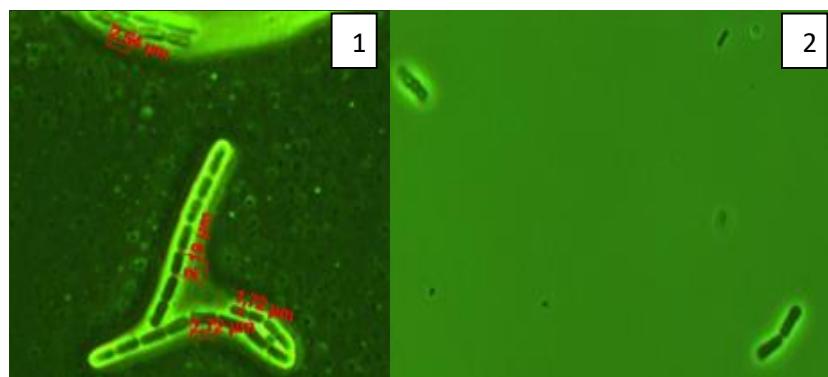


Рисунок 7 – Клетки штаммов бактерий, увеличение x100 (ориг.):

1 – штамм BZR 1159; 2 – штамм *B. thuringiensis* BZR G1

Большинство штаммов образовывали споры, расположенные центрально, терминально или субтерминально, исключением выступали штаммы бактерий BZR 588, BZR 1159, BZR 920, BZR 206, BZR 762, BZR 278 в клетках споры отсутствовали (приложение В таблица 1, 2).

Культуральные признаки штаммов бактерий, изученные на питательной среде МПА, представлены ниже:

BZR 588. Форма колоний круглая с фестончатым краем, поверхность гладкая, край гладкий, профиль плоский. Колонии блестящие, непрозрачные, цвет телесно-розовый. Структура гиалиновая, консистенция плотная, врастаящая в агар, пастообразная, пигмент диффундировал в агар. Диаметр колоний от 1 до 2 мм.

BZR 1159. Форма колоний круглая, поверхность выпуклая, край гладкий, профиль плоский. Колонии блестящие, полупрозрачные, цвет телесный. Структура гиалиновая, консистенция слизистая, прилипающая и тянущаяся за петлей. Диаметр колоний от 1 до 7 мм.

BZR 920. Форма колоний ризоидная, поверхность выпуклая, край лопастный, профиль плоский. Колонии матовые, полупрозрачные, цвет молочно-белый. Структура мелкозернистая, консистенция плотная, врастаящая в агар, пастообразная. Диаметр колоний от 1 до 3 мм.

BZR 936. Форма колоний ризоидная, поверхность гладкая, край волнистый, профиль плоский. Колонии блестящие, непрозрачные, цвет молочно-белый. Структура мелкозернистая, консистенция мягкая, легко снимается с агара, пастообразная. Диаметр колоний менее 1 мм.

BZR 206. Форма колоний круглая с фестончатым краем, поверхность шероховатая, край волнистый, профиль плоский. Колонии матовые, непрозрачные, цвет бежевый. Структура крупнозернистая, консистенция мягкая, легко снимается с агара, пастообразная. Диаметр колоний от 1 до 4 мм.

BZR 926. Форма колоний ризоидная, поверхность выпуклая, край лопастный, профиль плоский. Колонии матовые, полупрозрачные, цвет молочно-белый.

Структура мелкозернистая, консистенция мягкая, легко снимается с агара, пастообразная. Диаметр колоний от 1 до 2 мм.

BZR 466. Форма колоний круглая с фестончатым краем, поверхность гладкая, край лопастный, профиль плоский. Колонии блестящие, полупрозрачные, цвет молочно-белый. Структура крупнозернистая, консистенция мягкая, легко снимается с агара, пастообразная. Диаметр колоний от 1 до 4 мм.

BZR 736. Форма колоний складчатая, поверхность шероховатая, край неправильный, профиль бугристый. Колонии матовые, непрозрачные, цвет молочно-белый. Структура крупнозернистая, консистенция мягкая, легко снимается с агара, пастообразная. Диаметр колоний менее от 1 до 7 мм.

BZR 635. Форма колоний круглая, поверхность гладкая, край гладкий, профиль плоский. Колонии блестящие, полупрозрачные, цвет молочно-белый. Структура гиалиновая, консистенция слизистая, прилипающая и тянущаяся за петлей. Диаметр колоний от 1 до 3 мм.

BZR 762. Форма колоний круглая с фестончатым краем, поверхность гладкая, край волнистый, профиль плоский. Колонии матовые, непрозрачные, цвет бежевый. Структура мелкозернистая, консистенция плотная, врастающая в агар, пастообразная. Диаметр колоний менее 1 мм.

BZR 278. Форма колоний ризоидная, поверхность гладкая, край лопастный, профиль плоский. Колонии блестящие, полупрозрачные, цвет молочно-белый. Структура крупнозернистая, консистенция мягкая, легко снимается с агара, пастообразная. Диаметр колоний от 1 до 6 мм.

BZR 201. Форма колоний круглая, поверхность выпуклая, край гладкий, профиль плоский. Колонии блестящие, полупрозрачные, цвет телесный. Структура гиалиновая, консистенция слизистая, прилипающая и тянущаяся за петлей. Диаметр колоний от 1 до 5 мм.

BZR 162. Форма колоний круглая, поверхность выпуклая, край гладкий, профиль плоский. Колонии блестящие, полупрозрачные, цвет телесный. Структура

гиалиновая, консистенция слизистая, прилипающая и тянущаяся за петлей. Диаметр колоний от 1 до 4 мм.

BZR 585. Форма колоний круглая, поверхность выпуклая, край гладкий, профиль плоский. Колонии блестящие, полупрозрачные, цвет телесный. Структура гиалиновая, консистенция слизистая, прилипающая и тянущаяся за петлей. Диаметр колоний от 1 до 4 мм.

BZR G1. Форма колоний круглая с фестончатым краем, поверхность шероховатая, край зубчатый, профиль плоский. Колонии блестящие, непрозрачные, цвет телесный. Структура крупнозернистая, консистенция мягкая, легко снимается с агара, пастообразная. Диаметр колоний от 1 до 4 мм.

BZR G3. Форма колоний круглая с фестончатым краем, поверхность шероховатая, край волнистый, профиль плоский. Колонии матовые, непрозрачные, цвет бежевый. Структура крупнозернистая, консистенция мягкая, легко снимается с агара, пастообразная. Диаметр колоний от 1 до 7 мм.

BZR 277. Форма колоний неправильная, поверхность гладкая, край лопастный, профиль плоский. Колонии блестящие, полупрозрачные, цвет молочно-белый. Структура мелкозернистая, консистенция мягкая, легко снимается с агара, пастообразная. Диаметр колоний от 1 до 9 мм.

В совокупности полученные данные свидетельствуют о широком спектре культуральных признаков, характерных для рода *Bacillus*, позволяя группировать штаммы по фенотипическим особенностям и предварительно отличать отдельные таксоны и морфотипы. В то же время вариабельность колоний внутри рода и наличие фенотипически сходных штаммов подчёркивают ограниченность культуральных характеристик для точной идентификации и обосновывают необходимость их совместного использования с молекулярно-генетическими методами.

3.2.2 Молекулярно-генетическая идентификация штаммов бактерий

Вычислительные процедуры: подготовка и фильтрация данных, таксономическая идентификация. Результаты секвенирования геномов проходили проверку качества с использованием программы FastQC. Данные после секвенирования были хорошего качества, в связи с этим осуществляли минимальный тримминг с помощью Fastp. Также была проведена фильтрация возможной контаминации прочтений с человеком и синтетическими последовательностями.

Таксономическую идентичность бактерий определяли с помощью Metaphlan (приложение В таблица 3). Так как не все прочтения в образцах относились к одному организму, проводили биннинг для выделения геномов наиболее представленных в образце микроорганизмов. Для этого выполняли *de novo* сборку геномов с помощью Spades, после чего программой MaxBin2 выделяли отдельные бины. Таксономическую идентификацию бинов осуществляли с помощью веб-сервиса JSpeciesWS по базе GenomesDB, используя анализ частот тетрануклеотидов и коэффициентов корреляции (TCS). В связи с выделением двух различных геномов из исследуемого образца, второму штамму, идентифицированному как *Paenochrobactrum* sp. и выделенному из образца BZR 201, присвоено обозначение BZR 201P.

Критерии определения таксономической принадлежности были установлены следующим образом: при анализе с помощью Metaphlan пороговым значением считали присутствие более 80 % прочтений, относящихся к одному организму. Параллельно проводили оценку результатов биннинга, где пороговым значением полноты бина было установлено 87,0 %. При достижении данного показателя подтверждалось присутствие соответствующего организма в образце. Бины, характеризующиеся полнотой выше порогового значения, были использованы для последующей сборки геномов. Для валидации результатов таксономической идентификации, полученных методами Metaphlan и TCS, был проведен дополнительный анализ средней нуклеотидной идентичности (ANIb)

(приложение В таблицы 4, 5, 6). В результате проведённого анализа штаммы BZR278, BZR585 и BZR762 были классифицированы как представители *Alcaligenes nematophilus*.

Результаты анализа средней нуклеотидной идентичности (ANI) продемонстрировали, что изоляты BZR 588 и BZR 201P принадлежат к одному виду, показывая высокий уровень геномного сходства. При этом референсные геномы *Paenochrobactrum gallinarum* DSM 22336 и *Paenochrobactrum glaciei* JCM 15115, идентифицированные посредством тетрануклеотидного корреляционного анализа, проявляют более высокую степень геномной идентичности между собой (91,3 %), чем с исследуемыми штаммами (84-85 %). Полученные данные свидетельствуют о вероятной принадлежности изолятов BZR 588 и BZR 201P к малоописанному виду рода *Paenochrobactrum*.

Штаммы BZR 466, BZR 206 и BZR 201 также относятся к одному и тому же виду – *Leucobacter aridicollis* DSM 17380. Фрагментированность сборки BZR 635 не позволяет однозначно судить о таксономической принадлежности данного штамма на основе ANI-анализа. Видовое разнообразие образцов отображено на рисунке 8.

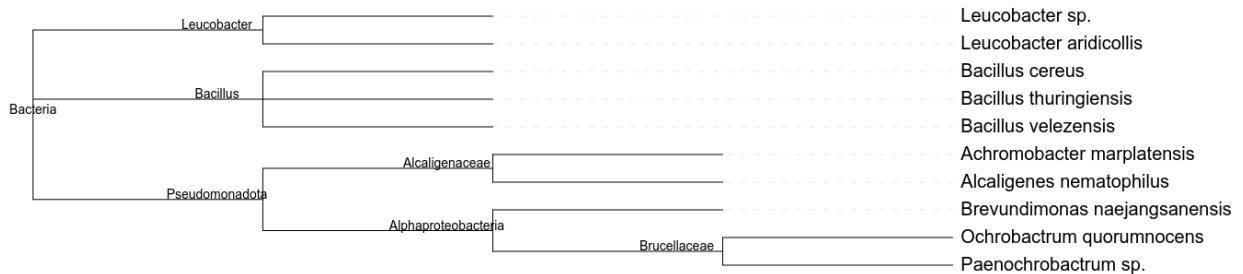


Рисунок 8 – Таксономическое древо видов исследуемых штаммов бактерий

В результате таксономического анализа осуществлена видовая идентификация 17 исследуемых штаммов бактерий (таблица 3). При анализе образцов обнаружены прочтения, соответствующие различным бактериальным таксонам, что может свидетельствовать о контаминации образцов на

предварительном этапе или о наличии смешанных культур, как в варианте BZR 201.

Таблица 3 – Штаммы бактерий с указанием таксономической идентификации собранных бинов с помощью тетракорреляционного поиска и анализа средней нуклеотидной идентичности

П/п.	Шифр штамма	Идентичность
1	BZR 588	<i>Paenochrobactrum sp.</i>
2	BZR 1159	<i>Brevundimonas naejangsanensis</i>
3	BZR 920	<i>Bacillus velezensis</i>
4	BZR 936	<i>Bacillus velezensis</i>
5	BZR 206	<i>Leucobacter aridicollis</i> DSM 17380
6	BZR 926	<i>Achromobacter marplatensis</i>
7	BZR 466	<i>Leucobacter aridicollis</i> DSM 17380
8	BZR 736	<i>Bacillus cereus</i>
9	BZR 635	<i>Leucobacter sp.</i>
10	BZR 762	<i>Alcaligenes nematophilus</i>
11	BZR 278	<i>Alcaligenes nematophilus</i>
12	BZR 201*	<i>Leucobacter aridicollis</i> DSM 17380 (BZR 201), <i>Paenochrobactrum sp.</i> (BZR 201P*)
13	BZR 162	<i>Ochrobactrum quorumnocens</i>
14	BZR 585	<i>Alcaligenes nematophilus</i>
15	BZR G1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
16	BZR G3	<i>Bacillus thuringiensis</i>
17	BZR G2	<i>Bacillus thuringiensis</i>

Сборка геномов. В качестве одной из сборок использовали бины, полнота которых превышала 87,0 %. Кроме того, была произведена сборка с помощью MinYS с использованием референсных геномов, установленных на этапе таксономической идентификации микроорганизмов из соответствующих образцов. Далее провели статистическую обработку по картированным прочтениям на референс (приложение В таблица 7). Показатели покрытия рассчитывались по формуле Ландера-Ватермана [Lander E. S., Waterman M. S., 1998]: $C = L \times N/G$, где С – покрытие, ед., L – число парных прочтений, картированных на референсный геном, ед., N – длина прочтений, п.н., G – длина генома, п.н.

Исходя из показателя покрытия, в дальнейшей сборке не участвовали геномы в качестве референсов, для которых показатель покрытия оказался меньше 100x.

Третий вариант черновой сборки был осуществлён из прочтений, картированных на референсные геномы как *de novo* (сборка с помощью Spades). Качество всех сборок оценивали Quast.

Затем с помощью инструмента Gfinisher собрали более полную сборку на основе двух или трёх имеющихся черновых. В зависимости от качества сборок, основной сборкой выступали бины или сборка MinYS, или сборка Spades после картирования на референс. В таблице 8 приложения В приведены основные характеристики качества итоговой сборки.

В связи с ухудшением качества сборки образца BZR 635, для дальнейшего анализа использовали сборку, полученную с помощью алгоритма MinYS. Основные характеристики данной сборки представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Характеристики сборки MinYS для штамма BZR 635

П/п	Штамм	Число контигов, шт.	Наибольший контиг, пн.	Общая длина сборки, пн.	N50, L50	CG состав, %
1	BZR 635	1149	12725	1896445	2614, 210	66.62

Таким образом, с учётом установленного порога по охвату для обеспечения полноты вариантов, в рамках исследования была осуществлена сборка геномных последовательностей в количестве 18 единиц, полученных на основе 17 штаммов. Проведенный сравнительный анализ показал, что длины реконструированных сборок в целом соответствует длинам референсных геномов, что свидетельствует о полноте полученных данных. Результаты секвенирования и сборки были депонированы в базу данных NCBI Genbank с присвоением соответствующих регистрационных номеров доступа. В таблице 5 указан перечень идентификаторов, который позволяет осуществить поиск нуклеотидных последовательностей рассматриваемых геномов.

Таблица 5 – Идентификаторы доступа в NCBI к образцам: общий – BioProject, для каждого образца – BioSample и индивидуальный для генома – Accession

П/п	Штамм	BioProject	BioSample	Accession
1	<i>Bacillus velezensis</i> BZR 936	PRJNA1178861	SAMN44484732	JBISGV0000000000
2	<i>Alcaligenes nematophilus</i> BZR 762	PRJNA1178861	SAMN44597257	JBJDRV0000000000
3	<i>Alcaligenes nematophilus</i> BZR 585	PRJNA1178861	SAMN44597256	JBJDRW0000000000
4	<i>Bacillus velezensis</i> BZR 936	PRJNA1178861	SAMN44484732	JBISGV0000000000
5	<i>Alcaligenes nematophilus</i> BZR 762	PRJNA1178861	SAMN44597257	JBJDRV0000000000
6	<i>Alcaligenes nematophilus</i> BZR 585	PRJNA1178861	SAMN44597256	JBJDRW0000000000
7	<i>Alcaligenes nematophilus</i> BZR 278	PRJNA1178861	SAMN44597255	JBJDRX0000000000
8	<i>Paenochrobactrum</i> sp. BZR 588	PRJNA1178861	SAMN44597254	JBJDRY0000000000
9	<i>Paenochrobactrum</i> sp. BZR 201-1	PRJNA1178861	SAMN44597253	JBJDRZ0000000000
10	<i>Ochrobactrum quorumnocens</i> BZR 162	PRJNA1178861	SAMN44597252	JBJDZA0000000000
11	<i>Leucobacter aridicollis</i> BZR 466	PRJNA1178861	SAMN44500261	JBITPO0000000000
12	<i>Leucobacter aridicollis</i> BZR 206	PRJNA1178861	SAMN44500260	JBITPP0000000000
13	<i>Leucobacter aridicollis</i> BZR 201	PRJNA1178861	SAMN44500259	JBITPQ0000000000
14	<i>Bacillus thuringiensis</i> BZR G3	PRJNA1178861	SAMN44580402	JBIYZS0000000000
15	<i>Bacillus thuringiensis</i> BZR G2	PRJNA1178861	SAMN44580401	JBIYZT0000000000
16	<i>Bacillus thuringiensis</i> BZR G1	PRJNA1178861	SAMN44580400	JBIYZU0000000000
17	<i>Bacillus velezensis</i> BZR 920	PRJNA1178861	SAMN44580890	JBJBVR0000000000
18	<i>Bacillus cereus</i> BZR 736	PRJNA1178861	SAMN44580889	JBJBWR0000000000
19	<i>Brevundimonas naejangsanensis</i> BZR 1159	PRJNA1178861	SAMN46686767	JBLMJM0000000000
20	<i>Achromobacter marplatensis</i> BZR 926	PRJNA1178861	SAMN46686768	JBLMJL0000000000

Аннотация геномов и анализ генного репертуара. Аннотация геномов выполнена с помощью инструмента Prokka со стандартными параметрами. В приложении В таблицах 9-11 представлена информация по аннотации геномов бактерий в сравнении с соответствующим референсным геномом. В столбце

«Предсказанные белки» указана доля предсказанных белков относительно CDS (кодирующих белки), оставшаяся часть проаннотирована как «hypothetical protein». Анализ генного репертуара с помощью GenAPI показал различия между анализируемыми штаммами и использованными референсными геномами (рисунок 9).

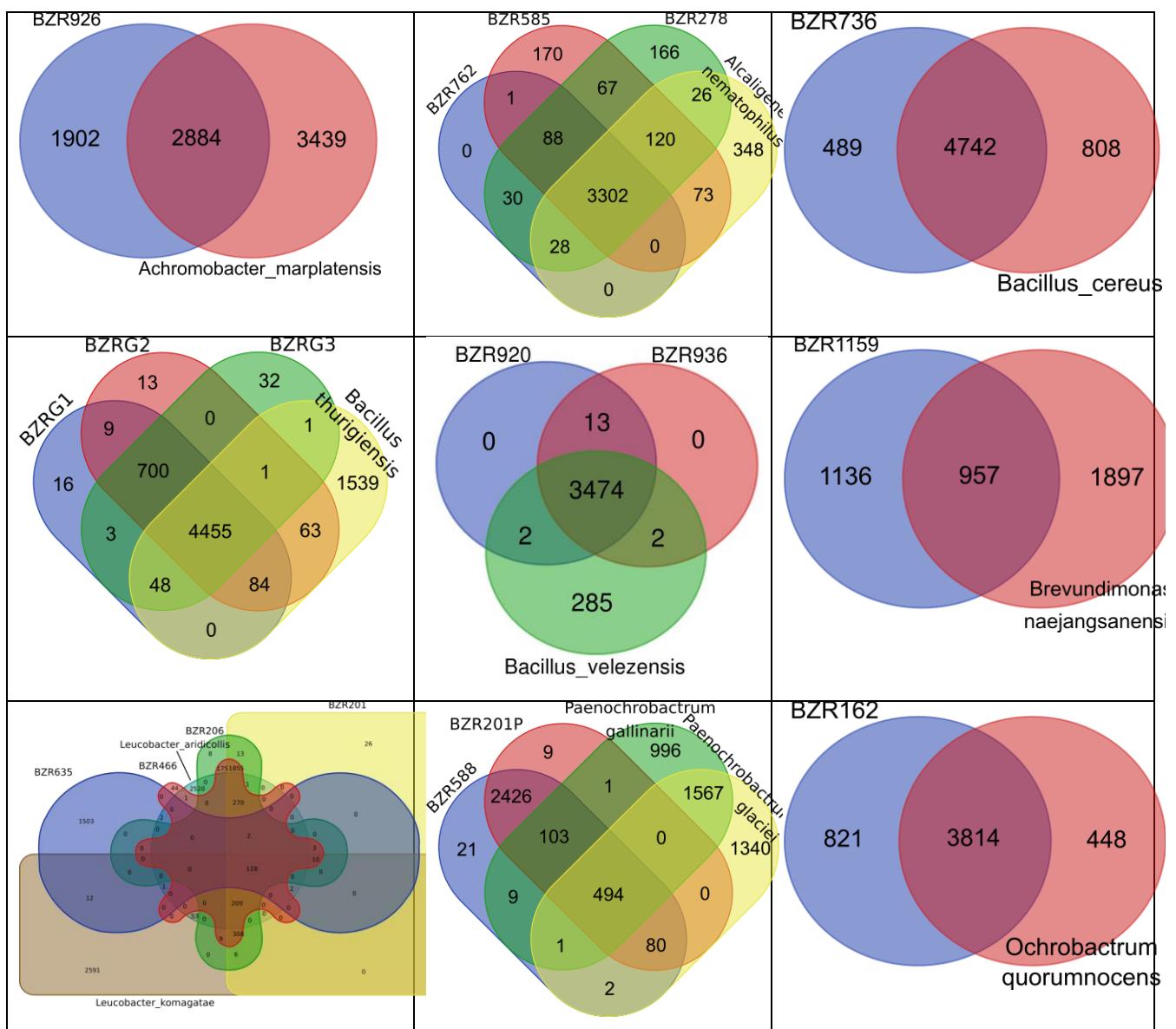


Рисунок 9 – Диаграммы Венна для множеств генов исследуемых штаммов, сгруппированных по видовой принадлежности, проанализированные совместно с множествами генов из соответствующих референсных геномов

Таким образом, были аннотированы геномы бактерий, а также проведён анализ генного репертуара каждого генома относительно соответствующих

референсных геномов. Анализ пересечений множеств генов в зависимости от образца показал различные результаты. Например, BZR 920 и BZR 936 относительно рефренса *B.velezensis* показали высокое соответствие с рефренсом как у штаммов BZR G1, BZR G2, BZR G3 относительно *B.thuringiensis*; штаммов BZR 762, BZR 585, BZR 278 относительно *A.nematophilus*; штаммов BZR 926 относительно *A.marplatensis*; штаммов BZR 736 относительно *B.cereus*; штаммов BZR 162 относительно *O.quorumnocens*. 285 генов, которые присутствуют исключительно у рефренса могут свидетельствовать о влиянии уровня сборки штаммов BZR 920 и BZR 936, некоторые гены могли полностью не собраться и поэтому GenAPI помечает их отсутствие. Также образцы могли не пройти внутренние пороги программы в силу накопления больших изменений в последовательностях, на основе которых оценивается отсутствие и присутствие генов. Кроме того, возможно, что исследуемые штаммы бактерий не имеют ряд генов относительно выбранного рефренса. Данные рассуждения применимы ко всем результатам, представленным на диаграммах. В то же время BZR 635 при сравнении с ближайшим к нему рефренсным геномом *Leucobacter komagatae* показывает незначительное число пересечений, что может быть связано как с отличной таксономической идентичностью, так и с фрагментированностью сборки генома данного штамма. Штаммы по генному репертуару BZR 466, BZR 206 и BZR 201 более сходны между собой, чем с рефренсным геномом *Leucobacter aridicollis*. Также как и у штаммов BZR 588 и BZR 201P, которые более сходны между собой, чем с рассмотренными рефренсными геномами. Штамм BZR 1159 схож с *B.naejangsanensis*, однако имеет и значительное число отличий от рефренсного штамма.

Анализ инсектицидного и фунгицидного потенциала штаммов бактерий. Для поиска инсектицидных белков в исследуемых геномах собрали базу белковых последовательностей в ручном режиме. Последовательности отбирали из базы UniprotDB и National Center for Biotechnology Information Genbank Protein по названию рода и названию белков/функции. В полных геномных последовательностях бактерий из карточки GenBank находили белковый продукт

и скачивали соответствующие белковые последовательности (таблица 12 приложения В). Белковые последовательности, удовлетворяющие пороговым значениям параметров идентичности (identity > 50,0 %) и статистической значимости (e-value < 0,001), были классифицированы как гомологичные и идентифицированы в исследуемых штаммах. Данные последовательности отмечены в аналитических таблицах как «найден по гомологии». Последовательности, не соответствующие установленным пороговым критериям, определены как негомологичные и классифицированы как «не обнаруженные».

Белок GroEL (шаперонин) – это АТФ-зависимый молекулярный шаперон, который присутствует во всех формах жизни и является одним из наиболее консервативных белков в живых организмах. Он выявлен у микроорганизмов, устанавливающих симбиотические отношения со своими хозяевами, белки GroEL, которые выступали в качестве токсина (дополнительная функция) [Two families of chaperonin..., 2007; Versatile roles of the chaperonin..., 2014; An insecticidal protein..., 2012]. В таблицах 13-15 приложения В представлены результаты выравнивания по данному белку.

Результаты исследований показали, что ген, кодирующий белок GroEL-like, обнаружен во всех рассматриваемых геномах (рисунок 10).

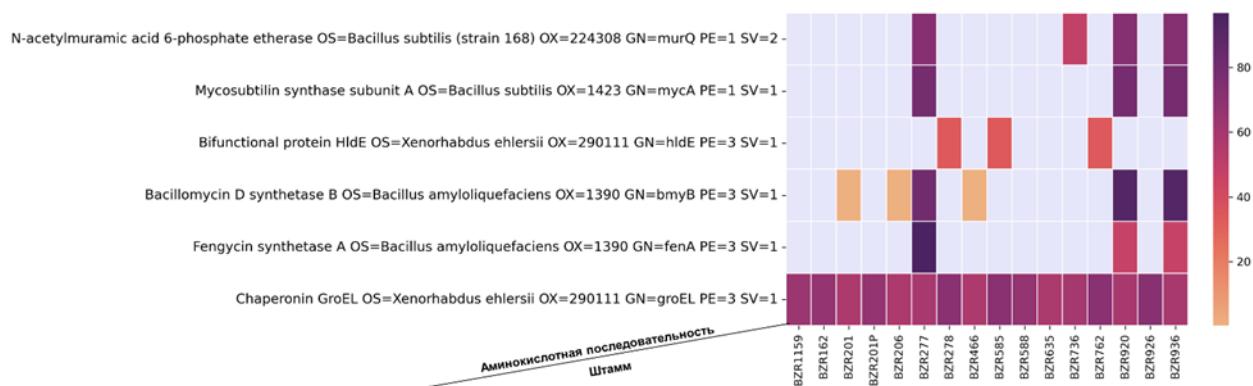


Рисунок 10 – Репертуар белков с потенциальной инсектицидной активностью, отобранных в ходе попарного выравнивания транслированных геномов исследуемых штаммов, где цветовая шкала отражает параметр iScore

Тепловая карта отражает результаты поиска инсектицидных белков среди исследуемых штаммов в виде iScore – процент идентичности, взвешенный долей выравненного участка от всей длины референсного белка.

У образцов, относящихся к роду *Bacillus* (BZR 277, BZR 736, BZR 920, BZR 936), обнаружено максимальное количество генов, кодирующих инсектицидные белки. В то время как штаммы *B. velezensis* BZR 277, *B. velezensis* BZR920 и *B. velezensis* BZR936 демонстрируют наличие синтетаз фенгицина, микосубтилина и бацилломицина, *B. cereus* BZR 736 обладает генами *Spp1Aa1* и *Spp1Aa2*, а также *Vpb1Ab1* и *Vpb4Ca1*. При этом все проанализированные штаммы рода *Bacillus* также обладают геном, кодирующим фермент N-ацетилмуревовую кислоту 6-фосфатэтеразу (EC 4.2.1.126). Кроме того, штаммы BZR 278, BZR 585 и BZR 762, относящиеся к роду *Alcaligenes*, имеют фрагменты, гомологичные гену бифункционального белка HldE, а штаммы BZR 201, BZR 206 и BZR 466, представляющие *Leucobacter aridicollis*, содержат ряд фрагментов, гомологичных генам синтетазы бацилломицина.

В ходе исследования сформирована референсная база данных белковых последовательностей, обладающих фунгицидной активностью: интурины, фенгицины и сурфактины. Анализ гомологии осуществлялся с применением алгоритма blastp (пакет Blast+) путем выравнивания белковых последовательностей, кодируемых в исследуемых геномах, на последовательности референсной базы.

Фильтрация результатов производилась по следующим критериям:

1. Пороговые значения параметров identity > 50 % и e-value < 0,001.
2. Элиминация дублирующих выравниваний с более низкими показателями идентичности (identity), статистической значимости (e-value) и протяженности выравнивания (len_alignment).
3. Отбор по относительной длине выравнивания (не менее 60,0 % от длины референсной последовательности).

Результаты анализа гомологии, удовлетворяющие всем критериям отбора, представлены в приложении В таблице 16, где отражено соответствие между

белками референсной базы и гомологичными последовательностями исследуемых геномов.

На рисунке 11 отображено разнообразие белков, которые были обнаружены в ходе попарного выравнивания с помощью blastp, в виде тепловой карты. Построение карты основано на значениях из приложения В таблицы 16. Цветовая шкала отражает $iScore = \max(1, identity * (la/ls))$, где identity – процент совпадающих аминокислот, la – длина выравнивания, ls – исходная длина аминокислотной последовательности белка из собранной базы: чем интенсивнее цвет, тем более полно последовательность из исследуемого генома выравнивалась на аминокислотную последовательность белка из базы. Построение карты основано на значениях из приложения В таблицы 19, за исключением строк с низкой степенью сходства (отмечены * в приложении В таблице 16).

В результате исследования выявлены белки с потенциальным фунгицидным действием у штаммов, относящихся к роду *Bacillus* (BZR 277, BZR 736, BZR 920, BZR 936) (рисунок 11). Наиболее полные и высокоидентичные белковые последовательности выявлены у штаммов *B. velezensis* BZR 920 и *B. velezensis* BZR 936, *B. velezensis* BZR 277, которые также превосходят остальные варианты по количеству детектированных белков. Полученный результат, вероятно, связан с тем, что в используемых базах данных большинство фунгицидных аминокислотных последовательностей принадлежит видам *B. velezensis* и *B. amyloliquefaciens*.

Перевес данных в собранной базе последовательностей, относящихся к *B. velezensis* и *B. Amyloliquefaciens*, произошёл вследствие преобладания данных по интуринам, фенгицинам и сурфактинам *B. velezensis* и *B. amyloliquefaciens* относительно других видов рода *Bacillus* в базах данных UniprotDB и NCBI Protein. Тем не менее, гены, кодирующие липопептиды интурин синтетазы, а также белков YxjF и YxjC, были обнаружены также у штамма, относящегося к *B. cereus* (BZR 736) и *B. thuringiensis* (BZR G1, BZR G2 и BZR G3). Стоит отметить, что в отличие от других проанализированных штаммов BZR 736 не имеет гена *ScoA*, который наряду с *ScoB* присутствует во всех проанализированных штаммах. Кроме того,

штаммы BZR 201, BZR 206 и BZR 466, представляющие *Leucobacter aridicollis*, содержат ряд фрагментов, гомологичных генам синтетаз итуринов и фенгицинов. Кроме того, геномы всей клады представителей семейства Brucellaceae (штаммы BZR162, BZR588 и BZR201P) не содержат генов, кодирующих фунгицидные белки, представленные в базе (рисунок 11).

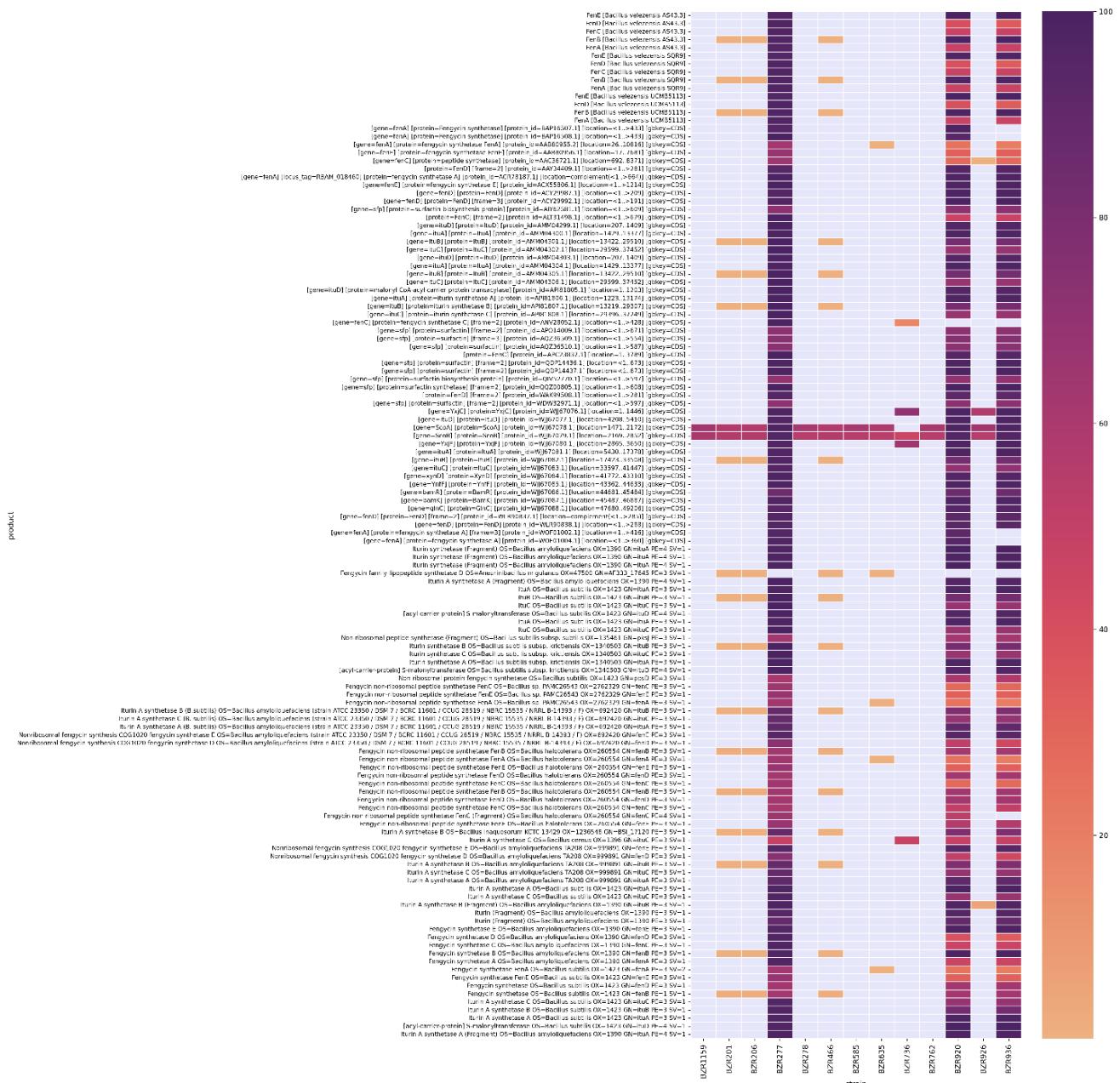


Рисунок 11 – Репертуар белков с потенциальной фунгицидной активностью, отобранных в ходе попарного выравнивания транслированных геномов исследуемых штаммов, где цветовая шкала отражает параметр iScore

Филогенетический анализ. Для построения филогенетического дерева отобраны два белка (*YxjF* и *YxjC*), которые были обнаружены с помощью blastp у всех исследуемых образцов рода *Bacillus*. Осуществлено множественное выравнивание по последовательностям белков *YxjF* и *YxjC* из исследуемых геномов, референсов *B. velezensis*, *B. cereus* и *B. thuringiensis*, которое подавалось на вход для построения дерева. В качестве аутгруппы использовались белки из *Planococcus shenhongbingii* (GCF_030481865.1). Множественное выравнивание и построение дерева осуществлялось с помощью веб-сервиса MAFFT. Дерево на рисунке 12 визуализировано с помощью программы Phylo.io. В качестве аутгруппы выступает *Planococcus shenhongbingii*. Метод для построения дерева: Neighbor-Joining, с бутстреп-поддержкой в 500 циклов.

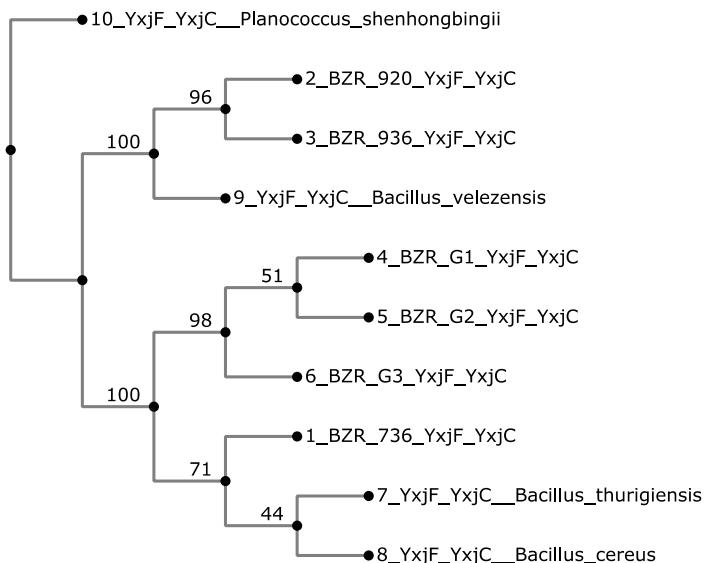


Рисунок 12 – Филогенетическое дерево, построенное по двум белкам: *YxjF* и *YxjC*

В целом штаммы группируются совместно с референсными геномами своего вида, за исключением BZRG1, BZRG2, BZRG3, которые попали в общую кладу, но отдельно от своего референса *Bacillus thuringiensis*. Вероятно, *YxjF* и *YxjC* штаммов BZRG1, BZRG3 накопили достаточно количество замен для выделения в отдельную ветвь.

В результате полногеномного секвенирования и биоинформационического анализа, выделен генетический материал, подготовлена и осуществлена фильтрация данных геномов 17 штаммов бактерий, таксономически определено до вида 14 штаммов бактерий и подтверждена таксономическая идентичность 3 штаммов бактерий. Исследуемые штаммы бактерий принадлежат к родам *Leucobacter*, *Bacillus*, *Alcaligenaceae* и *Pseudomonadota*, а также к семейству *Brucellaceae*. Произведена сборка 18 геномов из 17 штаммов бактерий с учётом ограничения по покрытию количества вариантов.

Установлено, что длины сборок соответствуют длинам референсных геномов. Аннотированы геномы бактерий и проведен анализ генного репертуара 17 штаммов бактерий. Отмечена высокая степень соответствия для большинства исследуемых образцов с их предполагаемыми референсными геномами. Однако некоторые штаммы, такие как BZR 635, продемонстрировали незначительное количество пересечений с референсным геномом, что может быть обусловлено как таксономическими различиями, так и особенностями сборки генома.

Проведен поиск гомологичных последовательностей инсектицидных белков в геномах штаммов *Bacillus* с использованием программы blastp. Несмотря на последовательное смягчение пороговых значений (identity > 79% → 50%, e-value < 0.001), существенных совпадений обнаружено не было. Достоверно идентифицирован геном 17 штаммов бактерий, кодирующие белок GroEL-like с инсектицидной активностью. Кроме того, идентифицированы последовательности, кодирующие белки с фунгицидной активностью: итурины, фенгицины и сурфактины штаммов рода *Bacillus* (*B. cereus* BZR 736, *B. velezensis* BZR 920, *B. velezensis* BZR 936, *B. thuringiensis* BZR G1, *B. thuringiensis* BZR G2 и *B. thuringiensis* BZR G3).

Наиболее полный набор белковых последовательностей, демонстрирующих высокую степень гомологии с референсными последовательностями из базы данных, обнаружен у штаммов *B. velezensis* BZR 920 и *B. velezensis* BZR 936, принадлежащих к виду *B. velezensis*. Это доказывает перспективность исследуемых бактерий в качестве полифункциональных агентов, эффективных не только в

отношении вредителей, но и возбудителей болезней плодовых культур. Построено филогенетическое дерево по двум белкам: YxjF и YxjC для исследуемых штаммов рода *Bacillus*.

Таким образом, установлена принадлежность бактерий к родам *Leucobacter*, *Bacillus*, *Alcaligenaceae* и *Pseudomonadota*, а также к семейству *Brucellaceae* на основании полногеномного секвенирования. Выявлены гены, кодирующие инсектицидные (*GroEL*, *Spp1Aa1* и *Spp1Aa2*, *Vpb1Ab1*, *Vpb4Ca1*, *HldE* фенгицина, микосубтилина и бацилломицина) и фунгицидные (итурины, фенгицины, сурфактины, *YxjF*, *YxjC*, *ScoA* и *ScoB*) белки штаммов бактерий из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР.

3.3. Оценка биоцидного потенциала штаммов бактерий *in vitro* в отношении экономически значимых возбудителей болезней и вредителей яблони

3.3.1 Фунгицидная активность штаммов бактерий в отношении фитопатогенных грибов родов *Venturia*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Trichothecium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Monilinia*

Особый интерес среди новых подходов к защите растений представляют препараты на основе биоагентов, обладающих полифункциональным действием. Анализ метаболома бактерий, проявляющий высокий защитный эффект в отношении растений, свидетельствует о том, что многие из них обладают широким спектром биодидного действия: бактерицидного, фунгицидного, инсектицидного, нематицидного [Biotechnological production..., 2018; Перспективы применения бактерий..., 2020]. Для выявления возможного полифункционального действия биоагентов была изучена их антрафунгальная активность методом встречных

культур в отношении грибов родов *Venturia*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Trichothecium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Monilinia*.

По результатам оценки фунгицидной активности штаммов бактерий в отношении *F. graminearum* BZR F-4 выявлены агенты, проявившие максимальные антигрибные свойства в диапазоне от 42,1 до 56,9 %: *O. quorumnocens* BZR 162, *B. velezensis* BZR 277, *B. velezensis* BZR 920, *B. velezensis* BZR 936, *B. thuringiensis* BZR G3 (рисунок 13).

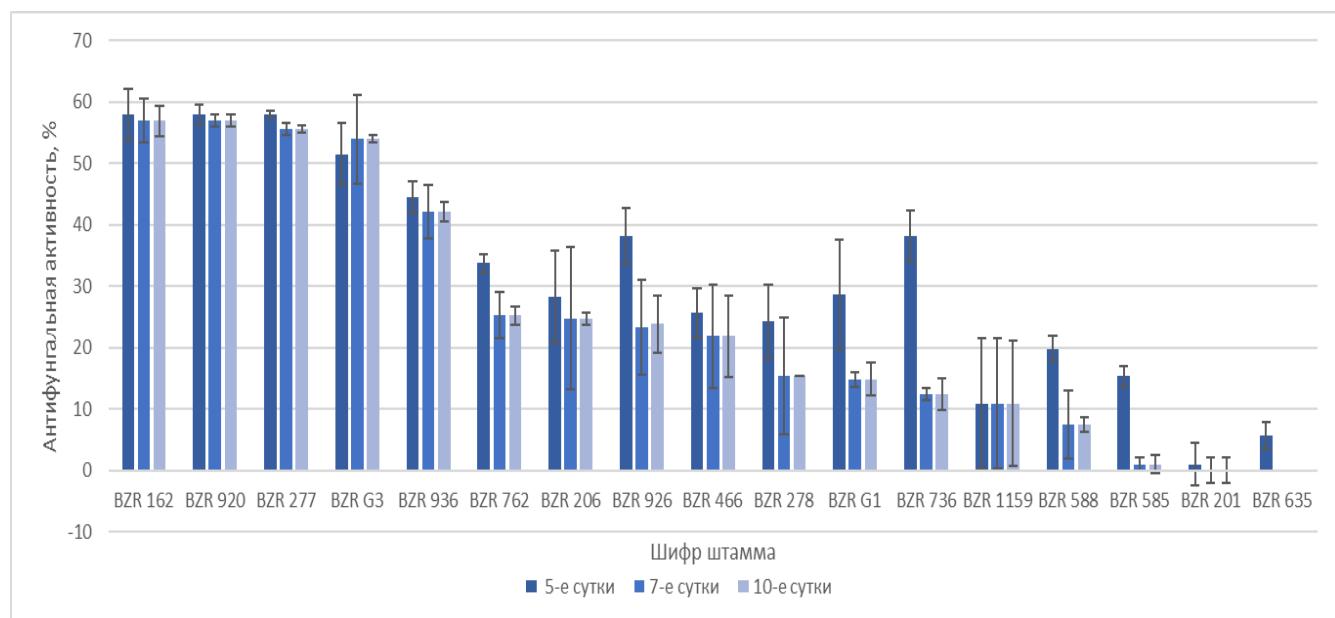


Рисунок 13 – Антифунгальная активность штаммов бактерий в отношении *F. graminearum* BZR F-4

Стоит отметить, что все штаммы с высокой антагонистической активностью стабильно сохраняли свою эффективность и на десятые сутки эксперимента.

У штаммов *B. cereus* BZR 736, *A. nematophilus* BZR 762, *A. marplatensis* BZR 926 и *B. thuringiensis* BZR G1 отмечена антифунгальная активность на пятые сутки – от 28,7 до 38,1 %, но уже к седьмым суткам она снизилась в среднем на 15,6 % и была стабильной до конца эксперимента (рисунок 14г).

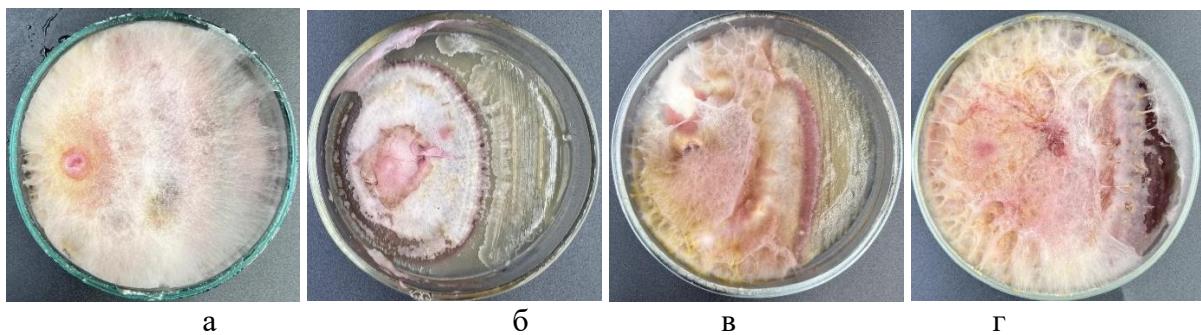


Рисунок 14 – Антагонизм штаммов бактерий в отношении патогенного гриба *F. graminearum* BZR F-4, 10-е сутки инкубации:

а – контроль *F. graminearum* BZR F-4 (чистая культура гриба);

б – *O. quorumnocens* BZR 162; в – *B. velezensis* BZR 936; г – *B. cereus* BZR 736

На рисунке 15 представлены результаты по оценке фунгицидной активности штаммов бактерий в отношении *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6.

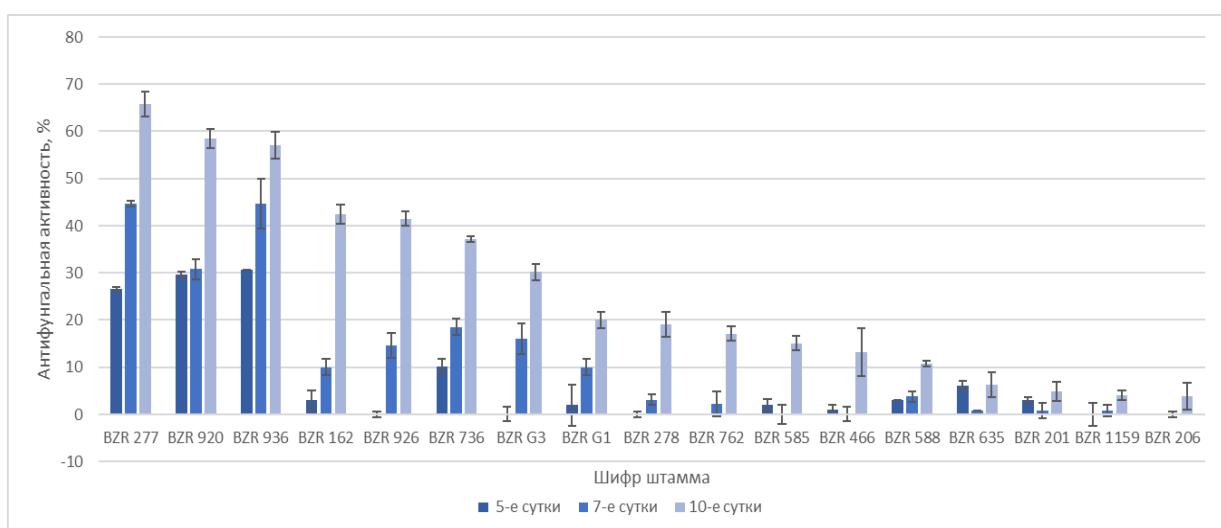


Рисунок 15 – Антифунгальная активность штаммов бактерий в отношении *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6

Максимальным антагонистическим действием обладали штаммы *B. velezensis* BZR 277, *O. quorumnocens* BZR 162, *B. velezensis* BZR 920, *A. marplatensis* BZR 926 и *B. velezensis* BZR 936 (рисунок 16в). В ходе эксперимента в целом у всех штаммов отмечено возрастание ингибирования роста мицелия к десятым суткам. Так, например, у штамма *O. quorumnocens* BZR 162 на пятые сутки

антифунгальной активности практически не было отмечено – 3,0 %, но к десятым суткам она увеличилась до 42,4 %. Штамм *B. velezensis* BZR 936 стабильно показывал высокое ингибирование мицелия гриба на протяжении всего эксперимента: 30,6 % - на пятые, 44,6 % - на седьмые сутки и 57,1 % на десятые сутки (рисунок 16б).



Рисунок 16 – Антагонизм штаммов бактерий в отношении патогенного гриба *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6, 10-е сутки инкубации:

а – контроль *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6 (чистая культура гриба);

б – *B. velezensis* BZR 936; в – *B. velezensis* BZR 920; г – *L. aridicollis* BZR 206

В эксперименте с *F. culmorum* BZR F-3 максимальную антифунгальную активность продемонстрировали шесть штаммов: *B. velezensis* BZR 277, *B. cereus* BZR 736, *B. velezensis* BZR 920, *B. velezensis* BZR 936, *B. thuringiensis* BZR G1, *B. thuringiensis* BZR G3 – ингибирование роста мицелия к десятым суткам варьировало в диапазоне от 41,1 % до 57,9 % исследований (рисунок 17).

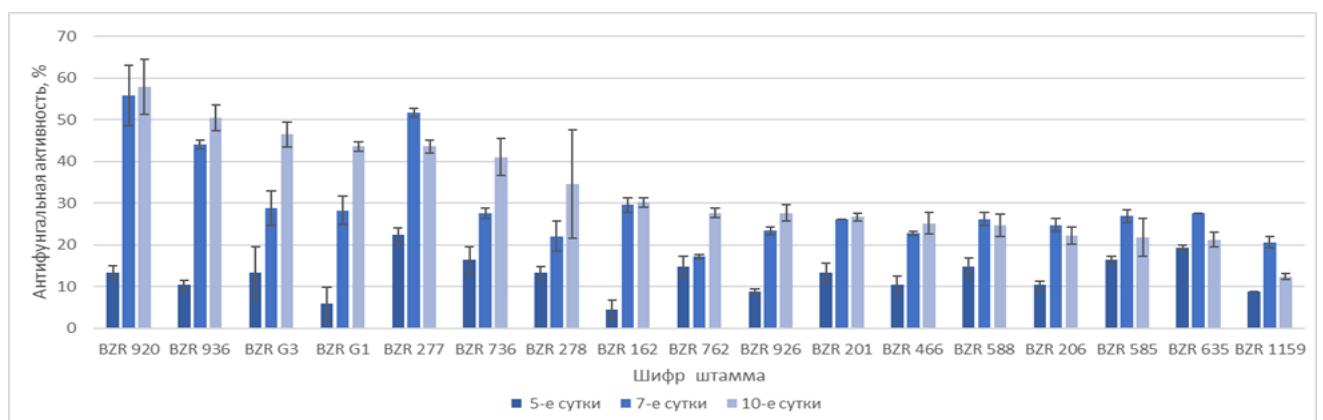


Рисунок 17 – Антифунгальная активность штаммов бактерий в отношении *F. culmorum* BZR F-3

Стоит отметить высокую подвижность штамма *B. velezensis* BZR 277 (рисунок 18б), который проявил максимальный антагонистический эффект на седьмые сутки – 51,7 %, но к десятым суткам он снижался – 43,6 %.

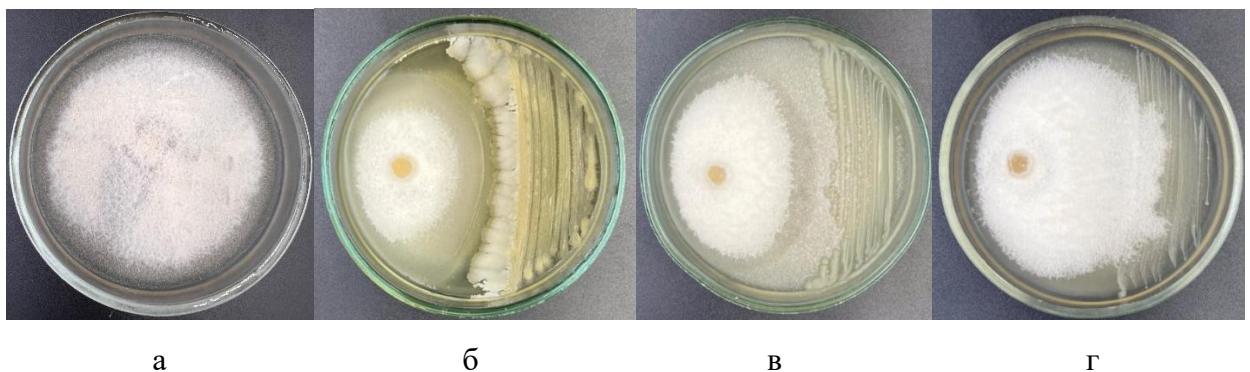


Рисунок 18 – Антагонизм штаммов бактерий в отношении патогенного гриба *F. culmorum* BZR F-3, 10-е сутки инкубации:
а – контроль *F. culmorum* BZR F-3 (чистая культура гриба); б – *B. velezensis* BZR 277;
в – *L. aridicollis* BZR 201; г – *A. nematophilus* BZR 762

В результате исследований антифунгальной активности штаммов бактерий в отношении *M. nivale* BZR F-5 высокую степень антагонизма проявили штаммы *B. velezensis* BZR 277, *B. cereus* BZR 736, *B. velezensis* BZR 920, *A. marplatensis* BZR 926, *B. velezensis* BZR 936 (рисунок 19). В данных вариантах ингибирование роста гриба возрастало к седьмым суткам (40,6-53,6 %) и оставалось стабильным до конца эксперимента (40,5-53,8 %).

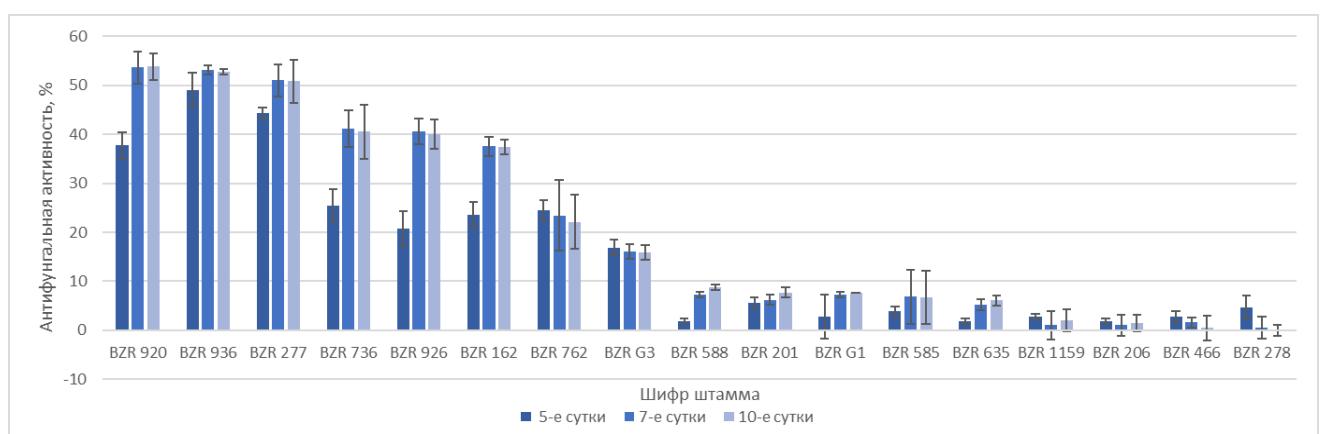


Рисунок 19 – Антифунгальная активность штаммов бактерий в отношении *M. nivale* BZR F-5

Штаммы *B. naejangsanensis* BZR 1159, *L. aridicollis* BZR 201, *L. aridicollis* BZR 206, *A. nematophilus* BZR 278, *L. aridicollis* BZR 466, *A. nematophilus* BZR 585, *Paenochrobactrum sp.* BZR 588, *Leucobacter sp.* BZR 635 и *B. thuringiensis* BZR G1 не проявили антифунгальной активности в отношении *M. nivale* BZR F-5 (рисунок 20). Данные культуры не оказывали влияния на тест-культуру гриба, рост которого отмечался на уровне контрольного варианта.

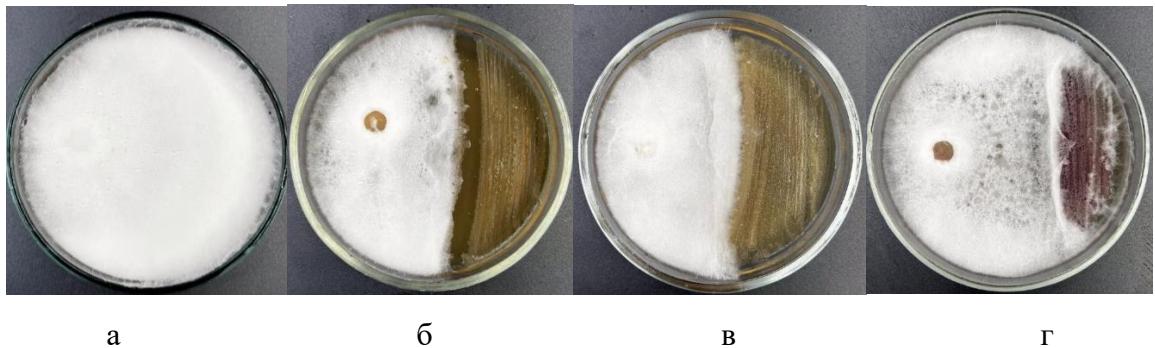


Рисунок 20 – Антагонизм штаммов бактерий в отношении патогенного гриба *M. nivale* BZR F-5, 10-е сутки инкубации
а – контроль *M. nivale* BZR F-5 (чистая культура гриба); б – *B. velezensis* BZR 920; в – *B. velezensis* BZR 936; г – *B. thuringiensis* BZR G3

На рисунке 21 представлены результаты оценки антифунгальной активности штаммов бактерий в отношении изолята *R. solani* BZR F-11. Из всех исследуемых штаммов максимальное ингибирование мицелия зафиксировано в вариантах со штаммами: *B. velezensis* BZR 920, *B. velezensis* BZR 277, *A. marplatensis* BZR 926, *B. velezensis* BZR 936 и варьировало в диапазоне от 58,4 до 67,0 %. Стоит отметить, у данных штаммов отмечен высокий антагонистический эффект и на трети сутки – от 50,3 до 59,6 %, который стабильно возрастал к концу эксперимента.

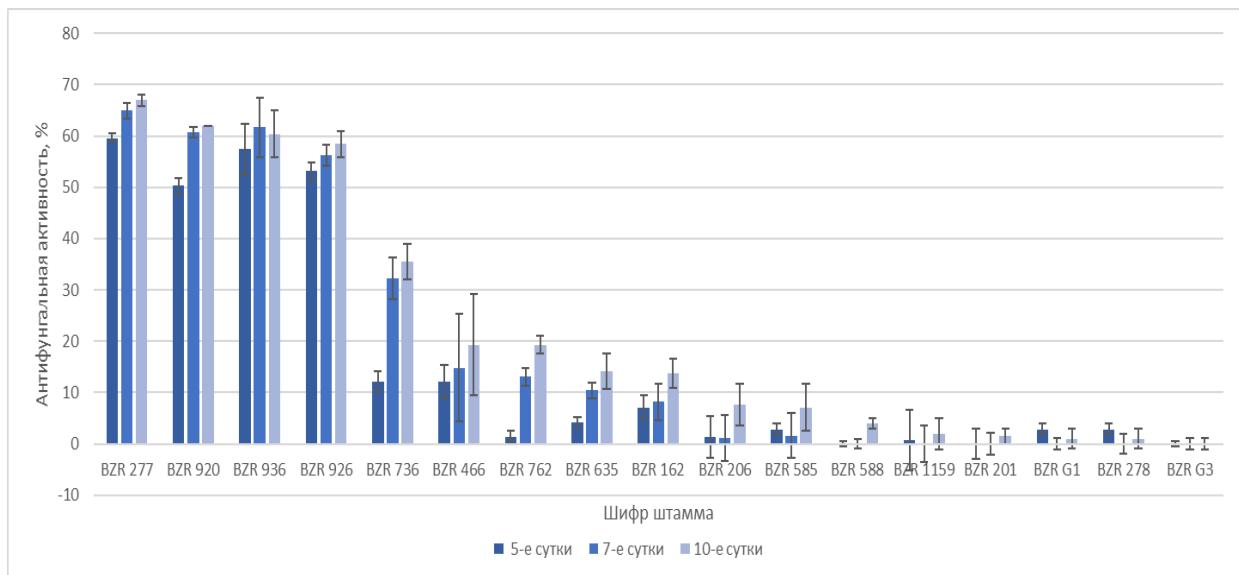


Рисунок 21 – Антифунгальная активность штаммов бактерий в отношении *R. solani* BZR F-11

В ходе эксперимента выявлены штаммы, которые оказывали незначительное влияние на рост и развитие гриба *R. solani* BZR F-11: *B. naejangsanensis* BZR 1159, *O. quorumnocens* BZR 162, *L. aridicollis* BZR 201, *L. aridicollis* BZR 206, *A. nematophilus* BZR 278, *L. aridicollis* BZR 466, *A. nematophilus* BZR 585, *Paenochrobactrum sp.* BZR 588, BZR 635, *A. nematophilus* BZR 762, *B. thuringiensis* BZR G1 и *B. thuringiensis* BZR G3 – антагонистическая активность этих штаммов была менее 20,0 % (рисунок 22).

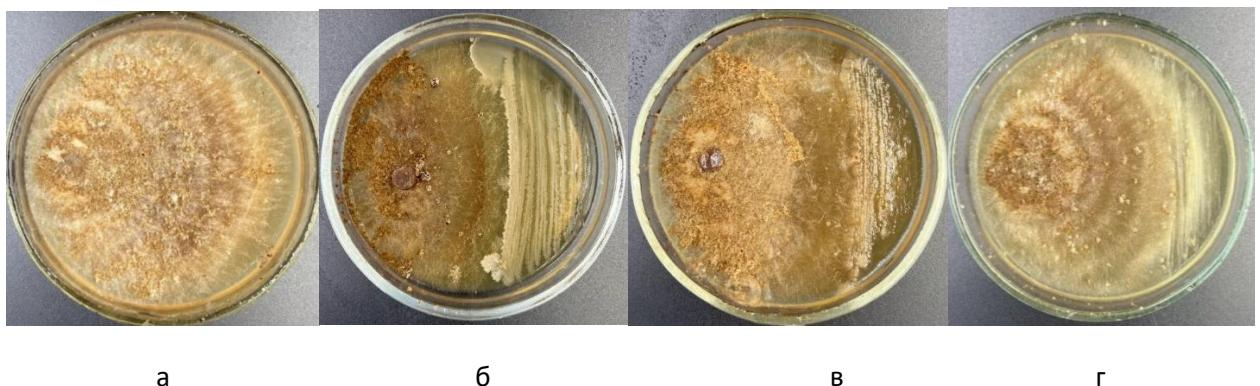


Рисунок 21 – Антагонизм штаммов бактерий в отношении патогенного гриба *R. solani* BZR F-11, 10-е сутки инкубации:

а – контроль *R. solani* BZR F-11 (чистая культура гриба); б – *B. velezensis* BZR 920;
в – *B. cereus* BZR 736; г – *L. aridicollis* BZR 466

В опыте по определению антифунгальной активности штаммов бактерий в отношении *T. roseum* F-36 стоит отметить высокую антагонистическую активность штаммов *B. velezensis* BZR 936, *B. velezensis* BZR 277, *B. velezensis* BZR 920, *A. marplatensis* BZR 926 (рисунок 23). В данных вариантах ингибирование роста гриба уже на пятые сутки составило 66,7-73,5 % и незначительно возрастало к десятым суткам – 68,6-84,8 %.

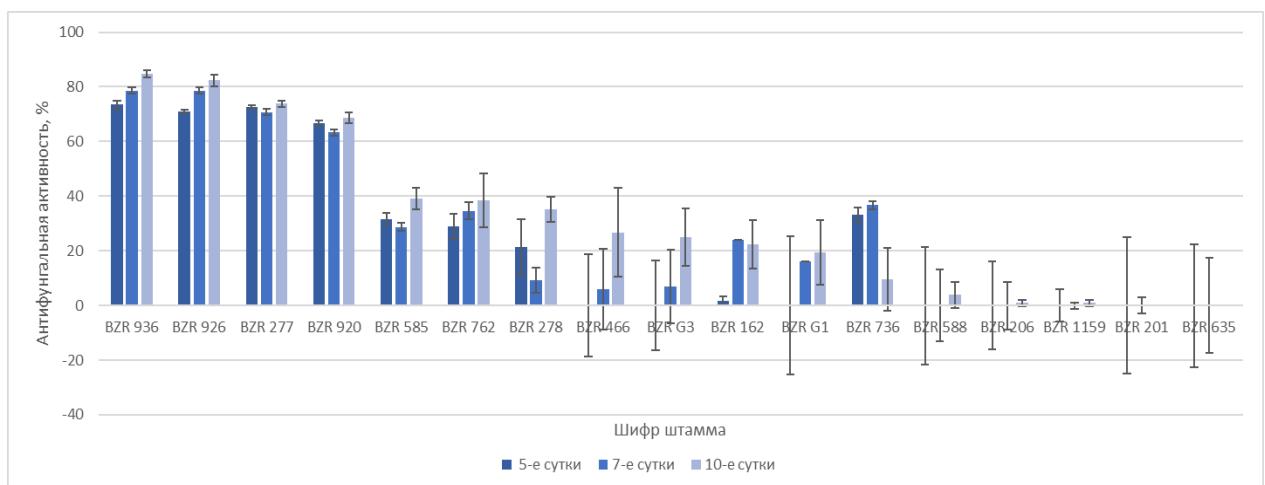


Рисунок 23 – Антифунгальная активность штаммов бактерий в отношении *T. roseum* F-36

При этом штаммы *Paenochrobactrum sp.* BZR 588, *B. naejangsanensis* BZR 1159, *L. aridicollis* BZR 206, BZR 635, *L. aridicollis* BZR 201 не показали эффективности в сдерживании роста фитопатогенного гриба (рисунок 23).

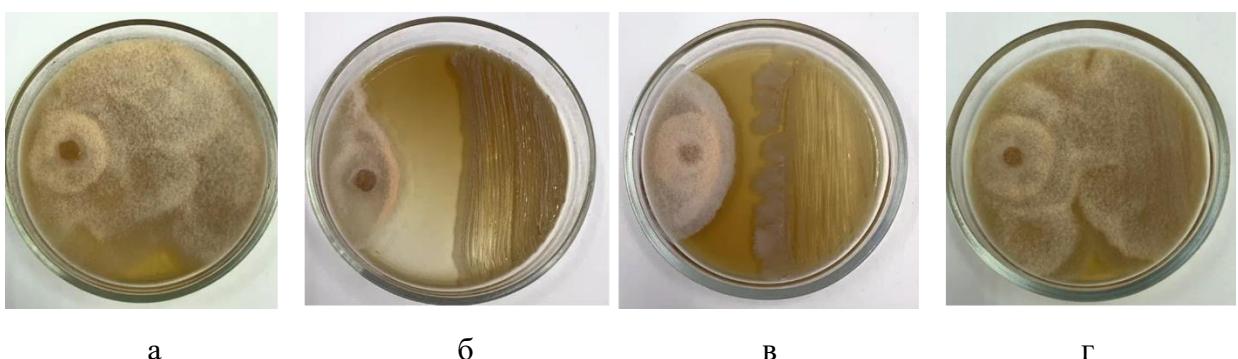


Рисунок 23 – Антагонизм штаммов бактерий в отношении патогенного гриба *T. roseum* F-36, 10-е сутки инкубации:

а – контроль *T. roseum* F-36 (чистая культура гриба); б – *B. velezensis* BZR 936;

в – *B. velezensis* BZR 277; г – *L. aridicollis* BZR 201

По результатам оценки фунгицидной активности бактерий в отношении *C. herbarum* F-36 установлено, что большинство штаммов проявили антигрибное действие в диапазоне от 40,1 до 71,9 % (рисунок 25).

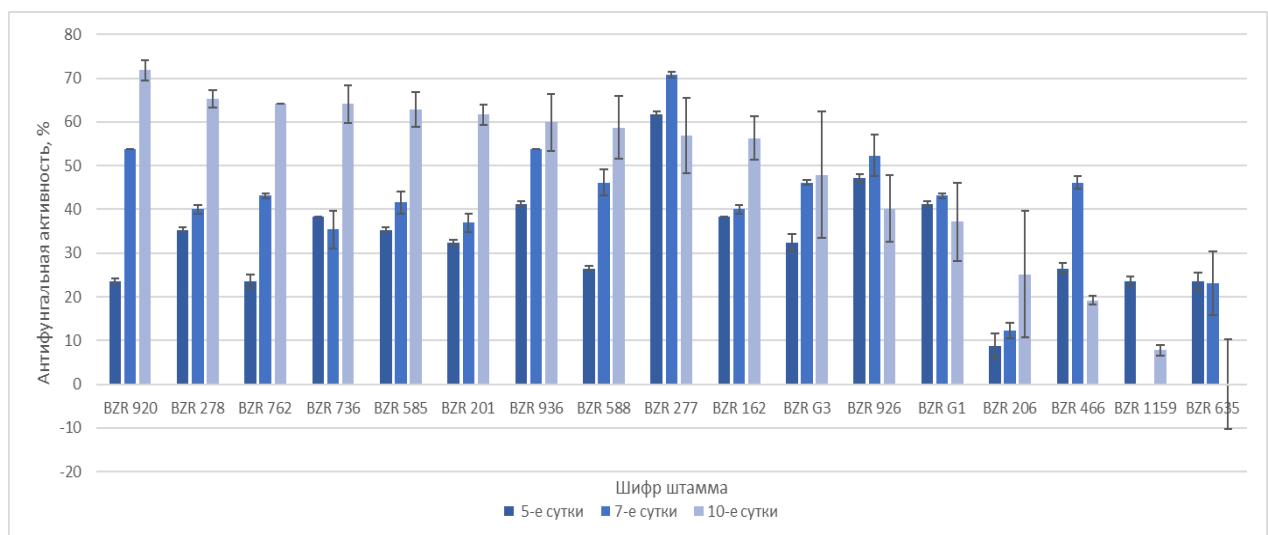


Рисунок 25 – Антифунгальная активность штаммов бактерий в отношении *C. herbarum* F-36

Стоит отметить отличие штамма *B. velezensis* BZR 277 (рисунок 25б), который обладал высокой антагонистической активностью уже на третьи сутки эксперимента 61,8 %, стабильно сохранял свою эффективность на протяжении всего опыта – 70,8 % на пятые и 56,9 % на десятые сутки.

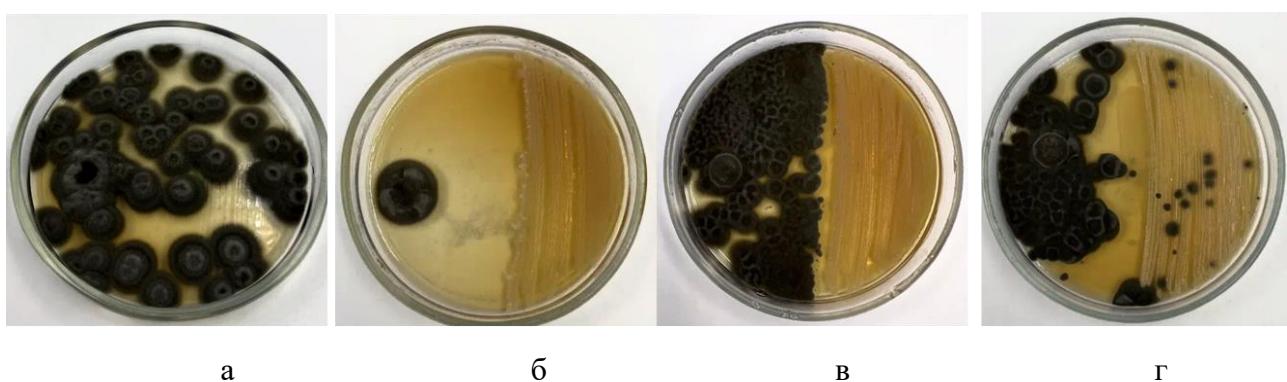


Рисунок 25 – Антагонизм штаммов бактерий в отношении патогенного гриба *C. herbarum* F-36, 10-е сутки инкубации:

а – контроль *C. herbarum* F-36 (чистая культура гриба); б – *B. velezensis* BZR 277;
в – *A. nematophilus* BZR 585; г – *L. aridicollis* BZR 466

На рисунке 27 представлены результаты оценки антифунгальной активности штаммов бактерий в отношении гриба *A. alternata* BZR F-12.

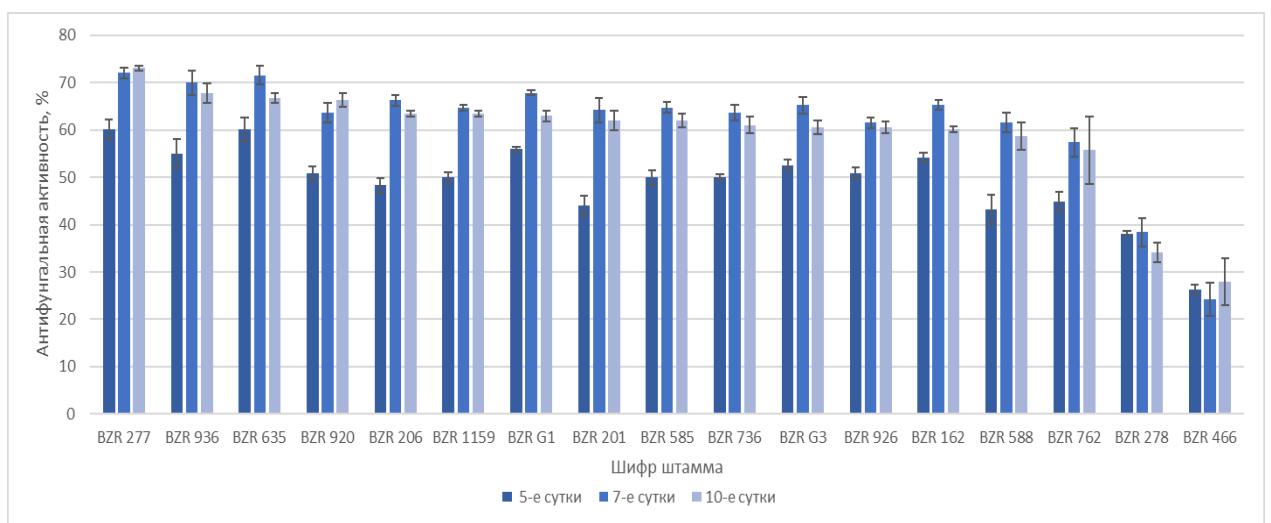


Рисунок 27 – Антифунгальная активность штаммов бактерий в отношении *A. alternata* BZR F-12

Все исследуемые штаммы оказали высокое ингибирование мицелия (55,8-73,1 %) к десятым суткам эксперимента. Исключением выступили два штамма бактерий *A. nematophilus* BZR 278 и *L. aridicollis* BZR 466, их антифунгальная активность на десятые сутки была на уровне 27,9-34,1 % (рисунок 28).

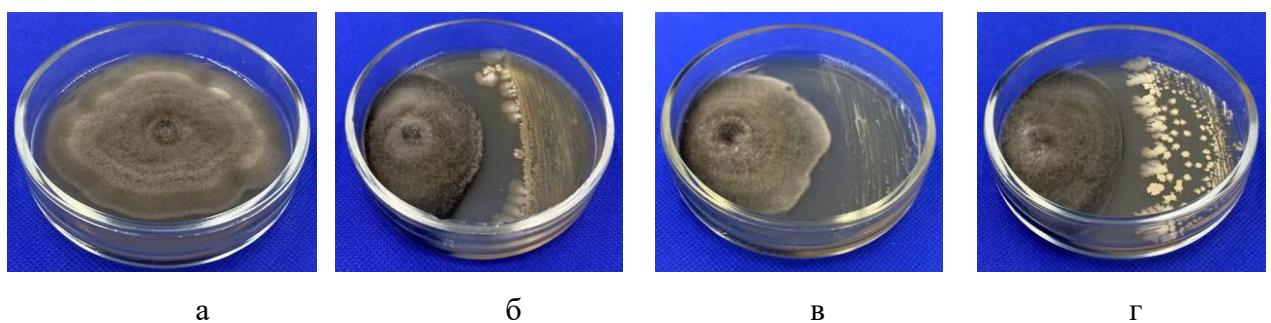


Рисунок 28 – Антагонизм штаммов бактерий в отношении патогенного гриба *A. alternata* BZR F-12 на 10-е сутки инкубации:

а – контроль *A. alternata* BZR F-12 (чистая культура гриба); б – *B. velezensis* BZR 936;
в – *O. quorumnocens* BZR 162; г – *B. naejangsanensis* BZR 1159

В эксперименте с *F. avenaceum* BZR F-19 большинство исследуемых штаммов бактерий оказали слабое ингибирующее действие на гриб – не более 50 % (рисунки 29-30).

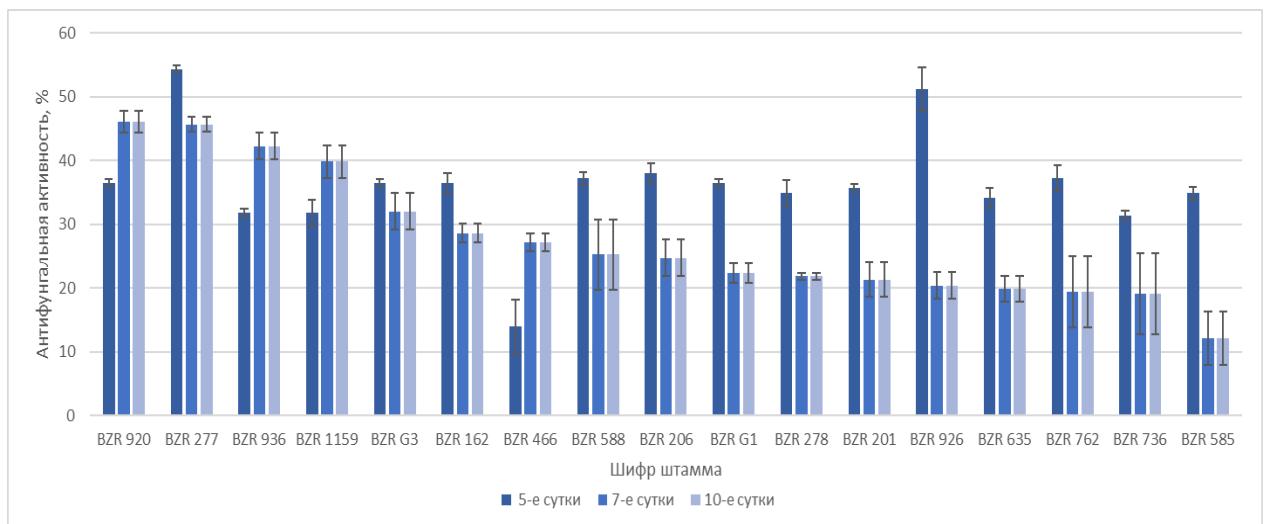


Рисунок 29 – Антифунгальная активность штаммов бактерий в отношении *F. avenaceum* BZR F-19

При этом отмечено стабильное снижение антифунгального действия к седьмым и десятым суткам эксперимента – 12-45 %.

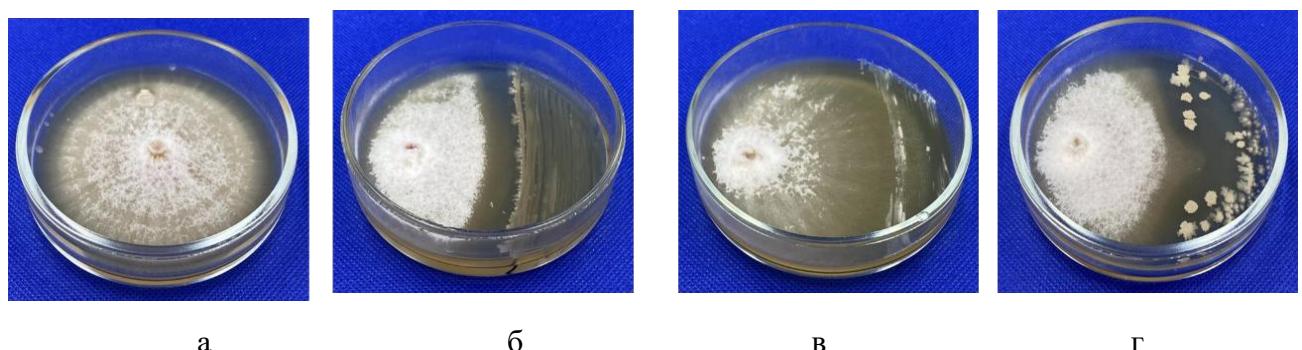


Рисунок 30 – Антагонизм штаммов бактерий в отношении патогенного гриба *F. avenaceum* BZR F-19, 10-е сутки инкубации:

а – контроль *F. avenaceum* BZR F-19 (чистая культура гриба); б – *B. velezensis* BZR 920; в – *A. nematophilus* BZR 585; г – *B. naejangsanensis* BZR 1159

На рисунке 31 представлены результаты по оценке фунгицидной активности штаммов бактерий в отношении *V. inaequalis* BZR F-34. На пятые сутки эксперимента, антигрибной активности практически не отмечено, при этом к седьмым суткам фунгицидное действие возрастало и в зависимости от варианта опыта было на уровне от 15,8 до 44,7 %.

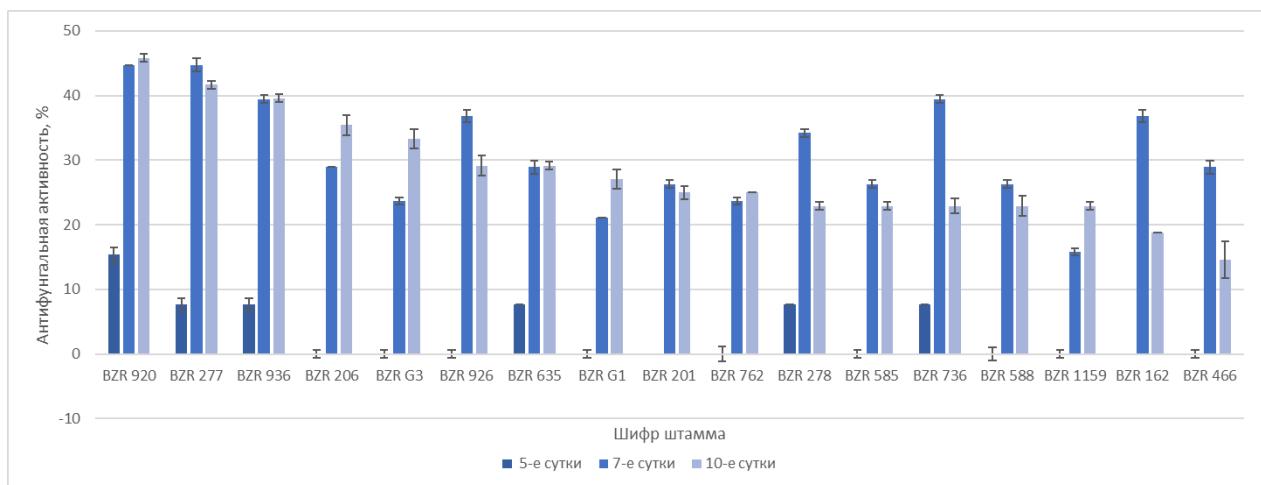


Рисунок 30 – Антифунгальная активность штаммов бактерий в отношении *V. inaequalis* BZR F-34

Такая слабая ингибирующая активность штаммов бактерий, вероятно, может быть связана с медленным ростом фитопатогенного гриба и его высокой вирулентностью. Так, к десятым суткам опыта диаметр мицелия *V. inaequalis* BZR-F34 в контролльном варианте составил 32 мм (рисунок 32).

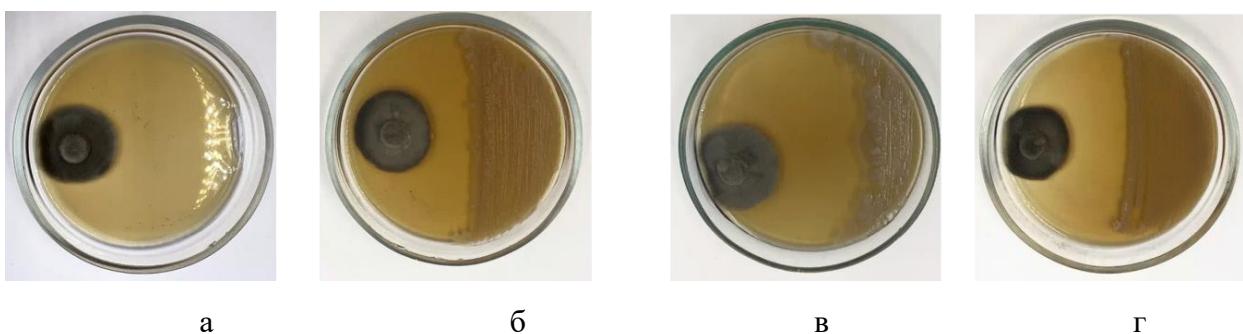


Рисунок 31 – Антагонизм штаммов бактерий в отношении патогенного гриба *V. inaequalis* BZR-F34, 10-е сутки инкубации:

а – контроль *V. inaequalis* (чистая культура гриба); б – *B. velezensis* BZR 936;
в – *B. thuringiensis* BZR G3, г – *B. velezensis* BZR 277

В результате исследований антифунгальной активности штаммов бактерий в отношении *M. fructigena* высокую степень антагонизма проявили штаммы *B. velezensis* BZR 936, *B. velezensis* BZR 277, *B. velezensis* BZR 920, *A. nematophilus* BZR 278 (рисунки 33-34). В данных вариантах отмечено максимальное ингибирование роста гриба к десятым суткам (63,8-73,4 %).

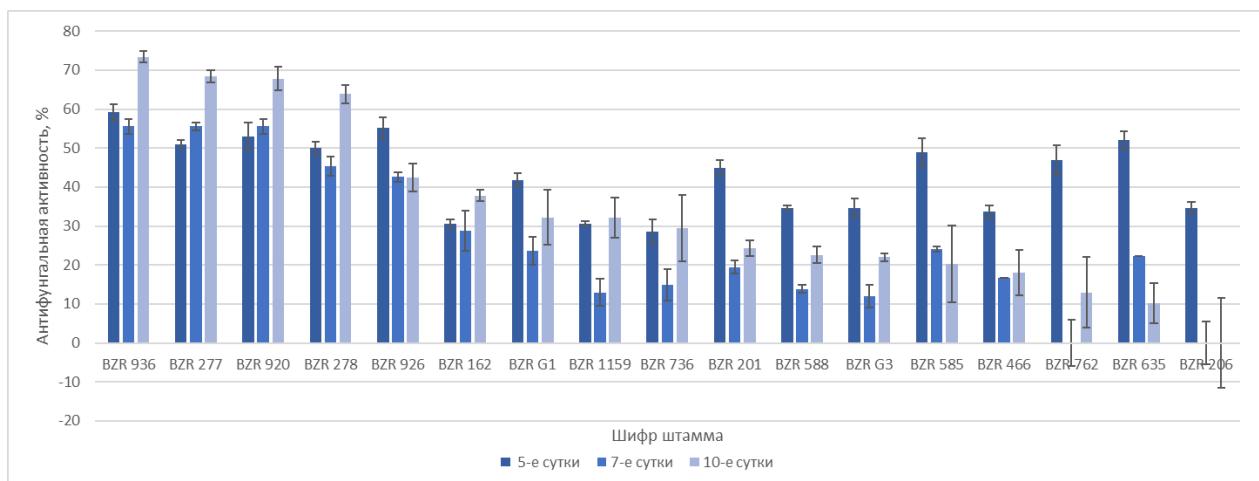


Рисунок 32 – Антифунгальная активность штаммов бактерий в отношении *M. fructigena*



Рисунок 34 – Антагонизм штаммов бактерий в отношении патогенного гриба *M. fructigena*, 10-е сутки инкубации:

а – контроль *M. fructigena* BZR-F (чистая культура гриба); б – *B. velezensis* BZR 277;
в – *L. aridicollis* BZR 201; г – *B. cereus* BZR 736

В результате исследования выявлены штаммы с высокой антифунгальной активностью в отношении всех исследуемых тест-культур грибов: *B. velezensis* BZR 277 (41,7-73,8 %), *B. velezensis* BZR 920 (45,8-71,9 %), *B. velezensis* BZR 936 (42,2-84,8 %). Среднее антагонистическое действие против изучаемых фитопатогенов

продемонстрировал штамм *B. cereus* BZR 736 (38,1-64,1 %), тогда как штаммы *B. naejangsanensis* BZR 1159, *L. aridicollis* BZR 201, *L. aridicollis* BZR 206, *L. aridicollis* BZR 466, *A. nematophilus* BZR 585, *Paenochrobactrum sp.* BZR 588, *Leucobacter sp.* BZR 635 и *A. nematophilus* BZR 762 не оказали значительного ингибирующего эффекта на исследуемые фитопатогенные грибы. Антагонистическая активность штамма *B. thuringiensis* BZR G1 в отношении *F. culmorum* BZR F-3 составила 43,6 % на десятые сутки, но при этом его эффективность в отношении других фитопатогенов была менее 20 %. Интересно отметить различную степень антагонистического действия штамма *O. quorutnocens* BZR 162 в отношении фитопатогенов. Так, эффективность штамма против *F. graminearum* BZR F-4 достигала 56,9 % к десятым суткам, а ингибирование мицелия *F. oxysporum var. orthoceras* BZR F-6 составило 42,4 %. При этом антифунгальная активность этого штамма против изолятов грибов *F. culmorum* BZR F-3, *M. nivale* BZR F-5 была на уровне 30,2 и 37,4 % соответственно, а в отношении *R. solani* BZR F-11 – 13,7 %.

В отношении экономически значимых болезней яблони, вызываемых грибами родов *Fusarium*, *Microdochium*, *Rhizoctonia*, *Venturia*, *Trichothecium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, выделены штаммы с высокой антагонистической активностью: *B. velezensis* BZR 277, *B. velezensis* BZR 920, *B. velezensis* BZR 936 в диапазоне от 52,8 до 84,8 %.

3.3.2. Бактерицидная активность штаммов бактерий в отношении фитопатогенных бактерий родов *Erwinia*, *Xantamonas*, *Pseudomonas*

На сегодняшний день для борьбы с бактериозами плодовых культур в РФ используют медьсодержащие препараты – сульфат меди, бордоскую жидкость и др. Однако соединения меди могут оказывать фитотоксическое действие на растения и многократные обработки способствуют ухудшению качества получаемой продукции. Биологические агенты, в том числе представители родов *Bacillus* и *Pseudomonas*, известные во всем мире как продуценты различных антибиотических

веществ, могут выступать в качестве антагонистов в борьбе с бактериозами плодовых культур. В частности, в США аграрии активно применяют препарат BlightBan, на основе штамма *Pseudomonas fluorescens* A506, эффективный для контроля бактериального ожога плодов. Препаратов на основе биологических агентов против бактериозов плодовых в РФ в настоящее время не зарегистрировано. Для изучения спектра активности изучаемых биоагентов определяли возможное антагонистическое действие в отношении фитопатогенных бактерий *E. amylovora*, *P.s syringae* pv. *atrofaciens*, *P. syringae* pv. *pisi*, *X. arboricola* (таблица 6).

Таблица 6 – Бактерицидная активность штаммов бактерий в отношении фитопатогенных бактерий

Фитопатоген/ биогаент	BZR 588	BZR 585	BZR 201	BZR 736	BZR 762	BZR 926	BZR 920	BZR 936	BZR 206	BZR 635	BZR G1	BZR G3	BZR 277	BZR 1159	BZR 466	BZR 278	BZR 162
<i>E. amylovora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. syringae atrofaciens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>pisi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>X. arboricola</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

В результате оценки бактерицидного действия штаммов-продуцентов, антагонистической активности отмечено не было. Полученные данные, включая отсутствие четких зон ингибирования, свидетельствуют об отсутствии у данных микроорганизмов выраженной способности к ограничению роста тестируемых бактериальных культур. Таким образом, на основании результатов, визуализированных на рисунке 35, можно заключить, что исследуемые штаммы не обладают практическим потенциалом для применения в качестве агентов биоконтроля против фитопатогенных бактерий.

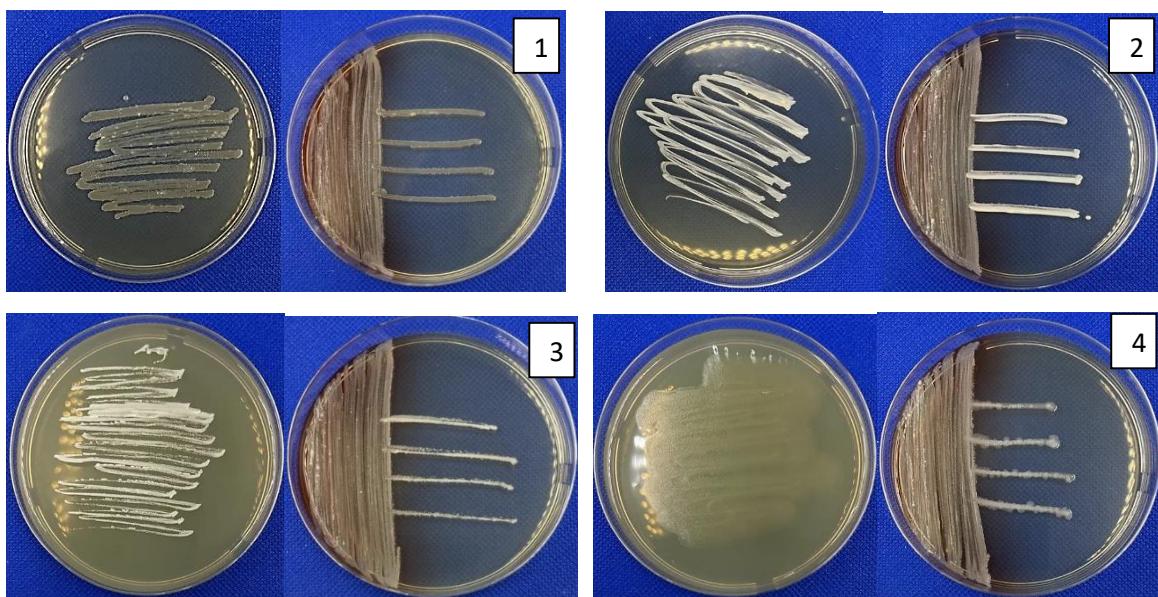


Рисунок 35 – Двойные культуры фитопатогенных бактерий и штамма
Paenochrobactrum sp. BZR 588

1 – слева: *Xan. arboricola*, справа: *Xan. arboricola* + *Paenochrobactrum sp. BZR 588*; 2 – слева: *E. amylovora*; справа: *E. amylovora* + *Paenochrobactrum sp. BZR 588*; 3 – слева: *P. syringae* pv. *pisi*; справа: *P. syringae* pv. *pisi* + *Paenochrobactrum sp. BZR 588*; 4 – слева: *P. syringae atrofaciens*, справа: *P. syringae atrofaciens* + *Paenochrobactrum sp. BZR 588*

3.3.3. Инсектицидная активность штаммов бактерий в отношении *Galleria mellonella*, *Tenebrio molitor*, *Cydia pomonella*

Поиск эффективных биологических агентов – важная задача агробиотехнологии, непосредственно связанная с созданием биопрепараторов для контроля численности вредных организмов. Проведена оценка 17 штаммов бактерий из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР по критерию инсектицидной активности.

В связи с физиологическими особенностями, большую восковую моль разводят в научно-практических целях как модельный объект для физиологических и биохимических исследований, для оценки активности и качества биопрепараторов, а также как кормовую базу для хищных клопов, мух-тахин, трихограмм и др. [Burges H. D., 1967; Хорхордин Е. Г., Шагов Е. М.; Осокина А. С., Колбина Л. М.,

Непейвода С. Н., 2015; Оценка инсектицидной активности..., 2016, Агасьева И. С., Нефедова М. В., 2021].

Результаты исследований эффективности штаммов бактерий по критерию инсектицидной активности штаммов бактерий на большой восковой моли представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Инсектицидная активность штаммов бактерий в отношении большой восковой моли *G. mellonella* *in vitro*, ФГБНУ ФНЦБЗР, 2019-2020 гг.

П/п	Штамм	КОЕ/мл	Количество гусениц большой восковой моли, шт.		БЭ, %		
			до обработки	после обработки, сут.			
				3	5	3	5
1	<i>B. naejangsanensis</i> BZR 1159	(6,0±0,1) × 10 ⁹	30	2,0 ^a	1,4 ^a	93,3	95,2
2	<i>Paenochrobactrum</i> sp. BZR 588	(2,0±0,3) × 10 ¹⁰	30	1,4 ^a	2,3 ^{ab}	95,3	92,0
3	<i>B. velezensis</i> BZR 936	(2,2±0,7) × 10 ⁸	30	3,2 ^a	1,6 ^a	89,3	94,5
4	<i>L. aridicollis</i> BZR 206	(2,3±3,9) × 10 ¹⁰	30	3,0 ^a	1,6 ^a	90,0	94,5
5	<i>B. velezensis</i> BZR 920	(3,0±0,3) × 10 ⁷	30	3,4 ^a	2,6 ^{ab}	88,7	91,1
6	<i>A. marplatensis</i> BZR 926	(1,8±0,1) × 10 ⁹	30	8,6 ^b	4,6 ^{bc}	71,3	84,3
7	<i>B. velezensis</i> BZR 277	(8,6±0,3) × 10 ⁷	30	10,2 ^b	5,2 ^c	66,0	82,2
8	<i>L. aridicollis</i> BZR 466	(2,8±0,1) × 10 ¹⁰	30	17,0 ^c	9,0 ^d	43,3	69,2
9	<i>O. quorumnocens</i> BZR 162	(7,3±2,7) × 10 ⁸	30	20,3 ^d	16,4 ^e	32,2	43,9
10	<i>A. nematophilus</i> BZR 278	(2,7±0,6) × 10 ⁸	30	27,0 ^{fg}	17,6 ^e	10,0	39,8
11	<i>L. aridicollis</i> BZR 201	(5,23±0,7) × 10 ⁸	30	29,2 ^g	27,2 ^{ghi}	2,6	7,0
12	<i>A. nematophilus</i> BZR 585	(3,9±1,4) × 10 ¹⁰	30	25,2 ^{ef}	24,8 ^{fg}	16,0	15,2
13	<i>Leucobacter</i> sp. BZR 635	(1,4±0,1) × 10 ⁹	30	23,8 ^e	24,6 ^f	20,7	15,9
14	<i>B. cereus</i> BZR 736	(3,0±0,6) × 10 ⁸	30	28,4 ^g	27,6 ^{hi}	5,3	5,6
15	<i>A. nematophilus</i> BZR 762	(1,4±0,1) × 10 ¹⁰	30	27,0 ^{fg}	25,4 ^{fgh}	10,0	13,2
16	<i>B. thuringiensis</i> BZR G1	(2,2±0,4) × 10 ⁷	30	28,4 ^g	27,8 ^{hi}	5,3	5,0
17	<i>B. thuringiensis</i> BZR G3	(4,1±0,1) × 10 ⁹	30	28,4 ^g	28,0 ⁱ	5,3	4,3
18	Контроль	-	30	29,9 ^g	29,2 ⁱ	-	-

Примечание: между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистически достоверных различий по критерию Дункана при 95 %-м уровне вероятности, p=0,05

Известно, что качество получаемого биопрепарата зависит в том числе и от количества в нём активных клеток (КОЕ/мл) (Штерншис, 2012). Анализ смыков исследуемых штаммов бактерий показал, что титр суспензии варьировал от $2,2 \times 10^7$ до $3,9 \times 10^{10}$ КОЕ/мл (таблица 7).

Штаммы *Paenochrobactrum sp.* BZR 588, *B. naejangsanensis* BZR 1159, *B. velezensis* BZR 936, *L. aridicollis* BZR 206, *B. velezensis* BZR 920, *A. marplatensis* BZR 926 и *B. velezensis* BZR 277 показали максимальную эффективность: гибель гусениц к пятym суткам исследований составила от 82,2 до 95,2 % (рисунок 36).



Рисунок 36 – Инфицированные гусеницы большой восковой моли *G. mellonella* на примере штамма *B. naejangsanensis* BZR 1159 (ориг.)

Примечательно, что у данных штаммов уже на трети сутки после обработки зафиксирован значительный уровень смертности гусениц, который был на уровне от 66,0 до 93,3 % в зависимости от варианта. У штамма *L. aridicollis* BZR 466 отмечено невысокое энтомопатогенное действие в отношении *G. mellonella* – 43,3 % на трети сутки и 69,2 % на пятые сутки эксперимента.

Стоит отметить, что в вышеперечисленных вариантах эксперимента отмечены статистически значимые различия по отношению к контролю ($p<0,05$). Тогда как у других изучаемых штаммов бактерий зафиксировано слабое инсектицидное действие, гибель гусениц большой восковой моли на трети и пятые сутки – от 4,3 до 7,0 % и не показали статистического различия по отношению к контролю при 95 %-м уровне вероятности ($p<0,05$).

Данные результатов эффективности штаммов бактерий по критерию энтомопатогенной активности в отношении второго тест-объекта – большого мучного хрущака, представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Инсектицидная активность штаммов бактерий в отношении большого мучного хрущака *T. molitor* *in vitro*, ФГБНУ ФНЦБЗР, 2019-2020 гг.

П/п	Штамм	КОЕ/мл	Количество личинок мучного хрущака, шт.				БЭ, %
			до обработки	после обработки, сут.			
				3	5	3	5
1	<i>L. aridicollis</i> BZR 201	(10,0±0,2) x10 ¹⁰	30	0,6 ^a	0,2 ^a	97,9	99,3
2	<i>A. nematophilus</i> BZR 278	(9,7±0,7) x10 ⁹	30	7,4 ^b	0,6 ^{ab}	74,6	97,9
3	<i>Leucobacter</i> sp. BZR 635	(5,9±0,1) x10 ⁸	30	4,4 ^{ab}	0,6 ^{ab}	84,9	97,9
4	<i>A. nematophilus</i> BZR 585	(4,1±0,1) x10 ¹⁰	30	6,4 ^{ab}	0,6 ^{ab}	78,1	97,9
5	<i>B. cereus</i> BZR 736	(5,3±0,8) x10 ⁹	30	7,0 ^b	3,4 ^{abc}	76,0	88,1
6	<i>B. thuringiensis</i> BZR G3	(2,8±0,1) x10 ¹⁰	30	4,2 ^{ab}	1,0 ^{abc}	85,6	87,3
7	<i>B. thuringiensis</i> BZR G1	(5,5±0,1) x10 ¹⁰	30	6,6 ^{ab}	5,4 ^{abc}	77,4	81,0
8	<i>B. velezensis</i> BZR 936	(8,3±0,2) x10 ⁹	30	7,8 ^b	5,6 ^{abcd}	73,3	80,3
9	<i>A. nematophilus</i> BZR 762	(7,5±0,1) x10 ⁹	30	9,2 ^{bc}	7,0 ^{cde}	68,5	75,4
10	<i>B. velezensis</i> BZR 277	(6,1±0,1) x10 ⁹	30	8,4 ^{bc}	6,6 ^{bcd}	71,2	76,8
11	<i>L. aridicollis</i> BZR 466	(4,9±0,1) x10 ⁹	30	20,0 ^c	7,2 ^a	31,4	74,7
12	<i>B. naejangsanensis</i> BZR1159	(6,5±0,3) x10 ⁹	30	11,2 ^{bc}	8,4 ^{abcd}	61,6	70,5
13	<i>O. quorumnocens</i> BZR 162	(9,4±0,3) x10 ¹⁰	30	14,2 ^{cde}	10,8 ^{de}	51,3	62,0
14	<i>B. thuringiensis</i> BZR G2	(8,7±0,1) x10 ⁹	30	17,0 ^{de}	17,0 ^{fg}	41,7	40,3
15	<i>L. aridicollis</i> BZR 206	(5,8±0,4) x10 ⁹	30	25,2 ^{ab}	24,4 ^{abc}	13,6	14,3
16	<i>A. marplatensis</i> BZR 926	(6,0±0,1) x10 ¹⁰	30	29,4 ^a	29,4 ^a	0	0
17	<i>B. velezensis</i> BZR 920	(2,2±0,7) x10 ⁹	30	30a	30a	0	0
18	Контроль	-	30	29,2 a	28,5 a	-	-

Примечание: между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистически достоверных различий по критерию Дункана при 95 %-м уровне вероятности, p=0,05

Высокую биологическую эффективность к пятым суткам – от 70,5 до 99,3 % показали 14 штаммов бактерий: *L. aridicollis* BZR 201, *Leucobacter* sp. BZR 635, BZR 278, *A. nematophilus* BZR 585, BZR 785, *B. cereus* BZR 736, *B. thuringiensis* BZR G3, *L. aridicollis* BZR 206, *B. thuringiensis* BZR G1, *B. velezensis* BZR 936, *B. velezensis* BZR 277, *A. nematophilus* BZR 762, *L. aridicollis* BZR 466, *B. naejangsanensis* BZR 1159. При этом данные бактериальные агенты показали высокое инсектицидное действие и на третьи сутки – 61,6-97,9 % и имели статистически значимые различия по отношению к контролю (p<0,05). Стоит выделить штамм *L. aridicollis* BZR 466, который на третьи сутки показал эффективность на уровне 31,4 %, а к пятым суткам она достигла 74,7 %. Вероятно, токсины уже начали оказывать негативное влияние на личинок мучного хрущака, начиная с третьих суток, так как у особей отмечена потеря активности и

зафиксировано прекращение активного питания. А к пятым суткам был достигнут максимальный инсектицидный эффект. Штаммы *O. quorunocens* BZR 162 и *B. thuringiensis* BZR G2 показали невысокую инсектицидную активность, смертность личинок большого мучного хрущака на пятые сутки составила от 40,3 до 62,0 %.

Для штаммов с максимальной эффективностью оценивали выживаемость насекомых с использованием непараметрического метода статистической обработки, который включал в себя расчёт среднего времени выживания и медианное время. Кроме того, для каждого варианта присвоен уровень значимости, где различия считали значимыми при $p \leq 0,001$ (таблица 9).

Таблица 9 – Анализ выживаемости гусениц большой восковой моли *G. mellonella* и личинок большого мучного хрущака *T. molitor*

П/п	Штамм	P-значение	БЭ, %	Среднее время гибели, сут.	Медианное время гибели, сут.
большая восковая моль <i>G. mellonella</i>					
1	<i>Paenochrobactrum sp.</i> BZR 588	<0,001	96,6	3,1	3,0
2	<i>B. naejangsanensis</i> BZR 1159	<0,001	95,2	3,1	3,0
3	<i>L. aridicollis</i> BZR 206	<0,001	94,5	3,1	3,0
4	<i>B. velezensis</i> BZR 936	<0,001	94,5	3,2	3,0
5	<i>B. velezensis</i> BZR 920	<0,001	91,0	3,2	3,0
6	<i>A. marplatensis</i> BZR 926	<0,001	84,1	3,6	3,0
7	<i>B. velezensis</i> BZR 277	<0,001	82,1	3,7	3,0
8	<i>L. aridicollis</i> BZR 466	<0,001	69,0	4,1	5,0
большой мучной хрущак <i>T. molitor</i>					
10	<i>L. aridicollis</i> BZR 206	<0,001	97,9	3,4	3,0
11	<i>B. cereus</i> BZR 736	<0,001	97,9	3,5	3,0
12	<i>A. nematophilus</i> BZR 762	<0,001	97,9	3,6	3,0
13	<i>B. velezensis</i> BZR 277	<0,001	96,5	3,6	3,0
14	<i>B. velezensis</i> BZR 936	<0,001	88,1	3,5	3,0
15	<i>O. quorunocens</i> BZR 162	<0,001	87,3	3,9	3,0
16	<i>Leucobacter sp.</i> BZR 635	<0,001	84,5	3,3	3,0
17	<i>A. nematophilus</i> BZR 278	<0,001	81,0	3,5	3,0
18	<i>B. naejangsanensis</i> BZR 1159	<0,001	80,3	3,7	3,0
19	<i>A. nematophilus</i> BZR 585	<0,001	76,8	3,4	3,0
20	<i>B. thuringiensis</i> BZR G1	<0,001	75,4	3,4	3,0
21	<i>B. thuringiensis</i> BZR G3	<0,001	74,7	3,6	3,0
24	<i>L. aridicollis</i> BZR 466	<0,001	52,0	4,6	5,0
Примечание: Тест Каплана-Майера, у других изучаемых штаммов за период наблюдения наступила гибель <50% особей.					

Таким образом, показатель среднего времени гибели насекомых продемонстрировал разницу в эффективности штаммов с одинаковой инсектицидной активностью. Так, например, у штаммов *L. aridicollis* BZR 206, *B. cereus* BZR 736, *A. nematophilus* BZR 762 эффективность в отношении личинок большого мучного хрущака к пятым суткам составила 97,9 %, а среднее время гибели отличалось – 3,4, 3,5 и 3,6 суток соответственно (рисунок 37).



Рисунок 37 – Инфицированные личинки большого мучного хрущака *T. molitor* на примере штамма *B. cereus* BZR 736

В результате исследований проведена оценка инсектицидной активности 17 штаммов бактерий в отношении природной популяции яблонной плодожорки *C. pomonella* (таблица 10).

Таблица 10 – Биологическая эффективность штаммов бактерий в отношении гусениц *C. pomonella* *in vitro*, ФГБНУ ФНЦБЗР, 2021-2022 г.

П/п	Штамм	КОЕ/мл	Количество живых гусениц яблонной плодожорки, шт.		БЭ, %	
			до обработки	после обработки, сутки		
				3	5	3
1	<i>B. naejangsanensis</i> BZR 1159	(7,6±1,5) x10 ¹⁰	15	9,0 ^{ab}	4,7 ^a	37,9
2	<i>B. velezensis</i> BZR 936	(4,5±0,8) x 10 ⁹	15	7,0 ^{ab}	5,7 ^{ab}	51,7
3	<i>B. velezensis</i> BZR 920	(6,9±0,8) x 10 ⁹	15	8,0 ^{ab}	7,0 ^{bc}	44,8
4	<i>A. marplatensis</i> BZR 926	(4,3±1,2) x 10 ¹⁰	15	9,0 ^{bc}	6,3 ^{ab}	37,9
5	<i>B. thuringiensis</i> BZR G1	(2,0±0,4) x 10 ⁹	15	10,0 ^{bc}	8,7 ^{cd}	31,0
6	<i>B. velezensis</i> BZR 277	(4,0±0,6) x 10 ⁹	15	6,0 ^a	5,3 ^{ab}	58,6
7	<i>B. thuringiensis</i> BZR G3	(4,4±0,6) x 10 ⁹	15	12,0 ^{de}	11,0 ^e	17,2
8	<i>L. aridicollis</i> BZR 466	(2,7±0,8) x 10 ¹⁰	15	13,0 ^e	12,7 ^{efg}	10,3
						10,6

Продолжение таблицы 10

1	2	3	4	5	6	7	8
9	<i>A. nematophilus</i> BZR 278	(2,7±0,6) x 10 ⁸	15	14,0 ^{de}	12,3 ^{ef}	3,4	12,9
10	<i>B. cereus</i> BZR 736	(3,2±0,7) x 10 ⁹	15	12,0 ^{de}	11,3 ^e	17,2	20,0
11	<i>L. aridicollis</i> BZR 206	(3,3±0,8) x 10 ⁹	15	12,0 ^{bc}	8,7 ^{cd}	17,2	38,8
12	<i>Paenochrobactrum</i> sp. BZR 588	(2,0±0,3) x 10 ¹⁰	15	11,0 ^{cd}	9,0 ^d	24,1	36,5
13	<i>L. aridicollis</i> BZR 201	(1,6±0,2) x 10 ⁸	15	14,0 ^{de}	12,3 ^{ef}	3,4	12,9
14	<i>Leucobacter</i> sp. BZR 635	(2,7±0,7) x 10 ⁹	15	12,0 ^{de}	12,0 ^{ef}	17,2	15,3
15	<i>A. nematophilus</i> BZR 762	(7,1±0,5) x 10 ⁹	15	14,0 ^e	13,7 ^{fg}	3,4	3,5
16	<i>O. quorumnocens</i> BZR 162	(7,3±2,7) x 10 ⁸	15	13,0 ^e	13,3 ^{fg}	10,3	5,9
17	<i>B. thuringiensis</i> BZR G2	(5,0±0,5) x 10 ⁹	15	12,0 ^{de}	12,3 ^{ef}	17,2	12,9
18	Контроль	-	15	14,5 ^e	14,2 ^g	-	-

Примечание: между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистически достоверных различий по критерию Дункана при 95 %-м уровне вероятности, p=0,05

Максимальную эффективность продемонстрировал штамм *B. velezensis* BZR 277, обеспечивший смертность гусениц 58,6% на третью сутки с последующим увеличением до 62,4 % на пятые сутки эксперимента. Высокая инсектицидная активность также отмечена в варианте со штаммом *B. velezensis* BZR 936: смертность к третьим суткам 51,7 % и 60,0 % к пятим суткам. Существенный энтомопатогенный эффект наблюдался в варианте со штаммом *B. naejangsanensis* BZR 1159, при применении которого гибель вредителей составила 37,9 % на третии сутки и 67,1 % на пятые сутки.

При использовании штаммов *B. velezensis* BZR 920 и *A. marplatensis* BZR 926 инсектицидная активность достигла 44,8-37,9 % и 50,6-55,3 % на третии и пятые сутки соответственно.

Следует отметить, что большинство исследованных штаммов характеризовались низкой инсектицидной активностью, не превышающей 40,0 % смертности гусениц к пятим суткам эксперимента. Минимальная биологическая эффективность отмечена в вариантах со штаммами *A. nematophilus* BZR 762 и *O. quorumnocens* BZR 162: 3,5 и 5,9 % соответственно на пятые сутки наблюдений.

В результате комплексной оценки антагонистической активности штаммов бактерий *in vitro* установлена высокая инсектицидная активность штаммов бактерий в отношении большой восковой моли и большого мучного хрущака: от 56,6 до 99,3 % на пятые сутки. Выявлен наиболее эффективный штамм бактерий в

отношении природной популяции яблонной плодожорки – *B. naejangsanensis* BZR 1159 (71,4 % на пятые сутки). В отношении экономически значимых болезней яблони, вызываемых грибами родов *Fusarium*, *Microdochium* и *Rhizoctonia*, *Venturia*, *Trichothecium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, выделены штаммы с высокой фунгицидной активностью, эффективность которых была в диапазоне от 52,8 до 84,8 %. Активность в отношении комплекса фитопатогенных бактерий плодовых ценозов не выявлена.

3.3.4. Эффективность штаммов бактерий в сравнении с биологическими инсектицидами

Для продуктивного ведения сельскохозяйственного производства требуется постоянное применение средств защиты растений от вредителей. Следствием многократных обработок является снижение чувствительности или образование резистентных популяций фитофагов к некоторым группам инсектицидов [The evolutionary origins..., 2019; Global pesticide resistance..., 2008; Transgenic tobacco and apple..., 2003; Киль В. И., 2011, Албегов М. О., 2020]. В том числе выявлено и формирование резистентности к микробиологическим препаратам на основе бактерий *B. thuringiensis* [Патыка Т. И., Ермолова В. П., Кандыбин Н. В., 2008; Соколянская М. П., 2018; Assessment of pesticide residues..., 2021; Jurat-Fuentes J. L., Heckel D. G., Ferré J., 2021]. Поэтому постоянный поиск новых эффективных и экологически безопасных биоагентов для защиты плодовых культур является актуальной задачей.

В исследованиях по сравнению эффективности штаммов бактерий *in vitro* были выбраны препараты, рекомендованные для применения в отношении широкого спектра вредителей плодового ценоза: Инсетим, Ж (*B. thuringiensis* subsp. *thuringiensis*, ИПМ-1140), Лепидоцид, П (*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* Z-52), Биостоп, Ж (*B. thuringiensis* + *Streptomyces* sp. + *Beauveria bassiana*) и Битоксибациллин, П (*B. thuringiensis* var. *thuringiensis*, 98) (таблица 11).

Таблица 11 – Биологическая эффективность экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий в отношении большой восковой моли *G. mellonella* L. в сравнении с коммерческими биоинсектицидами *in vitro*, ФГБНУ ФНЦБЗР, 2022 г.

П/п	Вариант	Количество живых гусениц большой восковой моли, шт.		БЭ, %	
		до обработки	после обработки, сут.		
			3	5	3
1	<i>Paenochrobactrum</i> sp. BZR 588	25	1,7 ^a	1,3 ^a	93,3
2	<i>B. naejangsanensis</i> BZR 1159	25	3,7 ^{bc}	1,8 ^{ab}	85,3
3	<i>B. velezensis</i> BZR 920	25	4,0 ^{cd}	2,5 ^{bc}	84,0
4	<i>B. velezensis</i> BZR 936	25	3,7 ^{bcd}	2,5 ^{bc}	85,3
5	<i>L. aridicollis</i> BZR 206	25	4,7 ^{de}	3,3 ^{cd}	81,3
6	<i>A. marplatensis</i> BZR 926	25	4,3 ^d	3,8 ^d	82,7
7	<i>B. velezensis</i> BZR 277	25	4,0 ^{cd}	3,8 ^d	84,0
8	<i>L. aridicollis</i> BZR 466	25	16,7 ^f	11,0 ^f	33,3
9	<i>B. cereus</i> BZR 736	25	22,0 ^g	21,5 ^g	12,0
10	<i>Leucobacter</i> sp. BZR 635	25	24,0 ^{hij}	22,3 ^{gh}	4,0
11	<i>A. nematophilus</i> BZR 762	25	23,0 ^{gh}	22,5 ^{hi}	8,0
12	<i>A. nematophilus</i> BZR 278	25	23,3 ^{hi}	22,8 ^{hij}	6,7
13	<i>L. aridicollis</i> BZR 201	25	23,3 ^{hij}	23,0 ^{ij}	6,7
14	<i>O. quorumnocens</i> BZR 162	25	23,7 ^{hij}	23,5 ^{jk}	5,3
15	<i>A. nematophilus</i> BZR 585	25	24,3 ^{ijk}	24,3 ^{kl}	2,7
16	<i>B. thuringiensis</i> BZR G1	25	24,7 ^{ijk}	24,3 ^{kl}	1,3
17	<i>B. thuringiensis</i> BZR G3	25	25,0 ^{jk}	24,5 ^l	0,0
18	Инсетим, Ж	25	1,7 ^a	1,3 ^a	93,3
19	Лепидоцид, П	25	2,3 ^{ab}	2,3 ^{bc}	90,7
20	Биостоп, Ж	25	3,7 ^{cd}	3,0 ^{cd}	85,3
21	Битоксибациллин, П	25	5,3 ^e	5,3 ^e	78,7
22	Контроль	25	25,0 ^k	24,8 ^l	-

Примечание: между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистических различий по критерию Дункана при 95%-м уровне вероятности.

Полученные данные показали, что у всех коммерческих биоинсектицидов было высокое энтомопатогенное действие в отношении гусениц большой восковой моли. На трети сутки БЭ в зависимости от варианта варьировала от 78,7 до 93,3 % и к пятым суткам оставалась на уровне – от 78,8 до 94,9 % (таблица 11). Максимальная гибель гусениц среди микробиопрепаратов к пятym суткам была у инсектицида Инсетим, Ж – 94,9 %, а минимальная у Битоксибациллина, П – 78,8 %. Сопоставимо высокое инсектицидное действие на гусениц большой восковой моли

оказали семь штаммов бактерий из БРК ФНЦБЗР – *Paenochrobactrum sp.* BZR 588, *B. naejangsanensis* BZR 1159, *B. velezensis* BZR 920, *B. velezensis* BZR 936, *L. aridicollis* BZR 206, *A. marplatensis* BZR 926, *B. velezensis* BZR 277 (таблица 11).

Максимальной биологической эффективностью обладали штаммы *Paenochrobactrum sp.* BZR 588, *B. naejangsanensis* BZR 1159, *B. velezensis* BZR 920, *B. velezensis* BZR 936, *L. aridicollis* BZR 206, *A. marplatensis* BZR 926, *B. velezensis* BZR 277, которая на трети сутки составила 84,0-93,3 %, а на пятые – 84,8-94,9 %. Аналогичное действие на гусениц оказал биоинсектицид Инсетим, Ж, что подтверждает и обработка данных – эти варианты находятся в одной группе и достоверно отличаются от контроля. При этом выявлены штаммы, которые в целом достоверно не оказывали негативного влияния на тест-объекты, их биологическая эффективность была сопоставима с гибелью гусениц в контроле – *A. nematophilus* BZR 585, *B. thuringiensis* BZR G1, *B. thuringiensis* BZR G3 (0-2,9 %).

В результате исследований, установлены штаммы, которые обладают достоверно высокой инсектицидной активностью, сопоставимой с эффективностью коммерческих биологических инсектицидов Инсетим, Ж, Лепидоцид, П, Биостоп, Ж и Битоксибациллин, П.

3.4. Оценка фитотоксичности и совместимости штаммов бактерий для обоснования возможности их использования при создания полифункциональных микробных препаратов

Фитотоксичность отобранных штаммов бактерий. Дальнейший этап работы включал исследование отобранных штаммов бактерий на возможное токсическое действие на культуру растений – пшеницу озимую (таблица 12). Данный объект широко используется в тестах благодаря своей высокой чувствительности к различным биологически активным веществам, в том числе метаболитам микробного происхождения [Воронина Л. П., Поногайбо К. Э., 2021; Кириллова Н. И., Дегтярева И. А., 2023]. Использование растений пшеницы

позволяет быстро и достоверно оценить влияние микроорганизмов на процессы роста растений в контролируемых условиях с последующим переходом к испытаниям на целевых культурах.

Таблица 12 – Фитотоксичность штаммов бактерий к растениям пшеницы озимой сорта Граф, *in vitro*, ФГБНУ ФНЦБЗР, 2022 г.

№	Вариант	Энергия прорастания, шт.	Всхожесть, шт.	Увядание проростков, %
1	<i>Paenochrobactrum sp.</i> BZR 588	100 ^a	100 ^a	0
2	<i>A. nematophilus</i> BZR 585	100 ^a	100 ^a	0
3	<i>L. aridicollis</i> BZR 201	100 ^a	100 ^a	0
4	<i>B. cereus</i> BZR 736	99,3 ^a	99,3 ^a	0
5	<i>A. nematophilus</i> BZR 762	100 ^a	100 ^a	0
6	<i>A. marplatensis</i> BZR 926	100 ^a	100 ^a	0
7	<i>B. velezensis</i> BZR 920	100 ^a	100 ^a	0
8	<i>B. velezensis</i> BZR 936	100 ^a	100 ^a	0
9	<i>L. aridicollis</i> BZR 206	100 ^a	100 ^a	0
10	<i>Leucobacter sp.</i> BZR 635	100 ^a	100 ^a	0
11	<i>B. thuringiensis</i> BZR G3	100 ^a	100 ^a	0
12	<i>B. thuringiensis</i> BZR G1	100 ^a	100 ^a	0
13	<i>B. velezensis</i> BZR 277	100 ^a	100 ^a	0
14	<i>B. naejangsanensis</i> BZR 1159	100 ^a	100 ^a	0
15	<i>L. aridicollis</i> BZR 466	100 ^a	100 ^a	0
16	<i>A. nematophilus</i> BZR 278	100 ^a	100 ^a	0
17	<i>O. quorumnocens</i> BZR 162	100 ^a	100 ^a	0
18	Контроль	100 ^a	100 ^a	0

Примечание: между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистически достоверных различий по критерию Дункана при 95 %-м уровне вероятности, p=0,05

Анализ данных показал, что тестируемые штаммы бактерий не оказывают негативного влияния на энергию прорастания и всхожесть семян пшеницы озимой, а также не вызывают увядания проростков бактериальной этиологии (приложение Г рисунок 1). В вариантах с применением водных суспензий *A. nematophilus* BZR 585, *A. nematophilus* BZR 762, *B. velezensis* BZR 936 отмечен визуальный ростостимулирующий эффект, который, вероятно, связан с продуцированием бактериями биологически активных метаболитов, т.к. в опыте отсутствовало минеральное питание.

Взаимодействие штаммов бактерий при совместном культивировании.

Одним из ключевых этапов в создании эффективных микробиологических препаратов является оценка совместимости, входящих в их состав биоагентов. При совместном применении микроорганизмов важно учитывать не только их антагонистическую активность в отношении целевых организмов, но и их потенциальное антагонистическое воздействие друг на друга. Несовместимость микроорганизмов может привести к снижению биологической эффективности препарата, нестабильности его состава или подавлению активности одного из компонентов. В связи с этим изучение совместимости бактериальных штаммов друг с другом является важной задачей, направленной на формирование стабильных и оптимальных микробных консорциумов с полифункциональными свойствами.

Большинство культур продемонстрировали полную совместимость, не образуя зон ингибирования роста при совместном культивировании: *Paenochrobactrum sp.* BZR 588, *A. nematophilus* BZR 585, *L. aridicollis* BZR 201, *B. cereus* BZR 736, *B. naejangsanensis* BZR 1159 и *L. aridicollis* BZR 466. Однако выявлено антагонистическое действие между отдельными бактериальными культурами, что следует учитывать при создании многокомпонентных микробиологических препаратов.

Стоит выделить *B. velezensis* BZR 920, проявляющий антагонистическое действие в отношении большинства тестируемых штаммов с образованием четких зон ингибирования роста шириной от 1 до 4 мм. Максимальное подавляющее действие BZR 920 наблюдалось в отношении штаммов *B. naejangsanensis* BZR 1159 (зона ингибирования 6-8 мм) (рисунок 35а), а также *A. marplatensis* BZR 926 (зона ингибирования 3-4 мм) и *B. velezensis* BZR 277 (2-3 мм). Это свидетельствует о выраженной antimикробной активности данного штамма (таблица 13).

Таблица 13 – Взаимодействие штаммов бактерий при совместном культивировании *in vitro*, ФГБНУ ФНЦБЗР, 2024 г.

Штамм	Ингибируемый штамм	Диаметр зоны ингибирования, мм	Примечание
<i>B. velezensis</i> BZR 920	<i>Paenochrobactrum</i> sp. BZR 588, <i>A. nematophilus</i> BZR 585, <i>B. cereus</i> BZR 736, <i>A. nematophilus</i> BZR 762, <i>A. marplatensis</i> BZR 926, <i>L. aridicollis</i> BZR 206, <i>Leucobacter</i> sp. BZR 635, <i>B. thuringiensis</i> BZR G1, <i>B. thuringiensis</i> BZR G3, <i>A. nematophilus</i> BZR 278, <i>B. naejangsanensis</i> BZR 1159	1-3 (до 8)	умеренный антагонизм; штамма 1159 проявлял выраженный антагонизм 6-8 мм
<i>B. velezensis</i> BZR 936	<i>Paenochrobactrum</i> sp. BZR 588, <i>A. nematophilus</i> BZR 585, <i>L. aridicollis</i> BZR 201, <i>B. cereus</i> BZR 736, <i>L. aridicollis</i> BZR 206, <i>Leucobacter</i> sp. BZR 635, <i>B. thuringiensis</i> BZR G1, <i>B. thuringiensis</i> BZR G3, <i>B. velezensis</i> BZR 277, <i>O. quorumnocens</i> BZR 162	0,5-3	умеренный антагонизм
<i>A. nematophilus</i> BZR 762	<i>B. velezensis</i> BZR 920, <i>B. velezensis</i> BZR 936, <i>B. velezensis</i> BZR 277	3-4	умеренный антагонизм, штамм 1159 образует пигмент на границе роста
<i>A. marplatensis</i> BZR 926	<i>B. velezensis</i> BZR 936, <i>B. velezensis</i> BZR 277	2-3	умеренный антагонизм, штамм 1159 образует пигмент на границе роста
<i>B. velezensis</i> BZR 277	<i>B. velezensis</i> BZR 920, <i>B. thuringiensis</i> BZR G1, <i>B. thuringiensis</i> BZR G3, <i>O. quorumnocens</i> BZR 162	1-3 (до 8)	штамма 162 проявляет выраженный антагонизм 6-8 мм
<i>A. nematophilus</i> BZR 278	<i>A. nematophilus</i> BZR 585, <i>L. aridicollis</i> BZR 201, <i>A. nematophilus</i> BZR 762, <i>B. velezensis</i> BZR 920, <i>B. velezensis</i> BZR 936, <i>L. aridicollis</i> BZR 206		штамм 1159 образует пигмент на границе роста

Также существенные антагонистические свойства показал штамм BZR 936, ингибирующий рост 11 штаммов с образованием зон от 0,5 до 5 мм, максимальное подавление отмечалось для штамма *B. thuringiensis* BZR G3 (3-5 мм).

Штамм BZR 277 проявлял избирательную антагонистическую активность, образуя умеренные зоны ингибирования от 1 до 3 мм в отношении *B. thuringiensis* BZR G1 и *B. thuringiensis* G3, и выраженную зону от 6 до 8 мм против *O. quorumnocens* BZR162 (рисунок 38б).

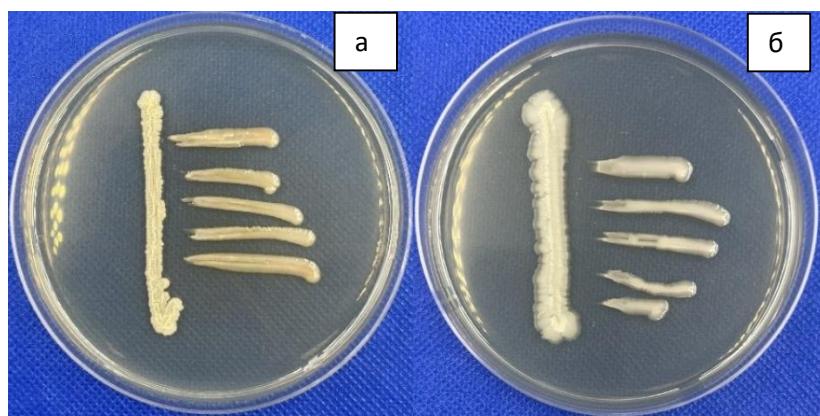


Рисунок 38 – Антагонизм между штаммами бактерий:
а) *B. velezensis* BZR 920 подавляет *B. naejangsanensis* BZR 1159,
б) *B. velezensis* BZR 277 подавляет *O. quorumnocens* BZR 162

Особый интерес представляют специфические взаимодействия, наблюдаемые при совместном культивировании BZR762 и BZR926 с BZR1159, где отмечалось образование характерного пигмента в зоне контакта. Также зафиксированы случаи одностороннего роста: *B. thuringiensis* BZR G1 активно разрастался на поверхности BZR 635, в то время как BZR 277 проявлял аналогичное отношение по отношению к *B. thuringiensis* BZR G1 (рисунок 39б).

Полученные данные имеют важное практическое значение для разработки комплексных биопрепараторов. Наиболее перспективными для создания многокомпонентных составов представляются полностью или частично совместимые между собой штаммы *B. velezensis* BZR 936, *B. velezensis* BZR 277, *A. marplatensis* BZR 926 и *B. naejangsanensis* BZR 1159, не проявляющие взаимного антагонизма. В то же время штаммы с широким спектром антагонистической

активности *B. velezensis* BZR 920 и *B. velezensis* BZR 936 требуют особо тщательного подхода при включении их в состав комплексных препаратов.

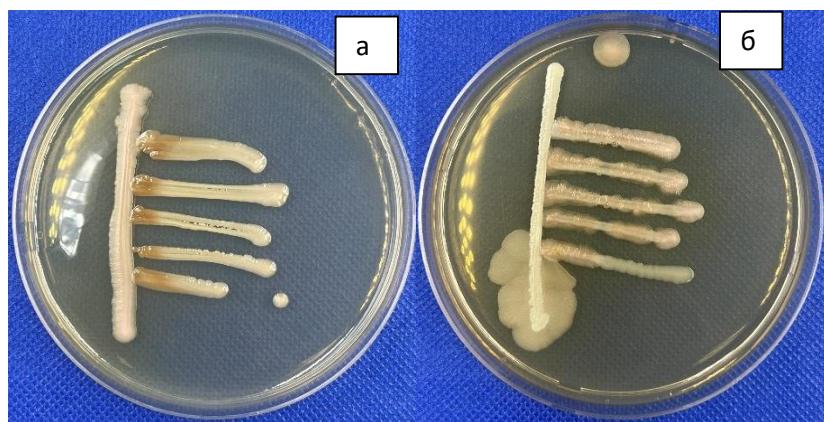


Рисунок 39 – Взаимодействие штаммов:

- а) образование пигмента штаммом *B. naejangsanensis* BZR 1159; б) поверхностное разрастание штамма *B. thuringiensis* BZR G1 на колонии штамма *Leucobacter* sp. BZR 635

Обнаруженные специфические взаимодействия, такие как образование пигментов и явления одностороннего роста, требуют дополнительного изучения как потенциальные маркеры штамм-специфических взаимоотношений и могут быть использованы для более глубокого понимания механизмов взаимодействия между штаммами. Полученные результаты подчеркивают необходимость тщательного тестирования совместимости штаммов при разработке новых биопрепаратов комплексного действия.

Совместимость штаммов бактерий с пестицидами, рекомендуемыми в плодовых ценозах. Для рационализации применения защитных мероприятий при возделывании сельскохозяйственных культур, в частности плодовых, применяют баковые смеси пестицидов. Этот прием позволяет снизить скорость развития резистентных популяций вредных организмов, сократить расход препаратов и пестицидную нагрузку, а также повысить экономическую эффективность применения пестицидов. Важный аспект, который следует учитывать при использования баковых смесей – чувствительность и совместимость компонентов или штаммов-продуцентов [Папсуев А. В., Миренков Ю. А., 2022].

Для изучения совместимости штаммов бактерий с коммерческими пестицидами тестировали три химических фунгицида, семь химических и четыре биологических инсектицида различных классов. Исследуемые препараты рекомендованы для защиты яблони от экономически значимых болезней и вредителей, активно включаются в схемы защитных мероприятий в виду их высокой эффективности. О совместимости судили визуально по росту штамма бактерий вокруг лунки с внесенным препаратом в рекомендуемой норме применения (рисунок 40).



Рисунок 40 – Совместимость с препаратами, рекомендуемыми для применения на яблоне на примере штамма *B. velezensis* BZR 936:

1 – контроль, штамм без внесения препарата; 2 – полная совместимость штамма с препаратом Димилин, СП (дифлубензурон 250 г/кг); 3 – частичная совместимость штамма с препаратом Сумитион, КЭ (фенитротион 500 г/л); 4 – несовместимость штамма с препаратом Инсетим, Ж (*Bacillus thuringiensis*, subsp. *thuringiensis*, ИПМ-1140)

Оценка совместимости штаммов бактерий с фунгицидами показала полную совместимость с препаратами, относящихся к химическим классам стробилурнов и фталимида (таблица 1 приложения Г). С препаратом Привент, СП (триадимефон 250 г/кг), относящегося к триазолам, также отмечена полная совместимость всех исследуемых штаммов. При совместном инкубировании агентов с фунгицидом Скор, КЭ (дифеноконазол 250 г/л) у штаммов *B. velezensis* BZR 920 и *B. velezensis* BZR 936 выявлена незначительная зона задержки роста (до 2,0 мм), что говорит о частичной совместимости и возможности совместного применения. В вариантах с другими штаммами, в результате взаимодействия с данным препаратом, зон ингибирования или изменения морфологии колоний отмечено не было.

В результате проведенных исследований установлено, что большая часть штаммов бактерий полностью совместимы с инсектицидами на основе фосфороганических соединений. Выявлены штаммы с частичной совместимостью в отношении препарата Фосбан, КЭ (Хлорпирифос 480 г/л) – *Paenochrobactrum sp.* BZR 588, BZR 920, BZR 277. Стоит выделить, штамм BZR 936, который был частично совместим как с препаратом Фосбан, КЭ (Хлорпирифос 480 г/л), так и с препаратом Сумитион, КЭ (Фенитротион 500 г/л) (приложения Г таблица 2, см. рисунок 39).

В оценке совместимости штаммов с другими классами химических соединений, такими как авермектины, неоникотиноиды, ингибиторы синтеза хитина, негативного влияния на рост штамма-продуцента отмечено не было (приложение Г таблица 3).

Для установления возможного комплексного применения биоагентов изучали совместимость с коммерческими биологическими инсектицидами Лепидоцид, П (*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* Z-52), Биостоп, Ж (*B. thuringiensis* + *Streptomyces* sp. + *Beauveria bassiana*), Инсетим, Ж (*B. thuringiensis*, subsp. *thuringiensis*, ИПМ-1140) и Битоксибациллин, П (*B. thuringiensis*, var. *thuringiensis*, 98) (рисунок 40). Обнаружено, что все изучаемые штаммы совместимы с биоинсектицидом Лепидоцид, П. В отношении микробиопрепарата Биостоп, Ж у одного штамма *B. velezensis* BZR 277 отмечена частичная совместимость, а у других агентов зон ингибирования не выявлено. Штаммы *B. cereus* BZR 736, *B. velezensis* BZR 936, *B. thuringiensis* BZR G3, *B. thuringiensis* BZR G1, *B. velezensis* BZR 277 были частично совместимы с инсектицидом Битоксибациллин, П (приложения Г таблица 4).

В отношении препарата Инсетим, Ж отмечена частичная совместимость трех штаммов бактерий (*B. cereus* BZR 736, *B. thuringiensis* BZR G1, *B. thuringiensis* BZR G3) и значительное ингибирование двух штаммов бактерий (*B. velezensis* BZR 936 и *B. velezensis* BZR 277) (рисунок 41).

По результатам данного исследования установлено, что перспективные биоагенты устойчивы к действующим веществам фунгицидов из химических

классов стробилурнов, фталимида, триазолов. Однако стоит отметить, что действующее вещество дифеноконазол, относящееся к триазолам, незначительно ингибировало штаммы *B. velezensis* BZR 936 и *A. marplatensis* BZR 926. К инсектицидам химических классов авермектины, неоникотиноиды, ингибиторы синтеза хитина отмечена полная совместимость, а к фосфороганическим соединениям, в частности к препаратам Сумитион, КЭ и Фосбан, КЭ, у некоторых штаммов зафиксировано незначительное ингибирование роста. С биологическими инсектицидами в целом отмечена полная или частичная совместимость, за исключением штаммов *B. velezensis* BZR 936 и *B. velezensis* BZR 277, на рост которых отмечено негативное влияние препарата Инсетим, Ж (рисунок 41).

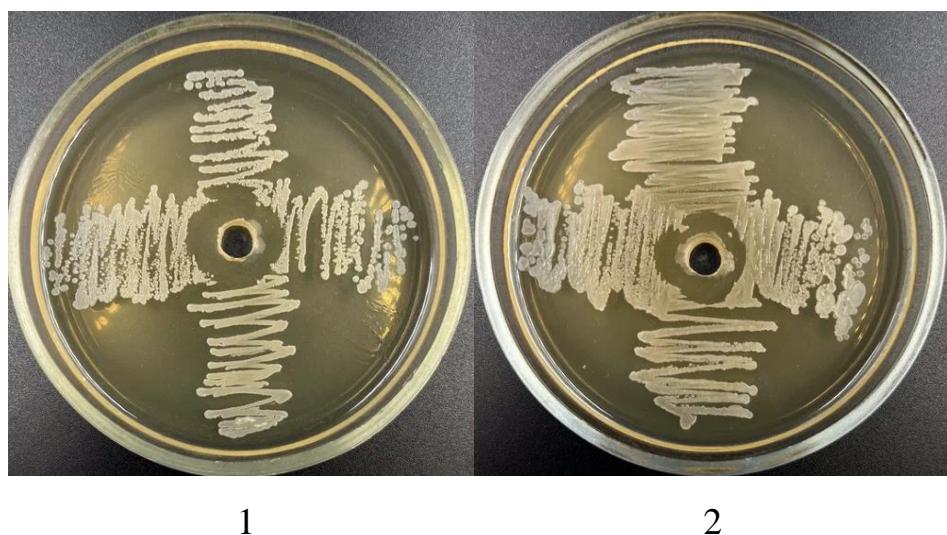


Рисунок 41 – Антагонистическое действие биоинсектицида Инсетим, Ж (*B. thuringiensis* subsp. *thuringiensis*, ИПМ-1140) в отношении исследуемых штаммов бактерий:

1 – *B. velezensis* BZR 936; 2 – *B. velezensis* BZR 277

По результатам исследования установлено, что перспективные биоагенты устойчивы к действующим веществам фунгицидов из химических классов стробилурнов, фталимида, триазолов. Однако стоит отметить, что действующее вещество дифеноконазол, относящееся к триазолам, незначительно ингибировало штаммы *B. velezensis* BZR 936 и *A. marplatensis* BZR 926. К инсектицидам химических классов авермектины, неоникотиноиды, ингибиторы синтеза хитина

отмечена полная совместимость, а к фосфорорганическим соединениям, в частности к препаратам Сумитион, КЭ и Фосбан, КЭ, у некоторых штаммов зафиксировано незначительное ингибирование роста. С биологическими инсектицидами в целом отмечена полная или частичная совместимость, за исключением штаммов *B. velezensis* BZR 936 и *B. velezensis* BZR 277, на рост которых было отмечено негативное влияние препарата Инсетим, Ж.

Обоснование отбора штаммов бактерий для полевых испытаний. Для полевых испытаний из 17 протестированных культур были отобраны пять штаммов бактерий: *B. velezensis* BZR 936, *B. velezensis* BZR 277, *B. naejangsanensis* BZR 1159, *A. marplatensis* BZR 926 и *B. cereus* BZR 736. При отборе учитывали следующие критерии: высокая инсектицидная активность (более 60,0 % эффективности в отношении *G. mellonella*, *T. molitor*, *C. pomonella*), выраженный фунгицидный потенциал против возбудителей парши и гнилей (до 85 % ингибирования роста грибов родов *Fusarium*, *Venturia*, *Alternaria*), технологичность (КОЕ от 10^7), а также отсутствие фитотоксичного действия на растения. Наиболее оптимальными для создания многокомпонентного препарата выступают штаммы *B. velezensis* BZR 936, *B. velezensis* BZR 277, *A. marplatensis* BZR 926 и *B. naejangsanensis* BZR 1159, которые при совместном культивировании не проявляют выраженного антагонизма и, следовательно, способны образовывать стабильный консорциум инсектицидного и фунгицидного действия. Таким образом, выбранные культуры обеспечивают не только высокую эффективность, но и перспективу комплексного применения, что является стратегически важным для разработки полифункционального биопрепарата, способного одновременно снижать вредоносность *V. inaequalis* и *C. pomonella* в яблоневом ценозе.

3.5. Эффективность полифункциональных экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий в условиях полевого мелкоделяночного опыта на яблоне в отношении возбудителя парши *Venturia inaequalis* и яблонной плодожорки *Cydia pomonella*

В результате проведения различных тестов в лабораторных условиях были отобраны экспериментальные образцы на основе штаммов с максимальным антагонистическим действием для проведения полевых испытаний: *B. cereus* BZR 736, *B. naejangsanensis* BZR 1159, *A. marplatensis* BZR 926, *B. velezensis* BZR 277 и *B. velezensis* BZR 936.

Биологическая эффективность экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий на яблоне в отношении возбудителя парши *Venturia inaequalis*. В ходе полевого эксперимента в 2023 г., проведенного на яблоне сорта Женева Эрли, установлена различная степень фунгицидной активности изучаемых экспериментальных образцов в отношении возбудителя парши *V. inaequalis*. В контролльном варианте первичные симптомы заболевания зафиксированы 19.05.2023 г. на фоне поражения листьев паршой 5,3 %. В дальнейшем наблюдалось прогрессирование патологического процесса, достигшее пика к 23.06.2023 г. – 23,3 % пораженных листьев, при этом к фенологической фазе съемной зрелости 04.08.2023 г. сохранялся высокий уровень поражения плодов – 18,6 %.

Максимальную эффективность в подавлении патогена продемонстрировали три экспериментальных образца на основе штаммов бактерий: *B. velezensis* BZR 277, *B. velezensis* BZR 936 и *A. marplatensis* BZR 926. При этом образец на основе *B. velezensis* BZR 277 обеспечил выраженный защитный эффект уже после второй обработки: биологическая эффективность составила 35,7 % при уровне развития парши на листьях – 3,4 %. Сопоставимые значения зафиксированы для вариантов *B. velezensis* BZR 936 – 38,7 % и *A. marplatensis* BZR 926 – 29,8 %. В то же время экспериментальные образцы на основе штаммов *B. cereus* BZR 736 и *B. naejangsanensis* BZR 1159 проявили меньший защитный эффект, обеспечив

биологическую эффективность на уровне 22,6 % и 10,9 % соответственно (таблица 14).

Максимальная эффективность экспериментальных образцов против парши яблони отмечена в период пикового развития патогена, зафиксированного 15.06.2023 г. в фазу созревания плодов. В вариантах со штаммами *B. velezensis* BZR 277, *B. velezensis* BZR 936, *A. marplatensis* BZR 926 сдерживали развитие болезни на листьях, которое не превышало 5,6-5,9 %, демонстрируя биологическую эффективность на уровне 57,7-59,5 %. Эти показатели были сопоставимы с результатами коммерческого биопрепарата Фитоспорин-М – 59,9 %. При этом образец на основе штамма *B. cereus* BZR 736 обеспечил 16,2 % эффективности, а на основе *B. naejangsanensis* BZR 1159 практически не проявлял фунгицидной активности – 4,3 %.

По результатам оценки состояния листового аппарата 23.06.2023 г. максимальные показатели биологической эффективности зафиксированы для экспериментальных образцов на основе штаммов *B. velezensis* BZR 277 – 75,8 % и *B. velezensis* BZR 936 – 76,8 %. Вариант на основе штамма *A. marplatensis* BZR 926 также показал статистически значимую эффективность в отношении парши – 73,1 %. В то же время в варианте с образцом на основе *B. cereus* BZR 736 защитное действие равнялось нулю, а эффективность *B. naejangsanensis* BZR 1159 оставалась незначительной – 11,8 %.

Заключительная оценка эффективности по показателям съемного урожая подтвердила существенные различия между вариантами. В варианте с образцом *B. velezensis* BZR 277 отмечено минимальное поражение плодов – 5,6 % и максимальная биологическая эффективность – 69,7 %. Сопоставимые результаты отмечены для экспериментального образца *B. velezensis* BZR 936 – 67,3 %. При этом варианты с применением образцов на основе штаммов *B. cereus* BZR 736 и *B. naejangsanensis* BZR 1159 продемонстрировали низкую фунгицидную активность – 24,6 и 5,1 % соответственно (таблица 14).

Таблица 14 – Биологическая эффективность экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий в отношении парши на яблоне, сорт Женева Эрли, хутор Покровский, Краснодарский край, 2023 г.

№	Вариант / норма применения, л/га	Дата обработки: 21.04; 04.05; 19.05; 02.06; 15.06													
		листья								плоды в кроне дерева				съемный урожай	
		19.05		25.05		15.06		23.06		15.06		23.06		04.08	
		R, %	БЭ, %	R, %	БЭ, %	R, %	БЭ, %	R, %	БЭ, %	R, %	БЭ, %	R, %	БЭ, %	R, %	БЭ, %
1	Контроль (обработка водой)	5,3 ^c	—	6,1 ^b	—	13,9 ^b	—	23,3 ^c	—	7,4 ^c	—	14,5 ^b	—	18,6 ^b	—
2	<i>B. cereus</i> BZR 736, 5,0	4,1 ^{ab}	22,6	5,4 ^{ab}	10,3	11,6 ^c	16,2	23,3 ^c	0	6,6 ^b	10,9	13,4 ^b	7,8	14,0 ^b	24,6
3	<i>B. naejangsanensis</i> BZR 1159, 5,0	4,6 ^{bc}	11,9	5,5 ^{ab}	9,3	13,3 ^b	4,3	20,5 ^b	11,8	6,1 ^b	18,5	14,3 ^b	1,7	17,6 ^b	5,1
4	<i>A. marplatensis</i> BZR 926, 5,0	3,7 ^a	29,8	4,8 ^a	21,6	5,9 ^a	57,7	6,3 ^a	73,1	5,2 ^a	30,3	6,1 ^a	58,2	7,9 ^a	57,6
5	<i>B. velezensis</i> BZR 277, 5,0	3,4 ^a	35,7	4,6 ^a	24,7	5,8 ^a	58,1	5,6 ^a	75,8	5,5 ^a	26,1	5,9 ^a	59,1	5,6 ^a	69,7
6	<i>B. velezensis</i> BZR 936, 5,0	3,2 ^a	38,7	4,8 ^a	20,6	5,6 ^a	59,5	5,5 ^a	76,8	5,3 ^a	29,4	6,3 ^a	56,9	6,1 ^a	67,3
7	Биологический эталон Фитоспорин-М, Ж, 2,5	3,5 ^{bc}	33,7	4,6 ^a	23,7	5,6 ^a	59,9	5,8 ^a	75,0	5,3 ^a	29,4	6,0 ^a	58,5	5,7 ^a	69,4

В вегетационный сезон 2024 г. сложились благоприятные условия для развития возбудителя парши *V. inaequalis*, что привело к значительному усилению инфекционного фона по сравнению с предыдущим годом. Установлено, что поражение листового аппарата в контрольном варианте к 17.05.2024 г. достигло 10,4 %, что в два раза превышало данный показатель в 2023 г. К 21.06.2024 г. уровень развития патогена составил 26,8 %, демонстрируя интенсивную динамику эпифитотического процесса (таблица 15).

На ранней фазе развития патогена 17.05.2024 г. максимальная эффективность зафиксирована в вариантах с применением экспериментальных образцов на основе штаммов *B. velezensis* BZR 277 и *B. velezensis* BZR 936 – 29,7 % и 31,5 % соответственно. Эти результаты были сопоставимы с действием эталонного препарата Фитоспорин-М – 28,5 %. Образец на основе штамма *A. marplatensis* BZR 926 показал среднюю биологическую эффективность – 18,3 %, тогда как *B. cereus* BZR 736 и *B. naejangsanensis* BZR 1159 статистически не отличались от контроля.

В период максимального развития парши на листьях 07.06.2024 г. штамм *B. velezensis* BZR 936 обеспечил максимальный уровень защиты – 53,0 %, далее штаммы *B. velezensis* BZR 277 – 47,3 %, *A. marplatensis* BZR 926 – 36,5 %. Эффективность образцов на основе *B. cereus* BZR 736 и *B. naejangsanensis* BZR 1159 не превышала 24,0 %. После пятикратной обработки к 21.06.2024 г. максимальное защитное действие отмечено у экспериментальных образцов на основе штаммов *B. velezensis* BZR 277 – 62,7 % и *B. velezensis* BZR 936 – 61,3 %, что соответствовало биологической эффективности эталона – 62,5 %.

Минимальная пораженность плодов 07.06.2024 г. зафиксирована при обработке образцами на основе *B. velezensis* BZR 936 и *B. velezensis* BZR 277, эффективность которых составила 56,6 % и 52,5% соответственно, что было сопоставимо с действием Фитоспорина-М, Ж – 57,4 %. Образец на основе штамма *A. marplatensis* BZR 926 показал умеренную активность – 49,2 %, тогда как *B. cereus* BZR 736 и *B. naejangsanensis* BZR 1159 низкую эффективность – менее 7,0 %. К 21.06.2024 г. максимальную биологическую эффективность на плодах сохранял эталонный препарат – 59,4 %. Стоит отметить экспериментальные образцы на

основе штаммов *B. velezensis* BZR 277, *B. velezensis* BZR 936, *A. marplatensis* BZR 926, которые демонстрировали сопоставимую эффективность: 58,9, 54,5 и 53,5 % соответственно.

На момент съемной зрелости 26.07.2024 г. наилучшую сохранность плодов обеспечил Фитоспорин-М, Ж на уровне 65,7 %. Сопоставимое защитное действие продемонстрировали варианты *A. marplatensis* BZR 926 – 64,7 %, *B. velezensis* BZR 936 – 61,6 %, *B. velezensis* BZR 277 – 59,5%. В то же время образцы *B. cereus* BZR 736 и *B. naejangsanensis* BZR 1159 были малоэффективными против парши на плодах – 18,2 % и 1,0 %.

Таблица 15 – Биологическая эффективность экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий в отношении парши на яблоне, сорт Женева Эрли, хутор Покровский, Краснодарский край, 2024 г.

№	Вариант / норма применения, л/га	Дата обработки: 26.04; 08.05; 14.05; 24.05; 07.06													
		листья								плоды в кроне дерева				съемный урожай	
		17.05		24.05		7.06		21.06		07.06		21.06		26.07	
		R, %	БЭ, %	R, %	БЭ, %	R, %	БЭ, %	R, %	БЭ, %	R, %	БЭ, %	R, %	БЭ, %	R, %	БЭ, %
1	Контроль (обработка водой)	10,4 ^a	–	15,9 ^b	–	20,9 ^d	–	26,8 ^{b c}	–	7,6 ^b	–	12,6 ^b	–	16,5 ^b	–
2	<i>B. cereus</i> BZR 736, 5,0	9,8 ^a	6,0	13,9 ^b	12,5	17,6 ^b	15,6	28,3 ^{b c}	0	7,3 ^b	4,9	11,6 ^b	8,4	13,5 ^c	18,2
3	<i>B. naejangsanensis</i> BZR 1159, 5,0	9,8 ^a	6,3	14,7 ^b	7,8	16,1 ^b	23,1	26,2 ^{b c}	2,3	7,1 ^b	6,6	12,3 ^b	2,5	16,3 ^b	1,0
4	<i>A. marplatensis</i> BZR 926, 5,0	8,5 ^c	18,3	10,6 ^a	33,3	13,3 ^c	36,5	16,3 ^d	39,2	3,9 ^a	49,2	5,9 ^a	53,5	5,8 ^a	64,7
5	<i>B. velezensis</i> BZR 277, 5,0	7,3 ^{b c}	29,7	9,4 ^a	41,2	11,0 ^a	47,3	10,0 ^a	62,7	3,6 ^a	52,5	5,2 ^a	58,9	6,7 ^a	59,5
6	<i>B. velezensis</i> BZR 936, 5,0	7,1 ^b	31,5	8,7 ^a	45,5	9,8 ^a	53,0	10,4 ^a	61,3	3,3 ^a	56,6	5,8 ^a	54,5	6,3 ^a	61,6
7	Биологический эталон Фитоспорин-М, Ж, 2,5	7,4 ^{b c}	28,5	8,8 ^a	44,7	9,5 ^a	54,5	10,1 ^a	62,5	3,3 ^a	57,4	5,1 ^a	59,4	5,7 ^a	65,7

Сравнительный анализ данных 2023-2024 гг. показал, что в условиях повышенного инфекционного фона экспериментальные образцы сохранили стабильную эффективность. В частности, образцы *B. velezensis* BZR 277 и *B. velezensis* BZR 936 обеспечили защиту листового аппарата на уровне более 60,0%, а эффективность защиты плодов составила более 59,0%. Особый интерес представляет экспериментальный образец *A. marplatensis* BZR 926, который показал положительную динамику защитного действия на плодах, достигнув эффективности эталонного препарата. В то же время вариант *B. cereus* BZR 736 продемонстрировал свою нестабильность, а *B. naejangsanensis* BZR 1159 практически не проявлял активности против парши, подтвердив, что действие штамма сводится исключительно к инсектицидной активности.

Биологическая эффективность экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий в отношении яблонной плодожорки *Cydia pomonella* L. В ходе полевых исследований в 2023-2024 гг. была проведена оценка эффективности пяти экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий в контроле численности яблонной плодожорки (таблица 16). Среди исследуемых вариантов наибольшую практическую ценность продемонстрировал образец на основе штамма *B. naejangsanensis* BZR 1159, характеризующийся стабильно высокой биологической эффективностью в течение двух лет исследований. В 2023 г. его эффективность достигала 45,7 % на падалице и 74,6 % при оценке сохранности съемного урожая. В 2024 г. отмечено достоверное увеличение этих показателей до 65,7 % и 79,3 % соответственно. Примечательно, что в 2024 г. эффективность экспериментального образца на основе *B. naejangsanensis* BZR 1159 статистически не отличалась от биологического эталона Инсетим, Ж – 80,2 %.

Экспериментальный образец на основе штамма *B. velezensis* BZR 936 показал высокую и стабильную эффективность в сохранении урожая: 78,3 % в 2023 г. и 73,6 % в 2024 г. Однако следует отметить достоверное снижение его эффективности на падалице с 54,5 % до 50,7 % во второй год исследований.

Таблица 16 – Биологическая эффективность штаммов бактерий в отношении яблонной плодожорки, сорт Женева Эрли, хутор Покровский, Краснодарский край, 2023-2024 гг.

№	Вариант / норма применения, л/га	БЭ, %			
		2023 г.		2024 г.	
		падалица	съемный урожай	падалица	съемный урожай
1	<i>B. cereus</i> BZR 736, 5,0	11,4 ^b	23,6 ^c	26,7 ^{bc}	35,7 ^b
2	<i>B. naejangsanensis</i> BZR 1159, 5,0	45,7 ^a	74,6 ^a	65,7 ^a	79,3 ^a
3	<i>A. marplatensis</i> BZR 926, 5,0	65 ,0 ^a	50,1 ^b	66,8 ^a	42,7 ^b
4	<i>B. velezensis</i> BZR 277, 5,0	50,5 ^a	54,6 ^b	78,3 ^a	56,0 ^a
5	<i>B. velezensis</i> BZR 936, 5,0	54,5 ^a	78,3 ^a	50,7 ^{ab}	73,6 ^a
6	Биологический эталон Инсетим, Ж, 5,0	56,3 ^a	79,9 ^a	33,5 ^b	80,2 ^a
7	Контроль (обработка водой)	-/ ^b	-/ ^d	-/ ^d	-/ ^d

Примечание: между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистически достоверных различий по критерию Дункана при 95 %-м уровне вероятности, p=0,05

В 2024 г. зафиксировано значительное увеличение активности штамма *B. velezensis* BZR 277 на ранней фазе развития вредителя – с 50,5 % до 78,3 % по сравнению с 2023 г. Однако по показателю сохранения урожая прирост эффективности был менее выраженным и статистически незначимым: с 54,6 % до 56,0 %. Экспериментальный образец на основе *A. marplatensis* BZR 926 продемонстрировал выраженную стабильность действия на падалице – 65,0 % в 2023 г. и 66,8 % в 2024 г., однако при этом отмечено достоверное снижение его эффективности в защите съемного урожая с 50,1 % до 42,7 % во второй год исследований.

Минимальную защиту от яблонной плодожорки показал экспериментальный образец на основе штамма *B. cereus* BZR 736. Несмотря на увеличение активности во второй год исследований с 11,4-23,6 % до 26,7-35,7 %, его эффективность оставалась статистически ниже по сравнению с другими вариантами.

Обнаруженные различия в динамике эффективности экспериментальных образцов по годам и fazам развития вредителя позволяют предположить, что их действие может быть взаимодополняющим. Так, образец *A. marplatensis* BZR 926

уже в первый год применения продемонстрировал высокую активность на падалице, тогда как *B. naejangsanensis* BZR 1159 проявил большую эффективность на поздних этапах, обеспечив защиту от яблонной плодожорки на уровне выше 79,0 % во второй год исследований.

Результаты оценки биологической эффективности исследуемых экспериментальных образцов в 2023 и 2024 гг. против парши и яблонной плодожорки демонстрируют как общую схожесть их действия в разные вегетационные сезоны, так и ряд особенностей. Экспериментальный образец на основе штамма *B. velezensis* BZR 277 во второй год исследований показал существенное повышение эффективности против плодожорки на падалице. В то же время вариант на основе *B. velezensis* BZR 936 характеризовался незначительным снижением эффективности на падалице. Особый интерес представляет образец *A. marplatensis* BZR 926, который в течение двух лет стабильно обеспечивал защиту падалицы на уровне 65,0 %, однако в 2024 г. его эффективность в отношении сохранности съёмного урожая снизилась с 50,0 % до 42,7 %.

Сохраненный урожай при применении экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий. Анализ урожайности за двухлетний период исследований выявил существенные различия между изучаемыми вариантами (таблица 17).

В контрольном варианте урожайность составила 2,49 т/га в 2023 г. и снизилась до 2,16 т/га в 2024 г., что связано с увеличением инфекционного фона и деятельности вредителей. Максимальный сохраненный урожай в оба года обеспечил экспериментальный образец на основе штамма *B. velezensis* BZR 936: 33,1 % (0,82 т/га) в 2023 г. и 40,1 % (0,87 т/га) в 2024 г. Сопоставимые результаты отмечены в вариантах *B. velezensis* BZR 277 на уровне 31,5 % (0,78 т/га) в 2023; 34,3 % (0,74 т/га) в 2024 и *B. naejangsanensis* BZR 1159: 29,6 % (0,74 т/га) в 2023; 36,6 % (0,79 т/га) в 2024. У образца на основе штамма *A. marplatensis* BZR 926 зафиксирована положительная динамика в эффективности с 27,1 % (0,67 т/га) в 2023 г. до 39,0 % (0,84 т/га) в 2024 г.. Минимальное влияние на урожайность оказал образец *B. cereus* BZR 736 – 15,0-15,3 % сохраненного урожая.

Таблица 17 – Урожайность яблони при использовании экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий, сорт Женева Эрли, хутор Покровский, Краснодарский край, 2023-2024 гг.

Вариант	2023 г.			2024 г.		
	Урожайность, т/га	сохраненный урожай, т/га	%	Урожайность, т/га	сохраненный урожай, т/га	%
Контроль	2,49 ^b	-	-	2,16 ^b	-	-
<i>B. cereus</i> BZR 736	2,86 ^{a b}	0,37	15,0	2,49 ^{a b}	0,33	15,3
<i>B. naejangsanensis</i> BZR 1159	3,23 ^a	0,74	29,6	2,95 ^a	0,79	36,6
<i>A. marplatensis</i> BZR 926	3,16 ^a	0,67	27,1	3,00 ^a	0,84	39,0
<i>B. velezensis</i> BZR 277	3,27 ^a	0,78	31,5	2,90 ^a	0,74	34,3
<i>B. velezensis</i> BZR 936	3,31 ^a	0,82	33,1	3,03 ^a	0,87	40,1
Биологический эталон Инсетим, Ж	3,09 ^a	0,60	24,1	2,77 ^{a b}	0,61	28,3
Биологический эталон Фитоспорин-М, Ж	3,14 ^a	0,65	26,1	2,90 ^a	0,74	34,2

Примечание: между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистических различий по критерию Дункана при 95%-м уровне вероятности

Проведённые исследования выявили существенное преимущество исследуемых экспериментальных образцов перед коммерческими препаратами. В 2023 г. варианты *B. velezensis* BZR 936 и *B. velezensis* BZR 277 продемонстрировали достоверно более высокую эффективность в сохранении урожая на уровне 40,1 % и 38,7 % соответственно, по сравнению с инсектицидом Инсетим, Ж – 24,1% и фунгицидом Фитоспорин-М, Ж – 26,1%). В 2024 г. показатель сохранённого урожая для образца *B. velezensis* BZR 936 достиг 40,1 %, что на 11,8 % превышало результат Инсетима, Ж – 28,3 % и на 5,9 % Фитоспорина-М. Ж – 34,2 %.

В результате двухлетних исследований эффективности экспериментальных образцов на основе штаммов бактерий в защите яблоневых насаждений от парши и яблонной плодожорки установлено максимальное влияние на урожайность: *B. velezensis* BZR 936 и *B. velezensis* BZR 277. Данные штаммы сочетали высокую фунгицидную активность против парши в диапазоне от 61,3 до 76,8 % с выраженным инсектицидным действием против яблонной плодожорки – 54,5-78,3%. Установлена закономерность между защитными свойствами экспериментальных образцов и их влиянием на продуктивность насаждений,

причем эта зависимость особенно проявилась в условиях повышенного инфекционного фона в 2024 г. Среди всех изучаемых экспериментальных образцов максимальную эффективность продемонстрировал *B. velezensis* BZR 936, который в обоих годах исследований стабильно превосходил биологические эталоны как по эффективности защиты, так и по влиянию на урожайность, обеспечивая на 33,1-40,1 % сохранение урожая.

Полученные данные свидетельствуют о значительном полифункциональном потенциале исследуемых экспериментальных образцов на основе штаммов для разработки на их основе новых биопрепаратов против парши и яблонной плодожорки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведен скрининг штаммов бактерий из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР по критерию ферментативной активности (хитиназа, липаза, протеаза), в результате которого отобрано 17 штаммов бактерий с потенциальным фунгицидным и инсектицидным действием в отношении парши *V. inaequalis* и яблонной плодожорки *C. pomonella* L.

2. Определена принадлежность штаммов бактерий к родам *Leucobacter*, *Bacillus*, *Alcaligenaceae* и *Pseudomonadota*, а также к семейству *Brucellaceae* на основании данных полногеномного секвенирования. Выявлены гены, кодирующие белки с инсектицидным (GroEL, Spp1Aa1 и Spp1Aa2, Vpb1Ab1, Vpb4Ca1, HldE фенгицина, микосубтилина и бацилломицина) и фунгицидным (итурины, фенгицины, сурфактины, YxjF, YxjC, ScoA и ScoB) действием.

3. Установлена комплексная биоцидная активность штаммов бактерий *in vitro* в отношении экономически значимых возбудителей болезней и вредителя яблони. Определены штаммы с высокой эффективностью в отношении фитопатогенных грибов родов *Fusarium*, *Microdochium*, *Rhizoctonia*, *Venturia*, *Trichothecium*, *Cladosporium*, *Alternaria*: *B. velezensis* BZR 277 (43,6-67,0 %), *B. velezensis* BZR 920 (53,8-61,9 %), *B. velezensis* BZR 936 (42,1-60,4 %). При этом ингибирующего действия в отношении комплекса фитопатогенных бактерий плодовых ценозов родов *Erwinia*, *Xantomonas*, *Pseudomonas* не отмечено. Выявлены штаммы бактерий, эффективные в отношении *G. mellonella* L., *T. molitor* L., *C. pomonella* L: *B. naejangsanensis* BZR 1159 (67,1-95,2 %), *B. velezensis* BZR 936 (60,0-94,5%), *B. velezensis* BZR 277 (62,4-82,2%). Отобраны экспериментальные образцы, обладающие высокой энтомопатогенной активностью: *B. velezensis* BZR 936, *B. velezensis* BZR 277, *B. naejangsanensis* BZR 1159, *A. marplatensis* BZR 926 (84,8-92,9 %), при этом эффективность в вариантах с коммерческими инсектицидами составила от 78,8 до 94,9 % (Инсетим, Ж, Лепидоцид, П, Биостоп, Ж, Битоксибациллин, П).

4. Доказано, что исследуемые штаммы бактерий не оказывают негативного влияния на энергию прорастания и всхожесть семян пшеницы озимой, а также не

вызывают токсического действия на растения. Установлена совместимость штаммов бактерий с действующими веществами фунгицидов из химических классов стробилуринов, фталимида, триазолов. Кроме того, с авермектинами, неоникотиноидами, ингибиторами синтеза хитина была отмечена полная совместимость, а с фосфороганическими соединениями, в частности с препаратами Сумитион, КЭ и Фосбан, КЭ, зафиксировано незначительное ингибирование роста.

5. Подтверждено, что в условиях полевого мелкоделяночного опыта экспериментальные образцы на основе штаммов *B. velezensis* BZR 936, *B. velezensis* BZR 277 способны обеспечить устойчивое подавление парши на уровне 54,5-76,8 % (при эффективности эталона 59,4-75,0 %), штаммы *B. naejangsanensis* BZR 1159, *B. velezensis* BZR 277, *B. velezensis* BZR 936 – эффективную защиту от яблонной плодожорки в диапазоне 50,5-78,3 %, (при эффективности эталона 56,3-80,2 %). Максимальный показатель сохраненного урожая установлен в вариантах с применением экспериментальных образцов на основе штаммов *B. naejangsanensis* BZR 1159, *A. marplatensis* BZR 926, *B. velezensis* BZR 277, *B. velezensis* BZR 936 и варьировал от 27,1 % до 40,1 %, при эффективности эталонов на уровне 24,1-34,2 %. При комплексной оценке биоцидного действия в сравнении с контролем и эталонами, а также данных сохраненного урожая, можно выделить экспериментальные образцы на основе штаммов *B. velezensis* BZR 936, *B. velezensis* BZR 277, *B. naejangsanensis* BZR 1159 для комплексной защиты яблонных насаждений.

Перспективным направлением дальнейших исследований является разработка биопрепарата на основе отобранных штаммов с последующей оптимизацией условий культивирования, созданием препаративных форм и научным обоснованием регламентов применения в системе защиты яблони.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Рекомендовать научно-исследовательским учреждениям и коммерческим организациям при создании новых полифункциональных микробиологических препаратов с инсектицидной и фунгицидной активностью для защиты яблони от *V. inaequalis* и *C. pomonella* L. использовать штаммы бактерий *B. naejangsanensis* BZR 1159, *B. velezensis* BZR 277, *B. velezensis* BZR 936 из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР.

СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ

БРК – Биоресурсная коллекция

БЭ – биологическая эффективность

ИПС – искусственная питательная среда

ИСХ – ингибиторы синтеза хитина

ИЦиГ СО РАН – Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

КОЕ – колониеобразующая единица

МВЩК – Мембранные везикулы с щеточным краем

МПА – мясо-пептонный агар

ФГБНУ ФНЦБЗР – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр биологической защиты растений»

ЧП – чашки Петри

FAO – Food and Agriculture Organization

NCBI – National Center for Biotechnology Information

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдурахманов, Г. М. Биологические особенности яблонного цветоеда в Чечне и Ингушетии / Г. М. Абдурахманов, М. М. Аушева, Х. Ю. Дударова // Защита и карантин растений. – 2007. – № 4. – С. 46–47.
2. Агасьева, И. С. Биологические агенты контроля численности *Halyomorpha halys* Stål / И. С. Агасьева, М. В. Нефедова // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2021. – Т. 22, № 4. – С. 561-569. – DOI 10.30766/2072-9081.2021.22.4.561-569.
3. Азизбекян, Р. Р. Использование спорообразующих бактерий в качестве биологических средств защиты растений / Р. Р. Азизбекян // Биотехнология. – 2013. – Т. 29, № 1. – С. 69-77.
4. Айриян, Д. В. Выращивание мучного хрущака (*Tenebrio molitor*) в лабораторных условиях / Д. В. Айриян, Д. С. Саркисян // Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса : сборник научных трудов XII Международной научно-практической конференции в рамках XXII Агропромышленного форума юга России и выставки «Интерагромаш», Ростов-на-Дону, 27 февраля – 01 2019 года / Донской государственный технический университет, Аграрный научный центр «Донской». – Ростов-на-Дону: Общество с ограниченной ответственностью "ДГТУ-ПРИНТ", 2019. – С. 645-647. – DOI 10.23947/interagro.2019.8.645-647.
5. Акимова, Е. Е. Биопрепараты для защиты растений: оценка качества и эффективности: учебное пособие: [для бакалавров, магистрантов и аспирантов вузов, студентов средних спец. учеб. заведений по направлениям „Биотехнология средств защиты растений“, „Сельскохозяйственная биотехнология“, „Агрономия“, „Защита растений“] / Е. Е. Акимова и др. – М., 2018. – С. 26-45.
6. Албегов, М. О. Резистентность вредных организмов / М. О. Албегов // Научные труды студентов Горского государственного аграрного университета "Студенческая наука - агропромышленному комплексу", Владикавказ, 16–17 марта

2020 года. Том 57, ч.1. – Владикавказ: Горский государственный аграрный университет, 2020. – С. 56-58.

7. Аллахвердян, В. В. Перспективные штаммы бактерий рода *Bacillus* в защите растений от возбудителей фузариоза и контаминации микотоксинами / В. В. Аллахвердян, Т. М. Сидорова, А. М. Асатурова // Юг России: экология, развитие. – 2022. – Т. 17, № 2(63). – С. 91-101. – DOI 10.18470/1992-1098-2022-2-91-101

8. Антамошкина, Е. Н. Оценка продовольственной безопасности Южного федерального округа / Е. Н. Антамошкина // Региональная экономика: теория и практика. – 2013. – № 42. – С. 30-38.

9. Антоненко, В. В. Альтернариоз семечковых культур / В. В. Антоненко, А. В. Зубков, С. Н. Кручиня // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2020. – № 3. – С. 70-80. – DOI 10.26897/0021-342X-2020-3-70-80.

10. Ануфриева, В. С. Биологическая эффективность инсектицидов на основе тиаметоксама и хлорантронилипрова на яблоне / В. С. Ануфриева, Т. В. Долженко, О. В. Долженко // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2024. – № 1(75). – С. 67-76. – DOI 10.24412/2078-1318-2024-1-67-76

11. Артамонова, М. Н. Роль бактериальных симбионтов в растительно-микробных ассоциациях / М. Н. Артамонова, Н. И. Потатуркина-Нестерова, О. Е. Беззубенкова // Вестник Башкирского университета. – 2014. – Т. 19, № 1. – С. 81-84.

12. Аспекты снижения пестицидной нагрузки на экосистемы / М. А. Догадина, А. В. Таракин, Г. А. Игнатова [и др.] // Вестник аграрной науки. – 2022. – № 5(98). – С. 107-113. – DOI 10.17238/ISSN2587-666X.2022.5.107

13. Атажанова, Е. В. Анализ состояния и мировые тенденции выращивания и селекции яблони / Е. В. Атажанова, Л. А. Лукичева // Биология растений и садоводство: теория, инновации. – 2021. – № 3(160). – С. 76-85. – DOI 10.36305/2712-7788-2021-3-160-76-85.

14. Баврина, А. П. Современные правила применения параметрических и непараметрических критериев в статистическом анализе медико-биологических данных / А. П. Баврина // Медицинский альманах. – 2021. – № 1(66). – С. 64-73.
15. Бактериофаги рода *Bacillus* и перспективы их применения / Н. А. Феоктистова, Д. А. Васильев, С. Н. Золотухин, А. В. Алешкин // Инфекция и иммунитет. – 2014. – Т. 4, № 8. – С. 116-117.
16. Биологический контроль численности яблонной плодожорки на основе энтомопатогенных микроорганизмов (обзор) / Е. Ю. Бондарчук, А. М. Асатурова, Н. С. Томашевич [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2020. – Т. 34, № 11. – С. 53-66. – DOI 10.24411/0235-2451-2020-11108.
17. Биологический контроль численности яблонной плодожорки на основе энтомопатогенных микроорганизмов (обзор) / Е. Ю. Бондарчук, А. М. Асатурова, Н. С. Томашевич [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2020. – Т. 34, № 11. – С. 53-66.
18. Биологический контроль численности яблонной плодожорки на основе энтомопатогенных вирусов (обзор) / А. А. Цыгичко, А. М. Асатурова, Е. Ю. Бондарчук [и др.] // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2018. – № 144. – С. 19–31.
19. Биопрепараты в сельском хозяйстве. Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве / [Тихонович И.А., Кожемяков А.П., Чеботарь В.К. и др.]. – М.: Россельхозакадемия, 2005. – 154 с.
20. Биопрепараты на основе бактерий рода *Bacillus* для управления здоровьем растений / М. В. Штерншис, А. А. Беляев, В. П. Цветкова [и др.]. – Новосибирск : Издательство Сибирского отделения РАН, 2016. – 233 с. – ISBN 978-5-7692-1496-7.
21. Бондарева, Л. М. Вредоносность яблоневого плодового пилильщика (*Hoplocampa testudinea klug.*) в современных садах / Л. М. Бондарева // Современное садоводство. – 2010. – № 1(1). – С. 66-68.

22. Бондарчук, Е. Ю. Изучение влияния новых штаммов бактерий *Bacillus thuringiensis* в отношении представителей отряда Lepidoptera / Е. Ю. Бондарчук, А. М. Асатурова // Защита растений от вредных организмов : материалы IX международной научно-практической конференции (Краснодар, 17–21 июня 2019 года). – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2019. – С. 35–36.
23. Бондарчук, Е. Ю. Методические подходы к оценке энтомопатогенной активности микроорганизмов в отношении насекомых-вредителей *in vitro* (обзор) / Е. Ю. Бондарчук, А. А. Цыгичко, А. М. Асатурова // Таврический вестник аграрной науки. – 2021. – № 3(27). – С. 20-34. – DOI 10.33952/2542-0720-2021-3-27-20-34
24. Бондарчук, Е. Ю. Методические подходы к оценке энтомопатогенной активности микроорганизмов в отношении насекомых-вредителей *in vitro* (обзор) / Е. Ю. Бондарчук, А. А. Цыгичко, А. М. Асатурова // Таврический вестник аграрной науки. – 2021. – № 3(27). – С. 20–34.
25. Бондарчук, Е. Ю. Отбор новых штаммов бактерий *Bacillus thuringiensis* эффективных против представителей отряда Lepidoptera / Е. Ю. Бондарчук, А. М. Асатурова // Фитосанитарные технологии в обеспечении независимости и конкурентоспособности АПК России : сборник тезисов докладов IV Всероссийского съезда по защите растений с международным участием (Санкт-Петербург, 09–11 сентября 2019 года). – Санкт-Петербург: Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений РАСХН, 2019. – С. 106.
26. Быстрая, Г. В. Защита яблони должна стать более экологичной / Г. В. Быстрая // Защита и карантин растений. – 2014. – № 5. – С. 20-22.
27. Быстрицкая, А. Ю. Современные специфические черты развития рынка химических средств защиты растений в Российской Федерации / А. Ю. Быстрицкая, А. А. Афанасьев, М. В. Макин // Инновации в научно-техническом обеспечении агропромышленного комплекса России : Материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции, Курск, 05–06 февраля 2020 года. Том Ч. 4. – Курск: Курская государственная сельскохозяйственная академия им. профессора И.И. Иванова, 2020. – С. 307-310.

28. Влияние лабораторных образцов биопрепаратов на основе перспективных штаммов антагонистов фитопатогенов на проростки сои / Л. В. Маслиенко, Д. А. Курилова, Е. Ю. Шипиевская, А. М. Асатурова // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2010. – № 1(142-143). – С. 104-108.
29. Войно, Л. И. Общая микробиология (Прокариоты и эукариоты - продуценты биологически активных веществ) / Л. И. Войно, В. П. Саловарова. – Москва: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Московский государственный университет пищевых производств", 1984. – С. 12-78.
30. Воронина, Л. П. Подход к выбору методов фитотестирования для исследования почв / Л. П. Воронина, К. Э. Поногайбо // Агрохимия. – 2021. – № 9. – С. 75-79. – DOI 10.31857/S000218812109012X.
31. Гагкаева, Т. Ю. Альтернариоз -новое опасное заболевание яблони на юге России / Т. Ю. Гагкаева, М. М. Левитин // Агро XXI. – 1999. – № 10. – С. 12-13.
32. Ганнибал, Ф. Б. Виды рода *Alternaria* на яблоне / Ф. Б. Ганнибал, И. В. Бильдер, Т. Ули-Миттила // Микология и фитопатология. – 2008. – Т. 42, № 1. – С. 20-27.
33. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. Часть I. – М.: МСХ РФ, 2025. – С. 9–160.
34. Гырнец (Бондарчук), Е. Ю. Потенциал биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР в отношении насекомых-вредителей / Е. Ю. Гырнец (Бондарчук), А. А. Цыгичко // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем : материалы Международной научно-практической конференции (Краснодар, 13–15 сентября 2022 года). Том Выпуск 11. – Краснодар: Издательство "ЭДВИ", 2022. – С. 162–170.
35. Гырнец, Е. Ю. Изучение полифункциональных свойств перспективных бактериальных агентов в отношении фитофагов и возбудителей болезней

плодового ценоза / Е. Ю. Гырнец, А. М. Асатурова // Достижения науки и техники АПК. – 2023. – Т. 37, № 5 – С. 39–45.

36. Гырнец, Е. Ю. Исследование штаммов бактерий рода *Bacillus*, обладающих инсектицидными и фунгицидными свойствами, перспективных для разработки на его основе биопрепарата против вредителей и болезней яблони / Е. Ю. Гырнец, А. Г. Евтушенко, А. М. Асатурова // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем : материалы Международной научно-практической конференции (Краснодар, 17–19 сентября 2024 года). – Краснодар: ООО "ЭДВИ", 2024. – С. 127–130.

37. Гырнец, Е. Ю. Скрининг штаммов бактерий в отношении лабораторной популяции большой восковой моли *Galleria mellonella* L. и природной популяции яблонной плодожорки *Cydia pomonella* L / Е. Ю. Гырнец, А. М. Асатурова // X Международная конференция молодых ученых: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов и молекулярных биологов : сборник тезисов. – Новосибирск, 2023. – С. 118–119.

38. Гырнец, Е. Ю. Скрининг штаммов бактерий по критерию энтомопатогенной активности в отношении *Galleria mellonella* L. и *Tenebrio molitor* L. / Е. Ю. Гырнец, А. М. Асатурова // Достижения науки и техники АПК. – 2022. – Т. 36, №3. – С. 53–60.

39. Гырнец, Е. Ю. Эффективность перспективных штаммов бактерий рода *Bacillus* в отношении большой восковой моли *Galleria mellonella* L. и их совместимость с пестицидами, рекомендуемыми в плодовых ценозах / Е. Ю. Гырнец, А. М. Асатурова // Достижения науки и техники АПК. – 2024. – Т. 38, № 9. – С. 30–35.

40. Далинова, А. А. Грибы рода *Alternaria* как продуценты биологически активных соединений и биогербицидов (обзор) / А. А. Далинова, Д. Р. Салимова, А. О. Берестецкий // Прикладная биохимия и микробиология. – 2020. – Т. 56, № 3. – С. 223-241. – DOI 10.31857/S0555109920030022.

41. Додонова, А. Ш. Энтомопатогенные свойства *Bacillus thuringiensis* / А. Ш. Додонова, И. М. Кабдеш // Современный научный вестник. – 2014. – Т. 3, № 1. – С. 117-123.
42. Долженко, В. И. Становление и развитие НИР в системе биологической регламентации и государственной регистрации новых средств защиты растений / В. И. Долженко, К. В. Новожилов // Вестник защиты растений. – 2010. – № 3. – С. 16-29.
43. Долженко, Т. В. Бактериальные инсектоакарициды для защиты растений: изучение и перспективы применения / Т. В. Долженко // Биология растений и садоводство: теория, инновации. – 2021. – № 3(160). – С. 50-62. – DOI 10.36305/2712-7788-2021-3-160-50-62.
44. Долженко, Т. В. Инсектициды на основе аналогов ювенильных гормонов насекомых / Т. В. Долженко, В. И. Долженко // Российская сельскохозяйственная наука. – 2017. – № 3. – С. 25-28.
45. Долженко, Т. В. Оценка действия инсектицидов на полезных членистоногих сада / Т. В. Долженко, М. Е. Белоусова, М. В. Шохина // Садоводство и виноградарство. – 2016. – № 6. – С. 29-35. – DOI 10.18454/VSTISP.2016.6.3914.
46. Долженко, Т. В. Оценка действия инсектицидов на полезных членистоногих / Т. В. Долженко, Е. Г. Козлова, О. В. Долженко // Российская сельскохозяйственная наука. – 2016. – № 2-3. – С. 21-23.
47. Дорохов, А. С. Перспективы развития методов и технических средств защиты сельскохозяйственных растений / А. С. Дорохов, И. А. Старостин, А. В. Ещин // Агроинженерия. – 2021. – № 1(101). – С. 26-35. – DOI 10.26897/2687-1149-2021-1-26-35.
48. Егоров, Н.С. Выделение микробов-антагонистов и биологические методы учета их антибиотической активности / Н.С. Егоров – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1957. – С. 77-78.
49. Ермолова, В. П. Активность энтомопатогенных штаммов-продуцентов *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* при разных методах хранения / В. П. Ермолова,

С. Д. Гришечкина, А. А. Нижников // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53, № 1. – С. 201-208. – DOI 10.15389/agrobiology.2018.1.201rus.

50. Закономерности формирования фитосанитарно устойчивых энтомоценозов садовых культур в регионе юга России / М. Е. Подгорная, С. В. Прах, Е. Г. Юрченко [и др.] // Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. – 2022. – Т. 34. – С. 151-157. – DOI 10.30679/2587-9847-2022-34-151-157.

51. Зейналов, А. С. Изменение видового состава, биоэкологии и вредоносности основных фитофагов яблони в центральном районе Нечерноземной зоны России под влиянием климатических факторов / А. С. Зейналов, Д. С. Орел // Вестник Казанского государственного аграрного университета. – 2021. – Т. 16, № 1. – С. 15–21.

52. Зейналов, А. С. Наиболее опасные вредные организмы садовых культур и основные направления концепции современных методов их контроля / А. С. Зейналов // Плодоводство и ягодоводство России. – 2019. – Т. 56. – С. 124-132. – DOI 10.31676/2073-4948-2019-56-124-132.

53. Иванова, О. В. Развитие парши яблони в Крыму / О. В. Иванова, Е. Б. Балыкина // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. – 2019. – Т. 148. – С. 96-108. – DOI 10.25684/NBG.scbook.148.2019.10.

54. Изменение инсектицидной активности энтомопатогенных штаммов *Bacillus thuringiensis* при длительном хранении / И. С. Шульга, Д. А. Желябовская, Л. А. Лаврушина, И. Е. Горбачева // Вестник КрасГАУ. – 2019. – № 9(150). – С. 66-71

55. Изменение микрофлоры толстого кишечника у мышей при длительном пероральном введении δ-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* / Е. Г. Климентова, А. А. Купцова, Л. К. Каменек, В. В. Гулий // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – Т. 46, № 4. – С. 115-119.

56. Инструменты биологизации систем защиты садов и виноградников от вредителей и болезней / Е. Г. Юрченко, Г. В. Якуба, С. В. Прах [и др.] // Научные

труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. – 2023. – Т. 36. – С. 191-200. – DOI 10.30679/2587-9847-2023-36-191-200

57. Каширская, Н. Я. Современные системы защиты насаждений яблони от парши / Н. Я. Каширская, А. М. Кочкина // Достижения науки и техники АПК. – 2019. – Т. 33, № 2. – С. 50-51. – DOI 10.24411/0235-2451-2019-10212.

58. Киль, В. И. О механизмах развития резистентности к инсектицидам в популяциях яблонной плодожорки / В. И. Киль // Наука Кубани. – 2011. – № 4. – С. 15-19.

59. Кириллова, Н. И. Показатели тест-растения при обработке модифицированными биофунгицидами / Н. И. Кириллова, И. А. Дегтярева // Аграрная наука. – 2023. – № 12. – С. 114-117. – DOI 10.32634/0869-8155-2023-377-12-114-117.

60. Козина, Т. Д. Фенологическая и агробиологическая характеристика новых гибридных форм винограда селекции СКФНЦСВВ / Т. Д. Козина, Е. Т. Ильницкая, Е. Г. Юрченко // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2025. – № 94(4). – С. 23-31. – DOI 10.30679/2219-5335-2025-4-94-23-31.

61. Коломбет, Л. В. Экспресс-оценка антигрибного, рострегулирующего и фитотоксического действия проправителей семян / Л. В. Коломбет, М. С. Соколов // Агрохимия. – 2006. – № 8. – С. 52-56.

62. Компанцева, Т. В. Особенности разведения чернотелок *Tenebrio molitor* и *Zophobas morio* (Coleoptera, Tenebrionidae) в качестве биокорма / Т. В. Компанцева // Беспозвоночные животные в коллекциях зоопарков. – 2001. – С. 90.

63. Константинов, Г. М. Яблоневая плодожорка на Юге Украины / Г. М. Константинова // Пропозиция. – 2016. – № 11. – С. 94-98.

64. Кочкина, А. М. Биологическая эффективность систем защиты насаждений яблони против парши и яблонной плодожорки / А. М. Кочкина, Н. Я. Каширская // Достижения науки и техники АПК. – 2021. – Т. 35, № 7. – С. 45-49. – DOI 10.53859/02352451_2021_35_7_45.

65. Крюкова, А. В. Вредоносность комплекса фитофагов на яблоне в садах Северо-Западного региона России / А. В. Крюкова, З. В. Николаева // Известия Великолукской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. – № 5. – С. 9-13.
66. Логвинова, Т. С. Производство и применение биологических средств защиты в России и в мире / Т. С. Логвинова, В. П. Булгакова // Инновации природообустройства и защиты окружающей среды : Материалы I Национальной научно-практической конференции с международным участием, Саратов, 23–24 января 2019 года. – Саратов: Общество с ограниченной ответственностью Издательство «КУБиК», 2019. – С. 546-551.
67. Луковникова, Н. С. Современное состояние производства и реализации яблок в России / Н. С. Луковникова, Е. А. Лukanova // Инновационная экономика: перспективы развития и совершенствования. – 2021. – № 4(54). – С. 84-89.
68. Маслиенко, Л. В. Обоснование и разработка микробиологического метода борьбы с болезнями подсолнечника : специальность 06.01.07 "Защита растений" : диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Маслиенко Любовь Васильевна. – Краснодар, 2005. – 377 с.
69. Мережко, О. Е. Оценка гибридных сеянцев яблони по основным хозяйственно-биологическим признакам в Оренбургской области / О. Е. Мережко, Е. В. Аминова // Аграрный вестник Урала. – 2023. – Т. 23, № 10. – С. 58-68. – DOI 10.32417/1997-4868-2023-23-10-58-68.
70. Методические рекомендации по разведению кормовых насекомых / М. В. Березин [и др. ; под ред. В. Н. Горваль] ; Департамент культуры г. Москвы, Московский гос. зоологический парк, Рабочая группа по наземным и пресноводным беспозвоночным ЕАРАЗА, Инсектарий Московского зоопарка. – Москва : Московский зоопарк, 2008. – С. 35-37.
71. Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, феромонов, моллюскоцидов и родентицидов в растениеводстве / В. И. Долженко, Г. И. Сухорученко, Л. А. Буркова [и др.]. – ФГБНУ «Росинформагротех», 2022. – 508 с.

72. Методические указания по регистрационным испытаниям пестицидов в части биологической эффективности. Общая часть / утв. Научно-техническим советом Минсельхоза России, протокол от 08.05.2024 № 12. – М., 2024, – С. 4-12.
73. Методы оценки экологической безопасности пестицидов при использовании их в интегрированной защите растений / В. Н. Буров, С. Л. Тютерев, Г. И. Сухорученко, Т. М. Петрова. – Санкт-Петербург : Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений РАСХН, 1995. – 14 с.
74. Ми, Ф. Т. Биологическая активность ассоциативных бактерий, выделенных из ризопланы овощных растений Вьетнама *Iromoea aquatica* L. и *Brassica integrifolia* L. / Ф. Т. Ми, В. Т. Емцев, Л. А. Поздняков, О. В. Селицкая // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2014. – № 5. – С. 24–35.
75. Минаков, И. А. Стратегия пространственного развития садоводства России / И. А. Минаков, М. В. Азжеурова // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2019. – № 4(59). – С. 135-140.
76. Мирзаитова, М. К. *Monilia fructigena* – мевали боғларда тарқалган замбуруғли касаллик / М. К. Мирзаитова, З. Ф. Қ. Мирзаева, А. Б. Ў. Алижонов // Science and Education. – 2021. – Т. 2, № 6. – С. 132–137.
77. Мирзаитова, М. К. Монилиоз на косточковых плодовых культурах / М. К. Мирзаитова, Н. К. Сидикова, Г. Д. Абдуллаева // Вестник науки и образования. – 2019. – № 24-3(78). – С. 14-17. – DOI 10.24411/2312-8089-2019-12412.
78. Мировой рынок химических средств защиты растений: потенциальные потери урожая, тренды и перспективы производства пестицидов для экономики России / А. И. Тареев, А. В. Березнов, В. В. Смирнов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2024. – Т. 54, № 2. – С. 310-329. – DOI 10.21603/2074-9414-2024-2-2508.
79. Митрофанов В. Б. Гранулез яблонной плодожорки *Laspeyresia pomonella* L.: диссертация на соискание степени кандидата биологических наук / Митрофанов Василий Борисович. – Ленинград, 1976. – 182 с.

80. Назаренко, А. В. Состояние садоводства Российской Федерации: проблемы и перспективы развития / А. В. Назаренко, О. Н. Грудина, Д. С. Кенина // Экономика: вчера, сегодня, завтра. – 2021. – Т. 11, № 11-1. – С. 152-158. – DOI 10.34670/AR.2021.96.53.018.
81. Насонов, А. И. Особенности морфотипного состава популяции *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter на восприимчивых к парше сортах яблони / А. И. Насонов, Г. В. Якуба, Е. В. Лободина // Плодоводство и ягодоводство России. – 2019. – Т. 58. – С. 151-157. – DOI 10.31676/2073-4948-2019-58-151-157.
82. Насонов, А. И. Парша яблони: особенности возбудителя и патогенеза / А. И. Насонов, И. И. Супрун // Микология и фитопатология. – 2015. – Т. 49, № 5. – С. 275-285.
83. Насонов, А. И. Чувствительность краснодарской популяции *Venturia inaequalis* к дифеноконазолу, ингибитору деметилирования стеринов / А. И. Насонов, Г. В. Якуба, И. Л. Астапчук // Микология и фитопатология. – 2021. – Т. 55, № 4. – С. 297-308. – DOI 10.31857/S0026364821040103
84. Негреску, М. А. Характеристика популяций яблонной плодожорки - главного прямого вредителя в современных коммерческих садах грецкого ореха Республики Молдова / М. А. Негреску, М. Г. Вовк, И. Г. Язловецкий // Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых : Сборник материалов VII международной научно-практической конференции, Новосибирск, 15–17 октября 2019 года / Под редакцией Н.Г. Власенко [и др.]. – Новосибирск: Издательский центр Новосибирского государственного аграрного университета "Золотой колос", 2019. – С. 89-93.
85. Нетрусов, А. И. Микробиология: теория и практика : учебник для вузов / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. – Москва : Издательство Юрайт, 2025. – 676 с. – (Высшее образование). – ISBN 978-5-534-20341-7. – Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. – URL: <https://urait.ru/bcode/557981> (дата обращения: 14.11.2025).

86. Нетрусов, А. И. Практикум по микробиологии: учебное пособие / А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук [и др.]; под грифом Минобрнауки РФ. – М.: Издательский центр „Академия“, 2005. – 608 с. – ISBN 5-7695-1809-X.
87. Неуймин, Д. С. Современное состояние рынка плодово-ягодной продукции / Д. С. Неуймин // Наука и Образование. – 2020. – Т. 3, № 3. – С. 100.
88. Новикова, И. И. Биологическое обоснование создания и применения полифункциональных биопрепаратов на основе микробов-антагонистов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: диссертация на соискание доктора биологических наук / И. И. Новикова; Всерос. НИИ защиты растений. – Санкт-Петербург. – 2005. – 455 с.
89. Нуспижан, А. К. Применение энтомопатогенных бактерий *Bacillus thuringiensis* против вредителей сельскохозяйственных культур и древесины / А. К. Нуспижан, А. А. Кукишева // Знание. – 2017. – № 1-2(41). – С. 15-20.
90. Овсянникова, Е. И. К фенологии яблонной плодожорки в Северо-Западном регионе в современных условиях / Е. И. Овсянникова, С. Н. Смирнов, И. Я. Гричанов // Вестник защиты растений. – 2013. – № 4. – С. 72.
91. Осокина, А. С. Содержание и выращивание *Galleria Mellonella* в лабораторных условиях / А. С. Осокина, Л. М. Колбина, С. Н. Непейвода // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2015. – Т. 223, № 3. – С. 138-142.
92. Охлопкова, О. В. Биопестициды на основе бакуловирусов - экологически безопасный контроль численности насекомых / О. В. Охлопкова, А. А. Моисеева, А. В. Колосов // Современные тенденции развития науки и технологий. – 2015. – № 8-4. – С. 37-41.
93. Оценка генетического разнообразия и формирование идентифицированной коллекции для ускорения селекции яблони / Е. В. Ульяновская, Е. А. Чернуцкая, Т. В. Богданович, И. М. Балапанов // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2023. – № 148. – С. 76-80. – DOI 10.25684/0513-1634-2023-148-76-80.

94. Оценка инсектицидной активности новых бактериальных штаммов в отношении самшитовой огневки (*Cydalima perspecialis* Walker) / И. С. Агасьева, А. М. Асатурова, В. В. Павлов [и др.] // Биологическая защита растений - основа стабилизации агроэкосистем, Краснодар, 20–22 сентября 2016 года / ФНБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений", Федеральное агентство научных организаций России, Российская академия наук, Российский фонд фундаментальных исследований, Министерство образования, науки и молодежной политики администрации Краснодарского края. Том Выпуск 9. – Краснодар: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений», 2016. – С. 197-201.
95. Папсуев, А. В. Совместимость некоторых пестицидов, применяемых в посевах кукурузы в баковых смесях / А. В. Папсуев, Ю. А. Миренков // Земледелие и селекция в Беларуси. – 2014. – № 50. – С. 84-91.
96. Патент № 2692655 С2 Российская Федерация, МПК C12N 1/00. Штамм *Bacillus thuringiensis* var. *darmstadiensis* 56 в качестве полифункционального средства для растениеводства : № 2017143084 : заявл. 11.12.2017 : опубл. 25.06.2019 / И. А. Тихонович, В. П. Ермолова, С. Д. Гришечкина [и др.] ; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии".
97. Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты. – Москва : Издательский дом "Круглый стол", 2001. – 736 с. – ISBN 5-88671-047-7.
98. Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты. – Москва : Издательский дом "Круглый стол", 2001. – 736 с. – ISBN 5-88671-047-7.
99. Патыка, Т. И. К вопросу формирования резистентности насекомых к *Bacillus thuringiensis* / Т. И. Патыка, В. П. Ермолова, Н. В. Кандыбин // Вестник защиты растений. – 2008. – № 2. – С. 19-24
100. Перспективы применения бактерий – продуцентов липопептидов для защиты растений (обзор) / И. В. Максимов, Б. П. Сингх, Е. А. Черепанова [и др.] //

Прикладная биохимия и микробиология. – 2020. – Т. 56, № 1. – С. 19-34. – DOI 10.31857/S0555109920010134.

101. Перспективы применения различных видов и штаммов симбиотических бактерий (*Xenorhabdus* sp.) в биологической защите картофеля от болезней в условиях Европейского Севера России / З. П. Котова, Т. А. Данилова, Л. Г. Данилов, М. В. Архипов // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2024. – Т. 25, № 3. – С. 395-406. – DOI 10.30766/2072-9081.2024.25.3.395-406.

102. Петенко, А. И. Повышение эффективности получения биопрепарата на основе оптимизации некоторых условий культивирования *Pseudomonas* sp114 / А. И. Петенко, А. Н. Гнеуш, В. И. Дмитриев // Политеатический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. – № 100. – С. 317-339.

103. Погода в Покровском URL:<https://rp5.ru/>

104. Погода в хуторе Покровском: URL: https://world-weather.ru/pogoda/russia/pokrovskiy_2/

105. Поддубная, Е. Н. Совершенствование приемов и методов борьбы с яблонной плодожоркой на основе мониторинга в лесостепи Барабы : специальность 06.01.07 "Захита растений" : диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Поддубная Елена Николаевна. – Новосибирск, 2007. – 134 с.

106. Поиск природных изолятов *Bacillus thuringiensis* для создания экологически безопасных биологических препаратов / С. Д. Гришечкина, В. П. Ермолова, Т. А. Романова, А. А. Нижников // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53, № 5. – С. 1062-1069. – DOI 10.15389/agrobiology.2018.5.1062rus.

107. Полифункциональное действие штаммов бактерий рода *Bacillus* на садовую землянику / А. А. Беляев, М. В. Штерншиц, Т. В. Шпатова [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2015. – Т. 29, № 4. – С. 31-34.

108. Попов, С. Я. Таблицы выживания популяций яблонного цвето еда *Anthonomus pomorum* (L.) (Coleoptera, Curculionidae) на яблоне и груше на урбанизированных территориях в Московской и Тверской областях / С. Я. Попов,

С. В. Дмитриева // Энтомологическое обозрение. – 2020. – Т. 99, № 3. – С. 520-534. – DOI 10.31857/S0367144520030028.

109. Попова, В. П. Разработка способов и методов управления устойчивостью плодовых агроценозов на ценотическом, организменном и молекулярном уровнях / В. П. Попова // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2025. – № 92(2). – С. 90-105. – DOI 10.30679/2219-5335-2025-2-92-90-105.

110. Применение биопрепарата на основе *Bacillus thuringiensis* для защиты растений от инсоляции и вредителей / О. В. Чижик, В. Л. Филипеня, С. В. Аветисян, А. С. Овсепян // Настоящее и будущее биотехнологии растений : материалы Международной научной конференции, посвященной 65-летию деятельности Отдела биохимии и биотехнологии растений Государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск, 24–26 мая 2023 года. – Минск: ИВЦ Минфина, 2023. – С. 96.

111. Распространенность *Erwinia amylovora* на дикорастущих и культурных яблоневых деревьях рода *Malus* spp. На период 2021 года / Н. П. Малахова, Ю. А. Скиба, Б. К. Тезекбаева [и др.] // Eurasian Journal of Applied Biotechnology. – 2022. – № 2. – С. 62-71. – DOI 10.11134/btp.2.2022.9.

112. Рахимов, М. М. Мониторинг яблонной плодожорки. Применение и Биологическая эффективность препарата перинекс против яблонной плодожорки / М. М. Рахимов // Трансформация мирового научно-технического знания : Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции, Белгород, 30 июля 2018 года / Под общей редакцией Е.П. Ткачевой. – Белгород: Общество с ограниченной ответственностью "Агентство перспективных научных исследований", 2018. – С. 51-54.

113. Ревкова, М. А. Новый фунгицид для защиты яблони от парши и альтернариоза / М. А. Ревкова // V Всероссийский конгресс по защите растений : Сборник тезисов докладов Посвящается 300-летию Российской академии наук, Санкт-Петербург, 16–19 апреля 2024 года. – Санкт-Петербург: Всероссийский институт защиты растений, 2024. – С. 176.

114. Роль энтомофагов в регулировании численности вредителей озимой пшеницы / В. Я. Исмаилов, А. А. Команцев, В. И. Бородин, Д. А. Клименко // Юг России: экология, развитие. – 2025. – Т. 20, № 1(74). – С. 36-43. – DOI 10.18470/1992-1098-2025-1-4.
115. Рославцева, С. А. Резистентность к инсектоакарицидам членистоногих, имеющих эпидемиологическое и санитарно-гигиеническое значение / С. А. Рославцева ; ЗАО "Нектон-Зигер". – Москва : Компания Спутник+, 2006. – С. 90-92.
116. Свидетельство о регистрации базы данных № 2022622633 Российской Федерации. Бактерии с инсектицидной активностью из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» № 2022622599 : заявлено 21.10.2022: опубликовано 26.10.2022 / Е. Ю. Гырнец, А. М. Асатурова, В. М. Дубяга ; правообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр биологической защиты растений».
117. Сираева, З. Ю. Биопрепарат для стимуляции роста и защиты растений от болезней на основе *Bacillus amyloliquefaciens* ВКПМ В-11008 : специальность 03.02.03 "Микробиология" : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Сираева Зульфия Юнысовна. – Казань, 2012. – С. 25-68
118. Слинько, О. В. Развитие отечественного садоводства - одно из приоритетных направлений в АПК / О. В. Слинько, О. В. Кондратьева, А. Д. Федоров // АгроФорум. – 2019. – № 1. – С. 58-61.
119. Современные системы интегрированной защиты сельскохозяйственных растений / Д. О. Морозов, С. А. Коршунов, А. А. Любоведская [и др.]. – Москва : ФГБНУ "Росинформагротех", 2019. – 92 с. – ISBN 978-5-7367-1530-5.
120. Соколова, Э. С. Черный рак плодовых культур / Э. С. Соколова, В. А. Рябинков // Вестник Московского государственного университета леса - Лесной вестник. – 2011. – № 7. – С. 111-115.

121. Соколянская, М. П. Кросс-резистентность устойчивых к битоксибациллину линий комнатной мухи *Musca domestica* / М. П. Соколянская // Вестник защиты растений. – 2018. – № 1(95). – С. 57-60.
122. Способы выделения и биологические свойства фагов *Bacillus coagulans* / К. В. Белова, Н. А. Феоктистова, С. Н. Золотухин [и др.] // Достижения молодых ученых в ветеринарную практику : материалы IV Международной научной конференции, посвященной 55-летию аспирантуры ФГБУ «ВНИИЗЖ», Владимир, 06 декабря 2016 года. – Владимир: Федеральное государственное учреждение "Федеральный центр охраны здоровья животных", 2016. – С. 22-28.
123. Ступенчатый скрининг биоагентов из биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР в отношении *Galleria mellonella* L. и *Cydia pomonella* L / Е. Ю. Гирнец, А. М. Асатурова, А. А. Осипян, А. Г. Евтушенко // V Всероссийский конгресс по защите растений : сборник тезисов докладов, посвящается 300-летию Российской академии наук. – Санкт-Петербург, 2024. – С. 200.
124. УНУ «Технологическая линия для получения микробиологических средств защиты растений нового поколения»: URL: <https://fnccbzr.ru/brk-i-unu/unique-installation-2/>.
125. Усманов, Р. Р. Методика опытного дела (с расчетами в программе Excel) : Практикум / Р. Р. Усманов, Н. Ф. Хохлов. – Москва : Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2020. – 155 с.
126. Устюжанинова, Л. В. Сравнительный анализ существующих биоинсектицидов РФ / Л. В. Устюжанинова, Р. Ю. Завалин // Общество. Наука. Инновации (НПК-2021) : сборник статей XXI Всероссийская научно-практическая конференция, Киров, 12–30 апреля 2021 года. Том 2. – Киров: Вятский государственный университет, 2021. – С. 79-85.
127. Ушачев, И. Г. Долгосрочный прогноз развития сельского хозяйства России на базе экономико-математической модели / И. Г. Ушачев, М. В. Харина, В. С. Чекалин // Проблемы прогнозирования. – 2022. – № 3(192). – С. 64-77. – DOI 10.47711/0868-6351-192-64-77.

128. ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» URL: <https://fnccbzr.ru/brk-i-unu/unique-installation-1/>
129. Феоктистова, Н. А. Выделение, изучение основных биологических свойств бактериофага *Bacillus anthracis* и разработка параметров его практического применения / Н. А. Феоктистова, Д. А. Васильев, С. Н. Золотухин // American Scientific Journal. – 2016. – № 4. мС. 121-128.
130. Франк, Р. И. Биопрепараты в современном земледелии / Р. И. Франк, В. И. Кищенко // Защита и карантин растений. – 2008. – № 4. – С. 30-32.
131. Хамурзаев, С. М. Товарные и вкусовые качества плодов перспективных сортов яблони, устойчивых к доминирующему болезням / С. М. Хамурзаев, Е. А. Долматов, И. И. Лабазанов // Аграрная Россия. – 2023. – № 4. – С. 29-31. – DOI 10.30906/1999-5636-2023-4-29-31.
132. Хорхордин, Е. Г. Выбор тест-объектов как одна из проблем стандартизации средств защиты растений на основе *Bacillus thuringiensis* / Е. Г. Хорхордин, Е. М. Шагов // Сельскохозяйственная биология. – 1987. – № 4. – С. 37.
133. Цыгичко, А. А. Бакуловирусные штаммы с энтомопатогенными свойствами из биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» / А. А. Цыгичко, Е. Ю. Гирнец // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем : Материалы Международной научно-практической конференции (Краснодар, 17–19 сентября 2024 года). – Краснодар: ООО "ЭДВИ", 2024. – С. 385–389.
134. Цыгичко, А. А. Эффективность применения бактериальных и вирусных агентов в отношении *Cydia pomonella* L / А. А. Цыгичко, Е. Ю. Гирнец, А. М. Асатурова // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2025. – № 118. – С. 255–262.
135. Черкезова, С. Р. Биологизация защиты яблони от вредителей на основе фитосанитарного мониторинга / С. Р. Черкезова // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2007. – № 40. – С. 399-404.

136. Черкезова, С. Р. Биологические основы защиты яблони от основных вредителей в Краснодарском крае / С. Р. Черкезова // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2010. – № 4(3). – С. 53-67.
137. Черкезова, С. Р. Разработка технологии защиты яблоневого сада против комплекса чешуекрылых вредителей в условиях погодных стрессов / С. Р. Черкезова // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2019. – № 55(1). – С. 107-119. – DOI 10.30679/2219-5335-2019-1-55-107-119.
138. Черкезова, С. Р. Четырехногие клещи плодовых насаждений и меры борьбы с ними / С. Р. Черкезова, Л. В. Виноградова // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2012. – № 14(2). – С. 81-105.
139. Чувствительность исходной и садовых популяций *Venturia inaequalis* к фунгицидам класса ингибиторов сукцинатдегидрогеназы (SDHI) / А. И. Насонов, Г. В. Якуба, И. Л. Астапчук, Н. А. Марченко // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. – 2024. – Т. 16, № 1. – С. 189-210. – DOI 10.12731/2658-6649-2024-16-1-707.
140. Штаммы бактерий из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР, обладающие ростстимулирующей активностью в отношении растений озимой пшеницы / А. М. Асатурова, Н. С. Томашевич, В. М. Дубяга [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2023. – Т. 37, № 5. – С. 21-27. – DOI 10.53859/02352451_2023_37_5_21
141. Штерншиц, М. В. Биологическая защита растений / М. В. Штерншиц, И. В. Андреева, О. Г. Томилова. – 2-е, Исправленное, Дополненное. – Санкт-Петербург : Издательство Лань, 2018. – 332 с.
142. Штерншиц, М. В. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России / М. В. Штерншиц // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2012. – № 2(18). – С. 92-100.
143. Щербакова, Т. Определение взаимоотношений бактерии *Bacillus thuringiensis* и гифомицета *Lecanicillium lecanii* с целью создания комплексной смеси для защиты растений / Т. Щербакова // Integrare prin cercetare și inovare. – 2024. – С. 211–216.

144. Экологическая защита яблоневых садов в условиях юга России / Е. С. Сугоняев, Л. А. Васильева, О. Д. Ниязов [и др.] // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2014. – № 29(5). – С. 48-70.
145. Эколого-экономическая оценка эффективности современных систем защиты яблони от яблонной плодожорки / Е. А. Егоров, М. Е. Подгорная, Ж. А. Шадрина, Г. А. Кочьян // Садоводство и виноградарство. – 2024. – № 2. – С. 47-52. – DOI 10.31676/0235-2591-2024-2-47-52.
146. Эколого-экономическая эффективность применения биологических средств защиты в цепочке поставок продукции растениеводства / О. И. Сергиенко, Е. И. Кипрушкина, А. В. Миниахметова [и др.] // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Экономика и экологический менеджмент. – 2022. – № 2. – С. 173-185. – DOI 10.17586/2310-1172-2022-16-2-173-185
147. Якуба, Г. В. Видовая структура комплекса микромицетов, возбудителей гнили сердцевины плодов яблони Краснодарского края / Г. В. Якуба, И. Л. Астапчук, А. И. Насонов // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2019. – № 60(6). – С. 148-162. – DOI 10.30679/2219-5335-2019-6-60-148-162.
148. Якуба, Г. В. Перспективные микробиологические препараты для защиты яблони от парши / Г. В. Якуба, Л. В. Маслиенко, Д. Н. Гусин // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2013. – № 22(4). – С. 81-88.
149. Якуба, Г. В. Разработка механизмов управления микопатоценозом сада яблони / Г. В. Якуба // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2010. – № 4(3). – С. 1-9.
150. Якуба, Г. В. Распространение грибов рода *Fusarium* на плодовых культурах юга России / Г. В. Якуба, И. Г. Мищенко // Плодоводство и ягодоводство России. – 2019. – Т. 58. – С. 206-211. – DOI 10.31676/2073-4948-2019-58-206-211.
151. Якуба, Г. В. Симптомы, вредоносность и некоторые биологические особенности возбудителя альтернариоза яблони в Краснодарском крае / Г. В. Якуба // Оптимизация фитосанитарного состояния садов в условиях погодных стрессов. – Краснодар : Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства Россельхозакадемии, 2005. – С. 64-70.

152. Якуба, Г. В. Структура патогенного комплекса возбудителей микозов наземной части растения яблони в условиях изменения климата / Г. В. Якуба // Научные труды Государственного научного учреждения Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2014. – Т. 5. – С. 151-157.
153. Яроменко, Н. Н. Анализ инвестиционной привлекательности отрасли сельского хозяйства Краснодарского края / Н. Н. Яроменко, И. Г. Сидорчукова // Социально-экономические проблемы развития экономики АПК в России и за рубежом : Материалы всероссийской (национальной) научно-практической конференции с международным участием, посвященной 55-летию со дня образования экономического факультета (ныне Института экономики, управления и прикладной информатики), Иркутск, 19–20 ноября 2020 года. – п. Молодежный: Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, 2020. – С. 342-350.
154. Abbott, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide / W.S. Abbott // Journal of Economic Entomology. – 1925. – Vol. 18, No. 2. – P. 265–267.
155. Abdelkefi-Mesrati, L. Study of the *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa16 histopathological effects and determination of its putative binding proteins in the midgut of *Spodoptera littoralis* / L. Abdelkefi-Mesrati, H. Boukedi, M. Dammak-Karray, T. Sellami-Boudawara, S. Jaoua, S. Tounsi // Journal of Invertebrate Pathology. – 2011. – Vol. 106, No. 2. – P. 250–254. – DOI: 10.1016/j.jip.2010.10.002.
156. Agaisse, H. PlcR is a pleiotropic regulator of extracellular virulence factor gene expression in *Bacillus thuringiensis* / H. Agaisse, M. Gominet, O. A. Okstad, A.-B. Kolsto, D. Lereclus // Molecular Microbiology. – 1999. – Vol. 32, No. 5. – P. 1043–1053. – DOI: 10.1046/j.1365-2958.1999.01419.x.
157. Akello, J. Effect of endophytic *Beauveria bassiana* on populations of the banana weevil *Cosmopolites sordidus*, and their damage in tissue-cultured banana plants / J. Akello, T. Dubois, D. Coyne, S. Kyamanywa // Entomologia Experimentalis et Applicata. – 2008. – Vol. 129, No. 2. – P. 157–165. – DOI: 10.1111/j.1570-7458.2008.00759.x.

158. Amatuzzi, R. F. Potential of endophytic fungi as biocontrol agents of *Duponchelia fovealis* (Zeller) (Lepidoptera: Crambidae) / R. F. Amatuzzi, N. Cardoso, A. S. Poltronieri, C. G. Poitevin, P. Dalzoto, M. A. Zawadeneak, I. C. Pimentel // Brazilian Journal of Biology. – 2017. – Vol. 78, No. 3. – P. 429–435. – DOI: 10.1590/1519-6984.166681.
159. Andreazza A.P., Cardoso R.L.A., Cocco J. Genome analysis of entomopathogenic *Bacillus* sp. ABP14 isolated from a lignocellulosic compost // Genome Biology and Evolution. 2019. Vol. 11, № 6. P. 1658–1662. – DOI: <https://doi.org/10.1093/gbe/evz114>
160. Arrizubieta, M. Insecticidal efficacy and persistence of a co-occluded binary mixture of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus (HearNPV) variants in protected and field-grown tomato crops on the Iberian Peninsula / M. Arrizubieta, O. Simón, L. M. Torres-Vila, E. Figueiredo, J. Mendiola, A. Mexia, P. Caballero, T. Williams // Pest Management Science. – 2015. – Vol. 72, No. 4. – P. 660–670. – DOI: 10.1002/ps.4035.
161. Asomiba, R. A. Evaluation of entomopathogenic fungi (Ascomycota) for the control of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae): Thesis for the Masters of Technology / R. A. Asomiba. – Cape Town: Cape Peninsula University of Technology, 2014. – 83 p.
162. *Bacillus velezensis* strain BZR 277 chromosome, complete genome: URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NZ_CP064845.1
163. Bai, N. γ -Polyglutamic acid production, biocontrol, and stress tolerance: multifunction of *Bacillus subtilis* A-5 and the complete genome analysis / N. Bai, Bai, N., He, Y., Zhang, H., Zheng, X., Zeng, R., Li, Y., Lv, Wal. // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2022. – Vol. 19, No. 13. – P. 7630.
164. Balouiri, M. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review / M. Balouiri, M. Sadiki, S. K. Ibnsouda // Journal of Pharmaceutical Analysis. – 2016. – Vol. 6, No. 2. – P. 71–79.
165. Bandyopadhyay, S. Synergistic effect of Azadirachtin and *Bacillus thuringiensis* against bihar hairy caterpillar *Spilarctia obliqua* / S. Bandyopadhyay, B. S.

Gotyal, S. Satpathy, K. Selvaraj, A. N. Tripathi, N. Ali // Biopesticides International. – 2014. – Vol. 10, No. 1. – P. 71–76.

166. Bankevich, A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing / A. Bankevich, S. Nurk, D. Antipov, A. A. Gurevich, M. Dvorkin, A. S. Kulikov, P. A. Pevzner // Journal of Computational Biology. – 2012. – Vol. 19, No. 5. – P. 455–477.

167. Baranek, J. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains isolated from tropical greenhouses towards *Cydia pomonella* and *Spodoptera exigua* larvae / J. Baranek, M. Pluskota, M. Rusin, E. Konecka, A. Kaznowski, J. Wiland-Szymańska // BioControl. – 2023. – T. 68, № 1. – P. 39–48.

168. Baum, J. A. *Bacillus thuringiensis* natural and recombinant bioinsecticide products / J. A. Baum, B. C. Carlton // Methods in Biotechnology. – 1999. – Vol. 5. – P. 189–209.

169. Bayramoglu, Z. Characterization of a Betabaculovirus from the fall webworm *Hyphantria cunea* Drury (Lepidoptera: Erebidae) in Turkey / Z. Bayramoglu, R. Nalcacioglu, Z. Demirbag, I. Demir // Biocontrol Science and Technology. – 2018. – P. 1–13. – DOI: 10.1080/09583157.2018.1520197.

170. Beers, E. H. Pesticides used against *Cydia pomonella* disrupt biological control of secondary pests of apple / E. H. Beers, D. R. Horton, E. Miliczky // Biological Control. – 2016. – Vol. 102. – P. 35–43.

171. Ben Khedher, S. Overcome of carbon catabolite repression of bioinsecticide production by sporeless *Bacillus thuringiensis* through adequate fermentation technology / S. Ben Khedher, S. Jaoua, N. Zouari // Biotechnology Research International. – 2014. – Vol. 2014.

172. Berini, F. Microbial and viral chitinases: attractive biopesticides for integrated pest management / F. Berini, et al. // Biotechnology Advances. – 2018. – Vol. 36, No. 3. – P. 818–838.

173. Berling, M. *Cydia pomonella* granulovirus genotypes overcome virus resistance in the codling moth and improve virus efficiency by selection against resistant hosts / M. Berling, C. Blachere-Lopez, O. Soubabere, X. Lery, A. Bonhomme, B.

Sauphanor, M. Lopez-Ferber // Applied and Environmental Microbiology. – 2008. – Vol. 75, No. 4. – P. 925–930. – DOI: 10.1128/AEM.01998-08.

174. Berry, C. Complete sequence and organization of pBtoxis, the toxin-coding plasmid of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* / C. Berry, S. O'Neil, E. Ben-Dov, A. F. Jones // Applied and Environmental Microbiology. – 2002. – Vol. 68, No. 10. – P. 5082–5095

175. Biopesticides Market Report. – Fortune Business Insights. – URL: <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/biopesticides-market-100073> (дата обращения: 12.07.2025).

176. Blanco-Míguez, A. Extending and improving metagenomic taxonomic profiling with uncharacterized species using MetaPhlAn 4 / A. Blanco-Míguez, et al. // Nature Biotechnology. – 2023. – Vol. 41, No. 11. – P. 1633–1644.

177. Blumenscheit C., Tam L.T.T., Kublik S. и др. Genome sequence data of *Bacillus velezensis* BP1.2A and BT2.4, two plant-associated strains with biocontrol and plant growth-promoting potential // Data in Brief. 2022. Vol. 42. Art. 108301.

178. Boncheva, R. Activity of *Bacillus thuringiensis* δ-endotoxins against codling moth (*Cydia pomonella* L.) larvae / R. Boncheva, S. Dukiandjiev, I. Minkov, R. A. de Maagd, S. Naimov // Journal of Invertebrate Pathology. – 2006. – Vol. 92, No. 2. – P. 96–99. – DOI: 10.1016/j.jip.2006.01.004.

179. Borst, D. W. Trace analysis of ecdysones by gas–liquid chromatography, radioimmunoassay and bioassay / D. W. Borst, J. D. O'Connor // Steroids. – 1974. – Vol. 24, No. 5. – P. 637–656. – DOI: 10.1016/0039-128X(74)90017-8.

180. Boukedi, H. Isolation and characterization of a new *Bacillus thuringiensis* strain with a promising toxicity against Lepidopteran pests / H. Boukedi, S. Sellami, S. Ktari, N. Belguith-Ben Hassan, T. Sellami-Boudawara, S. Tounsi, L. Abdelkefi-Mesrati // European Journal of Soil Biology. – 2013. – Vol. 56. – P. 56–64. – DOI: 10.1016/j.ejsobi.2013.03.004.

181. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding / M. M. Bradford // Analytical Biochemistry. – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.

182. Bravo, A. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control / A. Bravo, S. S. Gill, M. Soberon // *Toxicon*. – 2007. – Vol. 49, No. 4. – P. 423–435.
183. Broderick, N. A. Chemical modulators of the innate immune response alter gypsy moth larval susceptibility to *Bacillus thuringiensis* / N. A. Broderick, K. F. Raffa, J. Handelsman // *BMC Microbiology*. – 2010. – Vol. 10, No. 1. – P. 129. – DOI: 10.1186/1471-2180-10-129.
184. Burges, H. D. Standardization of *Bacillus thuringiensis* products: Homology of the standard / H. D. Burges // *Nature*. – 1967. – Vol. 215, No. 5101. – P. 664–665.
185. Camacho, C. BLAST+: Architecture and applications / C. Camacho, G. Coulouris, V. Avagyan, N. Ma, J., Papadopoulos, K., Bealer, T. L. Madden // *BMC Bioinformatics*. – 2009. – Vol. 10. – P. 1–9.
186. Castagnola A., Stock S. P. Common virulence factors and tissue targets of entomopathogenic bacteria for biological control of lepidopteran pests // *Insects*. – 2014. – Vol. 5, № 1. – P. 139–166.
187. Chaudhary, A. Exploring beneficial microbes and their multifaceted applications: an overview / A. Chaudhary // *Microbial Inoculants: Applications for Sustainable Agriculture*. – 2024. – P. 1–28.
188. Chen X.H., Koumoutsi A., Scholz R. и др. Genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 reveals its potential for biocontrol of plant pathogens // *Journal of Biotechnology*. 2009. Vol. 140, № 1–2. P. 27–37.
189. Chen, S. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor / S. Chen, Y. Zhou, Y. Chen, J. Gu. // *Bioinformatics*. – 2018. – Vol. 34, No. 17. – P. i884–i890.
190. Chen, S. Ultrafast one-pass FASTQ data preprocessing, quality control, and deduplication using fastp / S. Chen // *iMeta*. – 2023. – Vol. 2, No. 2. – P. e107.
191. Chen, Y. Design, synthesis, and biological evaluation of novel aryl sulfonamide derivatives as potential succinate dehydrogenase inhibitors targeting phytopathogenic fungi / Y. Chen, Z. Deng, Q. Zhou, Y. Luo, W. Chen, X. Xie, Y. Yan // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2025. – Vol. 73, No. 7. – P. 3854–3864.

192. Command-line tool designed to compare gene repertoires in bacterial genomes for which only fragmentary genome assemblies are available: URL: <https://github.com/MigleSur/GenAPI/tree/master>
193. Comparative genomics of extrachromosomal elements in *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* / A. Bolotin, V. Sanchis, C. Nielsen-Leroux [et al.] // Research in Microbiology. – 2017. – Vol. 168, No. 4. – P. 331-344. – DOI 10.1016/j.resmic.2016.10.008.
194. Cônsoli, F. L. Host regulation and release of parasitism-specific proteins in the system *Toxoneuron nigriceps*–*Heliothis virescens* / F. L. Cônsoli, S. L. Brandt, T. A. Coudron, S. B. Vinson // Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology. – 2005. – Vol. 142, No. 2. – P. 181–191. – DOI: 10.1016/j.cbpc.2005.07.002.
195. Da Silva, W. O. B. *Metarhizium anisopliae* lipolytic activity plays a pivotal role in *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* infection / W. O. B. da Silva// Fungal Biology. – 2010. – Vol. 114, No. 1. – P. 10–15.
196. Danecek, P. Twelve years of SAMtools and BCFtools / P. Danecek, J. K. Bonfield, J., Liddle, J. Marshall, V. Ohan, M. O. Pollard, H. Li // Gigascience. – 2021. – Vol. 10, No. 2. – P. giab008.
197. De Senna, A. Antifungal screening of bioprotective isolates against *Botrytis cinerea*, *Fusarium pallidoroseum* and *Fusarium moniliforme* / A. de Senna, A. Lathrop // Fermentation. – 2017. – Vol. 3, No. 4. – P. 53.
198. Deng, X. Nematicidal effects of volatile organic compounds from microorganisms and plants on plant-parasitic nematodes / X. Deng, X. Wang, G. Li // Microorganisms. – 2022. – Vol. 10, No. 6. – P. 1201.
199. Dhaouadi, S. Evaluation of biocontrol potential of *Achromobacter xylosoxidans* against *Fusarium* wilt of melon / S. Dhaouadi, et al. // European Journal of Plant Pathology. – 2019. – Vol. 154, No. 2. – P. 179–188.
200. Dibelli, W. Effect of *Bacillus thuringiensis* on the biological parameters and phytophagy of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) / W. Dibelli, S. A. De Bortoli, H. X. L. Volpe, A. M. Vacari, G. O. Magalhaes, R. T. Duarte, R. A. Polanczyk

// Entomologia Generalis. – 2013. – Vol. 34. – P. 313–321. – DOI: 10.1127/entom.gen/34/2013/313.

201. Dubovskiy, I. M. More than a colour change: insect melanism, disease resistance and fecundity / I. M. Dubovskiy, M. M. A. Whitten, V. Y. Kryukov, O. N. Yaroslavtseva, E. V. Grizanova, C. Greig, K. Mukherjee, A. Vilcinskas, P. V. Mitkovets, V. V. Glupov, T. M. Butt // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2013. – Vol. 280. – P. 20130584. – DOI: 10.1098/rspb.2013.0584.

202. Dubovskiy, I. M. Phagocytic activity and encapsulation rate of *Galleria mellonella* larval haemocytes during bacterial infection by *Bacillus thuringiensis* / I. M. Dubovskiy, N. A. Krukova, V. V. Glupov // Journal of Invertebrate Pathology. – 2008. – Vol. 98, No. 3. – P. 360–362. – DOI: 10.1016/j.jip.2008.03.011.

203. Dukare, A. Microbial-based inoculants in sustainable agriculture: current perspectives and future prospects / A. Dukare, et al. // Biofertilizers. – 2021. – P. 167–181.

204. Entomopathogenic activity of bacterial and viral strains from the bioresource collection “State Collection of Entomoacariphages and Microorganisms” / E. Yu. Bondarchuk, A. A. Tsygichko, N. S. Tomashevich, A. M. Asaturova // E3s web of conferences : International Conference on Advances in Agrobusiness and Biotechnology Research (ABR 2021) (Krasnodar, Russia, 24–26 мая 2021 года). Vol. 285. – Krasnodar, Russia: EDP Sciences, 2021. – P. 03004.

205. Ertürk, Ö. Studies on bacterial flora and biological control agent of *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) / Ö. Ertürk, Z. Demirba // African Journal of Biotechnology. – 2006. – Vol. 5, No. 22. – P. 2081–2085.

206. Falchi, G. Hydrophobins from aerial conidia of *Beauveria bassiana* interfere with *Ceratitis capitata* oviposition behavior / G. Falchi, M. G. Marche, M. E. Mura, L. Ruiu // Biological Control. – 2015. – Vol. 81. – P. 37–43. – DOI: 10.1016/j.biocontrol.2014.11.005.

207. Fallahzadeh-Mamaghani, V. Characterization of *Paenibacillus polymyxxa* N179 as a robust and multifunctional biocontrol agent / V. Fallahzadeh-Mamaghani, S.

Golchin, A. Shirzad, H. Mohammadi, F. Mohamadivand // Biological Control. – 2021. – Vol. 154. – P. 104505.

208. Falqueto, S. A. Bacillus spp. metabolites are effective in eradicating *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae with low toxicity to non-target species / S. A. Falqueto, Pitaluga, B. F., de Sousa, J. R., Targanski, S. K., Campos, M. G., de Oliveira Mendes et al. // Journal of Invertebrate Pathology. – 2021. – Vol. 179. – P. 107525.

209. Fan B., Wang C., Song X. и др. *Bacillus velezensis* FZB42 in 2018: The Gram-positive model strain for plant growth promotion and biocontrol // Frontiers in Microbiology. 2018. Vol. 9. – P. 2491.

210. Fan, J. Partial loss of inheritable Type I resistance of codling moth to *Cydia pomonella* granulovirus / J. Fan, J. Wennmann, J. Jehle // Viruses. – 2019. – Vol. 11, No. 6. – P. 570. – DOI: 10.3390/v11060570.

211. Fareed, M. Adverse respiratory health and hematological alterations among agricultural workers occupationally exposed to organophosphate pesticides: a cross-sectional study in North India / M. Fareed, et al. // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8, No. 7. – P. e69755. – DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069755>

212. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data: - URL:<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> (дата обращения:)

213. Fira, D. Biotechnological production of new antimicrobial peptides with antibacterial activity / D. Fira, I. Dimkić, T. Berić, J. Lozo, S. Stanković // Journal of Biotechnology. – 2018. – Vol. 285, No. 1. – P. 44–55.

214. Florczak, L. Od bakterii do biopreparatu – *Bacillus thuringiensis* w ochronie roślin / L. Florczak // Progress in Plant Protection. – 2024. – Vol. 64, No. 4. – P. 204-217.

215. Gabrielaite, M. GenAPI: a tool for gene absence–presence identification in fragmented bacterial genome sequences / M. Gabrielaite, R. L. Marvig // BMC Bioinformatics. – 2020. – Vol. 21, No. 1. – P. 320.

216. Gajic, I. Antimicrobial susceptibility testing: a comprehensive review of currently used methods / I. Gajic, et al. // Antibiotics. – 2022. – Vol. 11, No. 4. – P. 427.

217. Gebhardt, M. M. Baculovirus resistance in codling moth is virus isolate-dependent and the consequence of a mutation in viral gene pe38 / M. M. Gebhardt, K. E.

Eberle, P. Radtke, J. A. Jehle // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2014. – Vol. 111, No. 44. – P. 15711–15716. – DOI: 10.1073/pnas.1411089111.

218. Genome Assembly Quality Assessment Tool: URL:
<https://cab.spbu.ru/software/spades/>

219. Ghazy, N. Siderophore production by *Bacillus subtilis* MF497446 and *Pseudomonas koreensis* MG209738 and their efficacy in controlling *Cephalosporium maydis* in maize plant / N. Ghazy, S. El-Nahrawy // Archives of Microbiology. – 2021. – Vol. 203, No. 3. – P. 1195–1209.

220. Global pesticide resistance in arthropods / eds. M. E. Whalon, D. Mota-Sánchez, R. M. Hollingworth. – Wallingford: CABI, –2008. – P.165

221. Goettel, M. S. Fungi: Hyphomycetes / M. S. Goettel, G. D. Inglis // Manual of Techniques in Insect Pathology / eds. F. E. Vega, H. K. Kaya. – San Diego: Academic Press, 1997. – P. 213–249.

222. Gómez Valderrama, J. A. Potential of betabaculoviruses to control the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) / J. A. Gómez Valderrama, G. Barrera, M. López-Ferber, M. Belaich, P. D. Ghiringhelli, L. Villamizar // Journal of Applied Entomology. – 2017. – Vol. 142, No. 1–2. – P. 67–77. – DOI: 10.1111/jen.12406.

223. Gong, A. D. Inhibitory effect of volatiles emitted from *Alcaligenes faecalis* N1-4 on *Aspergillus flavus* and aflatoxins in storage / A. D. Gong, et al. // Frontiers in Microbiology. – 2019. – Vol. 10. – P. 1419.

224. Graillot, B., Progressive adaptation of a CpGV isolate to codling moth populations resistant to CpGV-M // Berling M., Blachere-López C., Siegwart M., Besse S., López-Ferber M. // Viruses. 2014. № 6(12). – P. 5135-5144. DOI:10.3390/v6125135.

225. Grizanova, E. V. Contributions of cellular and humoral immunity of *Galleria mellonella* larvae in defence against oral infection by *Bacillus thuringiensis* / E. V. Grizanova, I. M. Dubovskiy, M. M. A. Whitten, V. V. Glupov // Journal of Invertebrate Pathology. – 2014. – Vol. 119. – P. 40–46. – DOI: 10.1016/j.jip.2014.04.003.

226. Guizelini, D. GFinisher: a new strategy to refine and finish bacterial genome assemblies / D. Guizelini, R. T. Raittz, L. M. Cruz, E. M. Souza, M. B. Steffens, F. O. Pedrosa // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6, No. 1. – – P. 34963.

227. Gurevich, A. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies / A. Gurevich, V. Saveliev, N. Vyahhi, G. Tesler // Bioinformatics. – 2013. – Vol. 29, No. 8. – P. 1072–1075.
228. Gürlek, S. Isolation and characterization of Beauveria and Metarhizium spp. from walnut fields and their pathogenicity against the codling moth *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) / S. Gürlek, A. Sevim, F. M. Sezgin, E. Sevim, // Egyptian Journal of Biological Pest Control. – 2018. – Vol. 28, No. 1. – P. 50.
229. Guyomar, C. MinYS: mine your symbiont by targeted genome assembly in symbiotic communities / C. Guyomar, W. Delage, F. Legeai, C. Mougel, J. C. Simon, C. Lemaitre // NAR Genomics and Bioinformatics. – 2020. – Vol. 2, No. 3. – P. lqaa047. – DOI: <https://doi.org/10.1093/nargab/lqaa047>
230. Harris, M. O. Behavioral responses of lightbrown apple moth neonate larvae on diets containing *Bacillus thuringiensis* formulations or endotoxins / M. O. Harris, F. Mafile'o, S. Dhana // Entomologia Experimentalis et Applicata. – 1997. – Vol. 84, No. 3. – P. 207–219.
231. Hawkins, N. J. The evolutionary origins of pesticide resistance / N. J. Hawkins, C. Bass, A. Dixon, P. Neve // Biological Reviews. – 2019. – Vol. 94, No. 1. – P. 135–155.
232. Henderson, C. F. Tests with acaricides against brown wheat mite / C. F. Henderson, E. W. Tilton // Journal of Economic Entomology. – 1955. – Vol. 48. – P. 157–161.
233. Hodgkin, J. Two *Leucobacter* strains exert complementary virulence on *Caenorhabditis* including death by worm-star formation / J. Hodgkin, M. A. Félix, L. C. Clark, D. Stroud, M. J. Gravato-Nobre // Current Biology. – 2013. – Vol. 23, No. 21. – P. 2157–2161.
234. Höfte, H. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis* / H. Höfte, H. R. Whiteley // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 1989. – Vol. 53, No. 2. – P. 242–255.

235. Horwich, A. L. Two families of chaperonin: physiology and mechanism / A. L. Horwich, W. A. Fenton, E. Chapman, G. W. Farr // Annual Review of Cell and Developmental Biology. – 2007. – Vol. 23, No. 1. – P. 115–145.
236. Hossain, M. L. A review of commonly used methodologies for assessing the antibacterial activity of honey and honey products / M. L. Hossain, L. Y. Lim, K. Hammer, D. Hettiarachchi, , C. Locher, // Antibiotics. – 2022. – Vol. 11, No. 7. – P. 975.
237. Hughes, P. R. A synchronous peroral technique for the bioassay of insect viruses / P. R. Hughes, H. A. Wood // Journal of Invertebrate Pathology. – 1981. – Vol. 37. – P. 154–159. – DOI: 10.1016/0022-2011(81)90069-0.
238. Hussein, H. M. Laboratory evaluation of a new strain CCM 8367 of *Isaria fumosorosea* (syn. *Paecilomyces fumosoroseus*) on *Spodoptera littoralis* (Boisd.) / H. M. Hussein, R. Zemek, S. O. Habuštová, E. Prenerová, M. M. Adel // Archives of Phytopathology and Plant Protection. – 2013. – Vol. 46, No. 11. – P. 1307–1319. – DOI: 10.1080/03235408.2013.765677.
239. Ismahane, L. Toxic and sub-toxic effects of *Bacillus thuringiensis* svar. kurstaki toward *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) / L. Ismahane, I. Lebbouz, M. S. Mehaoua, M. Brahim, M. L. Ouakid // Archives of Razi Institute. – 2025. – Vol. 80, No. 2. – P. 425.
240. Jarrold, S. L. The contribution of surface waxes to pre-penetration growth of an entomopathogenic fungus on host cuticle / S. L. Jarrold, D. Moore, U. Potter, A. K. Charnley // Mycological Research. – 2007. – Vol. 111, No. 2. – P. 240–249. – DOI: 10.1016/j.mycres.2006.10.007.
241. Ji, X.-Y. Nucleopolyhedrovirus infection and/or parasitism by *Microplitis pallidipes* affected haemolymph titre of 20-hydroxyecdysone in *Spodoptera exigua* larvae / X.-Y. Ji, N.-F. Wan, J. Liu, J.-X. Jiang // Journal of Applied Entomology. – 2016. – Vol. 140, No. 1–2. – P. 142–149. – DOI: 10.1111/jen.12230.
242. Jiang, J. X. Combined effect of nucleopolyhedrovirus and *Microplitis pallidipes* for the control of the beet armyworm *Spodoptera exigua* / J. X. Jiang, A. P. Zeng, X. Y. Ji, N. F. Wan, X. Q. Chen // Pest Management Science. – 2011. – Vol. 67. – P. 705–713.

243. Ju, S. *Alcaligenes faecalis* ZD02, a novel nematicidal bacterium with an extracellular serine protease virulence factor / S. Ju, J. Lin, J. Zheng, S. Wang, H. Zhou, M. Sun // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2016. – Vol. 82, No. 7. – P. 2112–2120.
244. Jurat-Fuentes, J. L. Mechanisms of resistance to insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* / J. L. Jurat-Fuentes, D. G. Heckel, J. Ferré // *Annual Review of Entomology*. – 2021. – Vol. 66. – P. 121–140.
245. Karaoglan, B. Microbial pesticides: challenges and future perspectives for non-target organism testing / B. Karaoglan, A. T. Alkassab, S. Borges, T. Fisher, C. Link-Vrabie, E. McVey, M. Nuti // *Environmental Sciences Europe*. – 2024. – Vol. 36, No. 1. – P. 1–40.
246. Katoh, K. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization / K. Katoh, J. Rozewicki, K. D. Yamada // *Briefings in Bioinformatics*. – 2019. – Vol. 20, No. 4. – P. 1160–1166.
247. Kemp, K. An exploration of the follow-up needs of patients with inflammatory bowel disease / K. Kemp, J. Griffiths, S. Campbell, K. Lovell // *Journal of Crohn's and Colitis*. – 2013. – Vol. 7, No. 9. – P. e386–e395. – DOI: 10.1016/j.crohns.2013.03.001.
248. Khan, M. A. Potential of *Bacillus thuringiensis* in the management of pernicious lepidopteran pests / M. A. Khan, B. Paul, W. Ahmad, S. Paul, C. Aggarwal, Z., Khan, M. S. Akhtar, // *Plant, Soil and Microbes*. – 2016. – P. 277–303. – DOI: 10.1007/978-3-319-29573-2_13.
249. Khosravi, R. Virulence of four *Beauveria bassiana* isolates on rose sawfly *Argyrotaenia rosae* under laboratory conditions / R. Khosravi, J. J. Sendi, A. Zibaee, M. A. Shokrgozar // *Journal of King Saud University – Science*. – 2015. – Vol. 27, No. 1. – P. 49–53. – DOI: 10.1016/j.jksus.2014.04.003.
250. Kim, S. Y. Characterization of multifunctional *Bacillus* sp. GH1-13 / S. Y. Kim, M. K. Sang, H. Y. Weon, Y. A. Jeon, J. H. Ryoo, J. Song // *Korean Journal of Pesticide Science*. – 2016. – Vol. 20, No. 3. – P. 189–196.
251. Kim, Y. Baculoviral p94 homologs encoded in *Cotesia plutellae* bracovirus suppress both immunity and development of the diamondback moth *Plutella xylostella* /

Y. Kim, R. Hepat // Insect Science. – 2016. – Vol. 23, No. 2. – P. 235–244. – DOI: 10.1111/1744-7917.12237.

252. Knežević, M. Versatile role of *Bacillus velezensis*: biocontrol of *Fusarium poae* and wireworms and barley plant growth promotion / M. Knežević, M. Dervišević, M. Jovković, G. Jevđenović, J. Maksimović, A. Buntić // Biological Control. – 2025. – P. 105789.

253. Kumar, C. G. Ochrosin, a new biosurfactant produced by halophilic *Ochrobactrum* sp. strain BS-206 (MTCC 5720): purification, characterization and biological evaluation / C. G. Kumar, P. Sujitha, S. K. Mamidyala, P. Usharani, B. Das, C. R. Reddy // Process Biochemistry. – 2014. – Vol. 49, No. 10. – P. 1708–1717.

254. Kupper, M. Versatile roles of the chaperonin GroEL in microorganism–insect interactions / M. Kupper, S. K. Gupta, H. Feldhaar, R. Gross // FEMS Microbiology Letters. – 2014. – Vol. 353, No. 1. – P. 1–10.

255. Lacey, L. A. Biological control of codling moth (*Cydia pomonella*) and its role in integrated pest management, with emphasis on entomopathogens / L. A. Lacey, T. R. Unruh // Vedalia. – 2005. – Vol. 12, No. 1. – P. 33–60.

256. Lacey, L. A. Entomopathogens used as microbial control agents / L. A. Lacey // Microbial Control of Insect and Mite Pests. – 2017. – P. 3–12. – DOI: 10.1016/B978-0-12-803527-6.00001-9.

257. Lander, E. S. Genomic mapping by random fingerprinting clones: a mathematical analysis / E. S. Lander, M. S. Waterman // Genomics. – 1988. – Vol. 2. – P. 231–239.

258. Letunic, I. Interactive Tree of Life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool / I. Letunic, P. Bork // Nucleic Acids Research. – 2024. – Vol. 52, No. W1. – P. W78–W82.

259. Li H. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM // arXiv preprint arXiv:1303.3997. – 2013. – P. 1–3

260. Li, H. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM / H. Li. – arXiv preprint arXiv:1303.3997. – 2013. – P. 1–3.

261. Li, H. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools / H. Li, B. Handsaker, A. Wysoker, T. Fennell, J. Ruan, N. Homer// Bioinformatics. – 2009. – Vol. 25, No. 16. – P. 2078–2079.
262. Liao, Z. H. Effect of juvenile hormone and pyriproxyfen treatments on the production of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus / Z. H. Liao, T. C. Kuo, C. W. Shih, S. J. Tuan, Y. H. Kao, R. N. Huang // Entomologia Experimentalis et Applicata. – 2016. – Vol. 161, No. 2. – P. 112–120. – DOI: 10.1111/eea.12499.
263. Liu, Y. Comparative genomic analysis of *Bacillus velezensis* BRI3 reveals genes potentially associated with efficient antagonism of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary / Y. Liu, C. Yin, M. Zhu, Y. Zhan, M. Lin, Y. Yan, // Genes. – 2024. – Vol. 15, No. 12. – P. 1588.
264. Magalhães, G. O. Interactions of *Bacillus thuringiensis* bioinsecticides and the predatory stink bug *Podisus nigrispinus* to control *Plutella xylostella* / G. O. Magalhães, A. M. Vacari, V. L. Laurentis, S. A. De Bortoli, R. A. Polanczyk // Journal of Applied Entomology. – 2014. – Vol. 139, No. 1–2. – P. 123–133. – DOI: 10.1111/jen.12180.
265. Malovichko, Y. V. Repertoire of the *bacillus thuringiensis* virulence factors unrelated to major classes of protein toxins and its role in specificity of host-pathogen interactions / Y. V. Malovichko, A. A. Nizhnikov, K. S. Antonets // Toxins. – 2019. – Vol. 11, No. 6. – P. 347. – DOI 10.3390/toxins11060347
266. Manjarres-López, D. P. Assessment of pesticide residues in waters and soils of a vineyard region and its temporal evolution / D. P. Manjarres-López, M. S. Andrades, S. Sánchez-González, M. S. Rodríguez-Cruz, M. J. Sánchez-Martín, E. Herrero-Hernández // Environmental Pollution. – 2021. – Vol. 284. – P. 117463.
267. Markwick, N. P. Transgenic tobacco and apple plants expressing biotin-binding proteins are resistant to two cosmopolitan insect pests, potato tuber moth and lightbrown apple moth, respectively / N. P. Markwick, L. C. Docherty, M. M. Phung, M. T. Lester, C. Murray, J. L. Yao, J. T. Christeller // Transgenic Research. – 2003. – Vol. 12. – P. 671–681.
268. Ment, D. *Metarhizium anisopliae* conidial responses to lipids from tick cuticle and tick mammalian host surface / D. Ment, G. Gindin, V. Soroker, I. Glazer, A. Rot, M.

Samish // Journal of Invertebrate Pathology. – 2010. – Vol. 103, No. 2. – P. 132–139. – DOI: 10.1016/j.jip.2009.12.010.

269. Meyling, N. Methods of isolation of entomopathogenic fungi from the soil environment / N. V. Meyling // Department of Ecology, Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, DK-1871 Frederiksberg C. – Denmark: Organic Eprints, 2007. – 18 p.

270. Mohamadpoor, M. Evaluation of biocontrol potential of Achromobacter xylosoxidans strain CTA8689 against common bean root rot / M. Mohamadpoor, J. Amini, M. Ashengroh, A Azizi // Physiological and Molecular Plant Pathology. – 2022. – Vol. 117. – P. 101769.

271. Mohammad, A. K. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Berliner against bihar hairy caterpillar *Spilarctia obliqua* (Walker) (Lepidoptera: Arctiidae): Doctor's degree philosophy in zoology (entomology) / A. K. Mohammad. – Aligarh: Aligarh Muslim University, 2006. – 197 p.

272. Montealegre, J. R. Selection of antagonists to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato / J. R. Montealegre, R. Reyes, L. M. Perez // Electronic Journal of Biotechnology. – 2003. – Vol. 6, No. 2. – P. 116–127.

273. Nascimento, T. A. Bioactive potential of some *Bacillus thuringiensis* strains from Macapá, Amazon, Brazil, against the housefly *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) under laboratory conditions / T. A. Nascimento, M. J. Paes, F. H. Valicente, M. M. D. C. Queiroz // Insects. – 2024. – T. 16, № 1. – P. 27.

274. National Center for Biotechnology Information (NCBI): URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/genomesubmit/>

275. NCBI Common Taxonomy Tree: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/CommonTree/wwwcmt.cgi>

276. O'Leary N.A. Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation / O'Leary N.A., Wright M.W., Brister J.R. // Nucleic Acids Research. 2016. Vol. 44, D1. – P. D733–D745.

277. Opoku-Debrah, J. K. Overcrowding of false codling moth *Thaumatotibia leucotreta* (Meyrick) leads to the isolation of five new *Cryptophlebia leucotreta*

granulovirus (CrleGV-SA) isolates / J. K. Opoku-Debrah, M. P. Hill, C. Knox, S. D. Moore // Journal of Invertebrate Pathology. – 2013. – Vol. 112, No. 3. – P. 219–228. – DOI: 10.1016/j.jip.2012.12.008.

278. Ortega, C. P. Coordinated binding of a two-component insecticidal protein from *Alcaligenes faecalis* to western corn rootworm midgut tissue / C. P. Ortega, C. Leininger, J. Barry, B. Poland, N. Yalpani, D. Altier, A. L. Lu // Journal of Invertebrate Pathology. – 2021. – Vol. 183. – P. 107597.

279. Pacheco S., Gómez I., Chiñas M. Whole genome sequencing analysis of *Bacillus thuringiensis* GR007 reveals multiple pesticidal protein genes // Frontiers in Microbiology. 2021. Vol. 12. – P. 758314.

280. Parthasarathy, S. Organophosphate hydrolase is a lipoprotein and interacts with Pi-specific transport system to facilitate growth of *Brevundimonas diminuta* using OP insecticide as source of phosphate / S. Parthasarathy, H. Parapatla, A. Nandavaram, T. Palmer, D. Siddavattam // Journal of Biological Chemistry. – 2016. – Vol. 291, No. 14. – P. 7774–7785.

281. Pathak, M. K. Cholinesterase levels and morbidity in pesticide sprayers in North India / M. K. Pathak, M. Fareed, V. Bihari, N. Mathur, A. K. Srivastava, M. Kuddus, K. C. Nair // Occupational Medicine. – 2011. – Vol. 61, No. 7. – P. 512–514.

282. Pathak, M. K. Seasonal variations in cholinesterase activity, nerve conduction velocity and lung function among sprayers exposed to mixture of pesticides / M. K. Pathak, M. Fareed, A. K. Srivastava, B. S. Pangtey, V. Bihari, M. Kuddus, C. Kesavachandran // Environmental Science and Pollution Research. – 2013. – Vol. 20, No. 10. – P. 7296–7300.

283. Pinheiro, D. H. Identification of *Bacillus thuringiensis* strains for the management of lepidopteran pests / D. H. Pinheiro, F. H. Valicente // Neotropical Entomology. – 2021. – T. 50, № 5. – P. 804–811.

284. Prjibelski, A. Using SPAdes de novo assembler / A. Prjibelski, D. Antipov, D. Meleshko, A. Lapidus, A. Korobeynikov // Current Protocols in Bioinformatics. – 2020. – Vol. 70, No. 1. – P. e102.

285. Programs for working with the results of mapping reads to reference: URL: <http://www.htslib.org/>
286. Quainoo S., Coolen J.P.M., Van Hijum S.A.F.T. et al. Whole-genome sequencing of bacterial pathogens: the future of nosocomial outbreak analysis // Clinical Microbiology Reviews. 2017. Vol. 30, No. 4. P. 1015–1063.
287. Remor, A. P. Occupational exposure of farm workers to pesticides: biochemical parameters and evaluation of genotoxicity / A. P. Remor, C. C. Totti, D. A. Moreira, G. P. Dutra, V. D. Heuser, J. M. Boeira // Environment International. – 2009. – Vol. 35, No. 2. – P. 273-278.
288. Renwick, J. Susceptibility of larvae of *Galleria mellonella* to infection by *Aspergillus fumigatus* is dependent upon stage of conidial germination / J. Renwick, P. Daly, E. P. Reeves, K. Kavanagh // Mycopathologia. – 2006. – Vol. 161, No. 6. – P. 377-384. – DOI: 10.1007/s11046-006-0021-1.
289. Rezapanah, M. Screening *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) isolates via comparative bioassays / M. Rezapanah // Iranian Journal of Virology. – 2015. – Vol. 9, No. 3. – P. 1–5. – DOI: 10.21859/isv.9.3.1.
290. Richter, M. JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison / M. Richter, R. Rosselló-Móra, F. Oliver Glöckner, J. Peplies // Bioinformatics. – 2016. – Vol. 32, No. 6. – P. 929–931.
291. Riseh, R. S. Unveiling the role of hydrolytic enzymes from soil biocontrol bacteria in sustainable phytopathogen management / R. S. Riseh, M. Vatankhah, M. Hassanisaadi, E. Ait Barka // Frontiers in Bioscience – Landmark. – 2024. – Vol. 29, No. 3. – P. 105.
292. Rivera-Ramírez A., Ruiz-Vera V.M., Villalobos F.J. и др. Comparative genomics and pathogenicity analysis of two bacterial symbionts of entomopathogenic nematodes: the role of the GroEL protein in virulence // Microorganisms. 2022. Vol. 10, № 3. – P. 469.
293. Robinson, O. Phylo.io: interactive viewing and comparison of large phylogenetic trees on the web / O. Robinson, D. Dylus, C. Dessimoz // Molecular Biology and Evolution. – 2016. – Vol. 33, No. 8. – P. 2163–2166.

294. Ruiu, L. Microbial biopesticides in agroecosystems / L. Ruiu // Agronomy. – 2018. – Vol. 8, No. 11. – P. 235.
295. Ruiu, L. Pathogenicity and characterization of a novel *Bacillus cereus* sensu lato isolate toxic to the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* Wied. / L. Ruiu, G. Falchi, I. Floris, M. G. Marche, M. E. Mura, A. Satta // Journal of Invertebrate Pathology. – 2015. – Vol. 126. – P. 71–77. – DOI: 10.1016/j.jip.2015.01.010.
296. Sajid M., Geng C., Li M. et al. Whole-genome analysis of *Bacillus thuringiensis* revealing partial genes as a source of novel Cry toxins // Applied and Environmental Microbiology. 2018. 84(14). – P. e00277-18.
297. Salam S. A., *Leucobacter aridicollis* strain SASBG215: A Novel biocontrol agent against *Colletotrichum orbiculare* / V. K. Parthiban, V. Paranidharan, I. Johnson, M. Karthikeyan, C. Kavitha // Biological Forum – An International Journal. – 2022. – Vol. 14, № 2. – P. 905–911.
298. Salamitou, S. The PlcR regulon is involved in the opportunistic properties of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* in mice and insects / S. Salamitou, F. Ramisse, M. Brehélin, D. Bourguet, N. Gilois, M. Gominet, E. Hernandez, D. Lereclus // Microbiology. – 2000. – Vol. 146. – P. 2825–2832. – DOI: 10.1099/00221287-146-11-2825.
299. Sanahuja, G. *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications / G. Sanahuja, R. Banakar, R. M. Twyman, T. Capell, P. Christou // Plant Biotechnology Journal. – 2011. – Vol. 9, No. 3. – P. 283–300.
300. Sauer, A. J. A third type of resistance to *Cydia pomonella* granulovirus in codling moths shows a mixed Z-linked and autosomal inheritance pattern / A. J. Sauer, S. Schulze-Bopp, E. Fritsch, K. Undorf-Spahn, J. A. Jehle // Applied and Environmental Microbiology. – 2017. – Vol. 83, No. 17. – P. e01036-17. – DOI: 10.1128/AEM.01036-17.
301. Sauer, A. J. Novel resistance to *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) in codling moth shows autosomal and dominant inheritance and confers cross-resistance to different CpGV genome groups / A. J. Sauer, E. Fritsch, K. Undorf-Spahn, P. Nguyen, F. Marec, D. G. Heckel, J. A. Jehle // PLOS ONE. – 2017. – Vol. 12, No. 6. – P. e0179157. – DOI: 10.1371/journal.pone.0179157.

302. Seemann, T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation / T. Seemann // Bioinformatics. – 2014. – Vol. 30, No. 14. – P. 2068–2069.
303. Sequencing data quality assessment tool: URL:
<https://cab.spbu.ru/software/quast/>
304. Sequencing data quality assessment tool:
URL:<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
305. Shapiro-Ilan, D. Microbial control of arthropod pests of orchards in temperate climates / D. Shapiro-Ilan, S. P. Arthurs, L. A. Lacey // Microbial Control of Insect and Mite Pests. – 2017. – P. 253–267. – DOI: 10.1016/B978-0-12-803527-6.00017-2.
306. Shi, H. An insecticidal protein from *Xenorhabdus ehlersii* triggers prophenoloxidase activation and hemocyte decrease in *Galleria mellonella* / H. Shi, et al. // Current Microbiology. – 2012. – Vol. 64, No. 6. – P. 604–610.
307. Siddiqui, K. S. Cold-adapted enzymes / K. S. Siddiqui, R. Cavicchioli // Annual Review of Biochemistry. – 2006. – Vol. 75. – P. 403–433.
308. Slininger, P. J. Discovery and development of biological agents to control crop pests / P. J. Slininger, et al. // Neotropical Entomology. – 2003. – Vol. 32, No. 2. – P. 183–195.
309. Software package for mapping DNA sequences to a reference genome:
URL:<https://github.com/lh3/bwa>
310. Software pipeline for prokaryotic genome annotation: URL:
<https://github.com/tseemann/prokka>
311. Strand, M. R. *Microplitis demolitor* polydnavirus infects and expresses in specific morphotypes of *Pseudoplusia includens* haemocytes / M. R. Strand // Journal of General Virology. – 1994. – Vol. 75, No. 11. – P. 3007–3020. – DOI: 10.1099/0022-1317-75-11-3007.
312. Sun, X. History and status of development and use of viral insecticides in China / X. Sun // Viruses. – 2015. – Vol. 7, No. 1. – P. 306–319. – DOI: 10.3390/v7010306.
313. Sun, Y. Volatile metabolites from *Brevundimonas diminuta* and nematicidal esters inhibit *Meloidogyne javanica* / Y. Sun, Y. Ran, H. Yang, M. Mo, G. Li // Microorganisms. – 2023. – Vol. 11, No. 4. – P. 966.

314. Szpyrka, E. Biological strategies and innovations in pest control and fruit storage in apple orchards: a step towards sustainable agriculture / E. Szpyrka, S. Migdal-Pecharroman, P. Książek-Trela // Agronomy. – 2025. – T. 15, № 10. – P. 2373.
315. Tam L.T.T., Blumenscheit C., Kublik S. и др. Two plant-associated *Bacillus velezensis* strains selected after genome analysis, metabolite profiling and with proved biocontrol potential enhanced harvest yield and quality of lettuce and strawberry // Frontiers in Plant Science. 2023. Vol. 14. – P. 1178167.
316. Tettelin H., Riley D., Cattuto C., Medini D. Comparative genomics: the bacterial pan-genome // Current Opinion in Microbiology. 2008. Vol. 11, No. 5. P. 472-477.
317. The global biopesticides market size: URL: <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/biopesticides-market-100073>
318. Toledo-Hernández, E. Entomopathogenic bacteria species and toxins targeting aphids (Hemiptera: Aphididae): a review / E. Toledo-Hernández, M. C. Torres-Quíntero, I. Mancilla-Dorantes, C. Sotelo-Leyva, E. J. Delgado-Núñez, V. M. Hernández-Velázquez, G. Peña-Chora // Plants. – 2025. – Vol. 14, No. 6. – P. 943.
319. Tool for assembling genomes from short reads based on a reference genome: URL: <https://github.com/cguyomar/MinYS>
320. Tool for correcting assembly errors and finalizing bacterial genomes: URL: <https://gfinisher.sourceforge.net/>
321. Tool for taxonomic analysis of metagenomes based on a catalog of clade-specific marker genes: URL: <https://github.com/biobakery/MetaPhlAn>
322. Topalović, O. Bacteria isolated from the cuticle of plant-parasitic nematodes attached to and antagonized the root-knot nematode *Meloidogyne hapla* / O. Topalović, A. Elhady, J. Hallmann, K. R. Richert-Pöggeler, H. Heuer // Scientific Reports. – 2019. – Vol. 9, No. 1. – P. 11477.
323. Undorf-Spahn, K. High stability and no fitness costs of the resistance of codling moth to *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV-M) / K. Undorf-Spahn, E. Fritsch, J. Huber, J. Kienzle, C. P. W. Zebitz, J. A. Jehle // Journal of Invertebrate Pathology. – 2012. – Vol. 111, No. 2. – P. 136–142. – DOI: 10.1016/j.jip.2012.07.005.

324. Verplaetse, É. Paradigm shift for cry gene expression in *Bacillus thuringiensis* / É. Verplaetse, L. Slamti, D. Lereclus // bioRxiv. – 2025. – P. 659657.
325. Virto, C. Chemical and biological stress factors on the activation of nucleopolyhedrovirus infections in covertly infected *Spodoptera exigua* / C. Virto, D. Navarro, M. M. Téllez, R. Murillo, T. Williams, P. Caballero // Journal of Applied Entomology. – 2017. – Vol. 141, No. 5. – P. 384–392. – DOI: 10.1111/jen.12349.
326. Vogel, H. A comprehensive transcriptome and immune-gene repertoire of the lepidopteran model host *Galleria mellonella* / H. Vogel, B. Altincicek, G. Glöckner, A. Vilcinskas // BMC Genomics. – 2011. – Vol. 12, No. 1. – P. 308. – DOI: 10.1186/1471-2164-12-308.
327. Wan, N.-F. Effect of host plants on the infectivity of nucleopolyhedrovirus to *Spodoptera exigua* larvae / N.-F. Wan, J.-X. Jiang, B. Li // Journal of Applied Entomology. – 2016. – Vol. 140, No. 8. – P. 636–644. – DOI: 10.1111/jen.12298.
328. Wang, S. *Bacillus velezensis* B105-8, a potential and efficient biocontrol agent in control of maize stalk rot caused by *Fusarium graminearum* / S. Wang, P., Jin, Y. Zheng, W. Kangkang, J. Chen, J. Liu, Y. Li // Frontiers in Microbiology. – 2024. – Vol. 15. – P. 1462992.
329. Web service for multiple alignment : URL:
<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>
330. Web service that allows tetracorrelation search (TCS) to be performed using the GenomesDB database: URL: <https://jspecies.ribohost.com/jspeciesws/#home>
331. Wolfersberger, M. Preparation of brush border membrane vesicles (BBMV) from larval lepidopteran midgut / M. Wolfersberger, P. Lüthy, A. Maurer, P. Parenti, P. V. Sacchi, B. Giordana // Comparative Biochemistry and Physiology. – 1987. – Vol. 86. – P. 301–308.
332. Wu, Y.-W. MaxBin 2.0: an automated binning algorithm to recover genomes from multiple metagenomic datasets / Y.-W. Wu, B. A. Simmons, S. W. Singer // Bioinformatics. – 2016. – Vol. 32, No. 4. – P. 605–607.
333. Xu, X.-X. *Manduca sexta* gloverin binds microbial components and is active against bacteria and fungi / X.-X. Xu, X. Zhong, H.-Y. Yi, X.-Q. Yu // Developmental &

Comparative Immunology. – 2012. – Vol. 38, No. 2. – P. 275–284. – DOI: 10.1016/j.dci.2012.06.012.

334. Xu, Z. Optimization of fermentation and biocontrol efficacy of *Bacillus atrophaeus* XHG-1-3m2 / Z. Xu, H. Lu, W. Shi, X. Zhou, J. Ren, Y. Zhang, R. Ma // Microorganisms. – 2024. – Vol. 12, No. 11. – P. 2134.

335. Yadav, A. N. Plant growth promoting bacteria: biodiversity and multifunctional attributes for sustainable agriculture / A. N. Yadav, P. Verma, B. Singh, V. S. Chauhan, A. Suman, A. K. Saxena // Advances in Biotechnology and Microbiology. – 2017. – Vol. 5, No. 5. – P. 1–16.

336. Yamaç, M. The screening of bacterial insecticides against *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) / M. Yamaç, E. Şahin, E. Ceyhan, M. J. del R. Amoroso, S. A. Cuozzo, S. Pilatin // Fresenius Environmental Bulletin. – 2010. – Vol. 19, No. 5. – P. 862–870.

337. Yang, B. A review on the screening methods for the discovery of natural antimicrobial peptides / B. Yang, H., Yang, J. Liang, J. Chen, C. Wang, Y. Wang, J. Guo // Journal of Pharmaceutical Analysis. – 2024. – P. 101046.

338. Yang, T. Bacterial volatile-mediated suppression of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) / T. Yang, Y. Xin, T. Liu, Z. Li, X. Liu, Y. Wu, M. Xiang // Plant Disease. – 2022. – Vol. 106, No. 5. – P. 1358–1365.

339. Yeo, Y. J. Biocontrol of Fusarium head blight in rice using *Bacillus velezensis* JCK-7158 / Y. J. Yeo, A. R. Park, B. S. Vuong, J. C. Kim // Frontiers in Microbiology. – 2024. – Vol. 15. – P. 1358689.

340. Yu, H. Recombinant *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus with arthropod-specific neurotoxin gene RjAa17f from *Rhopalurus junceus* enhances the virulence against the host larvae / H. Yu, B. Zhou, J. Meng, J. Xu, T.-X. Liu, D. Wang // Insect Science. – 2017. – Vol. 24, No. 3. – P. 397–408. – DOI: 10.1111/1744-7917.12289.

341. Zamora-Avilés, N. Cool-textured diets for use in baculovirus production / N. Zamora-Avilés, A. M. Martínez, S. Pineda, A. Bravo-Patiño, I. Figueroa, R. Lasa // Biocontrol Science and Technology. – 2017. – Vol. 27, No. 11. – P. 1327–1338. – DOI: 10.1080/09583157.2017.1397598.

342. Zhang, C. Rapid and mass production of biopesticide Trichoderma Brev T069 from cassava peels using newly established solid-state fermentation bioreactor system / C. Zhang, R. A. A. Khan, H. Wei, R. Wang, J. Hou, T. Liu // Journal of Environmental Management. – 2022. – Vol. 313. – P. 114981.
343. Zhang, F. Effects of surfactin stress on gene expression and pathological changes in *Spodoptera litura* / F. Zhang, Q. Liu, Y. Wang, J. Yin, X. Meng, J. Wang, L. Zhang // Scientific Reports. – 2024. – Vol. 14, No. 1. – P. 1–16.
344. Zhao, D. Complete genome sequence and comparative analysis of *Bacillus velezensis* Lzh-5, a fungal antagonistic and plant growth-promoting strain / D. Zhao, Y. Wu, J. Qu, L. Fang, C. Liu, L. Zhang, Z. Li // BMC Microbiology. – 2025. – Vol. 25, No. 1. – P. 1–12.
345. Zhao, X. Biofilm-forming ability of *Bacillus thuringiensis* strains from biopesticides on polystyrene and their attachment on spinach / X. Zhao, M. Höfte, P. Spanoghe, A. Rajkovic, M. Uyttendaele // Journal of Food Protection. – 2024. – Vol. 87, No. 8. – P. 100321.
346. Zhu L., Peng D., Liu H. Genomic and transcriptomic insights into the efficient entomopathogenicity of *Bacillus thuringiensis* // Scientific Reports. 2015. Vol. 5. Art. 14129.
347. Zimmermann, G. Occurrence and prevalence of insect pathogens in populations of the codling moth *Cydia pomonella* L.: a long-term diagnostic survey / G. Zimmermann, A. M. Huger, R. G. Kleespies // Insects. – 2013. – Vol. 4, No. 3. – P. 425–446.

Приложение А

Таблица 1 – Мониторинг лета яблонной плодожорки *C. pomonella* на феромонные ловушки, хутор Покровский, Краснодарский край, 2023–2024 гг.

П.п.	2023				2024			
	дата учета	насекомые, шт.			дата учета	насекомые, шт.		
		ловушка 1	ловушка 2	ловушка 3		ловушка 1	ловушка 2	ловушка 3
1	07.04.2023	0	0	0	0	0	0	0
2	26.04.2023	1	0	0	1	0	0	0
3	05.05.2023	1	0	2	3	0	1	0
4	19.05.2023	2	4	2	8	4	4	1
5	02.06.2023	0	3	2	5	2	0	3
6	22.06.2023	5	3	1	9	0	0	3
7	07.07.2023	3	5	2	10	2	1	1
8	28.07.2023	0	0	2	2	3	3	2
9	04.08.2023	1	1	5	7	2	1	3
10	18.08.2023	0	2	1	3	5	5	0
11	08.09.2023	3	2	1	6	3	2	0
13	22.09.2023	0	1	1	2	2	2	2

Приложение Б

Таблица 1 – Идентификаторы и характеристики геномов из базы NCBI RefSeq

ID сборки	Видовое название с указанием штамма	Уровень сборки	Размер (п.н.)
GCF_000769555.1	<i>Bacillus velezensis</i> str. JS25R	complete genome, circular	4 Мб
GCF_000009045.1	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> str. 168	complete genome, circular	4,22 Мб
GCF_000161615.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> serovar <i>berliner</i> ATCC 10792	chromosome, circular	6,26 Мб
GCF_002220285.1	<i>Bacillus cereus</i> str. FORC_047	complete genome, circular	5,37 Мб
GCF_003627995.1	<i>Brevundimonas naejangsanensis</i> str. BRV3	complete genome, circular	3 Мб
GCF_002278035.1	(<i>Ochrobactrum</i>) <i>quorumnocens</i> str. A44 chromosome 1, 2	complete genome, circular	5,65 Мб
GCF_014205685.1	<i>Paenochrobactrum gallinarii</i> str. DSM 22336 Ga0373297_01	contig, linear	3,39 Мб
GCF_000967305.2	<i>Alcaligenes faecalis</i> str. ZD02	complete genome, circular	4,23 Мб
GCF_902859635.1	<i>Achromobacter marplatensis</i> str. LMG 26219 isolate LMG 26219	contig, linear	6,89 Мб
GCF_024399335.1	<i>Leucobacter aridicollis</i> str. J1	complete genome, circular	3,60 Мб
GCF_006716085.1	<i>Leucobacter komagatae</i> str. DSM 8803 Ga0197513_11	contig, linear	3,75 Мб
GCF_041929825.1	<i>Paenochrobactrum glaciei</i> str. JCM 15115	scaffold, linear	3.7 Мб
GCF_026344155.1	<i>Alcaligenes nematophilus</i> str. A-TC2 Strain2_2a_1	contig, linear	4.3 Мб
GCF_013409595.1	<i>Leucobacter aridicollis</i> str. DSM 17380 Ga0104574_01	contig, linear	3.6 Мб
GCF_019049105.1	<i>Leucobacter chinensis</i> str. NC76-1	contig, linear	2.9 Мб

Приложение В

Таблица 1 – Морфологические признаки клеток штаммов бактерий

П.п.	Шифр штамма	Окраска по Граму	Форма клеток и их расположение	Размер клеток, мкм	Способность к спорообразованию и расположению в клетках спор
1	BZR 588	Отрицательная	Палочковидные, короткие, одиночные или соединены парами	0,4–0,5 × 1,5–2,9	Споры отсутствуют
2	BZR 1159	Отрицательная	Палочковидные, длинные, соединены в цепочки или одиночные	0,5–0,7 × 1,4–3,1	Споры отсутствуют
3	BZR 920	Положительная	Палочковидные, одиночные или соединены цепочками	0,4–0,6 × 1,8–3,6	Споры отсутствуют
4	BZR 936	Положительная	Палочковидные, продолговатые, одиночные или соединены парами	0,8–0,9 × 3,1–3,6	Имеются споры, расположение субтерминальное
5	BZR 206	Положительная	Палочковидные, короткие, одиночные или соединены парами	0,4–0,6 × 1,9–2,4	Споры отсутствуют
6	BZR 926	Положительная	Палочковидные, короткие, одиночные или соединены парами	0,4–0,5 × 1,7–2,2	Имеются споры, расположение субтерминальное
7	BZR 466	Положительная	Палочковидные, одиночные или соединены парами	0,4–0,6 × 1,9–2,6	Имеются споры, расположение субтерминальное
8	BZR 736	Положительная	Палочковидные, продолговатые, соединены в цепочки или одиночные	0,5–0,8 × 2,1–4,3	Имеются споры, расположение субтерминальное

П.п.	Шифр штамма	Окраска по Граму	Форма клеток и их расположение	Размер клеток, мкм	Способность к спорообразованию и расположению в клетках спор
9	BZR 635	Положительная	Палочковидные, одиночные или соединены парами	0,4–0,5 × 1,4–1,9	Имеются споры, расположение субтерминальное
10	BZR 762	Отрицательная	Палочковидные, одиночные или соединены парами	0,4–0,5 × 1,3–1,9	Споры отсутствуют
11	BZR 278	Отрицательная	Палочковидные, короткие, соединены в цепочки или одиночные	0,4–0,5 × 1,2–1,9	Споры отсутствуют
12	BZR 201	Положительная	Палочковидные, короткие, одиночные или соединены парами	0,4–0,6 × 2,0–2,5	Имеются споры, расположение субтерминальное
13	BZR 162	Положительная	Палочковидные, одиночные или соединены парами	0,4–0,5 × 1,4–2,0	Имеются споры, расположение субтерминальное
14	BZR 585	Положительная	Палочковидные, короткие, одиночные или соединены парами	0,4–0,5 × 1,5–2,3	Имеются споры, расположение субтерминальное
15	<i>B. thuringiensis</i> BZR G1	Положительная	Палочковидные, короткие, одиночные или соединены парами	0,8–0,9 × 2,6–4,0	Имеются споры, расположение субтерминальное
16	<i>B. thuringiensis</i> BZR G3	Положительная	Палочковидные, продолговатые, одиночные или соединены парами	0,8–1,0 × 2,4–3,3	Имеются споры, расположение терминальное
17	<i>B. velezensis</i> BZR 277	Положительная	Палочковидные, короткие, одиночные или соединены парами	0,5–0,8 × 1,6–3,2	Имеются споры, расположение терминальное

Таблица 2 – Культурально-морфологические признаки колоний перспективных штаммов бактерий

П.п.	Шифр штамма	Форма	Диаметр колонии, мм	Поверхность	Профиль	Блеск и прозрачность	Цвет	Край	Структура	Консистенция
1	BZR 936	Ризоидная	<1	Гладкая	Плоский	Блестящая, непрозрачная	Молочно-белый	Волнистый	Мелкозернистая	Мягкая, легко снимается с агара, пастообразная
2	BZR 736	Складчатая	1–7	Шероховатая	Бугристый	Матовая, непрозрачная	Молочно-белый	Неправильный	Крупнозернистая	Мягкая, легко снимается с агара, пастообразная
3	<i>B. velezensis</i> BZR 277	Неправильная	1–9	Гладкая	Плоский	Блестящая, полупрозрачная	Молочно-белый	Лопастный	Мелкозернистая	Мягкая, легко снимается с агара, пастообразная
4	BZR G2	Круглая	1–4	Гладкая	Плоский	Блестящая, непрозрачная	Бежевый	Гладкий	Гиалиновая	Мягкая, легко снимается с агара, пастообразная
5	<i>B. thuringiensis</i> BZR G1	Круглая с фестончатым краем	1–4	Шероховатая	Плоский	Блестящая, непрозрачная	Телесный	Зубчатый	Крупнозернистая	Мягкая, легко снимается с агара, пастообразная

П.п.	Шифр штамма	Форма	Диаметр колонии, мм	Поверхность	Профиль	Блеск и прозрачность	Цвет	Край	Структура	Консистенция
6	BZR 588	Круглая с фестончатым краем	1–2	Гладкая	Плоский	Блестящая, непрозрачная	Телесно-розовый	Гладкий	Гиалиновая	Плотная, врастаящая в агар, пастообразная, пигмент диффундировал в агар
7	BZR 926	Ризоидная	1–2	Выпуклая	Плоский	Блестящая, полупрозрачная	Молочно-белый	Лопастный	Крупнозернистая	Мягкая, легко снимается с агара, пастообразная
8	BZR 920	Ризоидная	1–3	Выпуклая	Плоский	Матовая, полупрозрачная	Молочно-белый	Лопастный	Мелкозернистая	Плотная, врастаящая в агар, пастообразная
9	BZR 762	Круглая с фестончатым краем	<1	Гладкая	Плоский	Матовая, непрозрачная	Бежевый	Волнистый	Мелкозернистая	Плотная, врастаящая в агар, пастообразная
10	<i>B. thuringiensis</i> BZR G3	Круглая с фестончатым краем	1–7	Шероховатая	Плоский	Матовая, непрозрачная	Бежевый	Волнистый	Крупнозернистая	Мягкая, легко снимается с агара, пастообразная
11	BZR 466	Круглая	1–4	Гладка	Плоский	Блестящая,	Молочно-	Лопастный	Крупнозер	Мягкая, легко

П.п.	Шифр штамма	Форма	Диаметр колонии, мм	Поверхность	Профиль	Блеск и прозрачность	Цвет	Край	Структура	Консистенция
		с фестончатым краем		я		полупрозрачная	белый		нистая	снимается с агара, пастообразная
12	BZR 635	Круглая	1–3	Гладкая	Плоский	Блестящая, полупрозрачная	Молочно-белый	Гладкий	Гиалиновая	Слизистая, прилипающая и тянущаяся за петлей
13	BZR 162	Круглая	1–4	Выпуклая	Плоский	Блестящая, полупрозрачная	Телесный	Гладкий	Гиалиновая	Слизистая, прилипающая и тянущаяся за петлей
14	BZR 585	Круглая	1–4	Выпуклая	Плоский	Блестящая, полупрозрачная	Телесный	Гладкий	Гиалиновая	Слизистая, прилипающая и тянущаяся за петлей
15	BZR 201	Круглая	1–5	Выпуклая	Плоский	Блестящая, полупрозрачная	Телесный	Гладкий	Гиалиновая	Слизистая, прилипающая и тянущаяся за петлей
16	BZR 206	Круглая с фестончатым краем	1–4	Шероховатая	Плоский	Матовая, непрозрачная	Бежевый	Волнистый	Крупнозернистая	Мягкая, легко снимается с агара, пастообразная

П.п.	Шифр штамма	Форма	Диаметр колонии, мм	Поверхность	Профиль	Блеск и прозрачность	Цвет	Край	Структура	Консистенция
17	BZR 278	Ризоидная	1–6	Гладкая	Плоский	Блестящая, полупрозрачная	Молочно-белый	Лопастный	Крупнозернистая	Мягкая, легко снимается с агара, пастообразная
18	BZR 1159	Круглая	1–7	Выпуклая	Плоский	Блестящая, полупрозрачная	Телесный	Гладкий	Гиалиновая	Слизистая, прилипающая и тянущаяся за петлей

Таблица 3 – Результаты анализа таксономического состава исследуемых образцов с помощью Metaphlan и MaxBin2

П.п.	Шифр штамма	Вид по Metaphlan, количество прочтений	Номер бина – полнота бина %	Вид по TCS
1	BZR 1159	<i>Brevundimonas_naejangsanensis</i> , 100 %	1) 001 – 38.3 2) 002 – 57.9	1) <i>Brevundimonas naejangsanensis</i> DSM 23858 2) <i>Brevundimonas naejangsanensis</i> DSM 23858
2	BZR 162	<i>Ochrobactrum_quorumnocens</i> , 78.9 % Unclassified, 21.1 %	2) 002 – 87.9	2) <i>Ochrobactrum quorumnocens</i> A44
3	BZR 201	<i>Leucobacter_aridicollis</i> , 56.1 % Unclassified, 43.5 % <i>Paenochrobactrum_gallinarii</i> , 0.4 %	1) 001 – 95.3 2) 002 – 99.1	1) <i>Leucobacter aridicollis</i> L-9 2) <i>Paenochrobactrum glaciei</i> JCM 15115
4	BZR 206	<i>Leucobacter_aridicollis</i> , 90.5 % Unclassified, 9.5 %	1) 001 – 95.3 2) 002 – 75.7	1) <i>Leucobacter aridicollis</i> DSM 17380 2) <i>Leucobacter chinensis</i> NC76-1
5	BZR 278	<i>Alcaligenes_faecalis</i> , 92.7 % <i>Brevundimonas_naejangsanensis</i> 0.4 % Unclassified, 7.3 %	1) 001 – 100	1) <i>Alcaligenes nematophilus</i> A-TC2
6	BZR 466	<i>Leucobacter_aridicollis</i> , 69.8 % <i>Brevundimonas_naejangsanensis</i> , 19.3 % Unclassified, 11.5 %	1) 001 – 95.3 2) 002 – 95.3	1) <i>Leucobacter aridicollis</i> DSM 17380 2) <i>Brevundimonas naejangsanensis</i> DSM 23858
7	BZR 585	<i>Alcaligenes_faecalis</i> , 91.1 % Unclassified, 8.9 %	1) 001 – 100	1) <i>Alcaligenes nematophilus</i> A-TC2
8	BZR 588	Unclassified, 95.8 % <i>Paenochrobactrum_gallinarii</i> SGB85919, 4.2 %	1) 001 – 99.1 2) 002 – 94.4 3) 003 – 84.1	1) <i>Paenochrobactrum glaciei</i> JCM 15115 2) <i>Leucobacter chinensis</i> NC76-1 3) <i>Leucobacter komagatae</i> DSM 8803

П.п.	Шифр штамма	Вид по Metaphlan, количество прочтений	Номер бина – полнота бина %	Вид по TCS
9	BZR 635	Unclassified, 99.9 % Mesorhizobium_hungaricum SGB11031, 0.1 %	1) 001 – 38.3 2) 002 – 57.9	1) <i>Leucobacter</i> sp. G161 2) <i>Leucobacter</i> sp. G161 (<i>Leucobacter komagatae</i>)
10	BZR 736	Bacillus_cereus, 87 % Unclassified, 13 %	1) 002 – 99.1	1) <i>Bacillus cereus</i> BAG1O-3
11	BZR 762	Alcaligenes_faecalis, 92.1 % Unclassified, 7.9 %	1) 001 – 64.5 2) 002 – 35.5	1) <i>Alcaligenes nematophilus</i> A-TC2 2) <i>Alcaligenes nematophilus</i> A-TC2
12	BZR 920	Bacillus_velezensis, 100 %	1) 001 – 51.4 2) 002 – 46.7	1) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> Bs006 2) <i>Bacillus velezensis</i> OB9
13	BZR 926	Achromobacter_sp_MYb9, 47.9 % Unclassified, 52.1 %	1) 001 – 74.8 2) 002 – 26.2	1) <i>Achromobacter marplatensis</i> B2 2) <i>Achromobacter marplatensis</i> HLE
14	BZR 936	Bacillus_velezensis, 100 %	1) 001 – 45.8 2) 002 – 54.2	1) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> EGD-AQ14 2) <i>Bacillus velezensis</i> OB9
15	BZR G1	Bacillus_cereus, 70 % Unclassified, 30 %	1) 001 – 100	1) <i>Bacillus thuringiensis</i> ser. <i>kurstaki</i> str. T03a001
16	BZR G2	Bacillus_cereus, 78.7 % Unclassified, 21.3 %	1) 001 – 100	1) <i>Bacillus thuringiensis</i> ser. <i>kurstaki</i> str. T03a001
17	BZR G3	Bacillus_cereus, 75.4 % Unclassified, 24.6 %	1) 001 – 99.1	1) <i>Bacillus thuringiensis</i> ser. <i>kurstaki</i> str. T03a001

Таблица 4 – Анализ представителей рода *Alcaligenes*

Показатель	BZR 278	BZR 585	BZR 762	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Alcaligenes nematophilus</i>
BZR 278	*	98.04	99.86	91.75	97.82
BZR 585	98.14	*	98.33	91.74	97.90
BZR 762	99.99	98.39	*	92.07	98.10
<i>Alcaligenes faecalis</i>	91.81	91.69	92.08	*	91.66
<i>Alcaligenes nematophilus</i>	97.84	97.94	98.06	91.60	*

Примечание: Средняя нуклеотидная идентичность (%), посчитанная на основе BLAST-выравнивания (ANIB). Значения выше порога видовой специфичности (>95 %) отмечены жирным шрифтом.

196

Таблица 5 – Анализ представителей рода *Paenochrobactrum*

Показатель	BZR 588	BZR 201P	<i>Paenochrobactrum glaciei</i>	<i>Paenochrobactrum gallinarii</i>
BZR 588	*	99.95	84.93	85.12
BZR 201P	100	*	84.88	85.08
<i>Paenochrobactrum glaciei</i>	84.93	84.9	*	91.18
<i>Paenochrobactrum gallinarii</i>	85.11	85.09	91.32	*

Примечание: Средняя нуклеотидная идентичность (%), посчитанная на основе BLAST-выравнивания (ANIB). Значения выше порога видовой специфичности (>95 %) отмечены жирным шрифтом.

Таблица 6 – Анализ представителей рода *Leucobacter*

Показатель	<i>L. komagatae</i>	<i>L. chinensis</i>	<i>L. aridicollis</i> J1	<i>L. aridicollis</i> DSM 17380	BZR 635	BZR 466	BZR 206	BZR 201
<i>L. komagatae</i>	*	71.44	81.73	84.48	82.18	84.34	84.39	84.48
<i>L. chinensis</i>	71.11	*	70.43	71.10	72.32	71.06	71.02	71.17
<i>L. aridicollis</i> J1	81.83	70.74	*	85.23	80.81	84.88	84.91	85.08
<i>L. aridicollis</i> DSM 17380	84.62	71.52	85.33	*	82.26	96.42	96.47	96.65
BZR 635	82.12	72.22	80.48	82.18	*	82.03	82.05	82.07
BZR 466	84.49	71.38	85.13	96.66	82.06	*	99.95	99.72
BZR 206	84.46	71.27	85.09	96.58	82.11	99.97	*	99.78
BZR 201	84.7	71.52	85.35	96.90	82.35	99.9	99.95	*
<i>Примечание:</i> Средняя нуклеотидная идентичность (%), посчитанная на основе BLAST-выравнивания (ANIb). Значения выше порога видовой специфичности (>95 %) отмечены жирным шрифтом.								

Таблица 7 – Характеристики прочтений анализируемых библиотек после картирования на референсный геном

Штамм	Средняя длина прочтения, п.н.	Количество картированных парных прочтений, шт.	Количество некартированных прочтений, шт.	Показатель покрытия, х	Референс	Размер референса, п.н.
BZR 1159	147	6331224	4180620	309.98	<i>Brevundimonas naejangsanensis</i>	3002429
BZR 162	148	9915864	1105645	259.96	<i>Ochrobactrum quorumnocens</i>	5645291
BZR 201	147	4001040	8127299	163.19	<i>Leucobacter aridicollis</i>	3604182

Штамм	Средняя длина прочтения, п.н.	Количество картированных парных прочтений, шт.	Количество некартированных прочтений, шт.	Показатель покрытия, х	Референс	Размер референса, п.н.
BZR 201	147	2525208	9743639	109.36	<i>Paenochrobactrum gallinarii</i>	3394372
BZR 206	148	474608	8752525	23.87	<i>Leucobacter chinensis</i>	2942897
BZR 206	148	5007596	3897350	205.63	<i>Leucobacter aridicollis</i>	3604182
BZR 278	147	9393626	1699848	325.01	<i>Alcaligenes faecalis</i>	4248684
BZR 466	148	3370534	3716867	138.41	<i>Leucobacter aridicollis</i>	3604182
BZR 466	148	572786	6808946	28.23	<i>Brevundimonas naejangsanensis</i>	3002429
BZR 585	148	9408014	1620330	327.72	<i>Alcaligenes faecalis</i>	4248684
BZR 588	147	1216588	11629720	60.77	<i>Leucobacter chinensis</i>	2942897
BZR 588	147	156362	12665737	6.13	<i>Leucobacter komagatae</i>	3752337
BZR 588	147	5722406	6670598	247.82	<i>Paenochrobactrum gallinarii</i>	3394372
BZR 635	146	3293472	7567326	128.15	<i>Leucobacter komagatae</i>	3752337
BZR 736	146	11600280	3078222	290.16	<i>Bacillus cereus</i>	5836971
BZR 762	147	10471876	1873636	362.32	<i>Alcaligenes faecalis</i>	4248684
BZR 920	147	10720980	611421	392.58	<i>Bacillus velezensis</i>	4014440
BZR 926	149	7744462	2597950	167.58	<i>Achromobacter marplatensis</i>	6885835
BZR 936	146	12099898	742665	440.06	<i>Bacillus velezensis</i>	4014440
BZR G1	145	11960582	4637394	277.04	<i>Bacillus thuringiensis</i>	6260142
BZR G2	147	11485386	3214132	269.70	<i>Bacillus thuringiensis</i>	6260142
BZR G3	146	11779934	3553622	274.73	<i>Bacillus thuringiensis</i>	6260142

Таблица 8 – Характеристики финальной сборки

П.п.	Штамм	Число контигов, шт.	Наибольший контиг, п.н.	Общая длина сборки, п.н.	N50, L50	CG состав, %
1	BZR 1159	335	40653	2197561	9552, 70	67.58
2	BZR 162	201	450796	5054509	197599, 9	53.04
3	BZR 201	26	462272	3141599	327167, 4	67.80
3'	BZR 201P	54	799299	3340882	232095, 5	48.56
4	BZR 206	30	711283	3340555	168223, 6	67.56
5	BZR 278	12	946314	4186958	552389, 3	56.44
6	BZR 466	36	557721	3346031	153659, 7	67.48
7	BZR 585	5	1274355	4182159	1082409, 2	56.42
8	BZR 588	60	508611	3369627	289459, 5	48.57
9	BZR 635	233	14485	996888	5289, 69	66.15
10	BZR 736	35	977449	5343750	324403, 5	35.03
11	BZR 762	171	175239	3791641	39236, 27	56.74
12	BZR 920	75	377855	3685685	86063, 11	46.88
13	BZR 926	245	121872	5204647	41192, 39	65.23
14	BZR 936	71	377854	3688350	86498, 11	46.88
15	BZR G1	125	222941	5356821	113824, 18	34.98
16	BZR G2	119	222941	5363533	121534, 17	34.96
17	BZR G3	125	222941	5309338	114667, 18	35.04

Примечание: 3' – второй референсный геном. Для отличия данный образец помечается как BZR 201P.

Таблица 9 – Характеристики аннотаций геномов рода *Bacillus* из анализируемых образцов в сопоставлении с соответствующими референсными геномами

Штамм / Референс	Общая длина сборки, п.н.	CDS, шт.	Предсказанные белки, %
<i>B. cereus</i> BZR 736	5343750	5366	55.31
<i>B. velezensis</i> BZR 920	3685685	3528	70.83
<i>B. velezensis</i> BZR 936	3688350	3530	70.88
<i>B. thuringiensis</i> BZR G1	5356821	5480	53.14
<i>B. thuringiensis</i> BZR G2	5363533	5492	52.62
<i>B. thuringiensis</i> BZR G3	5309338	5405	53.76
<i>Bacillus velezensis</i>	4014440	3772	91.60
<i>Bacillus cereus</i>	5836971	5607	87.41
<i>Bacillus thuringiensis</i>	6260142	6171	82.77

Таблица 10 – Характеристики аннотаций геномов рода *Leucobacter* из анализируемых образцов в сопоставлении с соответствующими референсными геномами

Штамм / Референс	Общая длина сборки, п.н.	CDS, шт.	Предсказанные белки, %
<i>L. aridicollis</i> BZR 201	3141599	2794	58.70
<i>L. aridicollis</i> BZR 206	3340555	2961	57.11
<i>L. aridicollis</i> BZR 466	3346031	2980	56.54
<i>Leucobacter</i> sp. BZR 635	1896445	1704	56.04
<i>Leucobacter aridicollis</i>	3604182	3156	87.83
<i>Leucobacter komagatae</i>	3752337	3329	86.18

Таблица 11 – Характеристики аннотаций геномов филума *Pseudomonadota* из анализируемых образцов в сопоставлении с соответствующими референсными геномами

Штамм / Референс	Общая длина сборки, п.н.	CDS, шт.	Предсказанные белки, %
<i>B. naejangsanensis</i> BZR 1159	2197561	2067	59.07
<i>O. quorumnocens</i> BZR 162	5054509	4721	59.52
<i>Paenochrobactrum</i> sp. BZR 201P	3340882	3139	61.39
<i>Paenochrobactrum</i> sp. BZR 588	3369627	3165	60.35
<i>A. nematophilus</i> BZR 278	4186958	3810	63.33
<i>A. nematophilus</i> BZR 585	4182159	3804	63.51
<i>A. nematophilus</i> BZR 762	3791641	3430	66.38
<i>A. marplatensis</i> BZR 926	5204647	4762	65.20
<i>Brevundimonas naejangsanensis</i>	3002429	2824	86.90
<i>Ochrobactrum quorumnocens</i>	5645291	5 118	89.27
<i>Paenochrobactrum gallinarii</i>	3394372	3 053	91.12
<i>Alcaligenes nematophilus</i>	4251628	3858	91.37
<i>Achromobacter marplatensis</i>	6885835	6274	90.16

Таблица 12 – Идентификаторы аминокислотных последовательностей из базы UniprotDB или NCBI Protein

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
H9TE70	Fengycin synthetase A	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (<i>Bacillus velezensis</i>)	Найден по гомологии
A0A2H4RAR5	Surfactin synthetase SrfA	<i>Lysinibacillus sphaericus</i> (<i>Bacillus sphaericus</i>)	Найден по гомологии
Q45582	Iturin A synthetase	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Найден по гомологии
H9TE63	Bacillomycin synthetase B	<i>Bacillus velezensis</i>	Найден по гомологии
Q9R9J1	Mycosubtilin synthetase	<i>Bacillus subtilis</i>	Найден по гомологии
Q03746	Pesticidal crystal protein Cry1Fa	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i>	Не найден
F5CTH7	Vegetative insecticidal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q938Z1	Vegetative insecticidal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
F6GPM2	Vip3Aa-like protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
F6GPM5	Vip3Aa-like protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0M3PNL9	Vip3A-380	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P0A366	Pesticidal crystal protein Cry2Ab	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q58XI2	Vegetative insecticidal protein Vip3Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A5B6WBA6	Pesticidal crystal cry1Fa	<i>Gossypium australe</i>	Не найден
Q03746	Pesticidal crystal cry1Fa	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i>	Не найден
A0A0B0PDA4	Pesticidal crystal cry1Fa	<i>Gossypium arboreum</i> (Tree cotton) <i>(Gossypium nanking)</i>	Не найден
F1CEP6	Insecticidal toxin complex protein	<i>Xenorhabdus</i> sp. SY5	Не найден
Q9RN43	Insecticidal toxin	<i>Photorhabdus luminescens</i> <i>(Xenorhabdus luminescens)</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
Q7N7Y9	Tca toxin complex protein TcdA1	<i>Photorhabdus luminescens</i> subsp. <i>laumondii</i>	Не найден
A0A2D0IN23	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	<i>Xenorhabdus ehlersii</i>	Найден по гомологии
I4CMB4	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	<i>Xenorhabdus ehlersii</i>	Найден по гомологии
Q7N7Y9	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	<i>Xenorhabdus ehlersii</i>	Не найден
A0A3M3CLU9	Insecticidal toxin complex protein TcdA1	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>pisi</i>	Не найден
A0A3M5WWB2	Insecticidal toxin complex protein TcdA1	<i>Pseudomonas syringae</i>	Не найден
A0A0P9PR43	Insecticidal toxin complex protein TcdA1	<i>Pseudomonas syringae</i>	Не найден
Q7N7Y6	Insecticidal toxin complex protein TcdA4	<i>Photorhabdus laumondii</i> subsp. <i>laumondii</i> (str. DSM 15139 / CIP 105565 / TT01) (<i>Photorhabdus luminescens</i> subsp. <i>laumondii</i>)	Не найден
A0A0E1VQ52	Insecticidal toxin complex protein TcdA2	<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Не найден
A0A2D0KB91	Insecticidal toxin protein	<i>Xenorhabdus stockiae</i>	Не найден
A0A3N1I5J9	Virulence plasmid A protein	<i>Enterobacter</i> sp. BIGb0383	Не найден
A0A022PF31	Virulence plasmid 28 protein	<i>Photorhabdus aegyptia</i>	Не найден
B6A876	Chitinase 1	<i>Yersinia entomophaga</i>	Не найден
C7G3K3	Peptide LaIT2	<i>Liocheles australasiae</i> (Dwarf wood scorpion)	Не найден
A0A011QKM9	Tc toxin complex TcA C-terminal TcB-binding domain-containing protein	<i>Accumulibacter regalis</i>	Не найден
B0YIU8	Vip1A	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A161ASX7	Vip1-like protein	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
Q06K91	VipS	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DNF1	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
A0A0A7DNJ0	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DNJ2	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0B4VBP7	Vegetative insecticidal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0U3YUD8	Vegetative insecticidal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
F6GPK9	Vegetative insecticidal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
I6LVB1	Vegetative insecticidal protein (Vip3Aa45)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
O69270	Vegetative insecticidal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
F6GPM2	Vip3Aa-like protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
F6GPM4	Vip3Aa-like protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
F6GPM5	Vip3Aa-like protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DN63	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DN65	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DN95	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DN96	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DN98	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DNC8	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DNC9	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DND0	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DNE5	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DNE8	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
B8YPD8	Vegetative insecticidal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
F6GPM3	Vip3Aa-like protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
I6LPV9	Vegetative insecticidal protein (Vip3Ag4)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0A7DN64	Vegetative insecticidal protein (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A9W3SIZ8	Vegetative insecticidal-like protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
G8C881	Vegetative insecticidal protein	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
Q93D79	Insecticidal protein Vip3A (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A3S8Z5C1	Vip3Aa (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A161ASY8	Vip2-like protein	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
B0YIU7	Vip2A (BR)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
B5M693	Vegetative insecticidal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
C6ZJL0	Vegetative insecticidal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
G8C882	Vegetative insecticidal protein	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
A0A0G2XHX0	Vip1Ca2	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A0G8BYX8	Protective antigen Ca-binding domain-containing protein	<i>Bacillus wiedmannii</i>	Не найден
A0A0G8F5B6	Protective antigen Ca-binding domain-containing protein	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
A0A109GET0	Protective antigen Ca-binding domain-containing protein	<i>Bacillus mycoides</i>	Не найден
A0A161RHI4	Anthrax toxin moiety protective antigen	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
A0A1E8BKD4	Protective antigen Ca-binding domain-containing protein	<i>Bacillus mycoides</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
A0A1G4ERP6	Protective antigen Ca-binding domain-containing protein	<i>Bacillus mycoides</i>	Не найден
A0A1G6UVC5	Binary toxin B/toxin PA	<i>Bacillus wiedmannii</i>	Не найден
A0A1H3RB62	Binary toxin B/toxin PA	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
A0A1I1TSF3	Binary toxin B/toxin PA	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
A0A1I6ULP4	Binary toxin B/toxin PA	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
A0A1I6WAD6	Binary toxin B/toxin PA	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
A0A1P8BJT2	Binary vegetative insecticidal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A1R1S2A9	Exotoxin	<i>Bacillus svezeyi</i>	Не найден
A0A2A7HU26	Protective antigen Ca-binding domain-containing protein	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
A0A2A8B0D6	Exotoxin (Fragment)	<i>Bacillus wiedmannii</i>	Не найден
A0A2B9DVG3	Iota toxin protein Ib	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
A0A2B9E9Y9	Iota toxin protein Ib	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
A0A2C1D0N5	Protective antigen Ca-binding domain-containing protein	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
A0A2C4U085	Protective antigen Ca-binding domain-containing protein	<i>Bacillus pseudomycoides</i>	Не найден
A0A2C5HFU9	Protective antigen Ca-binding domain-containing protein	<i>Bacillus toyonensis</i>	Не найден
A0A2H3MJI8	Exotoxin	<i>Bacillus pseudomycoides</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
A0A2T0EEA0	Protective antigen Ca-binding domain-containing protein	<i>Bacillus toyonensis</i>	Не найден
A0A346MPU1	Recombinant protective antigen domain 1 (Fragment)	<i>Bacillus anthracis</i>	Не найден
A0A346MPU2	Recombinant protective antigen domain 2 (Fragment)	<i>Bacillus anthracis</i>	Не найден
A0A4P8YU49	Binary toxin B-like protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A4U3AV27	Clostridial binary toxin B/anthrax toxin PA domain-containing protein	<i>Bacillus wiedmannii</i>	Не найден
A0A7Z8RTL2	Clostridial binary toxin B/anthrax toxin PA domain-containing protein	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
A0A9Q5W500	Protective antigen Ca-binding domain-containing protein	<i>Bacillus wiedmannii</i>	Не найден
A0A9X6WW99	Iota toxin protein Ib	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
A0A9X7GQ93	Iota toxin protein Ib	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
A0AA44KTY6	Protective antigen Ca-binding domain-containing protein	<i>Bacillus proteolyticus</i>	Не найден
A0AAE2ILT3	Anthrax toxin moiety protective antigen	<i>Bacillus mycoides</i>	Не найден
P05519	Pesticidal crystal protein Cry4B protoxin	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
O06014	Pesticidal crystal protein Cry9Da	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
O66377	Pesticidal crystal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
	Cry1Fb		
O85805	Pesticidal crystal protein Cry1Be	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P05068	Pesticidal crystal protein Cry1Ac	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P09662	Pesticidal crystal protein Cry10Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P0A366	Pesticidal crystal protein Cry1Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P0A367	Pesticidal crystal protein Cry1Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P0A368	Pesticidal crystal protein Cry1Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P0A369	Pesticidal crystal protein Cry1Aa (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P0A370	Pesticidal crystal protein Cry1Ab	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P0A371	Pesticidal crystal protein Cry1Ab	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P0A372	Pesticidal crystal protein Cry1Ab	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P0A373	Pesticidal crystal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
	Cry1Ba		
P0A375	Pesticidal crystal protein Cry1Ca	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P0A376	Pesticidal crystal protein Cry1Ca	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P16480	Pesticidal crystal protein Cry4Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P17969	Pesticidal crystal protein Cry3Ba	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P19415	Pesticidal crystal protein Cry1Da	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P56	Pesticidal crystal protein Cry1Cb	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P56955	Pesticidal crystal protein Cry5Ac	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P56956	Pesticidal crystal protein Cry21Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P96315	Pesticidal crystal protein Cry1Af	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q03744	Pesticidal crystal protein Cry1Ad	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q03745	Pesticidal crystal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
	Cry1Eb		
Q03746	Pesticidal crystal protein Cry1Fa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q03748	Pesticidal crystal protein Cry1Ae	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q03749	Pesticidal crystal protein Cry7Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45358	Pesticidal crystal protein Cry18Aa	<i>Paenibacillus popilliae</i>	Не найден
Q45704	Pesticidal crystal protein Cry8Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45705	Pesticidal crystal protein Cry8Ba	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45706	Pesticidal crystal protein Cry8Ca	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45707	Pesticidal crystal protein Cry7Ab	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45708	Pesticidal crystal protein Cry7Ab	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45712	Pesticidal crystal protein Cry5Ba	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45715	Pesticidal crystal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
	Cry1Ka		
Q45716	Pesticidal crystal protein Cry1Jb	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45718	Pesticidal crystal protein Cry1Hb	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45733	Pesticidal crystal protein Cry9Ca	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45738	Pesticidal crystal protein Cry1Ja	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45739	Pesticidal crystal protein Cry1Bb	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45746	Pesticidal crystal protein Cry1Ga	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45747	Pesticidal crystal protein Cry1Db	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45748	Pesticidal crystal protein Cry1Ha	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45753	Pesticidal crystal protein Cry5Ab	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45754	Pesticidal crystal protein Cry12Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45760	Pesticidal crystal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
	Cry5Aa		
Q45774	Pesticidal crystal protein Cry1Bc	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q57458	Pesticidal crystal protein Cry1Ea	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q99031	Pesticidal crystal protein Cry9Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q9S515	Pesticidal crystal protein Cry1Ag	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q9X597	Pesticidal crystal protein Cry26Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q9X682	Pesticidal crystal protein Cry28Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q9ZAZ5	Pesticidal crystal protein Cry1Bd	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q9ZAZ6	Pesticidal crystal protein Cry1Gb	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q9ZNL9	Pesticidal crystal protein Cry9Ea	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
C4PFI0	Crystalline entomocidal protoxin (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
F6KFT4	Crystalline entomocidal protoxin	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
P0A374	Pesticidal crystal protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
	Cry1Ba		
P57091	Parasporal crystal protein Cry18Ba	<i>Paenibacillus popilliae</i>	Не найден
P57092	Parasporal crystal protein Cry18Ca	<i>Paenibacillus popilliae</i>	Не найден
Q45710	Pesticidal crystal protein Cry14Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q45729	Pesticidal crystal protein Cry15Aa	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q9EVR2	Crystalline entomocidal protoxin	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
T1WCQ4	Crystalline entomocidal protoxin	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A7G8P676	Cry (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q6S552	Cry (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
B2ZPN6	Cry1C	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
D0EI56	Crystalline entomocidal protoxin	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
K7ZN76	Crystalline entomocidal protoxin	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
Q58FM0	Crystalline entomocidal protoxin	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
V9I1A5	Crystalline entomocidal protoxin (Fragment)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
CDG26094.1	FenA	<i>Bacillus velezensis</i> UCMB5113	Не найден
CDG26093.1	FenB	<i>Bacillus velezensis</i> UCMB5113	Не найден
CDG26091.1	FenD	<i>Bacillus velezensis</i> UCMB5113	Не найден
CDG26090.1	FenE	<i>Bacillus velezensis</i> UCMB5113	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
AFZ90931.1	FenA	<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3	Не найден
AFZ90930.1	FenB	<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3	Найден по гомологии
AFZ90928.1	FenD	<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3	Найден по гомологии
AFZ90927.1	FenE	<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3	Найден по гомологии
AHZ15838.1	FenE	<i>Bacillus velezensis</i> SQR9	Не найден
AHZ15839.1	FenD	<i>Bacillus velezensis</i> SQR9	Не найден
AHZ15840.1	FenC	<i>Bacillus velezensis</i> SQR9	Не найден
AHZ15841.1	FenB	<i>Bacillus velezensis</i> SQR9	Не найден
AHZ15842.1	FenA	<i>Bacillus velezensis</i> SQR9	Не найден
AFZ90929.1	FenC	<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3	Найден по гомологии
AMM04299.1	ItuD	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
AMM04300.1	ItuA	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
AMM04301.1	ItuB	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
AMM04302.1	ItuC	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
API81805.1	malonyl CoA-acyl carrier protein transacylase	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>kriegeri</i>	Не найден
API81806.1	Iturin synthetase A	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>kriegeri</i>	Не найден
API81807.1	Iturin synthetase B	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>kriegeri</i>	Не найден
API81808.1	Iturin synthetase C	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>kriegeri</i>	Не найден
AMM04303.1	ItuD	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
AMM04304.1	ItuA	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
AMM04305.1	ItuB	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
AMM04306.1	ItuC	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
WJJ67076.1	YxjC	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Найден по гомологии
WJJ67078.1	ScoA	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Найден по гомологии
WJJ67079.1	ScoB	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Найден по гомологии
WJJ67080.1	YxjF	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Найден по гомологии
WJJ67077.1	ItuD	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
WJJ67081.1	ItuA	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
WJJ67082.1	ItuB	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
WJJ67083.1	ItuC	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Найден по гомологии
WJJ67084.1	XynD	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Найден по гомологии
WJJ67085.1	YnfF	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Найден по гомологии
WJJ67086.1	BamR	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Найден по гомологии
WJJ67087.1	BamK	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Найден по гомологии
AAB80956.1	fengycin synthetase FenE	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
ACX55806.1	fengycin synthetase E (Fragment)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
WLR90838.1	FenD	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
ACY29987.1	FenD	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
APC23837.1	FenC	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
AAC36721.1	peptide synthetase	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
BAP16508.1	Fengycin synthetase	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
BAP16507.1	Fengycin synthetase	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
WOF01004.1	fengycin synthetase A	<i>Bacillus velezensis</i>	Не найден
AAB80955.2	fengycin synthetase FenA	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
QIV52770.1	surfactin biosynthesis protein	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
QIV52770.1	surfactin biosynthesis protein	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
AQZ36510.1	Surfactin (Fragment)	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
AIY62581.1	surfactin biosynthesis protein (Fragment)	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A9W5LIE9	Iturin A synthetase B	<i>Bacillus inaquosorum</i>	Не найден
A0A140G068	ItuB	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A2I4MF37	Iturin synthetase B	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
Q93I55	Iturin A synthetase B	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A9P1JH91	Iturin A synthetase B	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0AAC8RBR9	Iturin A synthetase B	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0A2I4MF73	Iturin synthetase A	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A140G067	ItuA	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A140G071	ItuA	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A9P1JHE5	Iturin A synthetase A	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0AAC8RBX1	Iturin A synthetase A	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
B3TLA1	Iturin A synthetase A	<i>Bacillus subtilis</i>	Найден по гомологии
Q93I56	Iturin A synthetase A	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
Q93I54	Iturin A synthetase C	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A140G069	ItuC	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A140G073	ItuC	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A2I4MF48	Iturin synthetase C	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A9P1JHE3	Iturin A synthetase C	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
A0AAC8RBT5	Iturin A synthetase C	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
B3TLA3	Iturin A synthetase C	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A9X8XP94	Iturin A synthetase B	<i>Bacillus cereus</i>	Не найден
B5AZX8	Iturin A synthetase B (Fragment)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0A9X8THR4	Iturin A synthetase C	<i>Bacillus cereus</i>	Найден по гомологии
F5CPC9	Iturin (Fragment)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
F5CPD0	Iturin (Fragment)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0A140G070	(acyl-carrier-protein) S-malonyltransferase	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A2I4MF74	(acyl-carrier-protein) S-malonyltransferase	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
Q93I57	(acyl-carrier-protein) S-malonyltransferase	<i>Bacillus subtilis</i>	Найден по гомологии
W0NQZ2	Iturin A synthetase A	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0A0N9FHP4	Iturin A synthetase A	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0A077JC19	Iturin synthetase (Fragment)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0A077JC17	Iturin synthetase (Fragment)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0A077JD14	Iturin synthetase (Fragment)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0A0D1XUB2	Fengycin family lipopeptide synthetase D	<i>Aneurinibacillus migulanus</i>	Не найден
A0A7G7U8D7	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenA	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
A0A9Q2LF98	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenA	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
O30980	Fengycin synthetase FenA	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
H9TE67	Fengycin synthetase D	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
A0A9Q2LM65	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenD	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
A0A9Q4EMU4	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenD	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
O87704	Fengycin synthetase	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
H9TE69	Fengycin synthetase B	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0A7G7U8D5	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenC	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
A0A9Q2QR39	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenC	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
A0A9P1JHG1	fengycin synthetase D	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0AAC8L2X7	fengycin synthetase D	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0A7G7U8D6	Fengycin non-ribosomal peptide FenE	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
A0A9Q2LKC5	Fengycin non-ribosomal peptide FenE	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
O30981	fengycin synthetase FenE	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
H9TE70	fengycin synthetase A	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
H9TE68	fengycin synthetase C	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0A9Q4ENX6	Fengycin non-ribosomal peptide FenC	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
A0A9Q4HSI5	Fengycin non-ribosomal peptide FenE	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
A0A9Q2LEV5	Fengycin non-ribosomal peptide FenB	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
A0A9Q4EMD7	Fengycin non-ribosomal peptide FenB	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
Q45563	fengycin synthetase	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
A0A9P1JHE7	fengycin synthetase E	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0AAC8KU53	fengycin synthetase E	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
H9TE66	fengycin synthetase E	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Не найден
A0A9X8M2H9	Fengycin family lipopeptide synthetase D	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
A0A4R4B7U4	Fengycin family lipopeptide synthetase D	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Не найден
A0A1W6R7T5	Non-ribosomal peptide synthetase (Fragment)	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	Найден по гомологии
A0A345AZY3	Non-ribosomal protein fengycin synthetase	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A9Q2LEV5	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenB	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
A0A9Q4EMD7	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenB	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
Q45563	Fengycin synthetase	<i>Bacillus subtilis</i>	Не найден
A0A7G7U8D5	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenC	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
A0A7G7U8D6	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenE	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
A0A7G7U8D7	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenA	<i>Bacillus</i> sp.	Не найден
A0A9Q2LF98	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenA	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
A0A9Q2LKC5	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenE	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден

ID Белка	Название белка	Организм	Наличие в штаммах
A0A9Q2LM65	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenD	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
A0A9Q2QR39	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenC	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
A0A9Q4EMU4	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenD	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
A0A9Q4ENX6	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenC	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
A0A9Q4HNI3	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenC (Fragment)	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
A0A9Q4HSI5	Fengycin non-ribosomal peptide synthetase FenE	<i>Bacillus halotolerans</i>	Не найден
QDP14436.1	surfactin, partial	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Найден по гомологии
WJJ67088.1	GlnC	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Найден по гомологии

Таблица 13 – Результаты выравнивания аминокислотных последовательностей филума *Pseudomonadota*

strain	query_id	subject_id	identity	len_alignment	mismathes	gap	evalue	len_subject
BZR 736	OPOLBGHO_00258	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	62.928	526	193	2	0	548
BZR 920	ALFJJJDJB_00537	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	61.217	526	202	2	0	548
BZR 936	FMPFOJPL_00537	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	61.217	526	202	2	0	548
BZR G1	NGKKNMJG_00271	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	62.928	526	193	2	0	548
BZR G2	MJCAMDDB_00305	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	62.928	526	193	2	0	548
BZR G3	INOIPBJO_00300	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	62.928	526	193	2	0	548

Таблица 14 – Результаты выравнивания аминокислотных последовательностей филума *Pseudomonadota*

strain	query_id	subject_id	identity	len_alignment	mismathes	gap	evalue	len_subject
BZR 162	EKHLEFED_00768	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	66.983	527	173	1	0	548
BZR 201-1	PPNHNPG_01142	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	69.187	529	161	2	0	548
BZR 278	JAFHGJAD_03554	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i> (I4CMB4)	73.396	530	141	0	0	548
BZR 278	JAFHGJAD_01052	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i> (A0A2D0IN23)	54	300	129	3	8.35E-103	474
BZR 585	ABPELNAC_02006	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i> (I4CMB4)	73.396	530	141	0	0	548
BZR 585	ABPELNAC_03363	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i> (A0A2D0IN23)	54	300	129	3	8.35E-103	474
BZR 588	AEMHBJIC_01140	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	69.187	529	161	2	0	548

BZR 762	PBIIOOJB_02724	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i> (I4CMB4)	73.396	530	141	0	0	548
BZR 762	PBIIOOJB_00391	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i> (A0A2D0IN23)	54	300	129	3	8.35E-103	474
BZR 926	DCKJMMOL_03898	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	74.528	530	135	0	0	548
BZR 1159	EKHLEFED_00768	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	66.983	527	173	1	0	548
<i>Примечание:</i> где strain – штамм, query_id – последовательность из исследуемого генома, subject_id – последовательность из базы, identity – процент совпавших аминокислот, len_alignment – длина выравнивания, mismatches – несовпадения нуклеотидов, gap – разрыв, eval – статистическая значимость результатов, len_subject – исходная длина аминокислотной последовательности белка из базы.								

Таблица 15 – Результаты выравнивания аминокислотных последовательностей рода *Leucobacter*

strain	query_id	subject_id	identity	len_alignment	mismathes	gap	evalue	len_subject
BZR 201	FHGKGMJN_02449	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	59.583	527	206	3	0	548
BZR 206	EBBEPDCK_02573	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	59.583	527	206	3	0	548
BZR 466	CGCFJBMJ_02703	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	59.583	527	206	3	0	548
BZR 635	LPFBJFLP_01093	GroEL-like protein from <i>Xenorhabdus ehlersii</i>	60.152	527	203	3	8.35E-103	548

Примечание: strain – штамм, query_id – последовательность из исследуемого генома, subject_id – последовательность из базы, identity – процент совпавших аминокислот, len_alignment – длина выравнивания, mismatches – несовпадения нуклеотидов, gap – разрыв, evalue – статистическая значимость результатов, len_subject – исходная длина аминокислотной последовательности белка из базы

Таблица 16 – Результаты выравнивания аминокислотных последовательностей

strain	query_id	subject_id	identity	len_alignment	mismathes	gap	evalue	len_subject
BZR 736	OPOLBGHO_02040	YxjC, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	71.25	480	136	1	0	481
BZR 736	OPOLBGHO_03966	YxjF, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	65.891	258	88	0	3.65E-131	261
BZR 736	OPOLBGHO_02111	ScoB, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	50.718	209	103	0	4.12E-80	227
BZR 736	OPOLBGHO_00768	Iturin A synthetase	50.171	293	146	0	8.39E-100	304
BZR 920	ALFJJJDJB_00306	Surfactin synthetase SrfA	81.522	184	34	0	3.54E-104	184
BZR 920	ALFJJJDJB_01681	Mycosubtilin synthetase	79.543	3984	800	8	0	3971
BZR 920	ALFJJJDJB_00171	Iturin A synthetase	74.172	302	78	0	1.17E-166	304
BZR 920*	ALFJJJDJB_01679	Bacillomycin synthetase B	97.855	1632	35	0	0	5363
BZR 920*	ALFJJJDJB_01706	Bacillomycin synthetase B	50.808	2537	1192	23	0	5363
BZR 920	ALFJJJDJB_01685	ScoA, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	100	227	0	0	2.69E-170	233
BZR 920	ALFJJJDJB_01706	FenD (<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3)	98.997	3591	36	0	0	3591
BZR 920	ALFJJJDJB_01705	FenE (<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3)	99.605	1267	5	0	0	1267
BZR 920	ALFJJJDJB_01684	ScoB, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	99.545	220	1	0	3.78E-164	227

strain	query_id	subject_id	identity	len_alignment	mismathes	gap	evalue	len_subject
BZR 920	ALFJJJDJB_00310	surfactin synthetase, partial (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	98.206	223	4	0	1.14E-168	223
BZR 920	ALFJJJDJB_01681	Iturin A synthetase A (<i>Bacillus subtilis</i>)	98.92	3982	43	0	0	3982
BZR 920	ALFJJJDJB_01682	(acyl-carrier-protein) S-malonyltransferase (ItuD) (<i>Bacillus subtilis</i>)	99	400	4	0	0	400
BZR 920	ALFJJJDJB_01708	FenB (<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3)	98.986	2565	26	0	0	2565
BZR 920	ALFJJJDJB_01686	YxjC, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	98.96	481	2	1	0	481
BZR 920	ALFJJJDJB_01676	YnfF, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	98.582	423	6	0	0	423
BZR 920	ALFJJJDJB_01683	YxjF, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	98.084	261	5	0	0	261
BZR 920	ALFJJJDJB_01674	BamK, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	97.634	465	11	0	0	466
BZR 920	ALFJJJDJB_01675	BamR, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	97.447	235	6	0	1.72E-173	267
BZR 920	ALFJJJDJB_01672	GlnC, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	96.794	499	16	0	0	508

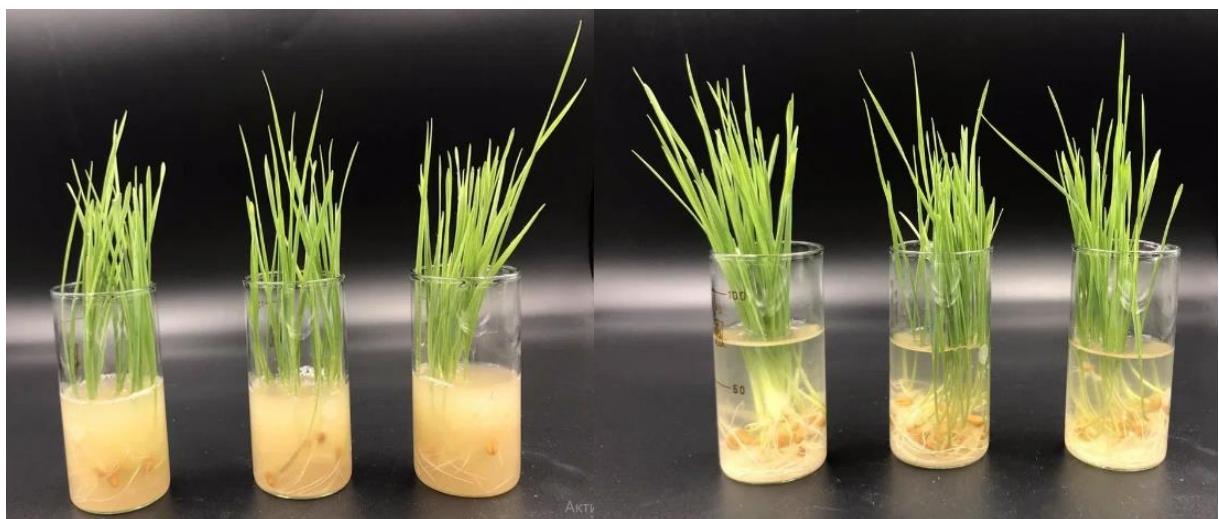
strain	query_id	subject_id	identity	len_alignment	mismathes	gap	evalue	len_subject
BZR 920	ALFJJDB_01677	XynD, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	96.078	510	20	0	0	512
BZR 920	ALFJJDB_01678	ItuC (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	69.776	2637	758	18	0	2616
BZR 920	ALFJJDB_01566	Non-ribosomal peptide synthetase (pksJ) (<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>)	62.861	5054	1796	31	0	5043
BZR 936	FMPFOJPL_00306	Surfactin synthetase SrfA	81.522	184	34	0	3.57E-104	184
BZR 936	FMPFOJPL_01681	Mycosubtilin synthetase	79.543	3984	800	8	0	3971
BZR 936	FMPFOJPL_00171	Iturin A synthetase	74.172	302	78	0	1.17E-166	304
BZR 936*	FMPFOJPL_01679	Bacillomycin synthetase B	97.855	1632	35	0	0	5363
BZR 936*	FMPFOJPL_01706	Bacillomycin synthetase B	50.808	2537	1192	23	0	5363
BZR 936	FMPFOJPL_01685	ScoA, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	100	227	0	0	2.69E-170	233
BZR 936	FMPFOJPL_01706	FenD (<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3)	98.997	3591	36	0	0	3591
BZR 936	FMPFOJPL_01705	FenE (<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3)	99.605	1267	5	0	0	1267
BZR 936	FMPFOJPL_01684	ScoB, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	99.545	220	1	0	3.78E-164	227

strain	query_id	subject_id	identity	len_alignment	mismathes	gap	evalue	len_subject
BZR 936	FMPFOJPL_00310	surfactin, partial (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	98.206	223	4	0	1.14E-168	223
BZR 936	FMPFOJPL_01681	Iturin A synthetase A (<i>Bacillus subtilis</i>)	98.92	3982	43	0	0	3982
BZR 936	FMPFOJPL_01682	(acyl-carrier-protein) S-malonyltransferase (ItuD) (<i>Bacillus subtilis</i>)	99	400	4	0	0	400
BZR 936	FMPFOJPL_01707	FenC (<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3)	99.019	2549	25	0	0	2549
BZR 936	FMPFOJPL_01708	FenB (<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3)	98.986	2565	26	0	0	2565
BZR 936	FMPFOJPL_01686	YxjC, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	98.96	481	2	1	0	481
BZR 936	FMPFOJPL_01676	YnfF, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	98.582	423	6	0	0	423
BZR 936	FMPFOJPL_01683	YxjF, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	98.084	261	5	0	0	261
BZR 936	FMPFOJPL_01674	BamK, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	97.634	465	11	0	0	466
BZR 936	FMPFOJPL_01675	BamR, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	97.447	235	6	0	1.72E-173	267

strain	query_id	subject_id	identity	len_alignment	mismathes	gap	evalue	len_subject
BZR 936	FMPFOJPL_01672	GlnC, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	96.794	499	16	0	0	508
BZR 936	FMPFOJPL_01677	XynD, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	96.078	510	20	0	0	512
BZR 936	FMPFOJPL_01678	ItuC (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	69.776	2637	758	18	0	2616
BZR 936	FMPFOJPL_01566	Non-ribosomal peptide synthetase (pksJ) (<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>)	62.861	5054	1796	31	0	5043
BZR G1*	NGKKNMJG_00776	Iturin A synthetase	50.512	293	145	0	2.89E-101	304
BZR G1	NGKKNMJG_02097	YxjC, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	71.306	467	132	1	0	481
BZR G1	NGKKNMJG_02170	ScoB, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	50.718	209	103	0	1.38E-79	227
BZR G1	NGKKNMJG_03678	YxjF, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	66.279	258	87	0	2.41E-131	261
BZR G1	NGKKNMJG_05455	Iturin A synthetase C (<i>Bacillus cereus</i>)	50.602	498	238	5	2.21E-161	525
BZR G2*	MJCAMDDB_00825	Iturin A synthetase	50.512	293	145	0	2.89E-101	304
BZR G2	MJCAMDDB_02106	YxjC, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	71.306	467	132	1	0	481

strain	query_id	subject_id	identity	len_alignment	mismathes	gap	evalue	len_subject
BZR G2	MJCAMDDB_02179	ScoB, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	50.718	209	103	0	1.38E-79	227
BZR G2	MJCAMDDB_03683	YxjF, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	66.279	258	87	0	2.41E-131	261
BZR G2	MJCAMDDB_05467	Iturin A synthetase C (<i>Bacillus cereus</i>)	50.602	498	238	5	2.21E-161	525
BZR G3	INOIPBJO_02136	YxjC, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	71.306	467	132	1	0	481
BZR G3	INOIPBJO_02209	ScoB, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	50.718	209	103	0	1.38E-79	227
BZR G3	INOIPBJO_03646	YxjF, iturin operon (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	66.279	258	87	0	2.41E-131	261
BZR G3	INOIPBJO_05380	Iturin A synthetase C (<i>Bacillus cereus</i>)	50.602	498	238	5	2.21E-161	525
BZR G3*	INOIPBJO_00814	Iturin A synthetase	50.512	293	145	0	2.89E-101	304

Примечание: strain – штамм, query_id – последовательность из исследуемого генома, subject_id – последовательность из базы, identity – процент совпадающих аминокислот, len_alignment – длина выравнивания, mismathes – несовпадения нуклеотидов, gap – разрыв, evalue – статистическая значимость результатов, len_subject – исходная длина аминокислотной последовательности белка из базы; * обозначены строки с низкой степенью сходства.



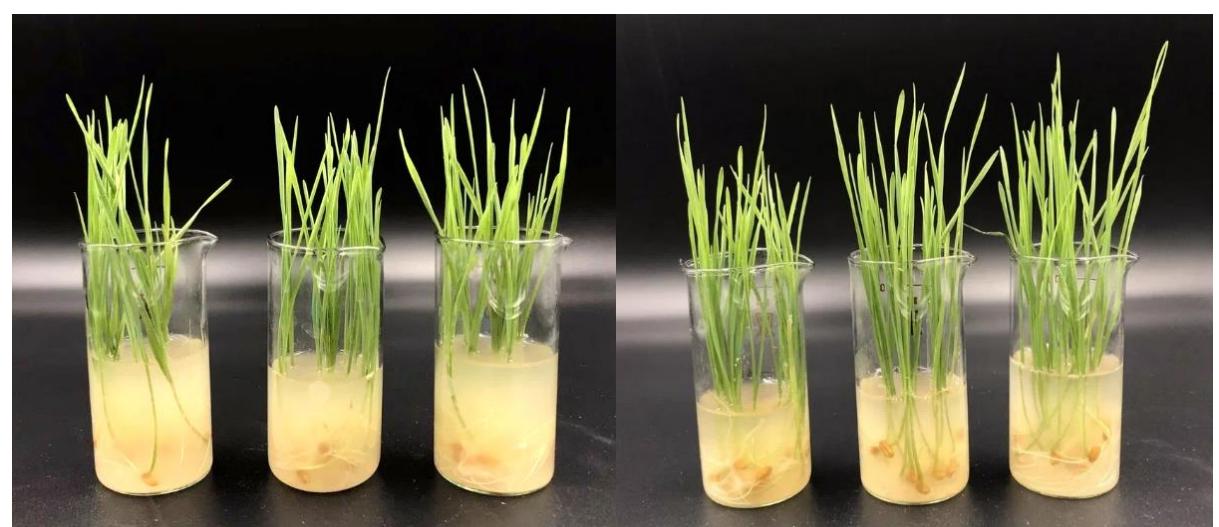
BZR 588

BZR 585



BZR 201

BZR 762



BZR 920

BZR 936

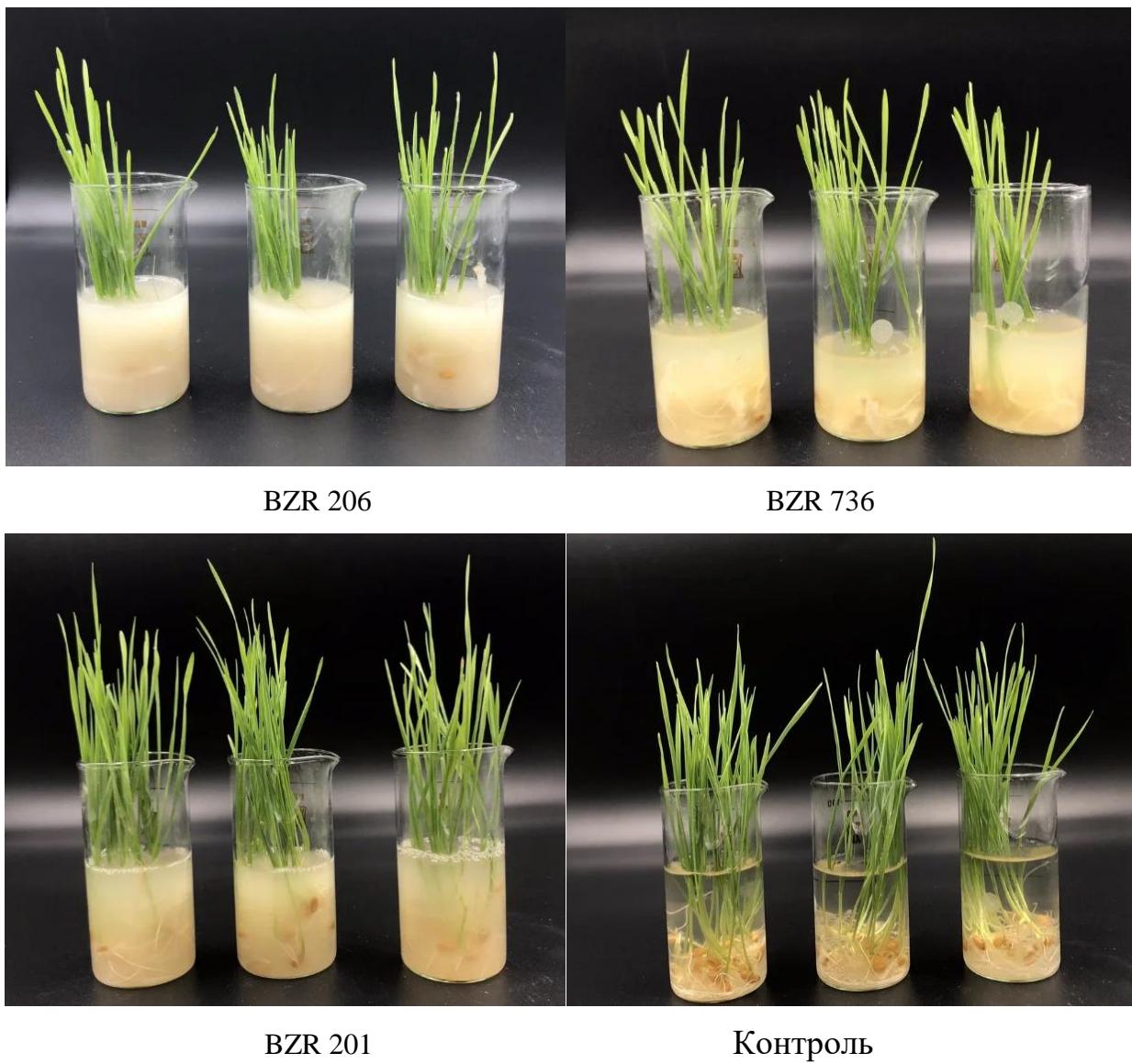


Рисунок 1 – Фитотоксичность отобранных штаммов бактерий
к культуре пшеница озимая на 6 сут

Таблица 1 – Совместимость перспективных штаммов бактерий с химическими фунгицидами, рекомендованными для применения на культуре яблони

П.п.	Вариант	Химический класс действующего вещества			
		стробилурины	фталимиды	триазолы	
		Название препарата, препаративная форма (действующее вещество, его содержание)			
		Зато, ВДГ (трифлоксистробин, 500 г/кг)	Мерпан, СП (каптан, 500 г/кг)	Скор, КЭ (дифеноконазол, 250 г/л)	Привент, СП (триадимефон, 250 г/кг)
1	BZR 588	+	+	+	+
2	BZR 585	+	+	+	+
3	BZR 201	+	+	+	+
4	BZR 736	+	+	+	+
5	BZR 762	+	+	+	+
6	BZR926	+	+	+	+
7	BZR 920	+	+	±	+
8	BZR 936	+	+	±	+
9	BZR 206	+	+	+	+
10	BZR 635	+	+	+	+
11	BZR G3	+	+	+	+
12	BZR G1	+	+	+	+
13	BZR 277	+	+	+	+
14	BZR 1159	+	+	+	+
15	BZR 466	+	+	+	+
16	BZR 278	+	+	+	+
17	BZR 162	+	+	+	+

Примечание: «+» – штамм совместим; «±» – незначительное ингибирование роста штамма, не препятствующее их совместному применению; «–» – штамм не совместим, совместное применение не рекомендовано.

Таблица 2 – Совместимость перспективных штаммов бактерий с химическими инсектицидами на основе фосфорорганических соединений, рекомендованными для применения на культуре яблони

П.п.	Вариант	Название препарата, препаративная форма (действующее вещество, его содержание)			
		Фуфанон, ВЭ (малатион, 440 г/л)	Данадим Эксперт, КЭ (диметоат, 400 г/л)	Сумитион, КЭ (фенитротион, 500 г/л)	Фосбан, КЭ (хлорпирифос, 480 г/л)
1	BZR 588	+	+	+	±
2	BZR 585	+	+	+	+
3	BZR 201	+	+	+	+
4	BZR 736	+	+	+	+
5	BZR 762	+	+	+	+
6	BZR 926	+	+	+	+
7	BZR 920	+	+	+	±
8	BZR 936	+	+	±	±
9	BZR 206	+	+	+	+
10	BZR 635	+	+	+	+
11	BZR G3	+	+	+	+
12	BZR G1	+	+	+	+
13	BZR 277	+	+	+	±
14	BZR 1159	+	+	+	+
15	BZR 466	+	+	+	+
16	BZR 278	+	+	+	+
17	BZR 162	+	+	+	+

Примечание: «+» – штамм совместим; «±» – незначительное ингибирование роста штамма, не препятствующее их совместному применению; «–» – штамм не совместим, совместное применение не рекомендовано.

Таблица 3 – Совместимость перспективных штаммов бактерий с химическими инсектицидами, рекомендованными для применения на культуре яблони

П.п.	Вариант	Химический класс действующего вещества		
		авермектины	неоникотиноиды	ингибиторы синтеза хитина (исх)
		Название препарата, препаративная форма (действующее вещество, его содержание)		
		Крафт, ВЭ (абамектин, 36 г/л)	Пондус, КС (тиаклоприд, 480 г/л)	Димилин, СП (дифлубензурон, 250 г/кг)
1	BZR 588	+	+	+
2	BZR 585	+	+	+
3	BZR 201	+	+	+
4	BZR 736	+	+	+
5	BZR 762	+	+	+
6	BZR 926	+	+	+
7	BZR 920	+	+	+
8	BZR 936	+	+	+
9	BZR 206	+	+	+
10	BZR 635	+	+	+
11	BZR G3	+	+	+
12	BZR G1	+	+	+
13	BZR 277	+	+	+
14	BZR 1159	+	+	+
15	BZR 466	+	+	+
16	BZR 278	+	+	+
17	BZR 162	+	+	+

Примечание: «+» – штамм совместим; «±» – незначительное ингибирование роста штамма, не препятствующее их совместному применению; «–» – штамм не совместим, совместное применение не рекомендовано.

Таблица 4 – Совместимость перспективных штаммов бактерий с биологическими инсектицидами, рекомендованными для защиты яблони

П.п.	Вариант	Название препарата, препаративная форма (действующее вещество, его содержание)			
		Лепидоцид, П (<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> Z-52)	Биостоп, Ж (<i>B. thuringiensis</i> + <i>Streptomyces</i> sp. + <i>Beauveria</i> <i>bassiana</i>)	Инсетим, Ж (<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>thuringiensis</i> , ИПМ-1140)	Битоксибациллин, П (<i>B. thuringiensis</i> , var. <i>thuringiensis</i> , 98)
		Титр, КОЕ мл/г			
		$2,8 \pm 0,3 \times 10^8$	$4,2 \pm 0,6 \times 10^8$ $1,2 \pm 0,4 \times 10^6$ $1,1 \pm 0,2 \times 10^6$	$5,9 \pm 0,2 \times 10^8$	$3,0 \pm 0,3 \times 10^8$
1	BZR 588	+	+	+	+
2	BZR 585	+	+	+	+
3	BZR 201	+	+	+	+
4	BZR 736	+	+	±	±
5	BZR 762	+	+	+	+
6	BZR 926	+	+	+	+
7	BZR 920	+	+	+	+
8	BZR 936	+	+	-	±
9	BZR 206	+	+	+	+
10	BZR 635	+	+	+	+
11	BZR G3	+	+	±	±
12	BZR G1	+	+	±	±
13	BZR 277	+	±	-	±
14	BZR 1159	+	+	+	+
15	BZR 466	+	+	+	+
16	BZR 278	+	+	+	+
17	BZR 162	+	+	+	+

Примечание: «+» – штамм совместим; «±» – незначительное ингибирование роста штамма, не препятствующее их совместному применению; «-» – штамм не совместим, совместное применение не рекомендовано.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**RU2022622633**

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
**ГОСУДАРСТВЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ БАЗЫ ДАННЫХ, ОХРАНЯЕМОЙ
АВТОРСКИМИ ПРАВАМИ**

Номер регистрации (свидетельства):

2022622633

Дата регистрации: 26.10.2022

Номер и дата поступления заявки:

2022622599 21.10.2022

Дата публикации и номер бюллетеня:

26.10.2022 Бюл. № 11

Контактные реквизиты:

нет

Автор(ы):

Гырнец Елена Юрьевна (RU),

Асатурова Анжела Михайловна (RU),

Дубяга Валентина Михайловна (RU)

Правообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Федеральный научный
центр биологической защиты растений» (RU)

Название базы данных:

Бактерии с инсектицидной активностью из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР
«Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов»

Реферат:

База данных (БД) содержит информацию о 107 штаммах бактерий, потенциальных для разработки биопрепаратов инсектицидного действия. В БД представлены данные родовой и видовой принадлежности штаммов и отражена информация об их инсектицидной активности в отношении тест-объектов. БД является пополняемой, предназначена для хранения, оперативного поиска и анализа информации о штаммах энтомопатогенных бактерий из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и полезных микроорганизмов». Пользователями базы данных могут быть специалисты в области защиты растений, энтомологии, микробиологии, студенты, аспиранты и преподаватели агрономических и биологических специальностей ВУЗов. Тип ЭВМ: IBM PC-совмест. ПК на базе процессора AMD Ryzen; ОС: Windows 10.

Вид и версия системы управления базой
данных: Access

Объем базы данных: 768 КБ

Утверждаю:

Директор ФГБНУ ФНЦБЗР

А.М. Асатурова

«10 » июня 2025 г.



Утверждаю:

Проректор по учебной работе,
качеству образования –
первый проректор ФГБОУ ВО
«Кубанский государственный
университет»

Хагуров Т.А.

«10 » июня 2025 г.



внедрения базы данных

«Бактерии с инсектицидной активностью из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР "Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов"»

Краткое описание разработки: База данных содержит систематизированную информацию о 107 штаммах бактерий из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и полезных микроорганизмов», потенциальных для разработки биопрепаратов инсектицидного действия. В базе представлены данные родовой и видовой принадлежности штаммов и отражена информация об их инсектицидной активности в отношении фитофагов.

Место проведения работ: г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149, кафедра зоологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет».

Время проведения работ: май 2024 г. – июль 2024 г.

Разработчик: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр биологической защиты растений».

Исполнители: Гырнец Е.Ю., Асатурова А.М., Дубяга В.М.

Основание выполнения: договор о научно-техническом сотрудничестве № 10/2023-ИС-2023-109 от 15.05.2023 г.

Сведения о внедрении: информация об энтомопатогенных штаммах бактерий аборигенных для Юга России, представленная в базе данных (свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022622633 от 26.10.2022 «Бактерии с инсектицидной активностью из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР "Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов"» (авторы: Гырнец Е.Ю., Асатурова А.М., Дубяга В.М.), использована специалистами в качестве теоретического и практического материала при исследовании бакуловирусных заболеваний насекомых.

Сведения об эффективности внедрения (биологическая, экономическая, экологическая и др.): информация используется преподавателями, аспирантами и студентами в качестве теоретического и практического материала в учебном процессе по направлениям подготовки:

- 1) «Биология» 06.03.01 (бакалавриат), профиль «Зоология» (учебные дисциплины и практики: энтомология; спецпрактикум; преддипломная практика, в том числе научно-исследовательская работа; практика по профилю профессиональной деятельности);
- 2) «Биология» 06.04.01 (магистратура), направленность «Биобезопасность и рациональное природопользование» (учебные дисциплины и практики: основы биобезопасности; сельскохозяйственная энтомология; ознакомительная практика; научно-исследовательская работа; практика по профилю профессиональной деятельности).

ОТ ИСПОЛНИТЕЛЯ:

в.н.с. лаборатории микробиологической
защиты растений ФГБНУ ФНЦБЗР, к.б.н.



Асатурова А.М.

ОТ ЗАКАЗЧИКА:

заведующий кафедрой зоологии
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный
университет», д.б.н., профессор



Кустов С.Ю.

**АКТ**

внедрения базы данных ««Бактерии с инсектицидной активностью из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» в учебный процесс Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений»

Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что информация, представленная в базе данных № 2022622633 от 26.10.2022 г. «Бактерии с инсектицидной активностью из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» (авторы: Гырнец Е. Ю., Асатурова А. М., Дубяга В. М.) внедрена в учебный процесс Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений» при реализации программы подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре по научной специальности «Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений».

Заведующая отделом
Интеллектуальной собственности и
Иновационного развития, к.с.-х.н.

 С. А. Ермоленко

Начальник отдела аспирантуры
И образовательной деятельности

 Е. А. Вертий

Заместитель директора по
Научной работе, к.с.-х.н.



Н. С. Томашевич