

ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR *KURSTAKI* ДЛЯ СТВОРЕННЯ БІОІНСЕКТИЦИДУ

Галицька І.Є.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, halytka.iryana1@ill.kpi.ua

Вступ. На сьогодні різноманітні шкідники рослин є великою загрозою для сільського господарства. Сільськогосподарським культурам у всьому світі завдають шкоди понад 10 000 видів комах, які спричиняють орієнтовні щорічні втрати сільськогосподарського виробництва на 11 % [1]. Найчисельнішими видами серед шкідників є представники ряду лускокрилих, зокрема родини совок, частота виявлення яких становила 75% [2]. Упродовж довгого часу для боротьби з шкідниками використовують синтетичні пестициди. Тривале застосування таких пестицидів сприяє розвитку стійкості до них. Так, більше 500 видів членистоногих шкідників набули резистентності до одного чи кількох інсектицидів [3], а стійкі до гербіцидів бур'яни нараховують близько 200 видів.

Хімічні засоби захисту рослин спричиняють негативний вплив як на навколишнє середовище, так і на людину [4]. Токсичний вплив мають не тільки пестициди, але й продукти їх метаболізму, які проявляють ембріотоксичну, мутагенну, та канцерогенну дію [3]. Особливо негативного впливу зазнають корисні комахи. Згідно з дослідженнями у багатьох країнах світу за рахунок застосування пестицидів популяція медоносних бджіл скоротилася на 30%, а біомаса корисних комах зменшилася на 70% [5]. Тому створення ефективних та екологічно безпечних біоінсектицидів є актуальним.

На сьогодні найбільш поширеними у використанні є саме мікробні пестициди. Основні групи бактеріальних ентомопатогенів включають *Pseudomonas*, *Yersinia*, *Chromobacterium* та ін, а гриби включають *Trichoderma*, *Beauveria*, *Metarhizium*, *Verticillium*, *Lecanicillium*, *Hirsutella*, *Paecilomyces*, нематоди, наприклад, *Heterorhabditis* та *Steinernema*. Для виготовлення більшості комерційних біопестицидів використовують *Bacillus thuringiensis* [6]. Ефективність ентомоцидної дії біопрепаратів на комах залежить від штамів, які продукують різні за хімічним складом токсини. Перспективними напрямками досліджень є отримання такого штаму для виробництва препарату, який був би універсальним і ушкоджував якомога більше видів комах-шкідників.

Метою нашої роботи було обґрунтування застосування *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* для отримання біоінсектициду.

Методи дослідження. Дослідження проводили шляхом аналізу наукової літератури з використанням міжнародних систем цитування (NCBI, PubMed, OUCI та ін.).

Результати та обговорення. Альтернативою хімічним засобам боротьби із шкідниками є біологічні препарати. Біопрепарати для захисту рослин виготовляються з природних речовин, зокрема рослин, мікробіоти, наночастинок

біологічного походження та ін [7]. Механізм дії біопрепаратів ґрунтується на антагонізмі між різними видами мікроорганізмів або прояві їх антибіотичної активності, зокрема за рахунок виділення в зовнішнє середовище речовин, які є токсичними для конкурентних організмів [8]. Тому на відміну від синтетичних пестицидів, біопестициди екологічно безпечні, специфічні у прояві своєї дії, їх можна легко отримати без використання дорогих хімікатів.

За рахунок значної ефективності одними із найбільш перспективних біопрепаратів для контролю чисельності комах є мікробні препарати на основі ентомопатогенних бактерій *Bacillus thuringiensis*. Більше 90% всіх бактеріальних біопрепаратів виробляються саме на основі цих бактерій [9]. *Bacillus thuringiensis* здатні утворюють спори, продукувати кристалічні ендотоксини, термостабільний екзотоксин та інші білки та сполуки з інсектицидними та фунгіцидними властивостями.

Діючою речовиною біопрепаратів на основі *Bacillus thuringiensis* є саме бактеріальні спори та кристали білоквмісних ендотоксинів (Bt-токсинів). Потрапляючи в травну систему шкідників, спори препарату, що містяться в рослинному кормі, проростають у вегетативні клітини з утворенням ендотоксичних кристалів. Окрім цього, спори препарату можуть потрапляти в гемолімфу комах, де проростають викликаючи їх захворювання та загибель.

При виробництві біопрепаратів зазвичай використовують такі підвиди даної бактерії:

- *Bt var. kurstaki* (*Lepidoptera*) - часто використовується проти непарного шовкопряда, листовертки і багатьох шкідників овочів;
- *Bt. aizawai* (*Lepidoptera*) - використовується проти личинки воскової молі;
- *Bt. israelensis* (*Diptera*) - часто використовується для комарів;
- *B.t. san diego* та *tenebrionis* (*Coleoptera*) — часто вживаний проти в'язового листоїда, колорадського жука.

На сьогодні значним попитом користуються препарати на основі *Bt var. kurstaki* [10].

Bt var. kurstaki штаму HD – 1, будучи ізольовані з наземного середовища, орієнтовані на виживання саме в ґрунті, на відміну від *B. thuringiensis subsp. israelensis*, що орієнтований на виживання у заболочених та водних середовищах, Саме це дозволяє ефективно використовувати *Bt var. kurstaki* для захисту сільськогосподарських культур [10].

Штам *Bt. var kurstaki HD-1* утворює δ – ендотоксин, що кодується *Cry1Aa*, *Cry1Ab*, *Cry1Ac* і *Cry2A* генами. Ендотоксин при потрапленні в організм комах спричиняє антифідантний ефект та загибель. За рахунок цього він чинить вибіркочу дію на певні види комах, а саме лускокрилих [11]. Порядок *Lepidoptera* охоплює більшість чутливих видів, що належать до важливих для сільського господарства родин, таких як *Cossidae*, *Gelechiidae*, *Lymantriidae*, *Noctuidae*,

Pieridae, *Pyralidae*, *Thaumetopoetidae*, *Tortricidae* та *Yponomeutidae* [12]. Основним цільовими шкідниками є різні види молі, совок, білани, листовертки, пильщики, метелики та гусінь [13,14].

Також перевагою цього штаму є те, що він впливає на широке коло лускокрилих шкідників, на відміну від *Bt. aizawai*, що також є токсичним для лускокрилих, але має дуже вузьке коло цільових шкідників, а саме згубно діє лише на деяких личинок молі [15].

Також даний штам позитивно впливає на ріст і розвиток рослин. Показано, *Bt var. kurstaki* можуть колонізувати коріння рослин та здатні виробляти метаболіти, які стимулюють їх ріст. Ці сполуки включають індол – 3 – оцтову кислоту, пролін, ензими солюбілізації фосфату. Їх дія призводить до збільшення росту пагонів, біомаси (більше, ніж на 20%) мікроелементів у пагонах і при цьому запобігає розвитку оксидативного стресу за рахунок підвищення активності антиоксидантних ензимів [13].

Біопрепарат на основі *Bt var. kurstaki* можна використовувати на всіх стадіях росту рослин, він не володіє фітотоксичністю, рослини можна оброблювати як в період цвітіння, так і перед збиранням врожаю, тому даний біопрепарат можна використовувати в заповідниках, густонаселених місцевостях та курортних зонах [1].

Однією з переваг *Bt var. kurstaki* штаму HD-1 є його безпечність для навколишнього середовища та людини, про що свідчать задокументовані дані. Тоді як, *B. thuringiensis Al Hakam* не має жодних повідомлень про екологічну безпеку, що робить його потенційно небезпечним для людини та навколишнього середовища [13,16].

Варто зазначити, що при оптимальних умовах культивування (при температурі 28°C, рН 7,0 – 7,2 та аерації) і при вирощуванні на збалансованому середовищі дає достатньо високий титр клітин та спор і таким чином можна буде забезпечити відповідну ефективність препарату. А саме при культивуванні на поживному середовищі складу: дріжджі, кукурудзяне борошно, соєве борошно, амоній фосфорнокислий однозаміщений та калій хлористий, можна отримати титр 4,9-5,1 млрд сп/мл.

Висновки. *Bt. var kurstaki* є перспективним для виготовлення біоінсектициду на його основі, оскільки має ряд переваг: екологічну безпечність, є економічно вигідним, має вибіркову дію тільки на певні види комах-шкідників, зокрема представників лускокрилих комах; позитивно впливає на ріст і розвиток рослин.

Список використаної літератури:

1. Vimala Devi, P.S., Duraimurugan, P., Chandrika, K.S.V.P., et al. Nanobiopesticides for Crop Protection. In: Nanobiotechnology Applications in Plant Protection. Abd-Elsalam, K.A. and Prasad, R. (Eds.), Volume 2, Springer Nature, Switzerland. 2019, 145-168.
2. Chykhrai, A. V., & Mostoviak, S. M. Lepidopteran pests of soybean in the conditions of the Right-Bank Forest-Steppe of Ukraine. Bulletin of Poltava State Agrarian Academy. 2022, 62–68.

3. Sabarwal, A., Kumar, K., and Singh, R. P. Hazardous effects of chemical pesticides on human health—cancer and other associated disorders. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2018, 103–114.
4. Hashimi, M. H., Hashimi, R., and Ryan, Q. Toxic effects of pesticides on humans, plants, animals, pollinators and beneficial organisms. 2020, 37–47.
5. Ali, S., Ullah, M. I., Sajjad, A., Shakeel, Q., and Hussain, A. “Environmental and health effects of pesticide residues” in *Sustainable Agriculture Reviews*. eds. Inamuddin, M. I. Ahamed and E. Lichtfouse (New York, NY: Springer). 2021, 311–336.
6. Kumar, J., Ramlal, A., Mallick, D., et al. An overview of some biopesticides and their importance in plant protection for commercial acceptance. *Plan. Theory* 10:1185. 2021
7. Rosas-García N.M. Biopesticide production from *Bacillus thuringiensis*: an environmentally friendly alternative, *Recent Pat. Biotechnol.* 2009, 28–36
8. Pole A, Srivastava A, Zakeel M.C.M, et al. Role of microbial biotechnology for strain improvement for agricultural sustainability. Editor(s): Ravindra Soni, Deep Chandra Suyal, Ajar Nath Yadav, Reeta Goel, In *Developments in Applied Microbiology and Biotechnology, Trends of Applied Microbiology for Sustainable Economy*, Academic Press, 2022, 285-317
9. Ruiu, L. Microbial biopesticides in agroecosystems. *Agronomy* 8:235, 2018
10. Bishop, A. H., & Robinson, C. V. *Bacillus thuringiensis* HD-1 Cry–: development of a safe, non-insecticidal simulant for *Bacillus anthracis*. *Journal of Applied Microbiology*, 117(3).2014, 654–662.
11. Roh J. I., Choi J. Y, Li M.S., et al. *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. 2007 Apr;17(4):547-59.
12. Iriarte J, Caballero P. *Biología y ecología de Bacillus thuringiensis*. *Bioinsecticidas: Fundamentos y Aplicaciones de Bacillus thuringiensis en el Control Integrado de Plagas*. Caballero P, Ferré J, Eds. Phytoma-España 2001, 15-44.
13. Jouzani, G. S., Valijanlian, E., & Sharafi, R. *Bacillus thuringiensis*: a successful insecticide with new environmental features and tidings. *Applied Microbiology and iotechnology*.2017, 2691–2711.
14. Li, M. S., Je, Y. H., Lee, I. H.. Isolation and Characterization of a Strain of *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* Containing a New δ -Endotoxin Gene. *Current Microbiology*, 45(4). 2002, 299–302.
15. Anastassiadou M, Arena M, Auteri D, et al. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Bacillus thuringiensis* ssp. *aizawai* strain GC-91. *EFSA J.* 2020, 5;18(11):e06293..
16. Melo AL, Soccol VT, Soccol CR. *Bacillus thuringiensis*: Mechanism of action, resistance, and new applications: A review. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2016 ;36:317-326