

Цыгичко Александра Александровна

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ШТАММОВ ВИРУСА
ГРАНУЛЁЗА *CYDIA POMONELLA* (L., 1758) (*LEPIDOPTERA*:
TORTRICIDAE), ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ**

**Специальность: 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин
растений**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена в лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ «Федеральный научный центр биологической защиты растений».

Научный руководитель: **Асатурова Анжела Михайловна**, кандидат биологических наук, директор, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ «Федеральный научный центр биологической защиты растений»

Официальные оппоненты: **Карпун Наталья Николаевна**, доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник отдела защиты растений ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук»

Мартемьянов Вячеслав Викторович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией экологической физиологии ФГБУН Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук

Ведущая организация: ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»

Защита диссертации состоится 11 декабря 2025 года в 15 часов 00 минут на заседании диссертационного совета 35.2.030.05, созданного на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» по адресу: 127434, г. Москва, ул. Прянишникова, д. 19, тел/факс: 8 (499) 976-17-14.

Юридический адрес для отправки почтовой корреспонденции (отзывов): 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке имени Н.И. Железнова ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» и на сайте Университета: <http://www.timacad.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2025 год

Ученый секретарь
диссертационного совета 35.2.030.05,
кандидат биологических наук, доцент



И.М. Митюшев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Яблоневые сады в России занимают 218,2 тыс. га. Одним из основных регионов-лидеров по производству яблок является Краснодарский край с площадью садов 23,3 тыс. га (Сельское хозяйство..., 2021; ПроБизнес ..., 2022; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации..., 2025). Большие площади монокультур привлекают спектр фитофагов, поэтому вопрос о защите и сохранении получаемого урожая актуален. Супердоминантным вредителем яблоневых садов является яблонная плодожорка *Cydia pomonella* (L., 1758) (Lepidoptera: Tortricidae). Общий уровень повреждения плодов может достигать 70,0% и более (Hussain et al., 2020). Одним из безопасных и эффективных методов контроля численности вредителя является использование биоинсектицидов на основе энтомопатогенных вирусов насекомых (Ильиных, 2020; Ismailov et al., 2024). С 2017 по 2024 годы согласно Государственному каталогу пестицидов РФ было зарегистрировано и разрешено к применению три препарата против яблонной плодожорки на основе вируса гранулёза *C. pomonella* (CpGV): Фермовирин ЯП, СП, Мадекс Твин, СК и Карповирусин, СК (Государственный каталог..., 2017-2024). Однако, все используемые штаммы CpGV, входящие в состав препаратов, выделены за рубежом, а наиболее эффективными в регионе использования чаще оказываются изоляты, выделенные из местных популяций (Wennmann et al., 2017; Fan et al., 2020). На сегодняшний день в РФ отсутствуют разрешенные к применению отечественные биоинсектициды на основе аборигенных штаммов CpGV, что подтверждает необходимость в поиске и исследовании новых изолятов вирусов для создания на их основе высокоэффективных инсектицидов.

Степень изученности темы. Основополагающие работы, посвященные энтомопатогенным бакуловирусам, их идентификации и механизмам действия появились в мировой литературе во второй половине XX века (Bird, Whalen, 1945; Митрофанов, 1976; Falcon, Hess, 1985; Тарасевич, 1985). Позже многими учеными опубликованы исследования о возможности применения вирусов для защиты растений от фитофагов, а именно использование CpGV для контроля численности *C. pomonella* (Долженко, Долженко, 2017; Sauer, 2017; Thanwisai et al., 2022). На сегодняшний день за рубежом появляется все больше научных публикаций, касающихся идентификации, изучения различных свойств бакуловирусов и применения новых штаммов CpGV, используемых для защиты растений (Zichová et al., 2013; Chambers, 2014; Ishimwe et al., 2015; Sauer et al., 2017; Ferrelli, Salvador, 2023; Amorós Morales et al., 2023; Akroute et al., 2023; Adom et al., 2024; Li et al., 2024). В то время как в современной российской научной литературе таких публикаций крайне мало (Долженко, Долженко, 2010; Колосов, 2011; Егоров и др., 2024).

Цель и задачи исследования.

Цель – выделение, отбор и изучение биологических особенностей штаммов CpGV, перспективных для разработки инсектицидов для защиты яблони от *C. pomonella*.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

- выделить и изучить новые штаммы грануловирусов CrGV из природных источников;
- провести идентификацию и биоинформатический анализ генетических последовательностей штаммов CrGV на наличие генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом, в их составе и осуществить сравнительный анализ с коммерческими штаммами грануловирусов;
- провести оценку биологической эффективности штаммов CrGV, перспективных для разработки на их основе биологических инсектицидов, в отношении *C. pomonella* и *Galleria mellonella* (L., 1758) (*Lepidoptera: Pyralidae*) в условиях *in vitro*;
- провести испытания защитного действия отобранных перспективных штаммов CrGV в отношении *C. pomonella* на яблоне в условиях полевого мелкоделяночного опыта.

Научная новизна. Впервые дана оценка инсектицидной активности 22 новых штаммов CrGV, в том числе 11 аборигенных для Юга России, из биоресурсной коллекции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений» «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» (БРК ФГБНУ ФНЦБЗР) в условиях *in vitro* в отношении *C. pomonella*. Впервые проанализирован геном 22 штаммов CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР на наличие генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом, и проведен сравнительный анализ на сходство с геномами 14 коммерческих штаммов CrGV. Модифицирован метод для работы со штаммами CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР с использованием *C. pomonella* и *G. mellonella* в условиях *in vitro*. Усовершенствован способ пробоподготовки биоматериала штаммов CrGV для процедуры молекулярно-генетической идентификации, который позволяет провести полногеномное секвенирование исследуемых вирусов насекомых с использованием природной популяции *C. pomonella*. Доказана энтомоцидная активность штаммов BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6, BZR GV L-8 на яблоне в условиях полевого мелкоделяночного опыта в отношении *C. pomonella*.

Теоретическая значимость. Результаты исследований дополняют теоретические представления о возможности разработки новых биологических средств защиты растений на основе энтомопатогенных вирусов. Изучен инсектицидный потенциал 22 штаммов CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР в отношении *C. pomonella* и *G. mellonella* в условиях *in vitro*. Получены новые знания о генетическом разнообразии штаммов грануловирусов в ценозах яблони на примере штаммов CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР.

Практическая значимость. Установлена перспективность использования штаммов BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6, BZR GV L-8 в качестве основы для разработки новых биологических инсектицидов для контроля численности *C. pomonella* на яблоне. По результатам исследований создана и внедрена база данных.

Положения, выносимые на защиту:

1. Новые штаммы CrGV BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6, BZR GV L-8, обладающие высокой энтомопатогенной активностью в условиях *in vitro* и *in vivo*, перспективные для использования в качестве штаммов-продуцентов вирусных препаратов для защиты и сохранения урожайности яблони.

2. Генетическая основа энтомопатогенной активности штаммов CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР против *C. pomonella* обусловлена наличием генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом: IAP, Cathepsin, MMP, Chitinase. Геномы исследуемых вирусов имеют сходство с коммерческими штаммами CrGV более 99,0%.

3. Модифицирован метод для работы с грануловirusами насекомых, который позволяет достоверно определить энтомопатогенную активность исследуемых штаммов CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР в отношении *C. pomonella* в условиях *in vitro*.

Методология и методы исследований. При выполнении лабораторных работ использовались стандартные методы технической энтомологии, стандартные и модифицированные микробиологические методы работы с бакуловirusами насекомых, методы полногеномного секвенирования и биоинформатического анализа. Полевые работы проводили согласно методическим указаниям по регистрационным испытаниям инсектицидов в растениеводстве.

Апробация работы. Результаты исследований докладывались на 10-ой Международной научно-практической конференции «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем. Становление и перспективы развития органического земледелия в РФ», г. Краснодар, 11-13 сентября, 2018; Международной научной конференции PLAMIC2018 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего», г. Уфа, 13-17 июня, 2018; IV международной научно-практической конференции «Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки», Республика Крым, 09-13 ноября, 2019; Международной научной конференции PLAMIC2020 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» г. Саратов, 5-9 октября, 2020; Международной научно-практической конференции «Исследования и последние достижения в АПК и биотехнологиях» (ABR 2021), г. Краснодар, 24-26 мая, 2021; Международном научно-практическом форуме «Биологизация процессов интенсификации в садоводстве и виноградарстве», г. Краснодар, 21-23 сентября 2021; III Международной конференции PLAMIC2022 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего», г. Санкт-Петербург, 3-8 октября, 2022; Международной научно-практической конференции «Защита и карантин растений», пос. Быково, 26-28 октября 2023; V Всероссийском конгрессе по защите растений, г. Санкт-Петербург, 16-19 апреля 2024; Ежегодной отчетной конференции грантодержателей Кубанского научного фонда (КНФ), г. Сочи, 29-31 мая, 2024; XII Международной научно-практической конференции «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем» г. Краснодар, 17-19 сентября, 2024 и др.

Публикации результатов исследования. По материалам диссертации опубликовано 25 работ, в том числе 3 – в рецензируемых научных изданиях, включённых в перечень ВАК РФ, 3 – в изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Scopus и Web of Science (из них 2 – в журналах Q2), 1 свидетельство о государственной регистрации базы данных.

Личный вклад соискателя. Автором проведен анализ источников литературы по теме исследований, выбор объектов исследований, совместно с научным руководителем разработаны схемы опытов, проведены экспериментальные исследования, их анализ, статистическая обработка, сделаны выводы, написаны статьи и диссертационная работа.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 167 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, заключения, практических рекомендаций, списка литературы, 5 приложений, содержит 13 таблиц, 15 рисунков. Список библиографических источников включает 389 наименований, в том числе 254 на иностранных языках.

Благодарности. Автор работы выражает искреннюю признательность и благодарность научному руководителю, канд. биол. наук, вед. научный сотрудник лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ ФНЦБЗР Асатуровой А.М за научно-методическое руководство и помощь в выполнении диссертационной работы, а также сотрудникам лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ ФНЦБЗР за оказанную помощь. За профессиональные консультации и помощь в проведении экспериментальных работ при подготовке диссертации автор благодарит сотрудников ФГБНУ ФНЦБЗР: канд. биол. наук, вед. научного сотрудника Исмаилова В.Я., канд. биол. наук, вед. научного сотрудника Агасьеву И.С., канд. биол. наук, ст. научного сотрудника Пушню М.В., канд. с.-х. наук Ермоленко С.А., Олейникову А.А. За содействие в проведении исследований автор благодарит сотрудников ИЦиГ СО РАН: академика РАН, д-ра. биол. наук, директора Кочетова А.В., канд. биол. наук, вед. научного сотрудника. Васильева Г.В., д-ра. биол. наук, вед. научного сотрудника Лашина С.А., мл. научного сотрудника Лахову Т.Н., а также сотрудников Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Адыгейский государственный университет» (ФГБОУ ВО АГУ): канд. физ.-мат. наук Алиева М.В., Лобанова А.Г.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Рассмотрена проблема повреждения урожая яблоневых садов *C. pomonella* и способы снижения её численности с помощью биологических агентов. Проанализирована информация о вирусе гранулёза как об агенте биоконтроля *C. pomonella*. Рассмотрены методы идентификации и культивирования энтомопатогенных бакуловирусов и способы получения бакуловирусных инсектицидов. Обобщены данные о разработке и использовании бакуловирусных инсектицидов в России и в мире.

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

Исследования проводили на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений», г. Краснодар (ФГБНУ ФНЦБЗР), Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск (ИЦиГ СО РАН), хутора Покровского, Краснодарского края в 2017-2024 годы.

Объекты исследования – 22 штамма CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР. Материал исследования – природная и лабораторная популяции *C. pomonella*, лабораторная популяция *G. mellonella*, деревья яблони домашней *Malus domestica* (Borkh., 1803) (Rosales: Rosaceae) сорта Брина. Предмет исследования – идентификация и биоинформатический анализ геномов 22 энтомопатогенных штаммов CrGV; энтомопатогенная активность 22 штаммов CrGV в отношении *C. pomonella* и *G. mellonella* в условиях *in vitro*; эффективность применения четырёх штаммов CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР в отношении *C. pomonella* в условиях *in vivo* (мелкие деланки).

Поиск и выделение изолятов CrGV осуществляли в ценозах яблони. Нарработку биомассы вирусов проводили на *C. pomonella* и *G. mellonella* (Колосов, 2011; Wan et al., 2016). Суспензию вируса готовили из инфицированных гусениц (гомогенизация, фильтрация, центрифугирование (8 000 об/15 мин) и ресуспендирование). Штаммы в виде смачивающегося порошка получали на культуре клеток с использованием целлюлозного носителя. При молекулярно-генетической идентификации штаммов модифицировали этап пробоподготовки биоматериала (исключение метода градиента сахарозы и использование гусениц природной популяции *C. pomonella*) (Jehle et al., 2008; Fan et al., 2019). Для сборки библиотек применяли фрагментацию ДНК и девять циклов ПЦР. Секвенировали на NextSeq550. Для сборки, аннотации, биоинформатического анализа геномов использовали программы FastQC, Fastp, BWA, Samtools, Spades, MinYS, Pilon, Gfinisher, Prokka, Quast, FastANI, gplots, progressiveMauve, GenAPI, Simply Phylogeny, iTOL. Референсы и 13 последовательностей геномов коммерческих штаммов вирусов брали из базы данных National Center for Biotechnology Information (NCBI). Геном штамма-продуцента Мадекс Твин, СК выделяли из препарата. Геномы депонировали в NCBI.

Отработку методов содержания *C. pomonella* осуществляли на лабораторной популяции *C. pomonella*. Оценку энтомопатогенной активности 22 штаммов CrGV *in vitro* осуществляли на лабораторной популяции *G. mellonella* и *C. pomonella* в сравнении с коммерческим препаратом Мадекс Твин, СК (CrGV isolat V22), 0,1 л/т, в контрольном варианте – воду. *G. mellonella* инокулировали перорально, инкубировали при 28-30 °С, влажности 70,0-80,0% (Осокина, 2019). *C. pomonella* инокулировали методом поверхностного заражения рациона, инкубировали при +26 °С, влажности 70,0%, фотопериоде 18:6 ч (день:ночь) (Berling et al., 2008; Graillot et al., 2019). Учет смертности *C. pomonella* производили на 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15 сутки

после обработки, *G. mellonella* – на 1, 3, 5, 7, 10 сутки после обработки. Использовали по пять гусениц в девятикратной повторности на вариант (Буров и др., 1995). Статистический анализ проводили с использованием Statistica 12 и Microsoft Excel (критерий Колмогорова-Смирнова, критерий Дункана). Энтомопатогенную активность рассчитывали с помощью формулы Хендерсона-Тилтона (Henderson, Tilton, 1955). Анализ выживаемости проводили методом Каплана-Майера (Kishore et al., 2010).

Испытания в условиях полевого мелкоделяночного опыта проводили в 2023-2024 годах на яблоне сорта Брина полевой базы хутора Покровского, Краснодарский край. Средняя температура вегетационного периода составила от +18,3 до +19,7 °С, суммарное количество осадков – 190-340 мм, влажность воздуха 57,3-66,4% (Rp5.ru..., 2024). Схема посадки деревьев – 4,5×1,5 м, густота посадки – 1481 дерево/га, площадь опытного участка – 0,36 га. Оценку эффективности штаммов BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6, BZR GV L-8 осуществляли согласно методическим указаниям (Долженко, 2022). Титр рабочих растворов составлял не менее 1×10^6 гранул/мл, норма применения – 0,5 л/дерево. В качестве коммерческого инсектицида использовали Мадекс Твин, СК. Для расчёта биологической эффективности по показателю снижения повреждённости генеративных или вегетативных частей растений применяли формулу Аббота (Abbott, 1925). Статистический анализ проводили с использованием Statistica 12 и Microsoft Excel (критерий Колмогорова-Смирнова, наименьшая существенная разница (НСР)).

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Выделение штаммов энтомопатогенных вирусов из природных источников

Критерий отбора изолятов CpGV – наличие внешних и внутренних симптомов вироза *C. pomonella*: изменение цвета/структуры кутикулы, некроз, гомогенация внутренних тканей, образование гранул (Рисунок 1). В 2020 году произведена инвентаризация (11 штаммов) и пополнение (11 штаммов) БРК ФГБНУ ФНЦБЗР вирусными агентами. Новые штаммы были выделены из разных станций юга России и республики Казахстан. При наработке биомассы штаммов CpGV с использованием популяции *C. pomonella* и лабораторной популяции *G. mellonella* подтверждена их патогенность в отношении насекомых (Рисунок 2 и 3).



Рисунок 1 – *C. pomonella* (ориг.): а) здоровая гусеница; б) гемолимфа здоровой гусеницы; в) гусеница с внешними симптомами вироза; д) гемолимфа инфицированной гусеницы (световая микроскопия, увеличение x400)



Рисунок 2 – *C. pomonella* (ориг.): а) здоровая гусеница; б) инфицированная вирусом гусеница, на примере штамма BZR GV; *G. mellonella* (ориг.): с) здоровая гусеница; d) инфицированная вирусом гусеница, на примере штамма BZR GV 14

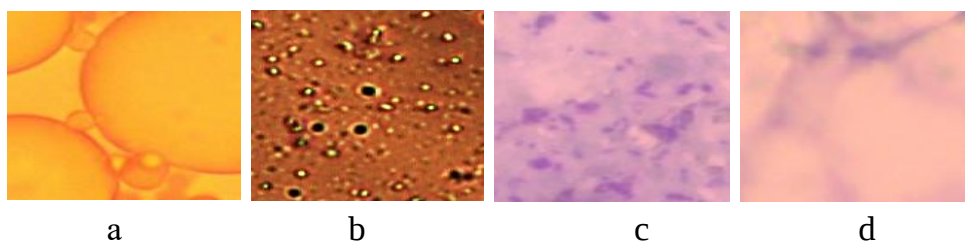


Рисунок 3 – Микроскопия гусениц (ориг.): а) гемолимфа здоровой *C. pomonella*; б) гемолимфа *C. pomonella*, инфицированной штаммом BZR GV 14; с) жировая ткань здоровой *G. mellonella*; d) жировая ткань *G. mellonella*, инфицированной штаммом BZR GV 14 (световая микроскопия, увеличение x400)

При сравнении признаков вироза на двух объектах обнаружена сходная симптоматика. Внешние симптомы выражались в изменении цвета кутикулы, появлении некроза, гомогенации внутренних тканей. Внутренние – в наличии гранул в гемолимфе *C. pomonella* (распределены равномерно, имели сферическую форму, диаметр 0,83-0,97 мкм) и жировом теле *G. mellonella* (распределены неравномерно, имели неправильную форму, диаметр 0,56-1,10 мкм). При комплексной оценке полученных данных установили, что для дальнейших исследований необходимо использовать вирусные суспензии, наработанные на *C. pomonella*. В результате исследований модифицирован метод наработки биомассы энтомопатогенных вирусов для 22 штаммов CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР с использованием популяции *C. pomonella* и лабораторной популяции *G. mellonella*.

Идентификация и биоинформатический анализ штаммов энтомопатогенных вирусов

При молекулярно-генетической идентификации штаммов CpGV на стадии дополнительной очистки водных суспензий (шприцевые фильтры) на примере пяти штаммов установлено снижение титра при фильтрации через поры 0,45 мкм на один-два порядка, а через поры 0,2 мкм – на два-четыре порядка, поэтому в дальнейшей работе решили исключить дополнительный этап очистки. Кроме того, отличительной особенностью пробоподготовки CpGV в данной работе является использование гусениц природной популяции *C. pomonella* в качестве биореактора, что позволяет сохранить вирулентность штаммов (Jehle et al., 2008; Fan et al., 2019). Таким образом, модифицирован метод пробоподготовки биоматериала энтомопатогенных бакуловирусов для осуществления процедуры молекулярно-генетической идентификации.

В ходе работ выделена ДНК 22 штаммов CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР и ДНК штамма-продуцента Мадекс Твин, СК. При подготовке библиотек установлено, что доля фракции ДНК 150-400 пн составила 4,5-10,0%. После секвенирования и оценки качества сборок геномов выявлено два пика GC состава, что свидетельствует о контаминации образцов ДНК насекомого-хозяина. В ходе аннотации геномов 22 штаммов CrGV установлен разброс по кодирующим последовательностям относительно референса не более 15 шт. (Таблица 1). Анализируя полученные данные, установлено, что сборки исследуемых геномов схожи по длине с референсным геномом, что подтверждает их принадлежность к группе CrGV.

Таблица 1 – Характеристики аннотаций геномов штаммов CrGV, 2023 год

№	Штамм/шифр	Общая длина сборки (пн)	Кодирующие последовательности (CDs), шт.	Предсказанные белки (%)
1	BZR GV 1	123848	138	23,9
2	BZR GV 2	133678	148	23,0
3	BZR GV 3	122997	136	24,3
4	BZR GV 4	123038	133	24,8
5	BZR GV 5	129218	145	24,1
6	BZR GV 6	123191	131	25,2
7	BZR GV 7	123363	137	24,1
8	BZR GV 8	123369	137	24,1
9	BZR GV 9	123364	137	24,1
10	BZR GV 10	123362	137	24,1
11	BZR GV 11	123204	136	24,3
12	BZR GV 12	130804	141	24,8
13	BZR GV 13	122929	136	24,3
14	BZR GV 14	120242	124	26,6
15	BZR GV L-1	124082	133	24,8
16	BZR GV L-2	123126	136	24,3
17	BZR GV L-3	123862	132	25,0
18	BZR GV L-4	122210	128	25,0
19	BZR GV L-5	126442	134	24,6
20	BZR GV L-6	120194	125	26,4
21	BZR GV L-7	122862	135	24,4
22	BZR GV L-8	124273	134	24,6
23	Мадекс Твин, СК	123542	133	24,8
24	референс (NC_002816.1)	123500	143	-

В ходе ANI-анализа геномов 22 штаммов CrGV к 13 геномам из базы данных NCBI, к геному штамма-продуцента Мадекс Твин, СК и референсному геному обнаружено максимальное геномное сродство BZR GV 4, BZR GV 6, BZR GV L-7 к MN696168.1, MN696167.1, KM217575.1, MN696171.1, KM217576.1 (NCBI) и штамму-продуценту Мадекс Твин, СК на уровне 99,8-99,9%. Получены значения ANI > 99% для 22 геномов штаммов CrGV по отношению к геному штамма-продуцента Мадекс Твин, СК, 13 геномам из базы NCBI и референсу (Рисунок 4).

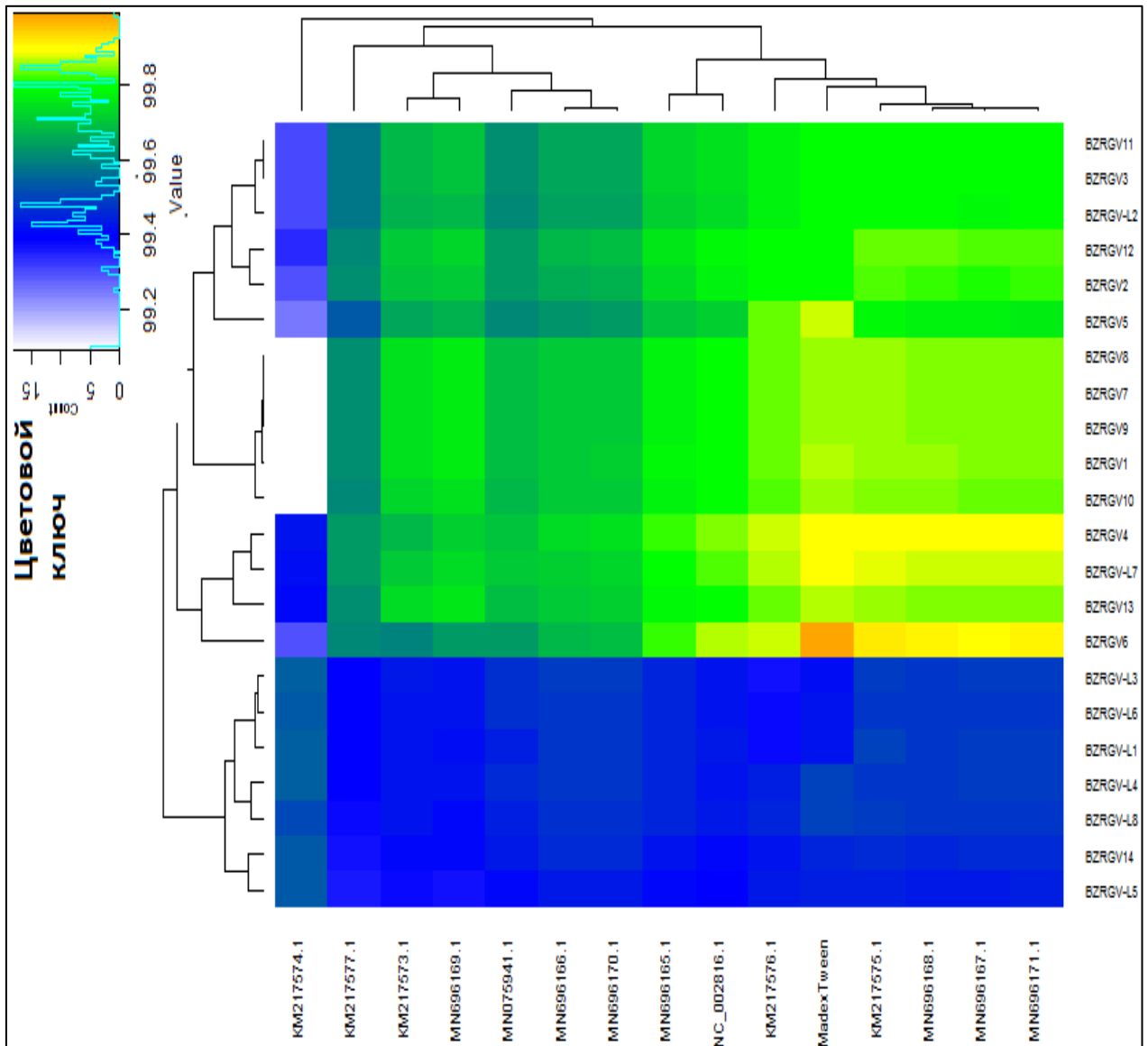


Рисунок 4 – Тепловая карта генетического сходства между геномами штаммов СрGV

При оценке результатов выравнивания полногеномных последовательностей 22 штаммов СрGV и генома штамма-продуцента Мадекс Твин, СК выявлено, что геномы штаммов BZR GV 1, BZR GV 2, BZR GV 3, BZR GV 4, BZR GV 5, BZR GV 6, BZR GV 7, BZR GV 8, BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV 11, BZR GV 12, BZR GV 13, BZR GV L-7, BZR GV L-8 имеют сходное строение с геномом штамма-продуцента Мадекс Твин, СК, геном BZR GV L-6 – с референсом NC_002816.1, а последовательности штаммов BZR GV L-1, BZR GV L-2, BZR GV L-3, BZR GV L-4, BZR GV L-5, BZR GV 14 индивидуальны (Рисунок 5).

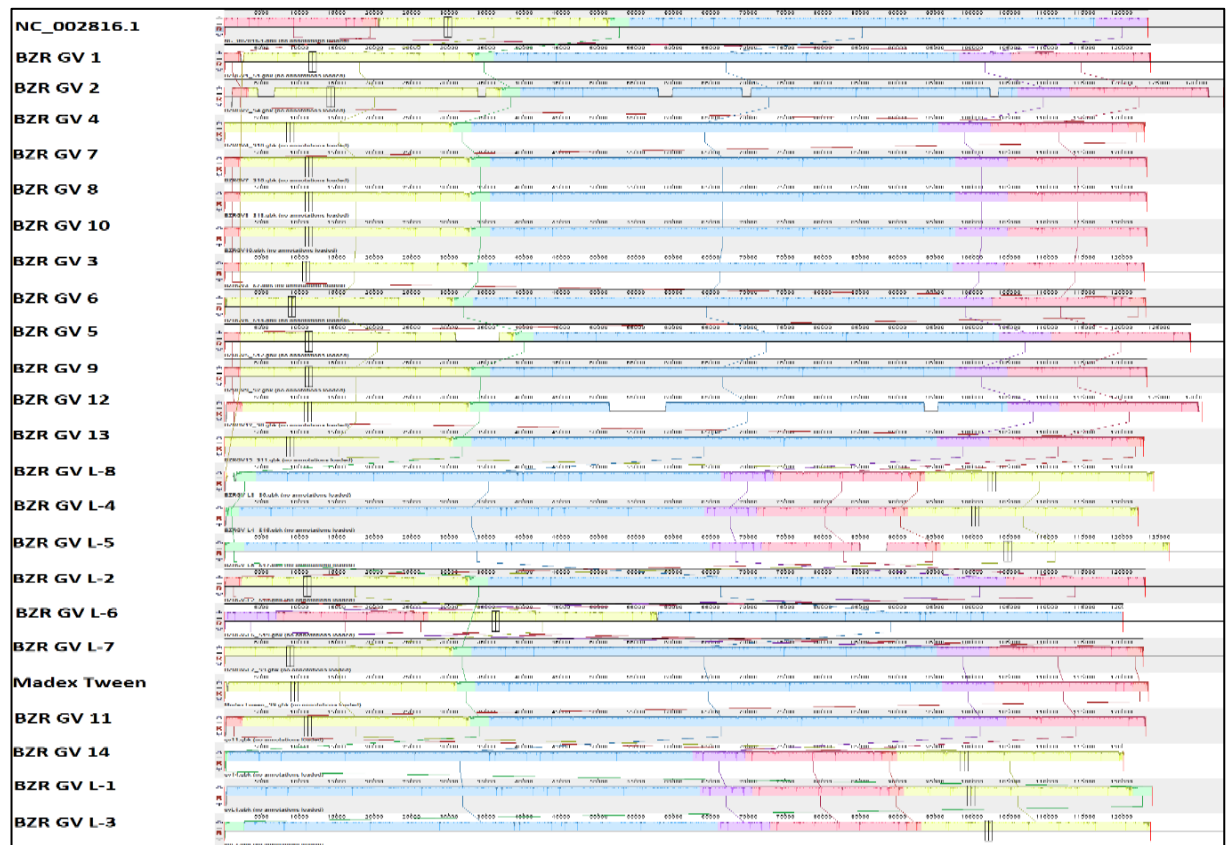


Рисунок 5 – Выравнивание полногеномных последовательностей штаммов CpGV.

Цветом обозначены гомологичные участки в геномах

Анализ генного репертуара 22 штаммов CpGV и генома штамма-продуцента Мадекс Твин, СК позволил выявить 11 вариабельных генов. Так, штаммы BZR GV L-7, BZR GV 6 и BZR GV 4 оказались наиболее близки по генному репертуару к штамму-продуценту Мадекс Твин, СК, что согласуется с результатами ANI-анализа, полученными ранее (Рисунок 6).

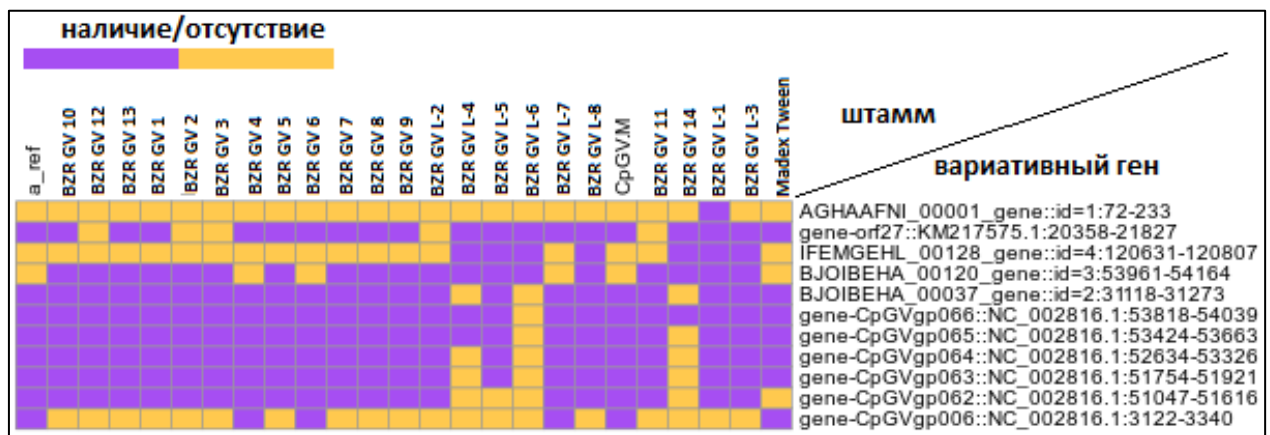


Рисунок 6 – Карта представленности генного репертуара штаммов CpGV

В геномах 22 штаммов CpGV и генома штамма-продуцента Мадекс Твин, СК установлено наличие четырёх генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом (Inhibitors of apoptosis (IAP) – ингибитор апоптоза,

Cathepsin – участвует в гомогенации тканей, matrix metalloproteinases (MMP) – разрушает белки внеклеточного матрикса, Chitinase – разрушает хитин), при этом аутгруппа – гены *Cryptophlebia leucotreta* granulovirus (CrleGV), референс – CpGV-M *C. pomonella* granulovirus (для Chitinase в геноме CrleGV ген был помечен как псевдо). На основании присутствия этих генов построены филограммы (Рисунок 7-10). Отмечена принадлежность к отдельной группе в каждой из четырёх филограмм у штаммов BZR GV 14, BZR GV L-1, BZR GV L-3, BZR GV L-4, BZR GV L-5, BZR GV L-6 и BZR GV L-8. Кроме того, генетическая информация о 22 штаммах CpGV депонирована в NCBI. Учитывая изложенное, на основе данных биоинформатического анализа можно предположить инсектицидный потенциал 22 штаммов CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР в отношении *C. pomonella*, но и их экологическую пластичность (различная комбинация вариабельных генов, четыре гена, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом) при изменяющихся условиях среды.

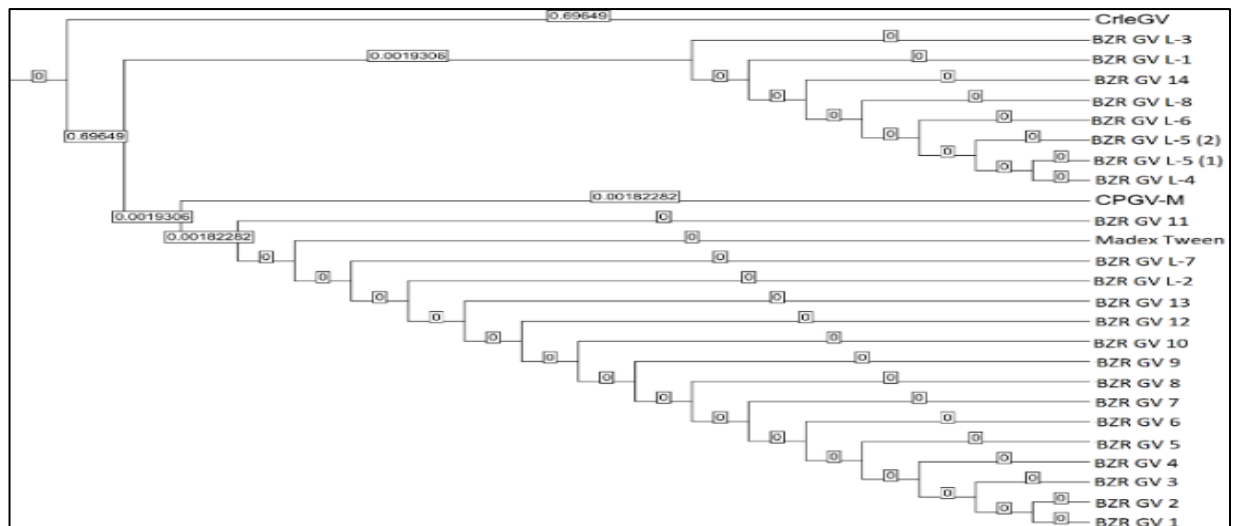


Рисунок 7 – Филограмма штаммов CpGV и штамма-продуцента Мадекс Твин, СК, построенная по гену, кодирующему белок IAP

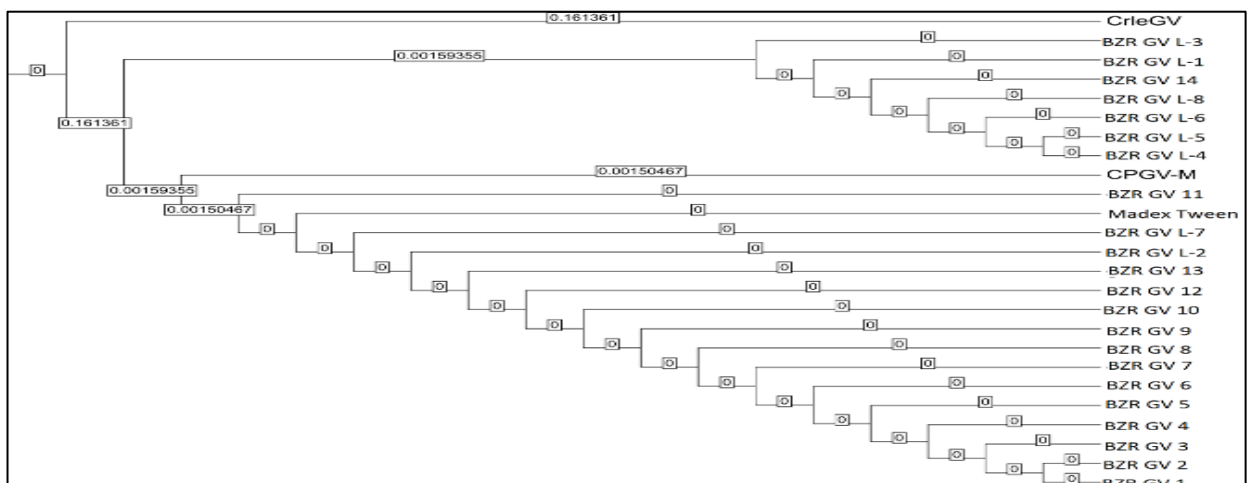


Рисунок 8 – Филограмма штаммов CpGV и штамма-продуцента Мадекс Твин, СК, построенная по гену, кодирующему белок Cathepsin

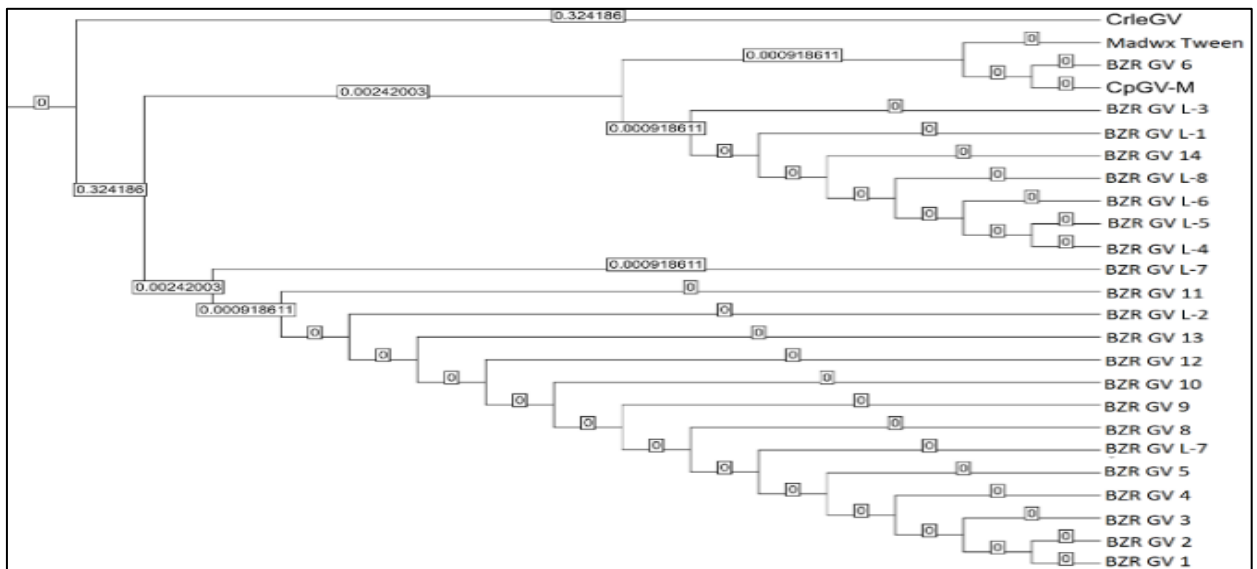


Рисунок 9 – Филограмма штаммов CrGV и штамма-продуцента Мадекс Твин, СК, построенная гену, кодирующему белок ММР

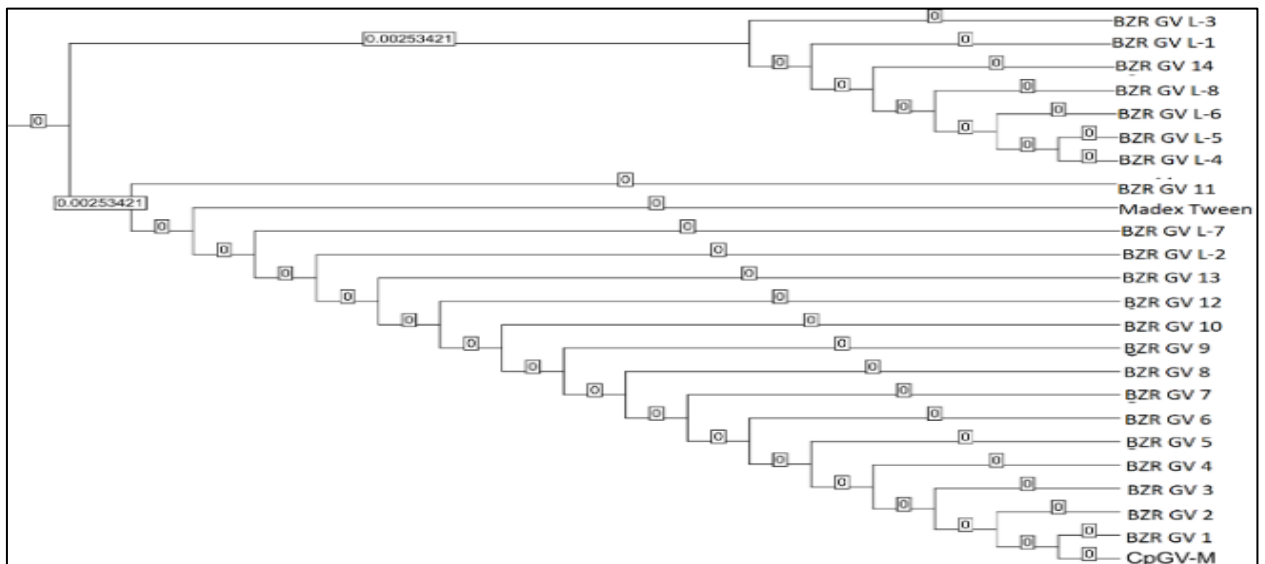


Рисунок 10 – Филограмма штаммов CrGV и штамма-продуцента Мадекс Твин, СК, построенная гену, кодирующему белок Chitinase

Оценка защитного действия штаммов энтомопатогенных вирусов в отношении *S. pomonella* и лабораторной популяции *G. mellonella* в условиях *in vitro*

При оценке энтомопатогенной активности 22 штаммов CrGV максимальная биологическая эффективность (БЭ) в отношении *S. pomonella* отмечена в вариантах BZR GV 1, BZR GV 3, BZR GV 7, BZR GV 10, BZR GV L-3, BZR GV L-8 на уровне 93,0-100% на 15 сутки, при эффективности Мадекс Твин, СК 89,5%. Максимальная БЭ в отношении *G. mellonella* установлена на уровне 22,2-24,4% в вариантах BZR GV L-1, BZR GV L-7 на 10 сутки, при отсутствии эффективности в варианте с использованием коммерческого препарата (Таблица 2). Таким образом, можно сделать вывод о нецелесообразности использования *G. mellonella* для осуществления процедур скрининга штаммов CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР по критерию энтомопатогенной активности.

Таблица 2 – Энтомопатогенная активность штаммов СрGV в отношении насекомых в условиях *in vitro*, 2022 год

№	Штамм/шифр	БЭ, %*, сутки											
		<i>C. pomonella</i>							<i>G. mellonella</i>				
		1	2	3	5	7	10	15	1	3	5	7	10
1	BZR GV 1	25,1 ^{ab}	32,8 ^b	31,9 ^{abcd}	36,8 ^{bcde}	73,0 ^{ab}	100 ^a	100 ^a	0 ^a	0 ^b	0 ^c	0 ^c	0 ^b
2	BZR GV 2	6,4 ^{cde}	7,9 ^{defg}	5,7 ^{efgh}	6,5 ^{fghi}	46,1 ^{bcdef}	77,4 ^{abcd}	79,1 ^{abcd}	0 ^a	0 ^b	0 ^c	0 ^c	0 ^b
3	BZR GV 3	0 ^e	12,9 ^{bcdef}	10,9 ^{defgh}	17,5 ^{cdefgh}	55,0 ^{abcde}	87,1 ^{abc}	100 ^{ab}	0 ^a	0 ^b	0 ^c	8,8 ^{bc}	17,7 ^a
4	BZR GV 4	0 ^e	7,9 ^{defg}	5,7 ^{fgh}	9,3 ^{efghi}	46,1 ^{bcdef}	83,8 ^{abc}	89,5 ^{abcd}	0 ^a	0 ^b	13,3 ^{abe}	13,3 ^{abc}	15,5 ^{ab}
5	BZR GV 5	11,1 ^{cd}	20,3 ^{bcde}	18,8 ^{cdefg}	31,3 ^{bcdef}	55,0 ^{abcde}	64,5 ^{bcd}	86,1 ^{abcd}	0 ^a	0 ^b	8,8 ^{abcde}	11,1 ^{abc}	17,7 ^a
6	BZR GV 6	1,7 ^{de}	7,9 ^{defg}	5,7 ^{efgh}	14,8 ^{defghi}	52,1 ^{bcdef}	70,9 ^{abcd}	93,0 ^{ab}	0 ^a	0 ^b	0 ^c	8,8 ^{bc}	8,8 ^{ab}
7	BZR GV 7	4,0 ^{cde}	5,4 ^{defg}	8,3 ^{efgh}	20,3 ^{cdefgh}	76,0 ^{ab}	83,8 ^{abc}	100 ^{ab}	0 ^a	0 ^b	0 ^c	0 ^c	8,8 ^{ab}
8	BZR GV 8	4,0 ^{cde}	7,9 ^{defg}	18,8 ^{bcdef}	31,3 ^{bcdef}	61,0 ^{abc}	70,9 ^{abcd}	89,5 ^{abcd}	0 ^a	0 ^b	13,3 ^{abde}	17,7 ^{ab}	17,7 ^a
9	BZR GV 9	0 ^e	17,8 ^{bcdef}	26,7 ^{bcdef}	45,0 ^{abc}	73,0 ^{ab}	77,4 ^{abcd}	86,1 ^{abcd}	0 ^a	0 ^b	11,1 ^{abcde}	11,1 ^{abc}	11,1 ^{ab}
10	BZR GV 10	8,7 ^{cd}	12,9 ^{cdef}	29,3 ^{abcde}	39,5 ^{abcd}	61,0 ^{abc}	74,1 ^{abcd}	100 ^{ab}	0 ^a	0 ^b	0 ^c	0 ^c	17,7 ^a
11	BZR GV 11	0 ^e	5,4 ^{defg}	5,7 ^{fgh}	3,8 ^{fghi}	40,1 ^{cdefg}	80,6 ^{abcd}	89,5 ^{abcd}	0 ^a	0 ^b	0 ^{cde}	8,8 ^{bc}	11,1 ^{ab}
12	BZR GV 12	0 ^e	0 ^g	0 ^{hi}	0 ⁱ	13,1 ^{gh}	51,6 ^d	72,2 ^{bcd}	0 ^a	0 ^b	0 ^c	0 ^c	0 ^b
13	BZR GV 13	0 ^e	0 ^g	0 ⁱ	0 ⁱ	52,1 ^{bcdef}	70,9 ^{abcd}	89,5 ^{abcd}	0 ^a	2,5 ^b	11,1 ^{abcde}	17,7 ^{ab}	17,7 ^a
14	BZR GV 14	1,7 ^{de}	2,9 ^{defg}	5,7 ^{fgh}	9,3 ^{efghi}	22,1 ^{fgh}	9,6 ^e	20,1 ^e	0 ^a	0 ^b	11,1 ^{abcde}	13,3 ^{abc}	20,0 ^a
15	BZR GV L-1	0 ^e	0 ^g	0 ^{hi}	0 ^{hi}	25,1 ^{efgh}	25,8 ^e	65,2 ^c	0 ^a	0 ^b	15,5 ^a	24,4 ^a	24,4 ^a
16	BZR GV L-2	0 ^e	0 ^{fg}	0,5 ^{ghi}	12,0 ^{defghi}	67,0 ^{abc}	74,1 ^{abcd}	79,1 ^{abcd}	0 ^a	0 ^b	0 ^c	11,1 ^{abc}	17,7 ^a
17	BZR GV L-3	0 ^e	0 ^{fg}	0,5 ^{ghi}	14,8 ^{defghi}	67,0 ^{abc}	80,6 ^{abcd}	100 ^{ab}	0 ^a	0 ^b	0 ^c	8,8 ^{bc}	11,1 ^{ab}
18	BZR GV L-4	0 ^e	10,4 ^{cdef}	18,8 ^{cdefg}	28,5 ^{bcdefg}	49,1 ^{bcdef}	70,9 ^{abcd}	75,6 ^{abcd}	0 ^a	0 ^b	0 ^c	8,8 ^{bc}	8,8 ^{ab}
19	BZR GV L-5	1,7 ^{de}	10,4 ^{cdef}	5,7 ^{fgh}	28,5 ^{bcdefg}	58,0 ^{abcd}	77,4 ^{abcd}	82,6 ^{abcd}	0 ^a	0 ^b	2,5 ^{bcde}	6,6 ^{bc}	11,1 ^{ab}
20	BZR GV L-6	6,4 ^{cde}	22,8 ^{bcd}	37,1 ^{abc}	50,5 ^{ab}	70,0 ^{abc}	77,4 ^{abcd}	82,6 ^{abcd}	0 ^a	0 ^b	0 ^{cd}	0 ^c	0 ^b
21	BZR GV L-7	15,7 ^{bc}	15,3 ^{bcdef}	13,6 ^{defgh}	12,0 ^{defghi}	28,1 ^{defgh}	58,0 ^{cd}	65,2 ^c	0 ^a	11,1 ^a	13,3 ^{ab}	13,3 ^{abc}	22,2 ^a
22	BZR GV L-8	11,1 ^{cd}	30,3 ^{bc}	42,4 ^{ab}	64,2 ^a	85,0 ^a	90,3 ^{ab}	100 ^{ab}	0 ^a	0 ^b	0 ^{bcde}	0 ^c	0 ^b
23	Мадекс Твин, СК	27,4 ^a	50,2 ^a	50,2 ^a	53,3 ^{ab}	64,0 ^{abc}	67,7 ^{bcd}	89,5 ^{abcd}	0 ^a	0 ^b	0 ^{bcde}	0 ^c	0 ^b
24	контроль **	4,7 ^{de}	4,4 ^{efg}	4,2 ^{ghi}	4,0 ^{ghi}	3,7 ^h	3,4 ^e	3,2 ^e	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^{bcde}	5,0 ^c	5,0 ^b
примечание: * между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами при сравнении в пределах столбцов по критерию Дункана нет статистически достоверных отличий при 95 % уровне вероятности, данные рассчитаны на основе гибели насекомых в шт.													
примечание: **в контроле указано количество живых насекомых (шт.)													

При анализе выживаемости *C. pomonella* установлено, что по среднему времени гибели наиболее активны штаммы BZR GV 1, BZR GV 7, BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6, BZR GV L-8 (4,6-6,6 суток). По медианному времени гибели – BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6, BZR GV L-8 (3,0-5,0 суток) (Таблица 3). При комплексной оценке отобраны следующие перспективные штаммы по критерию темпов смертности: BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6, BZR GV L-8.

Таблица 3 – Анализ выживаемости гусениц *C. pomonella* в условиях *in vitro*, 2023 год

№	Штамм/шифр	р-значение (уровень ошибки)	Среднее время гибели, сутки	Медианное время гибели, сутки	Стандартное отклонение, сутки
1	BZR GV 1	<0,001	5,2	7,0	0,5
2	BZR GV 2	<0,001	7,7	7,0	0,6
3	BZR GV 3	<0,001	7,0	7,0	0,6
4	BZR GV 4	<0,001	7,6	7,0	0,5
5	BZR GV 5	<0,001	7,2	7,0	0,7
6	BZR GV 6	<0,001	7,8	7,0	0,6
7	BZR GV 7	<0,001	6,6	7,0	0,5
8	BZR GV 8	<0,001	7,0	7,0	0,7
9	BZR GV 9	<0,001	6,1	5,0	0,6
10	BZR GV 10	<0,001	6,5	5,0	0,7
11	BZR GV 11	<0,001	7,9	7,0	0,5
12	BZR GV 12	<0,001	10,0	10,0	0,5
13	BZR GV 13	<0,001	8,7	7,0	0,5
14	BZR GV 14	0,054	10,6	15,0	0,8
15	BZR GV L-1	<0,001	10,6	15,0	0,6
16	BZR GV L-2	<0,001	7,6	7,0	0,5
17	BZR GV L-3	<0,001	7,3	7,0	0,5
18	BZR GV L-4	<0,001	7,4	7,0	0,7
19	BZR GV L-5	<0,001	7,2	7,0	0,6
20	BZR GV L-6	<0,001	5,8	5,0	0,6
21	BZR GV L-7	<0,001	8,5	10,0	0,8
22	BZR GV L-8	<0,001	4,6	3,0	0,5
23	Мадекс Твин, СК	<0,001	5,6	2,0	0,8

При оценке энтомопатогенной активности в зависимости от титра тестировали суспензии штаммов BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6, BZR GV L-8 в двух концентрациях: с основанием 10^6 и 10^4 гранул/мл на *C. pomonella*. Установлено, что наиболее активны суспензии с титром не менее $1,0 \times 10^6$ гранул/мл (БЭ – 80,0-100% на 15 сутки) (Таблица 4). В результате проведенных исследований выявлена прямая зависимость количества вируса и гибели насекомых.

При оценке энтомопатогенной активности в зависимости от возраста насекомых тестировали штаммы BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6, BZR GV L-8 на *C. pomonella* 2-3 и 4-5 возрастов. Отмечено, что наиболее чувствительны к вирусу гусеницы 2-3 возраста (БЭ – 66,6-100% на 15 сутки) (Таблица 5). В результате выявлено, что суспензии штаммов вируса CpGV наиболее эффективны в отношении *C. pomonella* 2-3 возраста.

Таблица 4 – Энтомопатогенная активность штаммов CpGV в отношении гусениц *C. pomonella* в зависимости от титра водной суспензии в условиях *in vitro*, 2023 год

№	Штамм/шифр	Титр, гранул/мл	БЭ, %*, сутки						
			1	2	3	5	7	10	15
1	BZR GV 9	$4,8 \times 10^4$	6,6 ^{ab}	0 ^a	10,2 ^{abc}	18,9 ^{abd}	25,7 ^a	33,3 ^c	56,6 ^a
2	BZR GV 10	$1,1 \times 10^4$	11,1 ^{abc}	15,0 ^{ab}	28,2 ^{ab}	51,3 ^c	74,2 ^c	72,7 ^a	73,3 ^{ab}
3	BZR GV L-6	$1,1 \times 10^4$	0 ^a	12,5 ^{ab}	17,9 ^{abc}	21,6 ^{ab}	22,8 ^{ad}	36,3 ^{bc}	66,6 ^{ab}
4	BZR GV L-8	$2,5 \times 10^4$	0 ^a	5,0 ^{ab}	7,6 ^{bc}	13,5 ^d	28,5 ^{ab}	36,3 ^{bc}	60,0 ^a
5	BZR GV 9	$4,8 \times 10^6$	20,0 ^{bc}	20,0 ^{ab}	25,6 ^{ab}	35,1 ^{abc}	40,0 ^{ab}	57,5 ^{abc}	80,0 ^{abc}
6	BZR GV 10	$1,1 \times 10^6$	13,3 ^{abc}	20,0 ^{ab}	28,2 ^{ab}	35,1 ^{abc}	40,0 ^{ab}	63,6 ^{ab}	100 ^c
7	BZR GV L-6	$1,1 \times 10^6$	24,4 ^c	25,0 ^b	33,3 ^a	43,2 ^{ac}	54,2 ^{bc}	72,2 ^a	80,0 ^{abc}
8	BZR GV L-8	$2,5 \times 10^6$	15,5 ^{bc}	15,0 ^{ab}	30,7 ^{ab}	35,1 ^{abc}	37,1 ^{ab}	45,4 ^{abc}	86,6 ^{bc}
9	Мадекс Твин, СК	$3,0 \times 10^6$	8,8 ^{ab}	10,0 ^{ab}	20,5 ^{abc}	29,7 ^{abc}	31,4 ^{ab}	63,6 ^{ab}	80,0 ^{abc}
10	контроль**	-	5,0 ^a	4,4 ^a	4,3 ^c	4,1 ^d	3,8 ^d	3,6 ^d	3,3 ^d

примечание: * между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами при сравнении в пределах столбцов по критерию Дункана нет статистически достоверных отличий при 95 % уровне вероятности, данные рассчитаны на основе гибели насекомых в шт.

примечание: **в контроле указано количество живых насекомых (шт.)

Таблица 5 – Энтомопатогенная активность штаммов CpGV в зависимости от возраста гусениц *C. pomonella* в условиях *in vitro*, 2023 год

№	Штамм/шифр	Возраст	БЭ, %*, сутки						
			1	2	3	5	7	10	15
1	BZR GV 9	2-3	2,7 ^a	0 ^{ab}	0 ^a	7,6 ^{ab}	34,6 ^a	100 ^b	100 ^a
2	BZR GV 10		0 ^a	0 ^{ab}	0 ^{ab}	15,3 ^{ab}	53,8 ^a	85,0 ^{ab}	100 ^a
3	BZR GV L-6		5,5 ^a	11,1 ^a	21,4 ^b	26,9 ^{ab}	46,1 ^a	85,0 ^{ab}	100 ^a
4	BZR GV L-8		0 ^a	0 ^b	0 ^a	0 ^b	30,7 ^{ab}	65,0 ^a	100 ^a
5	Мадекс Твин, СК		0 ^a	0 ^{ab}	3,5 ^{ab}	34,6 ^a	50,0 ^a	65,0 ^a	66,6 ^a
6	контроль**		4,0 ^a	3,0 ^{ab}	3,1 ^{ab}	2,8 ^{ab}	2,8 ^b	2,2 ^c	1,3 ^b
7	BZR GV 9	4-5	0 ^a	0 ^a	10,0 ^{ab}	31,5 ^{ab}	0 ^a	28,3 ^a	100 ^a
8	BZR GV 10		0 ^a	0 ^a	10,0 ^{ab}	15,7 ^{ac}	4,1 ^a	23,8 ^a	100 ^a
9	BZR GV L-6		0 ^a	0 ^a	2,5 ^a	18,4 ^{ac}	0 ^a	0 ^a	80,9 ^a
10	BZR GV L-8		0 ^a	0 ^a	0 ^a	34,2 ^{ab}	25,0 ^a	38,1 ^a	66,6 ^a
11	Мадекс Твин, СК		14,6 ^b	17,5 ^b	27,5 ^b	44,7 ^b	25,0 ^a	47,6 ^a	71,4 ^a
12	контроль**		4,5 ^a	4,4 ^a	4,4 ^a	4,2 ^c	2,6 ^a	2,3 ^a	2,3 ^b

примечание: * между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами при сравнении в пределах столбцов по критерию Дункана нет статистически достоверных отличий при 95 % уровне вероятности, данные рассчитаны на основе гибели насекомых в шт.

примечание: **в контроле указано количество живых насекомых (шт.)

Основываясь на вышеизложенном, для дальнейших исследований в условиях полевого мелкоделяночного эксперимента были отобраны штаммы BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6, BZR GV L-8, которые ранее показали высокую эффективность и темпы смертности в отношении *C. pomonella in vitro*.

Оценка защитного действия штаммов энтомопатогенных вирусов в отношении *C. pomonella* на яблоне в условиях полевого мелкоделяночного опыта

Оценку энтомопатогенной активности CpGV в условиях полевого мелкоделяночного опыта проводили в 2023-2024 годах (Таблица 6).

Таблица 6 – Эффективность обработки яблони сорта Брина штаммами CrGV против *C. pomonella*, хутор Покровский, Краснодарский край, 2023-2024 годы

№	Вариант	БЭ, %				Урожайность*, т/га		Сохранённый урожай, т/га	
		в падалице		в съёмном урожае		2023	2024	2023	2024
		2023	2024	2023	2024				
1	BZR GV 9	59,3	0	67,6	67,3	15,8	15,6	5,4	7,7
2	BZR GV 10	85,1	12,8	69,6	4,5	30,0	13,8	19,6	5,8
3	BZR GV L-6	79,4	13,7	74,7	20,9	27,4	11,0	17,0	3,0
4	BZR GV L-8	72,2	17,8	68,4	59,1	24,0	14,5	13,6	7,8
5	Мадекс Твин, СК	66,1	58,6	41,2	86,4	28,2	12,7	17,8	4,8
6	контроль	-	-	-	-	10,4	8,0	-	-
HCP ₀₅		9,5	27,4	9,4	24,5	4,4	3,7	-	-

В 2023 году минимальный уровень повреждения плодов насекомыми на падалице отмечен в варианте BZR GV 10 (БЭ – 85,1%), в съёмном урожае – BZR GV L-6 (БЭ – 74,7%). В 2024 году минимальное повреждение плодов как на падалице (БЭ – 58,6%), так в съёмном урожае (БЭ – 86,4%) установлено в варианте с применением Мадекс Твин, СК. Среди штаммов можно выделить BZR GV L-8, БЭ которого на падалице составила 17,8%, и BZR GV 9, БЭ которого в съёмном урожае равнялась 67,3%.

Сохранённый урожай в 2023 году был на уровне 5,4-19,6 т/га, при урожае в контроле 10,4 т/га. Достоверное увеличение урожая в сравнении с контролем отмечено во всех вариантах. Максимальная урожайность получена с использованием штамма BZR GV 10 – 30 т/га, при этом сохранённый урожай составил 19,6 т/га, что больше, чем при использовании Мадекс Твин, СК на 1,8 т/га. Сохранённый урожай в 2024 году был на уровне 3,0-7,8 т/га, при урожае в контроле 8,0 т/га. Достоверное увеличение урожая в сравнении с контролем отмечено во всех вариантах, кроме варианта с использованием штамма BZR GV L-6. Наибольшая урожайность получена с использованием штамма BZR GV L-8 – 14,5 т/га, при этом сохранённый урожай составил 7,8 т/га, что больше, чем при использовании Мадекс Твин, СК на 3,0 т/га.

При комплексной оценке БЭ и урожайности по годам отмечено снижение этих показателей в 2024 году, что, предположительно, обусловлено погодными условиями вегетационного периода 2024 года (повышение температуры и снижение влажности), что благоприятно сказалось на развитии *C. pomonella*, а, следовательно, увеличении уровня поврежденности плодов. В 2023 году сложились благоприятные погодные условия для реализации инсектицидного потенциала исследуемых штаммов CrGV в отношении *C. pomonella*.

При оценке всех параметров установлено, что штаммы BZR GV 9 и BZR GV L-8 показали стабильный результат при изменяющихся условиях среды. Однако при комплексной оценке снижения поврежденности плодов относительно контроля, а также полученного и сохранённого урожая можно выделить штамм BZR GV L-8. Его эффективность в 2023-2024 годах была на уровне 17,8-72,2%, а полученный урожай – 14,5-24,4 т/га, что сопоставимо или выше показателей в варианте с использованием препарата Мадекс Твин, СК с учетом отсутствия разработанной препаративной формы для исследуемых штаммов. В результате проведенных исследований, установлено, что в условиях полевого мелкоделяночного полевого опыта обработка яблони сорта Брина

водными вирусными суспензиями штаммов BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6 и BZR GV L-8 способна обеспечивать защиту от *C. pomonella* на уровне 4,5-85,1% при получении сохранённого урожая от 3,0 до 19,6 т/га, БЭ в варианте с коммерческим инсектицидом – 41,2-86,4 % и урожайность 12,2-28,2 т/га.

При сопоставлении полученных данных *in vitro* и *in vivo*, а также данных биоинформатического анализа 22 штаммов CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР, важно отметить, что наличие в их геномах генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом, и генетического сходства со штаммом-продуцентом биоинсектицида Мадекс Твин, СК и 13 геномами коммерческих изолятов CpGV не гарантирует высокую эффективность в отношении *C. pomonella*, что следует учесть при дальнейшей работе со штаммами бакуловирусов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при изучении биологических свойств 22 штаммов CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР установлена их перспективность в качестве основы для создания биоинсектицидов в отношении *C. pomonella*. Исходя из проведённых исследований *in vitro* и *in vivo* (мелкие делянки), можно сделать следующие **выводы**:

1. Произведена инвентаризация штаммов CpGV и пополнение из природных источников 11 новыми штаммами CpGV БРК ФГБНУ ФНЦБЗР. Установлена принадлежность 22 штаммов CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР к группе грануловирусов на основании полногеномного секвенирования. Отмечена схожесть генетических последовательностей 22 штаммов CpGV более 90% с геномом штамма-продуцента препарата Мадекс Твин, СК и 13 геномами CpGV из базы данных NCBI. Установлено наличие генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом (IAP, Cathepsin, MMP, Chitinase), в последовательностях 22 исследуемых штаммов CpGV.

2. Выявлены наиболее активные штаммы CpGV по критерию БЭ в отношении *G. mellonella*: BZR GV L-1, BZR GV L-7 (22,2-24,4%). Отобраны перспективные штаммы CpGV по критерию БЭ (82,6-100%) и темпов смертности (3,0-6,5 суток) в отношении *C. pomonella*: BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6 и BZR GV L-8. Установлено, что наиболее эффективными являются водные вирусные суспензии штаммов CpGV с титром не менее $1,0 \times 10^6$ гранул/мл, применяемые в отношении гусениц *C. pomonella* 2-3 возраста. Модифицирован метод для работы со штаммами CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР с использованием популяции *C. pomonella* и лабораторной популяции *G. mellonella*, который позволяет достоверно определить инсектицидную активность исследуемых штаммов в условиях *in vitro*.

3. Доказано, что в условиях полевого мелкоделяночного опыта обработка деревьев *M. domestica* сорта Брина водными вирусными суспензиями штаммов CpGV BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6 и BZR GV L-8 способна обеспечивать защиту от *C. pomonella* на уровне 4,5-85,1% при получении сохранённого урожая от 3,0 до 19,6 т/га. При комплексной оценке по критериям защитного действия и сохранённого урожая можно выделить перспективный штамм BZR GV L-8: БЭ – 17,8-72,2%, урожайность – 14,5-24,4 т/га, БЭ в варианте с коммерческим инсектицидом – 41,2-86,4 % и урожайность 12,2-28,2 т/га.

По результатам работы предлагаются следующие **практические рекомендации**: при создании новых отечественных биоинсектицидов научно-исследовательскими учреждениями и коммерческими организациями для контроля численности *C. pomonella* рекомендовать штаммы BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6 и BZR GV L-8 из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР. При оценке биологической эффективности штаммов CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР в отношении насекомых *C. pomonella* в условиях *in vitro* рекомендуется использовать их в виде водной вирусной суспензии с титром не менее 1×10^6 гранул/мл в отношении гусениц 2-3 возраста.

Список опубликованных работ

Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Биологический контроль численности яблонной плодовой моли на основе энтомопатогенных микроорганизмов (обзор) / Е. Ю. Бондарчук, А. М. Асатурова, Н. С. Томашевич, **А. А. Цыгичко** [и др.] – DOI 10.24411/0235-2451-2020-11108 // Достижения науки и техники АПК. – 2020. – Т. 34, № 11. – С. 53-66. – EDN MBPOAG.
2. Цыгичко, А. А. Скрининг новых штаммов вируса гранулёза в отношении большой восковой моли *Galleria mellonella* / **А. А. Цыгичко**, А. М. Асатурова – DOI 10.53859/02352451_2022_36_3_45 // Достижения науки и техники АПК. – 2022. – Т. 36, № 3. – С. 45-52. – EDN UDPHZK.
3. Оценка энтомопатогенной активности вируса гранулёза в отношении яблонной плодовой моли / **А. А. Цыгичко**, А. М. Асатурова, А. Г. Лобанов, А. Ю. Кузнецов – DOI 10.53859/02352451_2023_37_5_34 // Достижения науки и техники АПК. – 2023. – Т. 37, № 5. – С. 34-38. – EDN QNQTWC.

Работы, опубликованные в изданиях, индексируемых в международных базах данных научного цитирования:

1. New *Cydia pomonella* granulovirus strain with high entomopathogenic activity / **A. A. Tsygichko**, A. M. Asaturova, G. V. Vasiliev [et al.] – DOI 10.1128/mra.00538-24. – EDN VGRVWB // Microbiology Resource Announcements. – 2024. – Vol. 13, No. 9. – P. e00538-24. (Q4).
2. Biocontrol Potential of the New Codling Moth Granulovirus (CpGV) Strains / **A. Tsygichko**, A. Asaturova, T. Lakhova [et al.] – DOI 10.3390/microorganisms12101991 // Microorganisms. – 2024. – Vol. 12, No. 10. – P. 1991. – EDN KEGZXJ. (Q2).
3. Assembly and Genome Annotation of Different Strains of Apple Fruit Moth Virus (*Cydia pomonella* granulovirus) / T. N. Lakhova, **A. A. Tsygichko**, A. I. Klimenko [et al.] – DOI 10.3390/ijms25137146 // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 25, № 13. – P. 7146. – EDN EOTSFI. (Q2).

Авторские свидетельства, патенты, лицензии:

1. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022622697 Российская Федерация. Энтомопатогенные вирусы из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и полезных микроорганизмов»: № 2022622605 : заявл. 24.10.2022 : опубл. 01.11.2022 / **А. А. Цыгичко**, А. М. Асатурова, В. Я. Исмаилов ; правообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр

биологической защиты растений». – EDN JDOVGP. – URL: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_49774469_82461373.PDF.

Публикации в других научных изданиях:

1. Биологический контроль численности яблонной плодовой гнили на основе энтомопатогенных вирусов (обзор) / **А. А. Цыгичко**, А. М. Асатулова, Е. Ю. Бондарчук [и др.] – DOI 10.21515/1990-4665-144-012 // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2018. – № 144. – С. 19-31. – EDN YSBMAX.

2. Цыгичко, А. А. Вирус гранулёза яблоневого плодового коммунитарного агента биологического контроля опасного вредителя плодовых / **А. А. Цыгичко**, А. М. Асатулова // Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего: Материалы Международной научной конференции, Уфа, 13–17 июня 2018 года. – Уфа: Электронное издание. Постоянный адрес размещения <http://plamic.ru/sbornik/>, 2018. – С. 247. – EDN YKUAMP.

3. Цыгичко, А. А. Вирус гранулёза яблонной плодовой гнили как коммерческий агент биологического контроля *Cydia pomonella* L / **А. А. Цыгичко**, А. М. Асатулова // Биологическая защита растений - основа стабилизации агроэкосистем: материалы Международной научно-практической конференции, Краснодар, 11–13 сентября 2018 года. Том Выпуск 10. – Краснодар : ИП Дедкова С.А. (типография «Гранат»), 2018. – С. 296-300. – EDN XZEODJ.

4. Цыгичко, А. А. Выделение штаммов вирусов, перспективных для создания лабораторного образца биопрепарата против *Cydia pomonella* L. (обзор) / **А. А. Цыгичко**, А. М. Асатулова // Инновационные технологии отечественной селекции и семеноводства: Сборник тезисов по материалам II научно-практической конференции молодых ученых Всероссийского форума по селекции и семеноводству, Краснодар, 24–25 октября 2018 года / Ответственный за выпуск А.Г. Кощев. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2018. – С. 107-109. – EDN YULRRR.

5. Цыгичко, А. А. Средства защиты растений на основе энтомопатогенных вирусов против яблонной плодовой гнили (обзор) / **А. А. Цыгичко**, А. М. Асатулова // Приоритетные направления научного обеспечения отраслей агропромышленного комплекса России и стран СНГ: материалы Международной научно-практической конференции с элементами школы молодых ученых, Краснодар, 22–23 августа 2018 года. – Краснодар : Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт риса», 2018. – С. 222-228. – EDN YSPMCL.

6. Эффективность отобранных образцов вируса гранулёза яблонной плодовой гнили в отношении лабораторных насекомых / **А. А. Цыгичко**, А. М. Асатулова, М. В. Пушня [и др.] // Научное обеспечение агропромышленного комплекса: Сборник тезисов по материалам Всероссийской (национальной) конференции, Краснода, 19 декабря 2019 года / Ответственный за выпуск А. Г. Кощев. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2019. – С. 93-94. – EDN KBCKLJ.

7. Скрининг перспективных штаммов вируса гранулёза яблонной плодовой жорки / **А. А. Цыгичко**, А. М. Асатурова, М. В. Пушня [и др.] – DOI 10.33952/09.09.2019.146 // Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки: Материалы IV международной научно-практической конференции, Ялта, 09–13 сентября 2019 года / Научный редактор В.С. Паштецкий. – Ялта : Общество с ограниченной ответственностью «Издательство Типография «Ариал», 2019. – С. 292–293. – EDN RTCHCU.

8. 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 – DOI 10.33952/2542-0720-2021-3-27-20-34 // Таврический вестник аграрной науки. – 2021. – № 3(27). – С. 20–34. – EDN WBCXZT.

9. Entomopathogenic activity of bacterial and viral strains from the bioresource collection «State Collection of Entomocariphages and Microorganisms» / E. Yu. Bondarchuk, **A. A. Tsygichko**, N. S. Tomashevich, A. M. Asaturova – DOI 10.1051/e3sconf/202128503004 // 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. – EDN ASSNHF.

10. 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. – EDN DLWYCW.

11. **Цыгичко, А. А.** Сравнительная оценка эффективности штаммов вируса гранулёза яблонной плодовой жорки в отношении насекомых / А. А. Цыгичко, Н. С. Томашевич // Защита растений от вредных организмов: Материалы XI международной научно-практической конференции, Краснодар, 19–23 июня 2023 года. Том Выпуск 11. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2023. – С. 423–426. – EDN SDCNIJ.

12. **Цыгичко, А. А.** Вирусы гранулёза яблонной плодовой жорки из биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР, обладающие инсектицидной активностью / А. А. Цыгичко – DOI 10.25205/978-5-4437-1526-1-265 // X международная конференция молодых ученых: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов и молекулярных биологов : Сборник тезисов, Новосибирск, 26–29 сентября 2023 года. – Новосибирск : Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, 2023. – С. 513–514. – EDN PKSDTY.

13. Томашевич, Н. С. Энтомопатогенная активность штаммов грануловируса в отношении *Cydia pomonella* / Н. С. Томашевич, **А. А. Цыгичко** – DOI 10.25205/978-5-4437-1526-1-133 // X международная конференция молодых ученых: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов и молекулярных биологов: Сборник тезисов, Новосибирск, 26–29 сентября 2023 года. – Новосибирск :

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, 2023. – С. 245-246. – EDN RIXJNH.

14. **Цыгичко, А. А.** Эффективность штаммов вируса гранулёза яблонной плодовой гнили из биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» / А. А. Цыгичко, Н. С. Томашевич // Передовые исследования Кубани: сборник материалов Ежегодной отчетной конференции грантодержателей Кубанского научного фонда, Сочи, 15–17 мая 2023 года. – Краснодар : Кубанский научный фонд, 2023. – С. 156-159. – EDN JYHQLJ.

15. **Цыгичко, А. А.** Инсектицидная активность штаммов CPGV в отношении *Cydia pomonella* / А. А. Цыгичко, А. М. Асатурова // Фитосанитария. Карантин растений. – 2024. – № S2-1(18). – С. 29. – EDN DXIVWI.

16. **Цыгичко, А. А.** Идентификация штаммов грануловированных насекомых, обладающих инсектицидной активностью / А. А. Цыгичко, А. М. Асатурова // 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. 232. – EDN KOGBJN.

17. **Цыгичко, А. А.** Бакуловирусные штаммы с энтомопатогенными свойствами из биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» / А. А. Цыгичко, Е. Ю. Гырнец // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем: Материалы Международной научно-практической конференции, Краснодар, 17–19 сентября 2024 года. – Краснодар : ООО "ЭДВИ", 2024. – С. 385-389. – EDN KTYANS.

18. **Цыгичко, А. А.** Идентификация штаммов вируса гранулёза яблонной плодовой гнили из биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» / А. А. Цыгичко // Передовые исследования Кубани: Сборник материалов Ежегодной отчетной конференции грантодержателей Кубанского научного фонда, Сочи, 29–31 мая 2024 года. – Краснодар : Кубанский научный фонд, 2024. – С. 86-91. – EDN XEFBES.