

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР БИОЛОГИЧЕСКОЙ
ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ»

На правах рукописи

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

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Асатурова Анжела Михайловна
кандидат биологических наук

Краснодар 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Яблонная плодожорка <i>Cydia pomonella</i> – опасный сельскохозяйственный вредитель, меры борьбы	13
1.2 Биологические агенты, проявляющие инсектицидную активность в отношении <i>C. pomonella</i>	16
1.3 Вирус гранулёза <i>C. pomonella</i> – высокоэффективный агент биоконтроля	22
1.4 Бакуловирусные инсектициды	28
1.4.1. Способы получения и технология применения бакуловирусных инсектицидов.....	28
1.4.2 Коммерческие инсектициды на основе энтомопатогенных вирусов ...	36
Глава 2. МЕСТО, ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	40
2.1 Объекты исследования.....	41
2.2 Выделение штаммов энтомопатогенных вирусов из природных источников	44
2.3 Идентификация и биоинформатический анализ штаммов энтомопатогенных вирусов	46
2.3.1 Полногеномное секвенирование штаммов энтомопатогенных вирусов...	46
2.3.2 Анализ генетических последовательностей штаммов энтомопатогенных вирусов	52
2.4 Оценка защитного действия штаммов энтомопатогенных вирусов в отношении <i>C. pomonella</i> и лабораторной популяции <i>G. mellonella</i> в условиях <i>in vitro</i>	54
2.5 Оценка защитного действия штаммов энтомопатогенных вирусов в условиях полевого мелкоделяночного опыта.....	57
Глава 3.РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	61

3.1 Выделение штаммов энтомопатогенных вирусов из природных источников.....	61
3.2 Идентификация и биоинформатический анализ штаммов энтомопатогенных вирусов	66
3.2.1. Полногеномное секвенирование штаммов энтомопатогенных вирусов...	66
3.2.2 Анализ генетических последовательностей штаммов энтомопатогенных вирусов	72
3.3 Оценка защитного действия штаммов энтомопатогенных вирусов в отношении <i>C. pomonella</i> и лабораторной популяции <i>G. mellonella</i> в условиях <i>in vitro</i>	80
3.4 Оценка защитного действия штаммов энтомопатогенных вирусов в отношении <i>C. pomonella</i> на яблоне в условиях полевого мелкоделяночного опыта.....	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	94
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	96
СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ	97
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	99
ПРИЛОЖЕНИЕ А	150
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	151
ПРИЛОЖЕНИЕ В	152
ПРИЛОЖЕНИЕ Г	153
ПРИЛОЖЕНИЕ Д	164

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследований.

По оценкам экспертов, Россия занимает седьмое место по выращиванию и сбору яблок в мире. Так, урожай 2024 года составил около 1,6 млн т, что выше средних значений за последние пять лет. Тем не менее получаемое количество продукции не обеспечивает в полном объёме потребности внутреннего рынка страны, поэтому сейчас производится импорт яблок, например, из Китая (РгоБизнес ..., 2022; Агроинвестор..., 2024; Агробизнес..., 2024; Тасс..., 2024).

С 2017 года площадь яблонных садов на территории России выросла на 27,2%. Благодаря реализации государственных программ по выделению субсидий на закладку и уход за многолетними насаждениями яблоневого сада сейчас занимают около 218,2 тыс. га. При этом за последние годы производство товарной продукции выросло с 500 тыс. т. до 1,2 млн т. Стоит отметить, что производство яблок в Российской Федерации имеет ярко выраженную географическую привязку к южным регионам. Основными лидерами по производству данной культуры являются Кабардино-Балкария, Ставропольский край, Волгоградская область и Краснодарский край (Сельское хозяйство..., 2021; РгоБизнес ..., 2022; Интерфакс..., 2023; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации..., 2025).

Благодаря сочетанию оптимальных почвенно-климатических условий Краснодарского края возможно повсеместное возделывание плодово-ягодных насаждений с доминированием яблоневых садов, площади которых регулярно увеличиваются (Журавлёва, 2009; НИА-Кубань..., 2022). Кроме того, в последние годы идут активные посадки садов интенсивного типа, которые, в отличие от стандартных, дают более высокий урожай благодаря значительному увеличению концентрации деревьев на единицу площади. В Российской Федерации ежегодно закладывают от 10-15 тыс. га интенсивных садов, из которых 95,0% – яблоня. Площади садов в Краснодарском крае составляют около 23 тыс. га. (Агроинвестор..., 2018; НИА-Кубань..., 2022). Такие большие площади монокультур привлекают определенный спектр фитофагов, поэтому

вопрос о защите и сохранении получаемого урожая от вредителей как никогда актуален. Общеизвестно, что наиболее опасным и супердоминантным вредителем яблоневых садов является яблонная плодожорка *Cydia pomonella* (L., 1758) (*Lepidoptera: Tortricidae*). Общий уровень поврежденности плодов при отсутствии защитных мероприятий или их слабой эффективности может достигать 70,0%. Стоит указать, что даже в садах с применением интенсивной химической защиты 10,0% урожая может быть повреждено еще до его сбора (Черкезова, 2019; Hussain et al., 2020; Whitfield, Fountain, 2024.).

Использование средств защиты растений (СЗР) химической природы для контроля численности вредителя может иметь негативные последствия, которые выражаются в увеличении кратности обработок, что может привести к формированию резистентных популяций яблонной плодожорки, в том числе перекрестной или множественной ко многим группам инсектицидов. В результате частого нерационального использования происходит загрязнение окружающей среды путем аккумуляции остаточных количеств пестицидов в почве, растениях и, как следствие, продуктах питания (Пачкин, 2016; Бондарчук и др., 2020; Штерншис и др., 2021). Принципиально иной альтернативный метод контроля фитофагов — это использование биоинсектицидов на основе энтомопатогенных микроорганизмов, в том числе вирусов насекомых. Потенциально биологический контроль вредителей может быть пролонгированным, так как бакуловирусы, интродуцированные в популяции насекомых, могут инициировать эпизоотии на значительных территориях и становиться безопасным и долгосрочным регулятором их численности (Ильиных, 2007; Пачкин, 2016; Пачкин и др., 2016; Ильиных, 2020; Ismailov et al., 2024). Таким образом, внедрение бакуловирусных инсектицидов в агроэкосистемы поможет нивелировать негативное воздействие на окружающую среду и здоровье человека (Стейнберг (Прохоренко), Гепперт, 2017; Ismailov et al., 2020).

В период с 2017 по 2024 годы согласно Государственному каталогу пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории

Российской Федерации, было зарегистрировано и разрешено к применению всего три препарата на основе вируса гранулёза *C. pomonella* (CpGV) против яблонной плодовой жорки: Фермовирин ЯП, СП (CpGV, $3,0 \times 10^{12}$ гранул/г, EuroFerm GmbH, Германия); Мадекс Твин, СК (CpGV isolat V22, $3,0 \times 10^{13}$ гранул/л, Andermatt Biocontrol Suisse AG, Швейцария); Карповирусин, СК (CpGV isolat M, $1,0 \times 10^{13}$ гранул/л, Arysta LifeScience Corporation, Бельгия) (Государственный каталог..., 2017-2024). Однако, все штаммы-продуценты CpGV, входящие в состав вышеуказанных препаратов, выделены за рубежом, а наиболее эффективными в регионе использования чаще оказываются изоляты, выделенные из местных популяций вредителей (Rezapanah et al., 2008; Wennmann et al., 2017; Fan et al., 2020; Бондарчук и др., 2020). На сегодняшний день в Российской Федерации отсутствуют разрешенные к применению отечественные биоинсектициды на основе аборигенных штаммов CpGV, что и подтверждает необходимость в регулярном поиске и всестороннем исследовании новых штаммов бакуловирусов для создания на их основе высокоэффективных инсектицидов.

Степень изученности темы.

Основополагающие работы, посвященные энтомопатогенным бакуловирусам, их идентификации и механизмам действия появились в мировой научной литературе во второй половине XX века (Bird, Whalen, 1945; Митрофанов, 1976; Smith, Crook, 1988; Falcon, Hess, 1985; Тарасевич, 1985; Митрофанов, Смирнов, 1998; Kang et al., 1998). Позже многими российскими и зарубежными учеными опубликованы исследования о возможности применения вирусов насекомых для защиты растений от фитофагов (Bird, Whalen, 1954; Cooper et al., 2003; Gupta et al., 2007; Jehle et al., 2008; Долженко, Долженко, 2010; Исмаилов и др., 2010; Колосов, 2011; Chiu et al., 2012; Rohrmann, 2013; Долженко, Долженко, 2013; Kalha et al., 2014; Ji et al., 2015; Sauer et al., 2017; Chiu et al., 2019; Wennmann et al., 2019; Graillot et al., 2019; Fan et al., 2020; Martemyanov et al., 2023). Авторами отмечено, что контроль численности *C. pomonella* возможен с использованием различных групп организмов, но

наиболее эффективным является применение инсектицидов на основе CpGV (Бойкова и др., 2010; Долженко, Долженко, 2010; Sandhu et al., 2012; Odendaal et al., 2015; Moore et al., 2015; Долженко, Долженко, 2017; Подгорная, 2012; Sauer, 2017; Абдунабиев, 2017; Öztemiz et al., 2017; Ruii, 2018; Бондарчук и др., 2020; Patel et al., 2020; Thanwisai et al., 2022; Ferrelli, Salvador, 2023; Amorós Morales et al., 2023; Akroute et al., 2023; Егоров и др., 2024; Adom et al., 2024; Li et al., 2024).

На сегодняшний день за рубежом появляется все больше научных публикаций, касающихся идентификации, изучения различных свойств бакуловирусов и применения новых штаммов CpGV для защиты растений. В то время как в современной российской научной литературе таких публикаций крайне мало (Jacobo-Cuellar et al., 2005; Eberle et al., 2008; Berling et al., 2008; Исмаилов и др., 2010; Колосов, 2011; Zichová et al., 2013; Chambers, 2014; Ishimwe et al., 2015; Rezapanah et al., 2015; Alletti et al., 2017; Sauer et al., 2017; Долженко, 2017; Fan et al., 2019; Пушня и др., 2019).

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 грануловирuсов CpGV из природных источников;
- провести идентификацию и биоинформатический анализ генетических последовательностей штаммов CpGV на наличие генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом, в их составе и осуществить сравнительный анализ с коммерческими штаммами грануловирuсов;
- провести оценку биологической эффективности штаммов CpGV, 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 CpGV в отношении *C. pomonella* на яблоне в условиях полевого мелкоделяночного опыта.

Научная новизна.

Впервые дана оценка инсектицидной активности 22 новых штаммов CpGV, 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 CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР на наличие генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом, и проведен сравнительный анализ на сходство с геномами 14 коммерческих штаммов CpGV.

Модифицирован метод для работы со штаммами CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР с использованием *C. pomonella* и *G. mellonella* в условиях *in vitro*. Усовершенствован способ пробоподготовки биоматериала штаммов CpGV 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 CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР в отношении *C. pomonella* и *G. mellonella* в условиях *in vitro*. Получены новые знания о генетическом

разнообразии штаммов грануловирuсов в ценозах яблони на примере штаммов CpGV 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, выносимы на защиту.

1. Новые штаммы CpGV 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 CpGV 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 CpGV более 99,0%.

3. Модифицирован метод для работы с грануловирuсами насекомых, который позволяет достоверно определить энтомопатогенную активность исследуемых штаммов CpGV 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 бакуловирuсами насекомых, методы полногеномного секвенирования и биоинформатического анализа. Полевые работы проводили согласно методическим указаниям по регистрационным испытаниям инсектицидов в растениеводстве.

Степень достоверности и апробации работы.

Объективность и достоверность полученных результатов подтверждена экспериментальными данными, полученными с применением современных методов исследований в лабораторных условиях и в условиях полевого мелкоделяночного опыта, и их статистической обработкой.

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.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта У.М.Н.И.К. № 12676ГУ/2017 от 24.04.2018, Фонда содействия малых форм предприятий в

научно-технической сфере; гранта РФФИ № 19-416-233037 р_мол_а, 2019-2021 гг; гранта Кубанского научного фонда № МФИ-П-20.1/35, 2022-2024 гг; гранта РНФ № 23-16-00260 от 15.05.2023, 2023-2025 года.

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 автора.

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. научному сотруднику лаборатории микробиологической защиты растений, директору 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 Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (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 сотруднка 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.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Яблонная плодожорка *Cydia pomonella* – опасный сельскохозяйственный вредитель, меры борьбы

Одним из биотических факторов, негативно влияющих на состояние плодовых культур, являются фитофаги. В результате повреждений, нанесенных насекомыми, могут нарушаться физиологические процессы жизнедеятельности растений, что выражается в задержке развития, ослаблении роста, снижении или отсутствии плодоношения (Карпун и др., 2019; Кононенко, Юрченко, 2021; Sanchez et al., 2024; Li et al., 2024).

C. pomonella – супердоминантный, наиболее экономически значимый вредитель семечковых плодовых культур, а также грецких орехов во всем мире (Шаламов, 2015; Околелов, Цуканова, 2019; NIAB..., 2024; Akroute et al., 2023). Ареал вредителя охватывает Западную и Восточную Европу (кроме Крайнего Севера), Кавказ, Среднюю Азию, Западную, Восточную Сибирь, Дальний Восток, а также страны Нового света (США, Канада и др.). За период развития одна гусеница может повредить от одного до трёх плодов. Поврежденные плоды преждевременно опадают и теряют способность к хранению (Бей-Биенко, 2008; Maggi, Chreil, 2023). При этом потери урожая в хозяйствах, где не были заблаговременно проведены защитные мероприятия и/или сложились благоприятные климатические условия для развития и размножения *C. pomonella*, могут достигать до 70,0% (Iraqi, Hmimina, 2016; Showket et al., 2017; Hussain et al., 2020; Petrova et al., 2024).

Лёт бабочек зимней генерации начинается при сумме эффективных температур (выше +10 °C) 90-110 °C, а массовый лёт летней генерации первого поколения при сумме эффективных температур 150-170° (Васильев, 1987). Согласно справочному пособию, экономический порог вредоносности (ЭПВ) для *C. pomonella* установлен при обнаружении 2-5 яиц на 100 плодов или при наличии 7 бабочек в ловушке за неделю учетов, либо при повреждении 2,0-3,0% плодов (Артохин, 2013). Именно поэтому для выстраивания эффективной

системы защиты садов необходим предварительный мониторинг, который осложнён тем, что *C. pomonella* способна иметь 3-4 генерации в сезон, которые часто накладываются друг на друга, что затрудняет определение сроков их лета, и, как следствие, оптимальных сроков защитных мероприятий. В результате, одновременно в популяции находятся все преимагинальные стадии (яйца, гусеницы разных возрастов, куколки), а также половозрелые бабочки, что приводит к повреждению плодов в течение всего периода плодоношения и делает учет *C. pomonella* особенно трудоёмким (Erturk, Demirbag, 2006; Абдунабиев, 2017; Чернов, 2020; Исмаилов и др., 2020).

Защитные мероприятия по снижению численности *C. pomonella*.

Контроль численности *C. pomonella* в садовых насаждениях осуществляют разнообразными методами, которые разделяют на агротехнические, химические и биологические (Researchgate..., 2024).

Агротехнические методы предполагают целенаправленное использование технологий возделывания культур, обеспечивающих оптимальные условия для их роста и развития, при этом отрицательно влияющие на вредные виды насекомых-фитофагов. Такие мероприятия включают подбор оптимального для данной местности сорта, очистку штамбов и сучьев от старой коры, уборку растительных остатков, установку и периодический осмотр ловчих поясов, сбор и утилизацию падалицы и др. (Морозов и др., 2019). Агротехнические методы можно отнести к профилактическим мероприятиям. Однако их недостатком остаётся невысокая эффективность и большая трудоёмкость.

Химические методы защиты растений включают использование инсектицидов различной природы. Большинство аграриев используют именно данный метод вследствие доступности таких продуктов на рынке СЗР и скорости их действия на целевой объект. Так, например, эффект от препарата после обработки может наступить через несколько минут. Однако одним из основных недостатков использования инсектицидов химической природы является их часто нерациональное применение, что влечет за собой ряд

негативных последствий, таких как аккумуляция инсектицидных компонентов в продуктах питания. Кроме того, регулярные химические обработки провоцируют формирование резистентности насекомых, что приводит к вынужденному увеличению норм и кратности их применения (Касьяненко и др., 1992; Коваленков, 2007; Karpun et al., 2021; Артохин, 2023; Шаламов, 2015; Van Leeuwen et al., 2020; Fan et al., 2023).

Биологические методы включают использование биопрепаратов, основным действующим компонентом которых являются живые организмы или продукты их жизнедеятельности. Численность насекомых можно регулировать с помощью энтомопатогенов, энтомофагов и других биорациональных СЗР, которые в настоящее время являются наиболее безопасными для окружающей среды и здоровья человека (Павлюшин и др., 2020; Агасьева и др., 2016; Агасьева и др., 2022; Щелково Агрохим..., 2023). Следует сказать о высокой видоспецифичности биологических СЗР по сравнению с химическими. По этой причине, биопрепараты обладают способностью не только избирательно сокращать спектр вредителей, но и не затрагивать полезную энтомофауну агроценозов, что позволяет не нарушать природное равновесие (Mishra et al., 2014; Arthurs et al., 2019; Бондарчук и др., 2020; Юрченко и др., 2023).

Особое внимание должно уделяться фитосанитарному мониторингу, который позволяет объективно оценить численность вредителей и провести оптимизацию защитных мероприятий (необходимость, сроки обработки, ассортимент СЗР). Для этого используют различные методы обследований (маршрутные, дистанционные) с применением ловушек (феромонные, светоловушки) и учетом погодных условий. На современном этапе активно внедряются системы мониторинга, использующие информационные технологии (мобильные лаборатории, авиационные или спутниковые аппараты) для оценки уровня распространенности и развития вредных организмов, картирование на основе использования оборудования глобальных информационных систем (GIS) и спутниковых систем навигации (GPS) и прочее (Морозов и др., 2019; Данилов и др., 2020; Пачкин и др., 2022). В последнее

время популярность набирают технологии, которые делают основной упор на использование искусственного интеллекта (Eli-Chukwu, 2019; Ryan et al., 2023). Так, например, благодаря машинному обучению возможно спрогнозировать токсичность используемых пестицидов как для человека, так и для других компонентов ценоза (Chatterjee et al., 2023; Ganesan, Iyapparaja, 2024).

Обычно в системах защиты растений используют комплекс всех вышеуказанных методов, комбинируя их определенным образом в зависимости от вида растения, сорта и желаемой конечной продукции. При этом наиболее распространена интегрированная система защиты, которая включает все вышеуказанные методы и средства (Егоров и др., 2024). Интенсивная система защиты делает основной упор на применении химических пестицидов. Органическая система защиты предполагает использование только биологических СЗР, в том числе биопрепаратов, сертифицированных по международным стандартам органического земледелия той страны, где будет реализована полученная продукция (Морозов и др., 2019; Плотникова и др., 2019; Союз органического земледелия..., 2024).

Таким образом, существует большой спектр средств мониторинга и защиты яблони от *C. pomonella*. Стоит отметить, что несмотря на значительный ассортимент химических пестицидов и их широкую доступность все больше сельхозтоваропроизводителей отдают предпочтение биоинсектицидам, количество и спрос на которые растет ежегодно (Abercade consulting..., 2021).

1.2 Биологические агенты, проявляющие инсектицидную активность в отношении *C. pomonella*

Биологические средства защиты яблони от *C. pomonella* – это продукты на основе энтомопатогенных организмов различной природы, но все их условно можно разделить на две группы: микроорганизмы и полезные беспозвоночные. Бактерии, грибы и бакуловирусы составляют основу микробных инсектицидов. В качестве полезных беспозвоночных животных выступают насекомые-

энтомофаги и нематоды. Все вышеуказанные организмы перспективны для использования их в сельскохозяйственной практике как отдельно, так и совместно с другими агентами (Павлюшин и др., 2022; Singh et al., 2024; Sharma et al., 2024). Они играют важную роль в регуляции численности многих фитофагов в естественных условиях, в том числе и *C. pomonella* (Пачкин, 2016; Оберемок и др., 2016; Patel et al., 2020; Kumar et al., 2021; Агасьева и др., 2022; Pushnya et al., 2023; Ismailov et al., 2023; Agasyeva et al., 2024).

Энтомопатогенные грибы. В качестве грибных штаммов-продуцентов биопрепаратов чаще всего используют *Beauveria bassiana* ((Bals-Criv.) Vuill., 1912) (*Hypocreales: Cordycipitaceae*) и *Metarhizium anisopliae* ((Metschn.) Sorokin, 1883) (*Hypocreales: Clavicipitaceae*) (Sandhu et al., 2012; Patel et al., 2020; Государственный каталог..., 2024). Доказана эффективность *B. bassiana* в отношении *C. pomonella* в качестве основы коммерческих продуктов, например, при применении однокомпонентного препарата Биослип БВ, Ж (*B. bassiana*, 1×10^8 колониеобразующих единиц/мл (КОЕ/мл), ООО «Органик парк») и комплексного препарата Биостоп, Ж (*Bacillus thuringiensis*, 10^9 КОЕ/мл, *Streptomyces sp.*, 10^8 КОЕ/мл, *Beauveria bassiana*, 10^8 КОЕ/мл, ООО «Инвиво») (Khan et al., 2012; Dar et al., 2017; Государственный каталог..., 2024; Dyczko D. et al., 2024).

Механизм действия энтомопатогенного гриба включает контакт спор с кутикулой насекомого, где происходит их прикрепление и последующее прорастание в полость или на поверхность тела вредителя. Гибель фитофага наступает вследствие отравления микотоксинами, которые выделяет грибок, или от механических повреждений тканей разросшимися гифами мицелия (Mondal et al., 2016; Abdelaziz et al., 2018; Lovett et al., 2019; Semenova et al., 2020; Zhang et al., 2024). Благодаря сложной системе взаимодействия грибок-насекомое, несмотря на высокую эффективность, в Российской Федерации зарегистрировано всего шесть инсектицидов на основе микромицетов, причем против *C. pomonella* рекомендовано всего три препарата – Биостоп, Ж, Биослип БВ, Ж и Биостоп Супер, микроконтейнеры (*B. thuringiensis* Hi, 3×10^6 КОЕ/мл, *Streptomyces sp.*

3NN, 3×10^6 КОЕ/мл, *B. bassiana* BB1, 3×10^6 КОЕ/мл, ООО «Биота») (Государственный каталог..., 2024).

К достоинствам грибных биоинсектицидов можно отнести способность контактного инфицирования и длительное сохранение жизнеспособности в окружающей среде. К недостаткам – применение препарата только при высокой влажности (до 90,0%) и отсутствии прямого ультрафиолетового излучения (УФ) для инфицирования объекта и образования жизнеспособных спор (Dubovskiy et al., 2013; Митина и др., 2014; Semenova et al., 2020; Shahbaz M. et al., 2024).

Энтомопатогенные бактерии. Для борьбы с вредными насекомыми в защите растений используют бактерии родов *Bacillus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Yersinia*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Streptomyces* и *Saccharopolyspora* (Ruiи, 2018; Бондарчук и др., 2020; Государственный каталог..., 2024; Zwysig et al., 2024). Против *C. pomonella* эффективны биоинсектициды на основе *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) (*Bacillales: Bacillaceae*) (Hafsa, Benfekih, 2024). Например, эффективность препарата Лепидоцид, СК (*B. thuringiensis*, var. *kurstaki*, штамм Z-52, 1×10^{10} спор/мл, ООО ПО «Сиббиофарм») составила 72,0-73,0%, а при использовании только штамма *B. thuringiensis*, var. *kurstaki* эффективность составила 73,3% (Öztemiz et al., 2017).

Принцип действия бактериального агента предполагает поглощение насекомым кристаллов токсинов, синтезируемых бактерией, вместе с пищей. В средней кишке происходит растворение кристалла с помощью протеаз и высвобождение токсичных соединений, которые при взаимодействии с кишечным эпителием повреждают его. Гибель насекомого может наступить как от механического повреждения кишечника, так и от инфицирования кишечной микробиотой мест разрывов (Boncheva et al., 2006; Broderick et al., 2006; Broderick et al., 2010; Kalha et al., 2014; Grizanovа et al., 2014; Xiao, Wu, 2019). В 2024 году зарегистрировано 11 препаратов, в основе которых различные штаммы *B. thuringiensis*. Из этого списка против *C. pomonella* рекомендованы такие, как Лепидоцид, П (*B. thuringiensis*, var. *kurstaki*, штамм Z-52, 6×10^{10} спор/г,

ООО ПО «Сиббиофарм»), Лепидоцид, СК, Биостоп, Ж, Биостоп Супер, микроконтейнеры и Инсетим, Ж (*B. thuringiensis, subsp. thuringiensis*, ИПМ-1140, 2×10^9 КОЕ/мл, ООО «Парадигма») (Государственный каталог..., 2024).

Преимуществом энтомопатогенных бактерий является отсутствие фитотоксичности и снижение фертильности в популяциях насекомых. К недостаткам можно отнести их инактивацию при попадании прямых солнечных лучей и высокую чувствительность бактерий к почвенным факторам, таким как влажность, уровень pH и прочее (Ruiu, 2018; Бондарчук и др., 2020; Singh et al., 2024).

Энтомопатогенные нематоды. Для биологического контроля *C. pomonella* используют нематоды семейства *Steinernematidae*, и *Heterorhabditidae* (Odendaal et al., 2015; Sauer, 2017; Thanwisai et al., 2022). По данным исследователей биопрепараты на основе энтомопатогенных нематод Немабакт (*Steinernema carpocapsae*, Weiser, 1955, 5 млн нематод в 1 г поролоновой губки, ООО «Биодан») и Энтонем-Ф (*Steinernema feltiae*, Filipjev, 1934, млн нематод в 1 г поролоновой губки, ООО «Биодан») показывают эффективность на уровне 80,0-100% против гусениц *C. pomonella* (Данилов, Павлюшин, 2015; Государственный каталог..., 2017).

Нематоды обитают в почве и наиболее эффективны против личинок насекомых, которые зимуют или имеют цикл развития в почве. В организм нематода может проникнуть через ротовое отверстие вместе с пищей, через анус или дыхальца, либо через наиболее тонкий слой внешних покровов. Гибель насекомого наступает из-за внутренних повреждений и наличия продуктов жизнедеятельности нематод. Впоследствии в гемоцель насекомого могут проникать бактерии-симбионты нематод, которые также вызывают интоксикацию и гибель (Entomopathogenic Nematodes..., 2023; Odendaal et al., 2015; Jaffuel et al., 2017; Peters et al., 2017; Li, Wu, 2024; Shapiro-Ilan, Lewis, 2024). Следует указать, что на сегодняшний момент нет ни одного зарегистрированного в Российской Федерации биопрепарата на основе нематод, однако, за рубежом

такие препараты имеют большое распространение (Entomopathogenic Nematodes..., 2023; Государственный каталог..., 2024).

К плюсам использования вышеуказанных биоинсектицидов можно отнести отсутствие фитотоксичности и устойчивость используемых нематод ко многим действующим веществам пестицидов. Однако их использование возможно только в условиях повышенной влажности, что представляет некоторые трудности для их практического применения (Entomopathogenic Nematodes..., 2013; Labaude, Griffin, 2018; Koppenhöfer, Shapiro-Ilan, Hiltbold, 2020; Shapiro-Ilan, Lewis, 2024).

Насекомые-энтомофаги. Против чешуекрылых вредителей часто используют энтомофаги семейства *Trichogrammatidae* и *Braconidae* (Касьяненко и др., 1992; Агасьева и др., 2019; Axmatovich, 2022; Segura et al., 2024). Так, в работах ряда исследователей рассматривается способность *Trichogramma evanescens* (Westwood, 1833) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) контролировать численность *C. pomonella*, при этом эффективность варьирует от 52,0 до 73,0% (Абдунабиев, 2017; Öztemiz et al., 2017).

Насекомые семейства трихограмм представлены паразитическими наездниками-яйцеедами. Самки откладывают яйца в яйцекладки насекомых. При отрождении личинка трихограммы использует яйцо в качестве кормового субстрата (Васильев, 2008; Mansour, 2019; Vahedi et al., 2020; Cabello et al., 2024). Бракониды – это наездники-эктопаразиты. Половозрелые особи питаются нектаром цветов или выделениями сосущих насекомых, однако самки могут потреблять гемолимфу насекомого-хозяина. На момент откладки яиц самки с помощью визуальных, механических и химических сигналов находят гусениц и парализуют их, путем впрыскивания яда. Затем откладывают яйца внутрь тела насекомого. После отрождения личинки питаются гусеницей насекомого-хозяина (Quicke, 2014; Mohamad et al., 2015; Jasso-Martínez et al., 2022; Devescovi et al., 2024; Russo et al., 2024).

Преимуществом использования ряда энтомофагов-яйцеедов считается возможность уничтожения вредителя на стадии яйца, то есть недопущение

появления вредящей стадии. Высокоэффективно использование энтомофагов совместно с феромонными ловушками (Пастарнак и др., 2014; Митюшев, 2015; Исмаилов и др., 2022; Wang et al., 2022). К минусам использования энтомофагов можно отнести сложность разведения насекомых и температурный лимит содержания и использования особей: температура оказывает сильное влияние на среднее количество самок и выживаемость неполовозрелых особей до взрослой стадии (Mohamad et al., 2015; Mansour, 2019).

Энтомопатогенные вирусы. Для защиты сельскохозяйственных культур используют два вида энтомопатогенных вирусов: вирус гранулёза (GV) и вирус ядерного полиэдроза (NPV) (Gao, Xu, 2024; Singh et al., 2024). Против *C. pomonella* применяют препараты на основе CpGV. Такие инсектициды высокактивны против целевого насекомого (Maciel et al., 2024). Например, препараты Карповирусин, СК и Мадекс Твин, СК показали эффективность в отношении *C. pomonella* на уровне 95,0-97,0% (Бойкова и др., 2010; Долженко, Долженко, 2010; Исмаилов и др., 2010; Moore et al., 2015; Долженко, Долженко, 2017; Подгорная, 2012; Государственный каталог..., 2020).

Энтомопатогенные вирусы проникают в насекомое вместе с пищей. Белок, заключающий в себе вирионы, разрушается в пищеварительном тракте. Вирионы высвобождаются и проникают в клетку хозяина для осуществления процесса воспроизводства (Ширинян и др., 2006; Gupta et al., 2007; Szewczyk et al., 2009; Пушня и др., 2017). В 2024 году в Российской Федерации рекомендован к применению всего один препарат на основе энтомопатогенных вирусов для контроля численности *C. pomonella* – Карповирусин, СК (Государственный каталог..., 2024). К достоинствам бакуловирусных препаратов можно отнести избирательность действия, высокую эффективность и длительное сохранение активности в окружающей среде. К недостаткам – инактивацию при УФ и невозможность контактной передачи инфекции в популяциях насекомых (Колосов и др., 2017; Bayramoglu et al., 2023; Singh et al., 2024; Wend et al., 2024).

1.3 Вирус гранулёза *C. pomonella* – высокоэффективный агент биоконтроля

Вирус гранулёза относят к энтомопатогенным вирусам, которые являются узкоспециализированными клеточными паразитами насекомых. Группа энтомопатогенных вирусов, используемых в сельскохозяйственной практике, объединяет представителей семейств *Baculoviridae* (гранулёз и ядерный полиэдроз) и *Spinareoviridae* (цитоплазматический полиэдроз). Генетическая информация вирусов семейства *Baculoviridae* содержится в виде дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), а вирусов семейства *Spinareoviridae* – рибонуклеиновой кислоты (РНК) (Bird, Whalen, 1954; Federici, 2009; Williams, 2017; Martemyanov et al., 2023; ICTV..., 2024).

Согласно последней классификации вирус CpGV относят к классу *Naldaviricetes*, порядку *Lefavirales*, семейству *Baculoviridae*, роду *Betabaculovirus* и виду *Betabaculovirus cypomonellae* (National Center..., 2024). Главное свойство всех бакуловирусов – способность образовать в процессе развития тельца-включения (гранулы или полиэдры) в виде белкового матрикса, в котором заключены вирионы – носители инфекции. В свою очередь, вирионы состоят из ДНК/РНК и капсида, защищающего вирусные молекулы (Coulibaly et al., 2009; Колосов, 2011; Rohrmann, 2013; Lakhova et al., 2024). Средний размер гранул варьирует от 0,12 до 0,8 мкм (Falcon, Hess, 1985; Касьяненко и др., 1992; Штерншис и др., 2021; ICTV..., 2024). Гранулы устойчивы к механическим и температурным воздействиям. Они не растворяются в воде и надёжно защищают вирус от неблагоприятных факторов внешней среды, способствуя его распространению и длительному сохранению (Тарасевич, 1985; Митрофанов, Смирнов, 1998; Горячкина и др., 2011; Chiu et al., 2012; Rohrmann, 2013; Bayramoglu et al., 2018; Ferrelli, Salvador, 2023).

Представители семейства *Baculoviridae* могут размножаться в любой части тела насекомого, но обычно концентрируются в жировой ткани. В отличие от вирусов *Spinareoviridae*, которые используют для репликации только клетки кишечного эпителия (Federici, 2009; Rohrmann, 2015; ICTV..., 2024).

Энтомопатогенные бакуловирусы проникают в насекомое перорально. После поглощения с пищей вирусных белковых гранул в желудочно-кишечном тракте происходит их растворение под действием щелочной среды и протеазы кишечника. Высвобожденные вирионы адсорбируются на поверхности клеточных мембран насекомых, а затем проникают внутрь клеток. Из нуклеокапсида высвобождается ДНК, которая затем использует генетический аппарат хозяина для воспроизводства. Процесс патогенеза длится 3-14 дней, и варьирует в зависимости от возраста гусениц, температуры окружающей среды и специфики штамма. Первым признаком вироза служит отсутствие у гусениц аппетита и снижение их активности. Затем цвет кутикулы изменяется, появляются некротические пятна, размер и количество которых растёт. В заключительной стадии патологического процесса происходит гомогенация внутренних тканей и органов и истончение кутикулы, вплоть до её разрыва, приводящее к распространению вирусного биоматериала в окружающую среду. Часто погибшие инфицированные особи свисают с растений, прикрепленные к нему одним концом тела, обычно с помощью ложноножек. В большинстве случаев у инфицированных гусениц наблюдаются отставание в росте и резкое проявление сегментации (Жилинская, Киселёв, 2007; Rohrmann, 2013; Williams et al., 2017; Gasque et al., 2019; Martemyanov et al., 2019; Основные типы..., 2020; Штерншис и др., 2021; Ros et al., 2022; Hodgson et al., 2024).

В зависимости от времени пребывания вируса в организме насекомого инфекционный процесс может быть острым или латентным. В первом случае, гибель насекомого наступает в течение нескольких суток с проявлением типичной симптоматики. Во втором случае, патоген может долго циркулировать в популяции насекомого, пока не будет активирован стрессовыми факторами. Контактным способом CrGV не передается, однако сохраняет активность вне организма в течение длительного времени. Инактивации вируса способствуют высокие температуры и УФ излучение (Cooper et al., 2003; Жилинская, Киселёв, 2007; Ходырев и др., 2010; Горячкина и др., 2011; Virto et al., 2016; Ильиных, 2019; Misra et al., 2024).

Ряд исследователей указывают на формирование резистентности у популяций *C. pomonella* по отношению к СЗР на основе штаммов CpGV. Выделяют три типа устойчивости *C. pomonella* к бакуловирусу в зависимости от наследования. Устойчивость типа I определяется половой Z-хромосомой, типа II – доминантной аутосомой, типа III, предположительно, является как аутосомной, так и связанной с Z-хромосомой (Asser-Kaiser et al., 2007; Eberle et al., 2008; Berling et al., 2008; Zichová et al., 2013; Sauer et al., 2017; Sauer et al., 2017; Fan et al., 2020; Li et al., 2024). Таким образом это свидетельствует о необходимости постоянного поиска и использования новых высокоэффективных штаммов.

Высокая эффективность и безопасность СЗР на основе бакуловирусов обеспечивает их широкое мировое распространение. Исследователями отмечено, что некоторые энтомопатогенные вирусы эффективны не только в отношении насекомого хозяина, но и в отношении близкородственных видов, что расширяет спектр действия препаратов на их основе (Akhanaev et al., 2023; Shi et al., 2024). Кроме того, благодаря уникальному строению генетического аппарата, вирусы насекомых также успешно используют в качестве суперпродуцентов для наработки белков различного происхождения с использованием клеточных культур, а также организмов растений (Hattori et al., 2015; Robert et al., 2017; Sharon, Kamen, 2017; Ладюков, 2019; Хасанов и др., 2019; Ghasemi et al., 2019; Zhai et al., 2019; Neuhold et al., 2020; Azali1 et al., 2022; Amorós Morales et al., 2023; Marwidi et al., 2024).

Идентификация энтомопатогенных бакуловирусов. По данным сайта международной вирусной таксономии известно о более чем 500 видов возбудителей вирусных заболеваний насекомых (Штерншис и др., 2021; Axmatovich, 2022; ICTV..., 2024). Для биометода наибольший интерес имеют представители семейства *Baculoviridae* (GV и NPV).

Использование бакуловирусных изолятов в любых видах биологических исследований требует достоверной идентификации. Традиционно такая идентификация проводилась на основе симптоматики заболевания, видовой

принадлежности насекомого-хозяина и микроскопического анализа. Тем не менее, весь спектр визуальных признаков вироза (патологические изменения, высокий процент гибели насекомых и др.) представляет косвенные доказательства вирусной этимологии заболевания. При визуальной оценке невозможна точная дифференциация разных видов вирусов одной группы, вызывающих заболевания со сходной симптоматикой у одного хозяина (Bird, Whalen, 1954). Кроме того, в природных очагах инфекции нередко встречаются смешанные типы вирусов, которые невозможно отделить друг от друга (Ferrelli, Salvador, 2023). Таким образом, в соответствии с современными стандартами при идентификации энтомопатогенных бакуловирусов необходимо применение молекулярно-генетических методов.

Из-за специфики жизненного цикла бакуловирусов при взятии проб изымается не только вирусный генетический материал, но и генетический материал насекомого-хозяина. Именно поэтому немаловажным фактором в процедуре идентификации является пробоподготовка образцов. В большинстве случаев процесс пробоподготовки автоматизирован и осуществляется с помощью специальных приборов и реактивов (Alletti et al., 2017; Larem et al., 2019). В отношении бакуловирусов данные методы можно свести к процедуре максимальной очистки вирусной ДНК от генетического материала и фрагментов тканей насекомого-хозяина. В зависимости от качества проведенной пробоподготовки полностью зависит успех процедуры идентификации (Колосов, 2011; Садыков и др., 2012; Lakhova et al., 2024).

В процессе молекулярно-генетической идентификации энтомопатогенных вирусов на современном этапе используют анализ консервативных или переменных участков в нуклеотидных последовательностях, имеющих уникальное строение (Harrison, Rowley, 2022; Lakhova et al., 2024). Например, для вируса CpGV это могут быть гены фактора поздней элонгации *lef8* и *lef9* (Murillo et al., 2011; Gómez Valderrama et al., 2017; Bayramoglu et al., 2018; Liu et al., 2022). Сущность метода заключается в следующем. Предварительно очищенные вирусные ДНК обрабатывают специальными растворами,

содержащими рестриктазы. Обычно это уже готовые реагенты или наборы, например, профили эндонуклеазы рестрикции REN MluI (Promega), набор Phire Animal Tissue Direct PCR Kit (Thermo Fisher Scientific, Литва), ферменты XhoI (Fisher Scientific, Illkirch, Франция) и др. (Berling et al., 2008; Graillot et al., 2014; Gómez Valderrama et al., 2017; Bayramoglu et al., 2018). Полученные фрагменты разделяют электрофорезом в 0,7-3,0% агарозном геле. Затем ДНК окрашивают с помощью цианиновых красителей или бромистого этидия и визуализируют с использованием УФ. Размер и количество полученных фрагментов оценивают с помощью компьютерных программ, например, системы визуализации Gel Logic 200 (Kodak, США) или системы изображений Kodak 1D (Eastman Kodak Company, Rochester, NY, USA). В некоторых случаях исследователи осуществляют сравнительный анализ участка генома с базой данных (Berling et al., 2008; Gebhardt et al., 2014; Graillot et al., 2014; Gómez Valderrama et al., 2017; Bayramoglu et al., 2018; Graillot et al., 2019; Harrison, Rowley, 2022; Ferrelli, Salvador, 2023; Lakhova et al., 2024).

Учитывая, что вирусные геномы намного меньше, например, бактериальных, для энтомопатогенных вирусов представляется более доступным процедура полногеномного секвенирования, а не идентификация по 16S РНК, как для большинства микроорганизмов (Штерншис и др., 2021; Lakhova et al., 2024; Tsygichko et al., 2024). При полногеномном секвенировании, а также для построения филогенетического дерева, очищенную и обработанную рестриктазой вирусную ДНК подвергают полимеразной цепной реакции (ПЦР) посредством амплификации с использованием праймера-шаблона определенного известного участка гена, например, ре38 (Graillot et al., 2019; Harrison, Rowley, 2022). Продукты ПЦР разгоняют с помощью электрофореза в 1-3 % в агарозном геле. Нуклеотидные последовательности определяют методом автоматического секвенирования с последующей регистрацией в Генбанке. Затем сравнивают полученную информацию с данными известных последовательностей из Генбанка с использованием различных программ, например, MEGA5, Clusta LK и прочие (Berling et al., 2008; Gebhardt et al., 2014;

Gómez Valderrama et al., 2017; Bayramoglu et al., 2018; Fan et al., 2019; Cerrudo et al., 2023; Lakhova et al., 2024).

Исследователями установлено, что геном CpGV представлен в виде кольцевой замкнутой двухцепочечной ДНК длиной около 123 000 пн, который окружён коровым белком p39 и основным оболочечным белком gp64 (Белжеларская, 2011; Fan et al., 2019). В настоящее время в международной базе данных насчитывается 139 расшифрованных нуклеотидных последовательностей CpGV (NCBI Virus..., 2024). Для ряда штаммов, выделенных из популяций насекомых, показана гетерогенность их генотипического состава, что, в частности, выражается в различной степени вирулентности штаммов (Wennmann et al., 2017; Harrison et al., 2018; ICTV..., 2024). То есть исследование генотипов бакуловирусов, помимо идентификации, позволяет осуществлять отбор штаммов с повышенной вирулентностью по отношению к целевому насекомому.

Полногеномное секвенирование и идентификация фрагментов генома вирусов насекомых сделали возможным создание штаммов с заданными свойствами. В частности, недостаток некоторых изолятов (длительный латентный период инфицирования) был преодолён разработкой рекомбинантных штаммов путем встраивания генов инсектицидных токсинов, в частности, яда скорпионов и пауков, с помощью генно-инженерных методов. Введение генов токсинов во многих случаях значительно сокращало «период ожидания» энтомопатогенных препаратов при сохранении относительно высокой биологической эффективности без изменения круга насекомых-хозяев (Inceoglu et al., 2006; Li et al., 2015; Muhammad et al., 2022). Тем не менее, возникающая со временем резистентность к инсектицидам у вредителя способствует поиску и идентификации новых безопасных и высокоэффективных энтомопатогенных вирусных агентов, изучению их молекулярно-генетических и биохимических особенностей, а также специфических механизмов действия (Siegwart et al., 2015; Нугманова, 2016; Sauer, 2017; Lee et al., 2024).

1.4 Бакуловирусные инсектициды

Основным действующим веществом бакуловирусного инсектицида является высокоактивный в отношении целевого насекомого штамм. Особенность таких инсектицидов – это специфическая токсикологическая активность по отношению к целевым объектам и безопасность для теплокровных, рыб, птиц и других полезных животных. Одним из основных факторов можно считать пролонгированное действие вышеуказанных инсектицидов благодаря накопительному эффекту, при котором вирус встраивается в экосистему и становится естественным регулятором численности популяций вредителя (Lacey et al., 2015; Thézé et al., 2018; Бондарчук и др., 2020; Wend et al., 2024).

Содержание действующего вещества в препарате измеряется в полиэдрах или гранулах в единице массы или объема препарата. Для коммерческих продуктов этот показатель обычно составляет не менее 1×10^{12} гранул/л или полиэдров/л, если это препарат в виде суспензионного концентрата (СК), и не менее 1×10^{13} гранул/г или полиэдров/г, если это препарат в виде смачивающегося порошка (СП) (Государственный каталог..., 2018-2024). Частицы вирусов количественно подсчитывают либо на спектрофотометре, путём измерения поглощения света водными суспензиями, либо с использованием счетной камеры (Berling et al., 2008; Колосов, 2011; Rezapanah et al., 2015; Ji et al., 2015; Liao et al., 2016; Wan et al., 2016; Gómez Valderrama et al., 2017; Zamora-Avilés et al., 2017).

1.4.1. Способы получения и технология применения бакуловирусных инсектицидов

Способы получения бакуловирусных инсектицидов. Поскольку вирусы являются облигатными паразитами для их массового производства необходимо поддержание культуры клеток или популяций живых организмов (Лопаткин и

др., 1992; Reid, Lua, 2009; Rohrmann, 2015). В зарубежных исследованиях массовая наработка вирусного биоматериала осуществляется практически исключительно на культуре клеток. В то время как в России чаще используют популяции насекомых (Goodman, McIntosh, 1994; Ширинян и др., 2006; Claus et al., 2012; Чеплянский и др., 2015; Сергеева и др., 2016; Стейнберг (Прохоренко), Гепперт, 2017; Ghasemi et al., 2019). Таким образом, для разработки и производства вирусных инсектицидов необходимо, как минимум, два компонента: штамм, обладающий инсектицидной активностью, и объект для его наработки.

Для получения высокоактивного штамма бакуловируса с целью создания инсектицида можно запросить культуру, депонированную в специализированных коллекциях, или выделить оригинальный штамм из инфицированных насекомых самостоятельно. Первый способ позволяет сэкономить значительную часть времени по поиску подходящего штамма и тестированию его эффективности, однако связывает исследователя определенными обязательствами по отношению к правообладателю (Graillot et al., 2014; Rezapanah et al., 2015; Liao et al., 2016; Gómez Valderrama et al., 2017; Sauer et al., 2017; Fan et al., 2019; Graillot et al., 2019). В ряде работ авторы получали необходимый штамм путём его повторного выделения из коммерческого продукта, основу которого он составлял (Gebhardt et al., 2014; Sauer et al., 2017).

Немаловажным фактором является наличие специфичности штаммов вирусов по отношению к популяциям вредителей. Так, наиболее эффективными в регионе оказываются штаммы, выделенные из местных популяций насекомых (Smith, Crook, 1988; Rezapanah et al., 2008; Gebhardt et al., 2014; Thézé et al., 2018; Fan et al., 2020; Tsygichko et al., 2024). Поэтому большинство исследователей предпочитают второй способ и начинают разработку вирусного инсектицида с выделения изолята бакуловируса из инфицированных особей (Ширинян и др., 2006; Szewczyk et al., 2009; Zimmermann et al., 2013; Ji et al., 2015; Virto et al., 2016; Tsygichko et al., 2024). Для этого необходимо найти и отобрать насекомых

с внешними симптомами вирозов, а также провести микроскопию инфицированных тканей или органов. При обнаружении вирусных телец-включений (гранул или полиэдров) приступить к их выделению с последующей процедурой молекулярно-генетической идентификации (Ji et al., 2015; Asser-Kaiser et al., 2016; Shi et al., 2024).

Клеточные культуры для наработки биомассы вирусов. Культуры клеток насекомых относят к первичным культурам, так как культивирование их предполагает не более 1-3 последовательных пассажей, при которых не будет наблюдаться изменений её свойств (мутации, приобретение резистентности и прочее). Процесс культивирования может осуществляться либо на специальном носителе для иммобилизации клеток, либо без него, где рост происходит в толще питательные среды с образованием монослоя (Блажевич, 2004; Castilho et al., 2008; Колокольцова и др., 2015; Murhammer, 2016; Culturing..., 2024).

Общая технология получения клеточных линий включает отбор определённого количества гусениц и/или куколок насекомых необходимого вида, их поверхность стерилизуют, определенным образом измельчают и обрабатывают специальными растворами, которые способствуют диссоциации клеток. Затем полученную смесь помещают в искусственную питательную среду (ИПС), куда впоследствии добавляют вирус для его репликации (Блажевич, 2004).

Температура культивирования большинства клеточных линий составляет 25-30 °С, однако оптимум для роста и заражения клеток бакуловирусами – 27-28 °С. Для противодействия возможному бактериальному и грибному загрязнению в среду добавляют антибиотики и/или антимикотики (пенициллин или стрептомицин). Наиболее важны для качества ИПС показатель рН, компоненты органических солей и животная сыворотка, чаще эмбриональная телячья сыворотка (ЭБС). Несмотря на то, что ЭБС имеет большое значение для роста клеток, её использование имеет ряд недостатков. Это дорогостоящий компонент, поэтому добавление её в культуральную среду существенно увеличивает общую стоимость работ. Кроме того, качество сыворотки варьирует от партии к партии

с изменением состава, что может повлиять на рост клеток и репликацию вируса в них (Insect cell..., 2024; Macpherson et al., 2024).

Основным преимуществом работы с клеточной культурой является конечный продукт (вирусная суспензия), который не нужно дополнительно подвергать стадиям очистки или фильтрации. Кроме того, возможна заморозка клеточных культур, что существенно облегчает работу исследователей (Grigg et al., 2024). К недостаткам можно отнести ограниченность срока жизни клеточной культуры, возможность снижения агрессивности или потери вирулентности штамма при его культивировании. Полученный вышеуказанным способом биоматериал обычно иммобилизуют на специальных носителях для дальнейшего использования и/или транспортировки (Jehle et al., 2003; Castilho et al., 2008; Macpherson et al., 2024).

Популяции насекомых для наработки биомассы вирусов. Нарработку вирусного материала на живых насекомых в условиях лаборатории проводят с использованием лабораторных или природных популяций. Для работы с CpGV необходимо поддержание популяции *C. pomonella*. Содержание и разведение данного объекта считается трудоёмким, поэтому большинство исследователей либо приобретает лабораторную популяцию у сторонних организаций, специализирующихся на выращивании и продаже таких насекомых, либо использует природную популяцию (Boncheva et al., 2006; Van Beek, Davis, 2016; Sauer et al., 2017; Пушня и др., 2019; Цыгичко и др., 2021; Tsygichko et al., 2024; Shi et al., 2024).

Содержат насекомых на ИПС различного состава. Чаще всего питательный субстрат – это многокомпонентный продукт. При его разработке с течением времени наблюдается тенденция к постепенной замене растительных компонентов (проростков, семян, листьев) более удобными и доступными (мука, дрожжи) (Лопаткин и др., 1992; Бойкова и др., 2008; Дуск, 2010). В процессе подбора сред авторы руководствуются не только составом основных компонентов ИПС, но и необходимой текстурой, наличием или отсутствием фитостимуляторов для более активного процесса питания и прочее (Zamoga-

Avilés et al., 2017; González-Cabrera et al., 2024; Strydom et al., 2024). Наиболее распространены для содержания популяций *C. pomonella* ИПС Ивальди-Сендера или ИПС Митрофанова. Основные компоненты таких сред – это кукурузная, солодовая и соевая мука, отруби, вода, агар, ряд кислот и консервантов (Ivaldi-Sender, 1974; Митрофанов, 1976).

Лабораторная популяция предполагает наличие здоровых особей, выращиваемых на ИПС в течение нескольких поколений, при этом исследователями осуществляется контроль всех жизненных стадий. Таким насекомым присущи следующие характеристики: отсутствие диапаузы, равномерное размножение в течение года. Диапауза – это синдром развития, физиологических, биохимических и поведенческих признаков, которые в совокупности служат для повышения выживаемости насекомых в периоды неблагоприятных условий окружающей среды. У *C. pomonella*, как и у некоторых других насекомых, диапауза носит факультативный характер, поэтому насекомые могут быть введены в состояние диапаузы искусственно (Bloem et al., 2004; Jacobo-Cuellar et al., 2005; Denlinger, 2022; Strydom et al., 2024). Для этого перед предполагаемым периодом диапаузы гусениц необходимо собрать с использованием гофрированного картона и содержать при температуре 15 °С в темноте до наступления диапаузы, а затем хранить при температуре 2 °С минимум 100 дней. Для завершения периода диапаузы картон необходимо поместить в климатическую камеру с температурой 27 °С и фотопериодом 16:8 ч (день:ночь). Через 9 дней можно собирать сформированных куколок (Bloem et al., 2006).

При культивировании насекомых в условиях лаборатории у исследователей есть постоянная возможность отъёма гусениц необходимого возраста и количества, однако процесс содержания популяций насекомых требует больших затрат времени и ресурсов. Кроме того, лабораторные насекомые имеют свойство к вырождению, что требует периодически пополнять их особями из природных популяций (Bloem et al., 2004; Devotto et al., 2010). Стоит отметить, что в Российской Федерации нет ни одной организации,

занимающейся массовым разведением или продажей *C. pomonella* для исследовательских или иных целей. В мире массовым культивированием насекомых занимаются частные компании, например, «Andermatt Biocontrol AG» (Швейцария), которая осуществляет продажу куколок и яиц бездиапаузной лабораторной популяции *C. pomonella*.

Природная популяция предполагает сбор насекомых из естественных мест обитания в периоды их активности. Преимуществом таких популяций является то, что исследователь не затрачивает время и ресурсы на воспроизводство и содержание насекомых, однако есть риск отбора инфицированных особей, что может повлиять на результат работы. Поэтому при отборе насекомых для работы с энтомопатогенными бакуловирусами важно производить сбор в стациях без обработок вирусными инсектицидами, а также выдерживать время карантина для собранных особей (Цыгичко и др., 2023; Tsygichko et al., 2024).

Культивирование *C. pomonella*, как и других лабораторных популяций, циклический процесс. Многие исследователи практикуют содержание насекомых при температуре 25-28 °C, относительной влажности 60,0-75,0% и фотопериоде 16:8 ч (день:ночь) (Bloem et al., 2006; Denlinger et al., 2009; Devotto et al., 2010; Aziz et al., 2024; Li et al., 2024). При этом бабочек помещали в коробки или цилиндры, стенки которых выстилали вошинной бумагой. После спаривания и откладки яиц на поверхность бумаги, её извлекали, стерилизовали, если это необходимо, и помещали в контейнеры с ИПС так, чтобы бумага не соприкасалась напрямую со средой. Для этого использовали либо сетку, которую располагали между ИПС и листом, либо булавку, на которую накалывали небольшой лист с яйцами. После выхода гусениц из яиц и внедрения их в ИПС, вошинные листы удаляли (Bloem et al., 2006; Devotto et al., 2010). В некоторых случаях отродившихся гусениц первого возраста переносили с вошинных листов на ИПС вручную при помощи кисти (Dyck, 2010). Стоит отметить, что для гусениц первого возраста необходимо наличие тусклого или приглушенного света для успешного внедрения в рацион. При содержании насекомых в открытых лотках необходимо наличие движения воздуха, около 5-10 см/сек, при

котором осуществляется контроль скорости высыхания ИПС и подавление роста плесени. В таком состоянии гусеницы развиваются вплоть до окукливания и вылета бабочек (Dyck, 2010; Aziz et al., 2024).

Для продолжения цикла воспроизводства половозрелых особей отбирали ручную, либо при помощи светоловушек. У насекомых определяли пол и разделяли на группы по принципу 1:1 (самки:самцы). Далее бабочки спаривались, откладывали яйца, после чего цикл развития *C. pomonella* можно было продолжить заново (Brinton et al., 1969; Howell, Clift, 1972; Toba, Howell, 1991; Bloem et al., 2004; Bloem et al., 2006; Dyck, 2010).

Для наработки вирусной биомассы перорально инфицировали вирусной культурой гусениц старших возрастов. Это объясняется тем, что биомасса используемых для культивации насекомых прямо пропорциональна биомассе получаемого бакуловируса (Ермакова, 1995; Ширинян и др., 2006; Dyck, 2010; Murillo et al., 2015). В процессе бакуловирусной репликации насекомые погибали и/или приобретали видимые признаки вироза. Таких гусениц собирали, выделяли вирусные частицы, проводили их идентификацию и подсчет, а также осуществляли приготовление водных вирусных суспензий (Исмаилов и др., 2010; Graillot et al., 2014; Сергеева и др., 2016; Gómez Беньковская, 2017; Valderrama et al., 2017; Bayramoglu et al., 2018; Томилов и др., 2018; Li et al., 2024; Tsygichko et al., 2024).

Вирусную суспензию получали путем гомогенации инфицированных гусениц с добавлением воды, 0,01% фосфатного буфера или 0,1-0,5% раствора лаурилсульфата натрия (Jiang et al., 2011; Gómez Valderrama et al., 2017; Shi et al., 2024). Ряд исследователей предварительно замораживали погибших насекомых для разрушения клеточных мембран и высвобождения вируса (Graillot et al., 2014; Virto et al., 2016). Полученную биомассу фильтровали и центрифугировали в воде или градиенте сахарозы/глицерина для концентрации вирусных включений (Berling et al., 2008; Колосов, 2011; Jiang et al., 2011; Liao et al., 2016; Zamora-Avilés et al., 2017). Осадок сразу использовали или хранили,

предварительно высушив на воздухе или с помощью лиофильной установки (Кейлей, 2000; Mascarín, Delalibera, 2012; Сергеева и др., 2016).

Технология применения бакуловирусных инсектицидов. Регламент применения бакуловирусных препаратов, используемых для контроля численности *C. pomonella*, следующий:

- норма применения препарата – 0,1-1 л/га (СК) или 1 г/га (СП);
- расход рабочей жидкости – 1-5 л/дерево или 400-1 000 л/га;
- кратность обработок – от 4 до 6;
- обработка в период вегетации;
- сроки ожидания отсутствуют (Государственный каталог..., 2018-2024).

При хранении вирусных инсектицидов большинство исследователей руководствуются стандартными нормами и правилами, внося лишь небольшие коррективы в зависимости от специфики конкретного исследования. Общепринятая схема хранения рекомендована компанией Arysta Life Science для препарата CARPOVIRUSINE EVO 2 (CpGV isolat M, $1,0 \times 10^{13}$ гранул/л, Arysta LifeScience Corporation, Франция). Препарат хранят в холодильной камере (+4 °C) или при температуре не выше +25 °C в сезон использования. В межсезонье возможно хранение в морозильной камере при температуре -20 °C в течение нескольких лет (Agromarketsrbija..., 2023; Li et al., 2024). В том случае, если вирусный препарат имеет форму порошка, его можно хранить при температуре +5-7 °C. При отсутствии влаги срок хранения такого продукта может быть не ограничен (Сергеева, 2016; Andermatt. Madex..., 2023).

Для повышения эффективности и увеличении срока хранения коммерческих препаратов помимо вирусных частиц в составе присутствуют дополнительные компоненты: консерванты, наполнители, антиоксиданты, адсорбирующие агенты, солнцезащитные компоненты, пищевые аттрактанты и прочее (Кейлей, 2000; Кошелев и др., 2009; Mascarín, Delalibera, 2012; Гальчинский, Назаров, 2018).

1.4.2 Коммерческие инсектициды на основе энтомопатогенных вирусов

Биопрепараты используются повсеместно и с каждым годом количество коммерческих продуктов и разработок с приставкой «био-» растёт. По оценке экспертов, прогнозируемый объем мировых продаж биопестицидов к 2028 году составит около 13,9 миллиардов долларов, что указывает на их растущий потенциал. Для сравнения: мировые продажи в 2023 году составили 6,7 миллиарда долларов (Wend et al., 2024; Research and market..., 2024). Такому росту способствует все большая осведомленность и осознание потребителей и сельхозтоваропроизводителей, что химические препараты, хотя и являются высокоэффективными и быстродействующими, могут загрязнять окружающую среду и накапливаться в продуктах питания и, как следствие, в организме человека. Кроме того, возрастает популярность органических продуктов питания, и, как следствие, увеличение площадей для их выращивания (Nicolopoulou-Stamati et al., 2016; Potential Health..., 2023; Galli et al., 2024; Мироненко, Асатунова, Шипиевская и др., 2024).

Отдельно можно выделить бакуловирусные препараты, сегмент которых к 2036 году может составить 65,0% от общего числа биопестицидов на рынке средств защиты растений в мире (Research Nester..., 2021). Сейчас существует более 50 наименований инсектицидов на основе энтомопатогенных вирусов (Цыгичко, Асатунова, 2018).

В США были разработаны и коммерциализированы такие препараты, как Elcar (HzNPV) в отношении *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (*Lepidoptera: Noctuidae*), Gypchek (LdNPV) против *Lymantria dispar* (L., 1758) (*Lepidoptera: Noctuidae*), TM BioControl-1 (OpNPV) для контроля численности *Orgyia pseudotsuga* (McDunnough, 1921) (*Lepidoptera: Noctuidae*), Neocheck-S (NsNPV) для контроля *Neodiprion sertifer* (Geoffroy, 1785) (*Hymenoptera: Diprionidae*), CYD-X (CpGV) против *C. pomonella* и другие (Black et al., 1997; Szewczyk et al., 2005; Lacey et al., 2008). Во Франции производят и используют Madex Twin

(CpGV isolat V22), Madex Pro (CpGV isolat V15), Madex Top (CpGV isolate V15) в отношении *C. pomonella*, Capex (AoGV, DSMZ BV-0001) против *Adoxophyes orana* (Fischer von Röslerstamm, 1834) (*Lepidoptera: Tortricidae*), Helicovex (HearNPV) для контроля *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (*Lepidoptera: Noctuidae*) (Andermatt. Helicovex ..., 2023; Andermatt. Madex..., 2023).

Три препарата на основе GV и два на основе NPV зарегистрировано в Японии. Против *A. orana*, Fischer von Röslerstamm, 1834 препарат на основе штамма AoGV, в отношении *Homona magnanima* (Diakonoff, 1948) (*Lepidoptera: Tortricidae*) препарат на основе HomaGV, а также препарат из комбинации вышеуказанных штаммов гранулёза, созданный в 2003 году. Два состава, основу которых составлял штамм вируса полиэдроза, были зарегистрированы в 2007 и 2012 годах, применялись для контроля *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (*Lepidoptera: Noctuidae*) (仲井まどか, 2013; Goto et al., 2015; Statista..., 2024).

Первый инсектицид на основе бакуловируса в Южной Африке был зарегистрирован в 2004 году – Cryptogran (CrleGV) против *Thaumatotibia (Cryptophlebia) leucotreta* (Meyrick, 1913) (*Lepidoptera: Tortricidae*). Впоследствии второй продукт Cryptex (CrleGV) был его доработанным аналогом. В 2015 году был зарегистрирован третий продукт Gratham (CrleGV), характеристики которого идентичны вышеуказанным (Moore et al., 2015; Adom et al., 2024).

В отношении *Phalaena xylostella* (L., 1758) (*Lepidoptera: Plutellidae*), *Mamestra brassicae* (L., 1758) (*Lepidoptera: Noctuidae*), *H. armigera*, *Noctua orbona* (Hufnagel, 1766) (*Lepidoptera: Noctuidae*) и прочих чешуекрылых (около 20 видов) в Китае используют препарат Ecocert Inputs (MabrNPV) (Sun, 2015). Стоит отметить, что помимо регистрации штаммов вирусов насекомых и способов их использования, патентуются технологические решения по совместному использованию бакуловирусов и определенных химических соединений для увеличения инсектицидной эффективности первых (Reach24h..., 2024).

В Латинской Америке для контроля численности *C. pomonella* используют Carpovirus (CpGV), Carpovirus Plus (CpGV), AgroRoca S.A. (CpGV), против *H. zea*

– Gemstar (HzSNPV), в отношении *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808) (*Lepidoptera: Noctuidae*) – SPOD-X LC (SeNPV) (Haase et al., 2015; Guidance..., 2024).

Среди крупных производителей вирусных СЗР можно выделить компании Andermatt Biocontrol (Швейцария) и Arysta LifeScience (Франция, Индия, Румыния, Турция, Пакистан, Словакия, Англия и др.), продукты которых применяют по всему миру. По данным аналитиков рынок биопрепаратов в России состоит преимущественно из групп продуктов кормового и ветеринарного назначения. Сегмент биологических пестицидов составляет до 5,0%. Однако, несмотря на значительный рост доли биологических СЗР в общем объеме биопрепаратов в последние годы, их повсеместное применение остаётся на уровне 2,0% от общего числа в стране. Предлагаемый подход для развития рынка – это проекты по созданию многофункциональных комбинированных биопестицидов для растениеводства (Abercade consulting... 2021; Гырнец, Асатунова, 2023).

С 2017 по 2024 год список инсектицидов на основе энтомопатогенных бакуловирусов не пополнялся новыми продуктами. Так, в 2017 году было разрешено к применению на территории Российской Федерации четыре биоинсектицида на основе бакуловирусов: Хеликовекс, СК (HearNPV) для контроля *H. armigera*, Фермовирин ЯП, СП (CpGV), Мадекс Твин, СК (CpGV isolat V22) и Карповирусин, СК (CpGV isolat M) против *C. pomonella*. В 2024 году этот список сократился до двух препаратов: Хеликовекс, СК и Карповирусин, СК (Государственный каталог..., 2018-2024). Несмотря на эффективность вышеуказанных препаратов 95,0-97,0%, отечественные биоинсектициды на основе штаммов вирусов насекомых на сегодняшний день на рынке СЗР отсутствуют (Долженко, Долженко, 2017; Государственный каталог..., 2024; Tsygichko et al., 2024).

Таким образом, можно утверждать, что за рубежом технологии биометода на основе бакуловирусов развиваются заметно интенсивнее, чем в России. В какой-то степени такому развитию способствует применение технологий генетической инженерии в создании устойчивых трансгенных растений, а также

вирусов, несущих чужеродные гены, продукты которых обладают инсектицидной активностью (Rohrmann, 2013; Haase et al., 2013; Murillo et al., 2017). Кроме того, в Российской Федерации большинство исследований, касающихся разработки бакуловирусных инсектицидов также осуществляются на базе коммерческих предприятий.

Многие исследователи указывают на формирование устойчивости у чешуекрылых вредителей к бакуловирусным препаратам. В ряде работ авторы отмечают резистентность *C. pomonella* к используемым штаммам вируса гранулеза, что свидетельствует о необходимости постоянного поиска и изучения новых высокоэффективных изолятов бакуловирусов (Jehle et al., 2008; Zichová et al., 2013; Siegwart et al., 2015; Нугманова, 2016; Sauer, 2017; Li et al., 2024). Именно поэтому разработка новых высокоэффективных СЗР на основе бакуловирусов позволит не только решить проблемы резистентности в популяции насекомых-фитофагов, но и способствовать расширению ассортимента биологических инсектицидов за счет появления отечественных препаратов на основе энтомопатогенных вирусов.

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

Исследования проводили в период 2017-2024 годы. Выделение штаммов CrGV и оценку их энтомопатогенной активности осуществляли на базе лаборатории микробиологической защиты растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (ФГБНУ ФНЦБЗР), г. Краснодар с использованием материально-технической базы Уникальной научной установки (УНУ) «Технологическая линия для получения микробиологических средств защиты растений нового поколения» (<https://ckp-rf.ru/catalog/usu/671367/>). Содействие в проведении научно-исследовательской работы оказывали научные подразделения ФГБНУ ФНЦБЗР: лаборатория химической коммуникации и массового разведения насекомых и лаборатория государственной коллекции энтомоакарифагов и первичной оценки биологических средств защиты растений.

Молекулярно-генетическую идентификацию штаммов CrGV и их биоинформатический 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 энтомопатогенной активности штаммов CrGV в условиях мелкоделяночного опыта проводили на полевой базе хутора Покровского, Краснодарского края в 2023-2024 года.

2.1 Объекты исследования

Объектами исследования являлись 22 штамма CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР. В качестве тест-объекта использовали гусениц лабораторной популяции большой восковой моли *G. mellonella* из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР. В качестве целевого насекомого – гусениц природной и лабораторной популяций *C. pomonella*. Оценку энтомопатогенной активности штаммов CrGV в условиях полевого мелкоделяночного опыта проводили на яблоне домашней *Malus domestica* (Borkh., 1803) (*Rosales: Rosaceae*) сорта Брина.

Содержание и разведение *G. mellonella*. В качестве тест-объекта для оценки энтомопатогенной активности штаммов CrGV были выбраны гусеницы лабораторной популяции *G. mellonella* (3-5 возраста) из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР (Harvey, Volkman, 1983; Бараненко Медведева, 2018). В связи с физиологическими, биохимическим и популяционными особенностями насекомых, их разводят и используют в научно-практических целях как модельный объект для оценки качества биопрепаратов и активности микроорганизмов, а также как кормовую базу для энтомофагов (Агасьева и др., 2016; Tsai et al., 2016; Осокина, 2016; Killiny, 2018).

Разведение гусениц лабораторной популяции *G. mellonella* производили в термостате Binder BD115 при температуре 28-30 °C и относительной влажности воздуха 70,0-80,0% (Осокина, 2019). Гусениц содержали на ИПС Исмаилова В.Я. следующего состава: отруби пшеничные, мука пшеничная, молоко сухое, мука кукурузная, дрожжи хлебопекарные, воск пчелиный, мёд, глицерин, дистиллированная вода (Исмаилов и др., 2003). Гусениц старших возрастов помещали в банки объемом 3 л с добавлением 100-150 г ИПС, закрывали плотной бумагой и салфетками бязи. После окукливания, отрождения бабочек, спаривания, откладки яиц и отрождения гусениц, их перекладывали в тазы объёмом 12-15 литров с добавлением свежей среды. При достижении гусеницами 2-5 возраста часть извлекали из ИПС для осуществления экспериментов, а часть использовали для дальнейшего воспроизводства популяции (Осокина, 2016; Осокина, 2019).

Содержание и разведение *C. pomonella*. Отработку методов содержания и разведения насекомых осуществляли с использованием лабораторной популяции *C. pomonella*, которая была предоставлена компанией «Andermatt Biocontrol AG» (Швейцария). В исследованиях были использованы гусеницы 1-5 возраста, а также куколки, бабочки и яйца.

Полоски картона с куколками и гусеницами последних возрастов переносили в стеклянные банки 0,5 л и помещали их в климатическую камеру при температуре +26 °С, влажности воздуха 70,0% и фотопериоде 18:6 ч (день:ночь). После вылета бабочек их пересаживали в новые ёмкости в соотношении 1:1 (самки:самцы) с полосками воощенной бумаги для откладки яиц (Bloem et al., 2006; Denlinger, 2009; Dyck, 2010; Devotto et al., 2010). Спарившиеся самки *C. pomonella* откладывали яйца на бумагу, а также на поверхность стеклянных банок. Отрождение гусениц первого возраста наблюдали через 5-6 дней после откладки яиц. Гусениц с помощью кисти переносили в секционные пластиковые планшеты Falcon, SPL Lifesciences с добавлением 1г ИПС. Яйца на носителе помещали в контейнеры с ИПС так, чтобы плёнка не касалась питательного субстрата. Для этого между плёнкой и средой помещали пластиковую сетку. После чего контейнеры закрывали крышкой и содержали в климатической камере при температуре +26 °С, влажности воздуха 70,0% и фотопериоде 18:6 ч (день:ночь) с использованием приглушенного света (Bloem et al., 2006; Dyck, 2010; Devotto et al., 2010). Кроме того, на гусеницах 1-2 возраста тестировали ИПС Ивальди-Сендера и Митрофанова.

Среда Ивальди-Сендера на 958 г (Dyck, 2010):

- агар-агар – 20 г;
- кукурузная мука – 50 г;
- зародыши пшеницы – 50 г;
- дрожжи пивные – 50 г;
- аскорбиновая кислота – 4,5 г;
- бензойная кислота – 1,8 г;
- метилпарабен – 1,8 г;
- вода – 780 мл.

Среда Митрофанова на 1 кг (Митрофанов, 1976):

- агар-агар – 12 г;
- кукурузная мука – 45 г;
- отруби пшеничные – 45 г;
- солодовые ростки – 54 г;
- соевая мука – 40 г;
- аскорбиновая кислота – 5,4 г;
- лимонная кислота – 4,5 г;
- сорбиновая кислота – 0,81 г;
- метилпарабен – 2,2 г;
- вода – 790 мл.

Для наработки вирусной биомассы и оценки энтомопатогенной активности штаммов CrGV были выбраны гусеницы *C. pomonella* 2-5 возраста (Harvey, Volkman, 1983; Бараненко Медведева, 2018). Сбор насекомых осуществляли на территории экспериментальных насаждений яблони ФГБНУ ФНЦБЗР г. Краснодаре, где с 2010 года не проводились агротехнические и защитные мероприятия. Для этого в период с мая по сентябрь производили сбор яблок с последующим извлечением из них гусениц. Собранные плоды аккуратно разрезали ножом посередине так, чтобы не повредить насекомое, питающееся в семенной камере. Затем гусениц извлекали пинцетом и помещали в пластиковые секционные планшеты Falcon, SPL Lifesciences по одной особи в лунку во избежание проявления каннибализма. С целью исключения появления спонтанного вироза или паразитирования энтомофагами и другими энтомопатогенами, насекомых после сбора выдерживали на карантине в течение 3-5 дней до проведения исследований. При этом гусениц содержали на ИПС Митрофанова (Митрофанов, 1976). Таким образом, получали активно питающиеся экземпляры 2-5 возраста (Комаров, 2005; Голуб и др., 2012). Важной особенностью при сборе гусениц *C. pomonella* оказалось то, что единовременный сбор необходимого количества особей для получения достаточной выборки представлялся довольно трудоёмким, поэтому лабораторные

исследования с использованием целевого насекомого осуществляли последовательно партиями.

2.2 Выделение штаммов энтомопатогенных вирусов из природных источников

Поиск инфицированных CrGV гусениц яблонной плодовой плодожорки осуществляли на территории экспериментальных плодовых насаждений ФГБНУ ФНЦБЗР, а также в яблоневых садах Краснодарского края и Ростовской области. Основным критерием отбора участков для поиска зараженных насекомых было отсутствие обработок вирусными инсектицидами в течение не менее одного года до отбора проб. Среди найденных гусениц *C. pomonella* отбирали особей с внешними признаками вироза, таких как изменение цвета наружных покровов, отсутствие реакции на внешние раздражители и прочее. Наиболее выраженным симптомом вирусной патологии являлось повреждение кутикулярных покровов насекомого при касании и вытекание гомогената из внутренних тканей и вирусной биомассы наружу (Sauer, 2017; Цыгичко, Асатулова, 2018; Цыгичко, Асатулова 2018; Hussain et al., 2020). В процессе сбора инфицированных насекомых помещали в пробирки для последующей транспортировки.

Все отобранные образцы исследовали микроскопически. Для этого на предметное стекло наносили мазок найденного биоматериала без дополнительного окрашивания фиксировали в пламени горелки и наблюдали в светлом поле при увеличении x400 (Митрофанов, Смирнов, 1998; Цыгичко, Асатулова 2018). При обнаружении типичных для вируса гранулёза включений образец вносили в перечень БРК ФГБНУ ФНЦБЗР.

Наработка вирусной биомассы. После выделения изолятов CrGV из окружающей среды осуществляли наработку вирусной биомассы, которая была необходима для проведения молекулярно-генетической идентификации штаммов, а также исследований их энтомопатогенной активности. В качестве организма-биореактора использовали гусениц *C. pomonella* 2-5 возраста и гусениц лабораторной популяции *G. mellonella* 2-6 возраста. Нарработку вирусной биомассы

осуществляли посредством ряда пероральных заражений здоровых насекомых штаммами вирусов. Из инфицированных гусениц готовили водные вирусные суспензии по общепринятым методикам работы с бакуловирусами насекомых (Колосов, 2011; Ji et al., 2015; Ali et al., 2015; Wan et al., 2016; Bayramoglu et al., 2018). Для этого брали погибших или живых гусениц, у которых были явные признаки вироза (малоподвижность, вялость, изменение цвета кутикулы, размягчение или частичный некроз тканей), гомогенизировали до однородной консистенции с добавлением дистиллированной воды из расчета 1мл/гусеницу. Далее образец фильтровали через однослойный спанбод (полимерный нетканый материал) для удаления крупных частиц кутикулы и/или хитина. Полученный фильтрат помещали в центрифужную пробирку объёмом 50 мл и доводили дистиллятом до метки. Центрифугирование осуществляли при 8 000 об/мин в течение 15 мин на приборе Eppendorf 5810 R. Затем надосадочную жидкость сливали, а осадок ресуспендировали в 30-40 мл дистиллированной воды. При необходимости циклы центрифугирования и ресуспендирования проводили несколько раз до получения однородной непрозрачной жидкости с окраской от светло бежевого до коричневого (водная вирусная суспензия). Полученную таким способом суспензию хранили в холодильной камере при температуре +4 °С или сразу использовали для проведения лабораторных исследований или исследований в условиях полевого мелкоделяночного опыта (Колосов, 2011; Ji et al., 2015; Ali et al., 2015; Wan et al., 2016; Bayramoglu et al., 2018).

Исследуемые штаммы, выделенные сотрудниками ФГБНУ ФНЦБЗР ранее 2018 года, имели вид СП, представляющий собой штаммы CrGV, наработанные на культуре клеток насекомых с использованием целлюлозного носителя. Вирусную водную суспензию таких штаммов готовили в соответствии с инструкцией приготовления рабочего раствора препарата Фермовирин ЯП, СП (CrGV, $3,0 \times 10^{12}$ гранул/г, EuroFerm GmbH, Германия) непосредственно перед закладкой эксперимента (Государственный каталог..., 2017).

Подсчет титра водных вирусных суспензий осуществляли с использованием камеры Горяева при увеличении $\times 400$ (Колосов, 2011). Расчет значения титра производили по модифицированной формуле подсчета кровяных телец в 1 мм^3 (1):

$$X = 10^3 \times \left(\frac{a \times 400 \times c}{b} \right), \quad (1)$$

где X – это искомое количество гранул в мл жидкости (титр – гранул/мл);

a – сумма гранул вируса в определенном объеме камеры;

b – количество малых квадратов;

c – разведение суспензии;

400 – увеличение микроскопа при подсчете.

Измерение и документирование изображений производили с применением системы визуализации Carl Zeiss Axio Scope A1 и компьютерных программ ZEN 2012, AxioVision Rel. 4.8. Вирусные водные суспензии, полученные на основе гусениц *C. pomonella* использовали для сравнительной оценки инсектицидной активности в лабораторных условиях в отношении гусениц *C. pomonella* и гусениц лабораторной популяции *G. mellonella*, а также в условиях полевого мелкоделяночного опыта в отношении *C. pomonella*.

2.3 Идентификация и биоинформатический анализ штаммов энтомопатогенных вирусов

2.3.1 Полногеномное секвенирование штаммов энтомопатогенных вирусов

Подготовка биоматериала штаммов энтомопатогенных вирусов к молекулярно-генетическому анализу. Подтверждение принадлежности микроорганизмов к грануловirusам осуществляли с помощью молекулярно-генетических методов. Важно отметить, что получение биомассы бакуловирусов осложнена тем, что в одной пробе обязательно присутствует ДНК не только вируса, но и насекомого-хозяина. В процессе идентификации ДНК хозяина

выступает как загрязнитель и мешает этой процедуре, поэтому необходимо максимально очищать пробу от чужеродных белков. Данный этап пробоподготовки специфичен для разных групп организмов и на базе ФГБНУ ФНЦБЗР был отработан метод пробоподготовки для штаммов CrGV.

Этапы пробоподготовки биоматериала включали в себя замораживание инфицированных вирусом насекомых *C. pomonella* в камере при температуре -8°C до трех суток. Затем гусениц извлекали, размораживали при комнатной температуре и измельчали с добавлением 10 мл дистиллированной воды до гомогенного состояния. Полученный гомогенат фильтровали через спанбод для удаления крупных частиц кутикулы, доливали дистиллят до 50 мл и осуществляли центрифугирование при 5 000 об/мин в течение 15 минут с последующим ресуспендированием образцов (Fan et al., 2019).

Для дополнительной очистки полученные суспензии фильтровали через шприцевые фильтры Minisart NML Sartorius SFCA с гидрофобной мембраной из ацетата целлюлозы. Тестировали фильтры с размером пор 0,2 мкм и 0,45 мкм. Подсчет титра фильтрата осуществляли до и после использования мембранных фильтров для определения потенциальных потерь биомассы в процессе фильтрации. Титр считали в трехкратной повторности с использованием камеры Горяева при увеличении $\times 400$. Расчет значения титра производили по модифицированной формуле подсчета кровяных телец в 1 мм^3 (1).

Сборка и анализ качества библиотек штаммов энтомопатогенных вирусов. Для получения и последующего анализа геномных библиотек со встройками оптимальной длины использовали ультразвуковую фрагментацию ДНК с последующей селекцией фрагментов по размеру на магнитных частицах на приборе Covaris M220 с параметрами, оптимизированными для получения максимума фрагментов размером 300 пн. Для этого брали 50 мкл раствора вирусной ДНК, который подвергали ультразвуковой фрагментации. Полученные фрагменты очищали сорбцией на магнитных частицах с селекцией по размеру для удаления фракции менее 150 пн, содержащей основную массу деградированной ДНК хозяина и растворяли в 30 мкл H_2O .

Концентрацию ДНК определяли флуориметрически на приборе Qubit набором High Sensitivity. Далее 70 нг фрагментированной ДНК использовали для создания геномных библиотек набором KAPA DNA Prep с использованием двойной селекции по размеру согласно протоколу производителя. Для баркодирования использовали индексы UDI49-UDI67 из набора KAPA Unique Dual-Indexed Adapter Kit. Амплификацию библиотек проводили в ходе 9 циклов ПЦР, после чего полученные библиотеки осаждали на магнитных частицах. Качество библиотек определяли на биоанализаторе BA2100. Расчёт молярности проводили по данным биоанализатора и флуориметра Qubit 2.0. Библиотеки нормировали до концентрации 4 нМоль.

Проведение массового параллельного секвенирования синтезированных библиотек. Секвенирование полученных библиотек проводили на приборе NextSeq550 парноконцевыми чтениями 2x150 пн согласно протоколу производителя, с расчётным объёмом секвенирования 20 млн чтений на один образец. Для нанесения готовили раствор 22 библиотек штаммов CrGV и библиотеку штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК в эвимолярной концентрации. Финальная концентрация составила 4 нМоль.

Выделение и очистка ДНК штаммов энтомопатогенных вирусов. Выделение ДНК осуществляли из 22 водных вирусных суспензий штаммов CrGV, полученных на этапе пробоподготовки. В качестве биологического инсектицида использовали коммерческий препарат Мадекс Твин, СК. Для выделения суммарной ДНК использовали набор PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen). Вирусные частицы осаждали из 1 мл суспензии, которую центрифугировали при 20 000 об/мин в течение 10 мин и ресуспендировали в 50 мкл воды. К 50 мкл полученной суспензии добавляли 200 мкл лизирующего буфера I (180 мкл didgestion buffer, 20 мкл Протеиназы К) и инкубировали 1 час при 55 °С. Далее к лизатам добавляли 200 мкл Binding buffer и после перемешивания пипетированием вносили 200 мкл 96,0% этанола. Смесь наносили на колонку и центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 1 мин. Затем колонку переносили на свежую пробирку и проводили последовательную

промывку 500 мкл Wash Buffer 1, центрифугирование при 10 000 об/мин в течение 1 мин, промывку 500 мкл Wash Buffer 2, центрифугирование при 10 000 об/мин в течение 1 мин. После жидкость из пробирки удаляли и осадок центрифугировали при 20 000 об/мин в течение 3 мин. Далее колонку переносили на пробирку для элюирования. Элюцию проводили с добавлением 50 мкл воды. Концентрацию выделенной ДНК измеряли флуориметрически на приборе Qubit 2.0.

Сборка геномов штаммов энтомопатогенных вирусов и проведение их структурного анализа. Для сборки геномов, их аннотации и сопутствующего анализа использовали программные инструменты, представленные в Таблице 1.

В ходе сборки геномов и их аннотации передавали сырые данные 23 образцов (22 штамма CrGV и штамм-продуцент инсектицида Мадекс Твин, СК). Каждый образец был представлен парными чтениями размером 150 пн. Референсный геном *C. pomonella* granulovirus isolate Mexico/1963 (NC_002816.1) брали из базы данных NCBI RefSeq (National Library..., 2023). Геном был представлен кольцевой хромосомой размером 123,5 Кб.

Также при обработке данных в первую очередь проводили фильтрацию возможной контаминации прочтений последовательностями хозяина *C. pomonella*. Для этого с помощью программы BWA проводили картирование прочтений на референсный геном вируса (NC_002816.1). Использовали стандартные параметры BWA для парных прочтений. Результаты работы программы BWA в формате sam переводили в формат bam. Полученные файлы сортировали и индексировали. Для этих процедур использовали стандартные функции набора программ Samtools. Отбор прочтений, картированных на геном референсного вируса, осуществляли также с помощью программ Samtools, не учитывая качество картирования mapQ. Исходили из предположения, что вирусы быстро изменчивы и параметр mapQ можно не учитывать.

Таблица 1 – Программные инструменты, необходимые для сборки, аннотации и анализа геномов

№	Наименование программного обеспечения	Назначение	Литературные ссылки
1	FastQC	контроль качества данных секвенирования	Babraham bioinformatics, 2023
2	Fastp	предварительная обработка и контроль качества данных FASTQ (текстовый формат данных, используемый для представления биологической последовательности)	Chen et al., 2018; Chen et al., 2023
3	BWA	картирование последовательностей ДНК на референсный геном	Aligning sequence reads..., 2023; Карандашева и др., 2018; Lareu et al., 2019; GitHub..., 2023
4	Samtools	работа с данными высокопроизводительного секвенирования	Li, et al., 2009; Danecek et al., 2021; Samtools..., 2023
5	Spades	сборка геномов, метагеномов, транскриптомов и др.	Bankevich et al., 2012; Prjibelski et al., 2020; Center for Algorithmic..., 2024
6	MinYS	сборка геномов из коротких прочтений по референсному геному	Guyomar et al., 2020; GitHub..., 2023
7	Pilon	комплексное выявление микробных изменений и улучшения геномной сборки	Walker et al., 2014; GitHub..., 2023
8	Gfinisher	выявление ошибок сборки и улучшение процесса сборки бактериальных геномов	Guizelini et al., 2014; GFinisher..., 2016
9	Prokka	аннотация прокариотических геномов	Seemann, 2014; GitHub..., 2023
10	Quast	оценка качества сборок геномов	Gurevich et al., 2013; Center for Algorithmic..., 2024
11	FastANI	вычисление средней нуклеотидной идентичности (ANI) по всему геному без выравнивания	Jain et al., 2018; GitHub..., 2023
12	gplots	визуализация тепловых карт	GitHub..., 2023
13	progressiveMauve	визуализация результатов выравнивания	Darling et al., 2010; the Darling lab..., 2023
14	GenAPI	сравнение содержания генов в бактериальных геномах, для которых доступны только фрагментарные сборки геномов	Gabrielaite et al., 2020; GitHub..., 2023

Статистическую обработку осуществляли по картированным прочтениям на референс (NC_002816.1). Показатели покрытия рассчитывали по формуле Ландера-Ватермана (2) (Lander, Waterman, 1998):

$$\text{Показатели покрытия} = L \times \frac{N}{G}, \quad (2)$$

где L – число парных прочтений, картированных на референсный геном;

N – длина прочтений;

G – длина генома.

Для сборки геномов с помощью программы Spades bam-файлы, полученные в результате операций, описанных выше, переводили в формат FASTQ с помощью набора программ Samtools. Поскольку в процессе картирования не все пары прочтений могли сопоставиться с геномом, то сначала осуществляли их сортировку по наименованиям и только потом переводили в формат FASTQ. Программа Spades работает с одиночными прочтениями, поэтому запуск производили с параметрами: -1,-2, -s, -o, где -1 – чтения прямого хода, -2 – чтения обратного, -s – одиночные чтения, -o – папка с результатом работы сборщика.

Для сбора геномов до хромосомы и выявления возможных ошибок сборки использовали сборщик MinYS. Для его работы необходим референсный геном и парные прочтения в формате FASTQ, поскольку MinYS не работает с одиночными прочтениями, брали парные прочтения до картирования на референсный геном. В данном случае сборщик самостоятельно картировал прочтения на референсный геном. Дополнительно были указаны следующие параметры: -assembly-kmer-size 41 -assembly-abundance-min 4 -min-contig-size 400 -nb-cores 8, где -assembly-kmer-size означает размер k-мера, используемый для сборки Minia, -assembly-abundance-min – минимальное количество k-меров, используемых для сборки, -min-contig-size - минимальный размер контига, который используется при заполнении гэпов. Данные числовые параметры взяли исходя из информации, представленной разработчиками программы на GitHub (GitHub..., 2023). Остальные параметры имели значения по умолчанию. Для корректной работы сборщик использовал программу Samtools версии 1.9.

Качество сборок оценивали с помощью программы Quast. В обоих случаях получили несколько контигов в каждой из сборок. Поэтому решили использовать инструмент Pilon, который позволяет снизить число ошибочных однонуклеотидных замен и сократить разрывы между контигами для каждой из сборок. Программа Pilon использовала bam-файлы с выравниванием на референсный геном. Для этого сначала сборку проиндексировали, картировали референс сборку, результат конвертировали в bam-файлы, отсортировали по координатам и проиндексировали файлы, используя те же инструменты. Программа Pilon выдавала уже откорректированный вариант сборки. Для рассматриваемых сборок не сокращали число неопределенных нуклеотидов в сборках геномов BZR GV 10, BZR GV 12, BZR GV 1, BZR GV 2, BZR GV 3, BZR GV 5, BZR GV 7, BZR GV 8, BZR GV 9, BZR GV L-2, которые собрали с использованием программы Spades. Затем с помощью инструмента Gfinisher собрали более полную сборку геномов на основе двух имеющихся черновых данных. Основную часть представляла сборка Spades, а дополнительную – MinYS. С помощью Gfinisher уменьшали число контигов почти во всех сборках.

Аннотацию геномов выполняли с помощью инструмента Prokka с стандартными параметрами. За исключением того, что параметр --kingdom, ответственный за выбор аннотации, указывали как «вирусы». Также для сравнения использовали референсный геном NC_002816.1.

2.3.2 Анализ генетических последовательностей штаммов энтомопатогенных вирусов

Сравнительно-геномный анализ штаммов энтомопатогенных вирусов. Для сравнительно-геномного анализа из базы данных NCBI Virus было получено 13 геномов различных изолятов *C. pomonella* granulovirus полной сборки. Также производили сравнение с референсным геномом (NC_002816.1) и с геномом штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК (Madex Tween).

В ходе работ производили сравнение исследуемых геномов с 15 геномами на схожесть между ними с помощью ANI-анализа. Выравнивание полногеномных последовательностей исследуемых геномов на референс осуществляли для анализа мутаций на уровне хромосомы. Также проводили анализ генного репертуара относительно двух геномов (NC_002816.1 и KM217575). ANI между геномами считали с помощью программы FastANI со следующими параметрами: --ql, --rl, --minFrag 35 --output, где --ql отвечает за список подаваемых геномов, которые необходимо сравнить, --rl отвечает за список геномов, с которым мы хотим сравнить, --minFrag означает количество фрагментов, на который будет разбит геном, по умолчанию он равен 50. Также есть параметр fragLen, отвечающий за длину фрагмента (по умолчанию 3000). Для вирусов гранулёза эти два параметра корректировали, так как суммарно длины последовательностей геномов не хватает на параметры по умолчанию. В данном случае оставили длину фрагмента, но сократили их количество. Параметр --output записывал текстовый файл со значениями схожести геномов. Визуализацию нуклеотидной идентичности штаммов осуществляли с помощью тепловой карты сходства геномов с помощью библиотеки gplots языка программирования R.

Выравнивание полногеномных последовательностей и анализ генного репертуара геномов штаммов энтомопатогенных вирусов. Выравнивание полногеномных последовательностей проводили с помощью программы progressiveMauve со стандартными параметрами. На входе в программе использовали аннотацию референсного (NC_002816.1), генома штамма-продуцента Мадекс Твин, СК (Madex Tween) и исследуемых геномов в формате Генбанка (.gbk). Полученные результаты визуализировали с помощью программ Mauve. Все районы указывали приблизительно. Для сравнения генного репертуара использовали средство GenAPI, позволяющее проводить подобные сравнения для неполных близкородственных геномов микроорганизмов. В качестве технического референса (a_ref) использовали сборку генома штамма KM217575, в качестве биологического референса геном штамма CpGV-M.

Построение филограмм. Для построения филограмм использовали веб-сервер Simply Phylogeny (Job Dispatcher..., 2023). Для сохранения древ в виде иллюстрации в векторном формате использовали онлайн-инструмент iTOL (ITOL..., 2023). В качестве биологического референса использовали штамм CrGV-M. Для каждого изолята были определены последовательности генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом (IAP (inhibitor of apoptosis protein), Cathepsin, MMP (matrix metalloproteinases) и Chitinase). В качестве аутгруппы были взяты последовательности соответствующих генов *Cryptophlebia leucotreta* granulovirus (CrleGV) (National Library..., 2023). В качестве референсного генома брали CrGV-M *C. pomonella* granulovirus (мексиканский изолят) (National Library..., 2023). Для последовательности, кодирующей белок Chitinase в геноме CrleGV, ген был помечен как псевдо, поэтому был удалён из дальнейшего рассмотрения. Осуществляли множественное выравнивание, которое подавали на вход для построения филограмм. Филограммы строились на основе матрицы расстояний без бустреп-поддержки, но с использованием коррекции расстояний. В Simply Phylogeny расстояния рассчитывали по модели Кимуры. Использовали метод кластеризации данных Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA).

Депонирование геномов штаммов энтомопатогенных вирусов в National Center for Biotechnology Information (NCBI). Полученные результаты молекулярно-генетической идентификации 22 штаммов CrGV депонировали в международную базу NCBI по стандартным протоколам (National Library..., 2024).

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

Оценку активности штаммов CrGV проводили в отношении гусениц тест-объекта (лабораторная популяция *G. mellonella*) и целевого насекомого

(популяция *C. pomonella*) (Цыгичко и др., 2018). В качестве инокулянта использовали водные вирусные суспензии штаммов с известным титром. Для повышения уровня летальности насекомых-вредителей проводили оценку эффективности отобранных штаммов CrGV в отношении гусениц *C. pomonella* по двум параметрам: в зависимости от титра водной вирусной суспензии и в зависимости от возраста гусениц. При оценке эффективности штаммов в зависимости от титра водной вирусной суспензии использовали гусениц 2-5 возраста и две группы рабочих растворов с концентрацией не менее 1×10^6 и 1×10^4 гранул/мл. При оценке эффективности в зависимости от возраста насекомых использовали две группы гусениц 2-3 возраста и 4-5 возраста и рабочие растворы с концентрацией не менее 1×10^6 гранул/мл. В качестве биологического коммерческого инсектицида использовали рабочий раствор препарата Мадекс Твин, СК (Государственный каталог..., 2023).

Гусениц лабораторной популяции *G. mellonella* 2-5 возраста инокулировали с использованием метода заражения рациона. Для этого насекомых раскладывали по пять гусениц в одну чашку Петри (ЧП) и оставляли голодать в течение 2-3 часов. После в ЧП добавляли инокулированную ИПС Исмаилова из расчета 3 мл вирусной суспензии на 5 г ИПС (Исмаилов и др., 2003). В таком же соотношении в варианте с использованием коммерческого инсектицида добавляли рабочий раствор препарата Мадекс Твин, СК, в контрольном – дистиллированную воду. Затем насекомых инкубировали в климатической камере при температуре 28-30 °C и влажности воздуха 70,0-80,0% (Broderick et al., 2006; Broderick et al., 2010; Grizanov et al., 2014; Осокина, 2019).

Гусениц *C. pomonella* 2-5 возраста инокулировали с использованием метода поверхностного заражения рациона. Для этого в пластиковые секционные планшеты Falcon, SPL Lifesciences помещали ИПС Митрофанова по 1г/лунку и с помощью дозатора добавляли в каждую лунку 0,03 мл водной вирусной суспензии исследуемого штамма (Митрофанов, 1976). В варианте с использованием коммерческого биоинсектицида добавляли 0,03 мл рабочего

раствора препарата Мадекс Твин, СК, в контрольном – 0,03 мл дистиллированной воды. Затем в лунки помещали по 1 гусенице, закрывали планшеты и инкубировали в климатической камере при температуре +26 °С, влажности воздуха 70,0% и фотопериоде 18:6 ч (день:ночь) (Berling et al., 2008; Graillot et al., 2014; Graillot et al., 2019; Бондарчук и др., 2021).

Учет смертности *C. pomonella* производили на 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15 сутки после обработки, учет смертности *G. mellonella* производили на 1, 3, 5, 7, 10 сутки после обработки. Использовали по пять гусениц в девятикратной повторности на вариант (Буров и др., 1995).

Математическую обработку полученных данных проводили с использованием стандартных компьютерных программ (Microsoft Excel). Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 12. Нормальное распределение проверяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова ($p < 0,05$). Сравнение между вариантами осуществляли по критерию Дункана при 95,0% уровне вероятности, $p = 0,05$ (Гржибовский, 2008; Шорохова и др., 2015; Шарашова и др., 2017; Баврина, 2021; Баврина, 2021).

Энтомопатогенную оценку эффективности штаммов CpGV в лабораторных условиях проводили с использованием критерия биологической эффективности Хендерсона-Тилтона (3), который учитывает изменения численности как в опытном, так и контрольном вариантах (Henderson, Tilton, 1955; Балыкина, Ягодинская, 2019; Xiong et al., 2021). Полученные отрицательные значения приравнивались к нулевой эффективности.

$$БЭ = 100 \times \left(1 - \frac{Оп \times Кд}{Од \times Кп}\right), \quad (3)$$

где БЭ – биологическая эффективность, выраженная процентом снижения численности вредителя с поправкой на контроль;

Од – число живых особей перед обработкой в опыте;

Оп – число живых особей после обработки в опыте;

Кд – число живых особей в контроле в предварительном учёте;

Кп – число живых особей в контроле в последующие учёты.

Анализ выживаемости целевых насекомых проводили по методу Каплана-Майера (доверительный интервал 95,0% и более). При этом определяли среднее и медианное время гибели (Kishore et al., 2010).

2.5 Оценка защитного действия штаммов энтомопатогенных вирусов в условиях полевого мелкоделяночного опыта.

Почвенно-климатические условия. Оценку энтомопатогенной активности штаммов CpGV в условиях мелкоделяночного опыта проводили на полевой базе хутора Покровского, Краснодарского края в 2023-2024 годах. Указанные территории, согласно агроклиматическому районированию, находятся в центральной степной зоне Краснодарского края, которая характеризуется средней температурой в январе от -3 до -5 °С, в июле от +22 до +24 °С. Для данного региона среднегодовое количество осадков составляет 400-600 мм в год, однако, оно может быть очень неравномерным как в течение года, так и по годам (Павличенко, 1990; Паспорт..., 2017; Gismeteo..., 2024). Почвенный покров составляют предкавказские карбонатные и выщелоченные чернозёмы, что типично для равнинных степей Краснодарского края (Ярославцев, Колесников, 2011; Кузина, 2015; Chang, Turner, 2019).

В 2023-2024 годах в районе хутора Покровского среднегодовая температура составила от +13,0 до +14 °С, максимально низкие показатели температур были отмечены в декабре-феврале, максимально высокие – в июне и июле. Суммарное количество осадков за год составляло от 450 до 732 мм, количество дней с выпавшими осадками – от 153 до 134. Среднегодовая влажность воздуха составляла от 66,0 до 71,0%. В вегетационный период средняя температура составила от +18,3 до +19,7 °С, суммарное количество осадков – 190-340 мм, влажность воздуха – 57,3-66,4% (Рисунок 1 и 2) (Погода..., 2024; Rp5.ru..., 2024). Более подробный анализ метеорологических условий по данным метеостанции Славянская за период полевых мелкоделяночных опытов представлен в Таблице 1 и 2 (Приложение А).

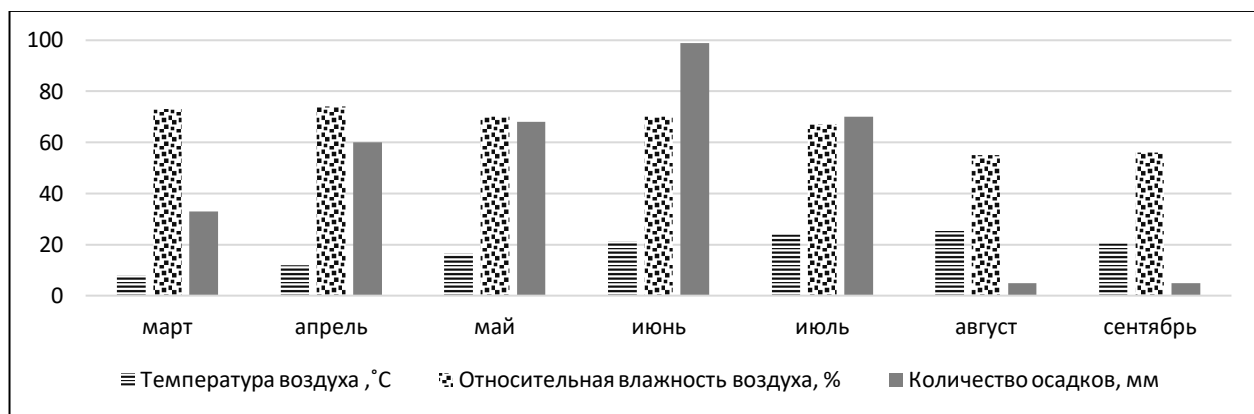


Рисунок 1 – Погодные условия, хутор Покровский, Краснодарский край, 2023 год

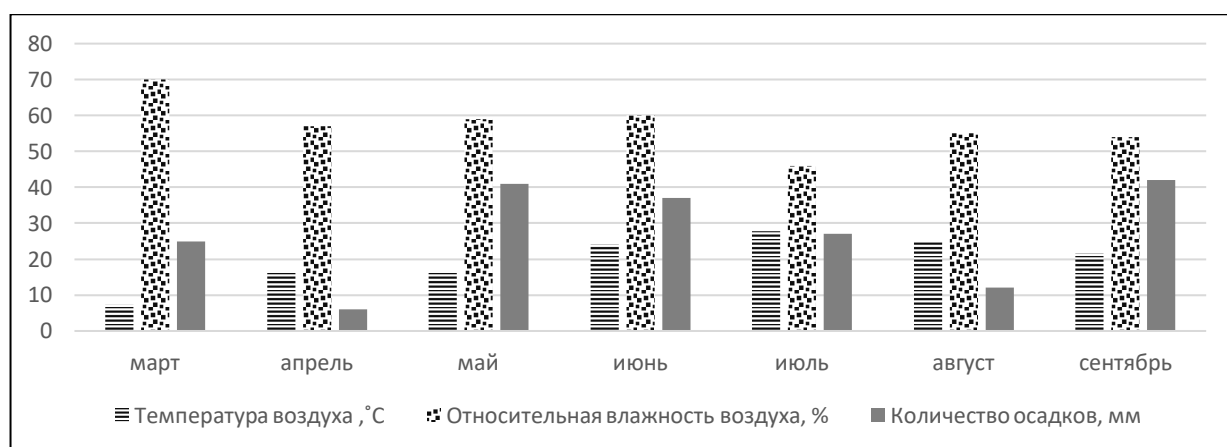


Рисунок 2 – Погодные условия, хутор Покровский, Краснодарский край, 2024 год

Динамика лёта *C. pomonella*. Для установки сроков лета насекомых использовали клеевые феромонные ловушки, которые вешивали в начале апреля. Ловушки устанавливали, отступая 15 метров от края сада на высоте 2 метра, расстояние между ловушками не менее 20 метров. Мониторинг ловушек осуществляли 1-3 раза в месяц до сбора урожая (Таблица 1 (Приложение Б)). Информация о динамике лета *C. pomonella* отражена на Рисунке 3.

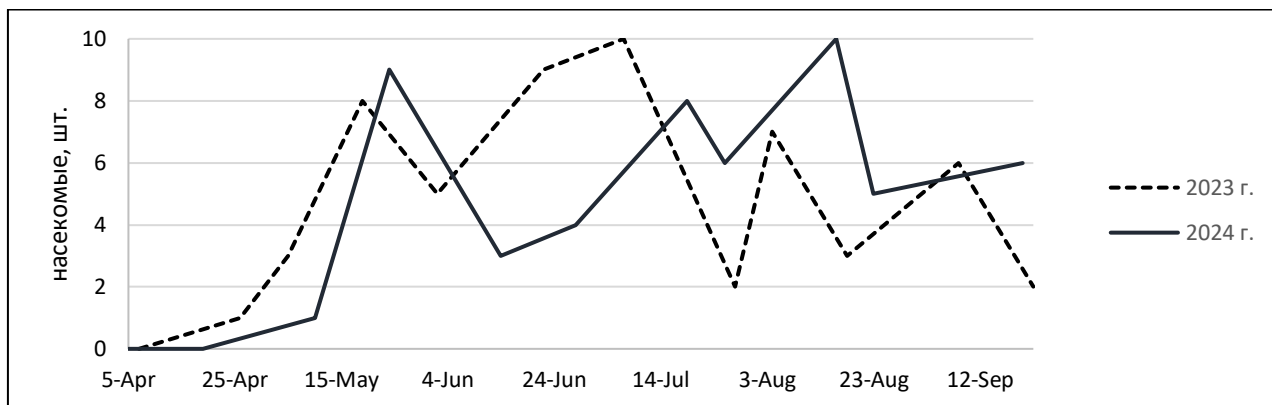


Рисунок 3 – Динамика лета *C. pomonella*, хутор Покровский, Краснодарский край, 2023-2024 годы

Полевой мелкоделяночный опыт. Оценку эффективности штаммов CrGV в условиях полевого мелкоделяночного опыта осуществляли в яблоневом саду на сорте Брина. Схема посадки деревьев составила 4,5×1,5 м, густота посадки – 1481 дерево/га, площадь опытного участка – 0,36 га. На территории сада не применяли химические или биологические СЗР в течение всего вегетационного периода, кроме феромонных ловушек. Оценку проводили в соответствии с методическими указаниями по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и родентицидов в сельском хозяйстве (Долженко и др., 2022). Обработки проводили двукратно по вегетации в зависимости от сроков лета насекомых и погодных условий. В 2023 году первую обработку провели 19.05.2023, вторую – 22.06.2023. В 2024 году первую обработку провели 24.05.2024, вторую – 07.06.2024. Рабочие растворы вирусных суспензий готовили непосредственно перед обработками. Титр рабочих растворов составлял не менее 1×10^6 гранул/мл, по аналогии с минимальным используемым титром рабочих растворов коммерческих препаратов (Таблица 2 (Приложение 2)). В качестве биологического коммерческого инсектицида использовали препарат Мадекс Твин, СК (Государственный каталог..., 2023). Норма применения во всех вариантах составила 0,5 л/дерево или 2 л/вариант. Обработку осуществляли с помощью ранцевого опрыскивателя. При смене штамма/препарата опрыскиватель тщательно промывали водой. Деревья

обработывали в утренние часы при температуре воздуха не выше 25 °С и скорости ветра не более 3 м/с. Исследования осуществляли согласно схеме, указанной в Таблице 2.

Таблица 2 – Схема оценки эффективности штаммов *SrGV* в отношении *S. pomonella* на яблоне сорта Брина в условиях мелкоделяночного опыта, хутор Покровский, Краснодарский край, 2023-2024 годы

Варианты	Даты обработки	
	2023	2024
1. Контроль (обработка водой)		
2. Мадекс Твин, СК	19.05.2023;	24.05.2024;
3. BZR GV 9	22.06.2023	07.06.2024
4. BZR GV 10		
5. BZR GV L-6		
6. BZR GV L-8		

Для установки уровня повреждения плодов яблони насекомыми *S. 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). Для расчёта биологической эффективности по показателю снижения повреждённости генеративных или вегетативных частей растений применяли формулу Аббота (4) (Abbott, 1925), которая используется при невозможности точно установить количество погибших насекомых:

$$\mathcal{E} = 100 \times (A - B)/A, \quad (4)$$

где БЭ – биологическая эффективность, выраженная процентом снижения численности вредителя;

A – среднее количество насекомых в контроле;

B – среднее количество насекомых в опыте.

Статистический анализ данных проводили с использованием Statistica 12 и Microsoft Excel (критерий Колмогорова-Смирнова, наименьшая существенная разница (НСР)).

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Выделение штаммов энтомопатогенных вирусов из природных источников

При отборе изолятов CpGV основным критерием служило наличие внешних и внутренних симптомов вироза насекомого-хозяина. Внешние патологии выражались в изменении цвета и истончении кутикулы, появлении некротических пятен на поверхности тела, гомогенации внутренних тканей и органов, внутренние – в наличии белковых включений (гранул), что является идентификационным признаком семейства *Baculoviridae* (Рисунок 5) (Rohrman, 2013).



Рисунок 4 – *C. pomonella* (ориг.): а) здоровая гусеница; б) гемолимфа здоровой гусеницы; с) гусеница с внешними симптомами вироза; д) гемолимфа инфицированной гусеницы (световая микроскопия, увеличение x400)

К началу 2020 года была произведена инвентаризация (11 штаммов) и пополнение (11 штаммов) БРК ФГБНУ ФНЦБЗР новыми вирусными агентами. Новые штаммы были выделены из станций юга России (Краснодарский край, Ростовская область) и республики Казахстан (Костанайская область) (Цыгичко и др., 2022). Необходимо подчеркнуть, что хранение штаммов в БРК ФГБНУ ФНЦБЗР осуществляется в виде водной суспензии и СП (Таблица 3).

Таблица 3 – Штаммы СрGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР

№	Штамм/шифр	Место выделения	Форма
1	BZR GV 1	республика Казахстан	водная суспензия
2	BZR GV 2	крестьянское хозяйство Олжанс, Костанайская область, республика Казахстан	водная суспензия
3	BZR GV 3	крестьянское хозяйство Ацказы, Костанайская область, республика Казахстан	водная суспензия
4	BZR GV 4	ФГБНУ ФНЦБЗР, Краснодарский край, Россия	водная суспензия
5	BZR GV 5	ФГБНУ ФНЦБЗР, Краснодарский край, Россия	водная суспензия
6	BZR GV 6	ФГБНУ ФНЦБЗР, Краснодарский край, Россия	водная суспензия
7	BZR GV 7	ФГБНУ ФНЦБЗР, Краснодарский край, Россия	водная суспензия
8	BZR GV 8	ФГБНУ ФНЦБЗР, Краснодарский край, Россия	водная суспензия
9	BZR GV 9	ФГБНУ ФНЦБЗР, Краснодарский край, Россия	водная суспензия
10	BZR GV 10	ООО «Красный сад», Ростовская область, Россия	водная суспензия
11	BZR GV 11	ФГБНУ ФНЦБЗР, Краснодарский край, Россия	водная суспензия
12	BZR GV 12	ФГБНУ ФНЦБЗР, Краснодарский край, Россия	водная суспензия
13	BZR GV 13	ФГБНУ ФНЦБЗР, Краснодарский край, Россия	водная суспензия
14	BZR GV 14	учебное хозяйство «Кубань», Краснодарский край, Россия	водная суспензия
15	BZR GV L-1	Краснодарский край, Россия	СП
16	BZR GV L-2	Краснодарский край, Россия	СП
17	BZR GV L-3	Краснодарский край, Россия	СП
18	BZR GV L-4	Краснодарский край, Россия	СП
19	BZR GV L-5	Краснодарский край, Россия	СП
20	BZR GV L-6	Краснодарский край, Россия	СП
21	BZR GV L-7	Краснодарский край, Россия	СП
22	BZR GV L-8	Краснодарский край, Россия	СП

Кроме того, в ходе поиска и отбора изолятов грануловирусов из природных источников установлено их присутствие как в обрабатываемых пестицидами яблоневых садах, так и в ценозах, где вообще не проводили защитные мероприятия. Однако при оценке частоты встречаемости СрGV установлено, что подавляющее большинство штаммов (81,8%) было выделено из

насекомых, собранных в ценозах яблони, которые минимально были подвержены пестицидной нагрузке.

Наработка вирусной биомассы. В процессе наработки биомассы штаммов СрGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР с использованием гусениц природной популяции *C. pomonella* и лабораторной популяции *G. mellonella* было подтверждено, что все исследуемые образцы грануловирuсов являются патогенными как в отношении целевого вида насекомого, так и в отношении насекомого тест-объекта.

При сравнении признаков вироза на двух объектах было обнаружено, что симптоматика имеет схожие черты. Внешние симптомы на третьи и пятые сутки выражались в изменении цвета кутикулы насекомых и появлении некротических пятен. К 10 и 15 суткам у инфицированных вирусом особей отмечали истончение кутикулы, гомогенацию внутренних тканей и органов (Рисунок 5).



Рисунок 5 – *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

Внутренние патологические изменения выражались в наличии гранул у насекомых, инфицированных штаммами СрGV, которые были обнаружены в процессе микроскопии гемолимфы *C. pomonella* и жирового тела лабораторной популяции *G. mellonella* (Рисунок 6).

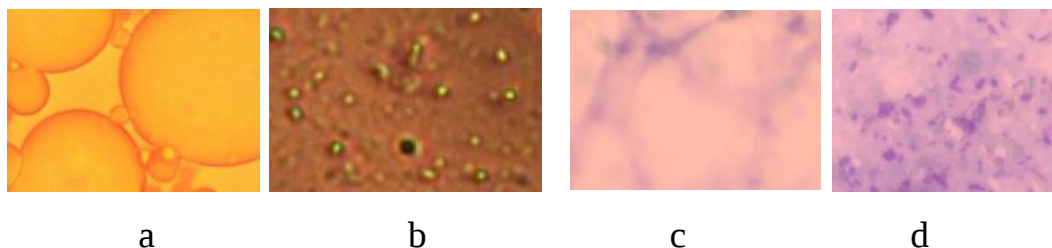


Рисунок 6 – Микроскопия гусениц (ориг.): а) гемолимфа здоровой *C. pomonella*; б) гемолимфа *C. pomonella*, инфицированной штаммом BZR GV 14; в) жировая ткань здоровой *G. mellonella*; г) жировая ткань *G. mellonella*, инфицированной штаммом BZR GV 14 (световая микроскопия, увеличение x400)

Установлено, что включения, обнаруженные в гемолимфе *C. pomonella*, имели правильную сферическую форму и диаметр 0,83-0,97 мкм. Следует отметить, что размер гранул исследуемых штаммов, наработанных на целевом насекомом, соответствует указанному диаметру гранул вирусов в данных ряда литературных источников (Falcon, Hess, 1985; Касьяненко и др., 1992; Штерншис др., 2021; ICTV..., 2024). Гранулы, обнаруженные в жировой ткани гусениц лабораторной популяции *G. mellonella*, имели неправильную форму в отличие от округлых гранул, образованных в организме целевого насекомого, и были распределены неравномерно. Их размер варьировал от 0,56 мкм до 1,10 мкм. Данный показатель превышает типичный диаметр гранул вируса гранулёза, однако это можно объяснить наработкой штаммов не на целевом насекомом (*C. pomonella*), а на лабораторной популяции *G. mellonella* (Shapiro, 2000; Chambers, 2014; Goto et al., 2015; Yu et al., 2016; Shaw Stewart, 2016; Цыгичко и др., 2019; Lalita, Sunita, 2018; Price et al., 2019; Wennmann et al., 2019; Bondarchuk et al., 2021; Black et al., 2022). Существенной разницы размера и формы гранул в зависимости от штамма, полученных с использованием двух видов насекомых, обнаружено не было.

Установлено, что титр водных вирусных суспензий 22 штаммов CrGV, наработанных с использованием гусениц *C. pomonella*, составил от $8,0 \times 10^6$ до $1,3 \times 10^8$ гранул/мл, а титр водных вирусных суспензий, полученных с использованием

гусениц лабораторной популяции *G. mellonella*, – от $1,7 \times 10^7$ до $4,2 \times 10^7$ гранул/мл (Таблица 1 (Приложение В)).

В вариантах суспензий, наработанных с использованием *C. pomonella*, обнаружена закономерность весомых различий в показателях титра в зависимости от штамма, что свидетельствует о межштаммовых различиях (Рисунок 7). Аналогичный показатель в вариантах суспензий, наработанных на лабораторной популяции *G. mellonella*, был не столь ярко выражен, титр колебался в пределах одного порядка (Рисунок 8).

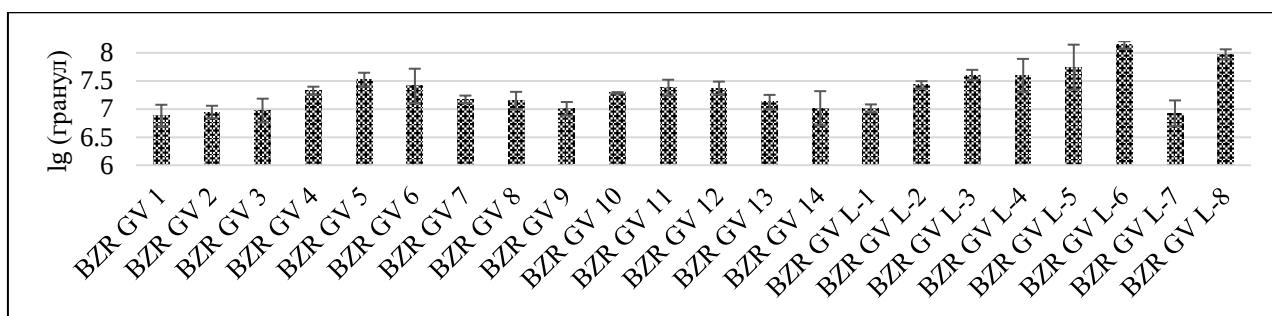


Рисунок 7 – Титр водных вирусных суспензий, наработанных на *C. pomonella*

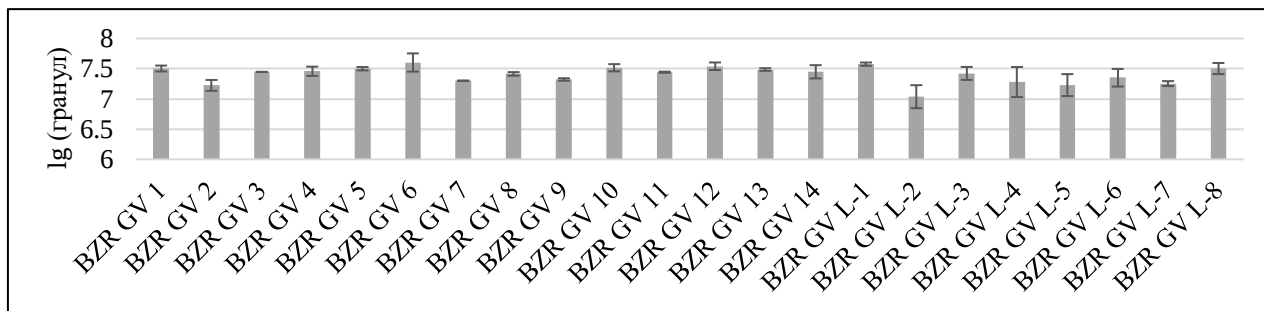


Рисунок 8 – Титр водных вирусных суспензий, наработанных на *G. mellonella*

При оценке коэффициента корреляции между титрами, полученными с использованием двух объектов, взаимосвязи не обнаружено. Полученные результаты указывают на высокую видоспецифичность исследуемых штаммов. При комплексной оценке полученных данных установили, что для дальнейших исследований необходимо использовать вирусные суспензии, наработанные на

гусеницах *C. pomonella*. Таким образом, модифицирован метод наработки биомассы энтомопатогенных вирусов для 22 штаммов CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР с использованием популяции *C. pomonella* и лабораторной популяции *G. mellonella*.

3.2 Идентификация и биоинформатический анализ штаммов энтомопатогенных вирусов

3.2.1. Полногеномное секвенирование штаммов энтомопатогенных вирусов

Подготовка биоматериала штаммов энтомопатогенных вирусов к молекулярно-генетическому анализу. Для проведения процедуры молекулярно-генетической идентификации было получено 22 суспензии штаммов CrGV на основе гусениц природной популяции *C. pomonella*. На стадии дополнительной очистки с использованием шприцевых фильтров Minisart NML Sartorius SFCa на примере некоторых штаммов установлено значительное снижение уровня титра водной вирусной суспензии (Таблица 4).

Таблица 4 – Титр водной вирусной суспензии штаммов CrGV после фильтрации, 2023 год

№	Штамм/шифр	Без фильтрации	Фильтр, диаметр пор, мкм	
			0,45	0,20
1	BZR GV 10	$(1,93 \pm 0,06) \times 10^7$	$(9,67 \pm 0,58) \times 10^5$	$(3,26 \pm 0,32) \times 10^5$
2	BZR GV 11	$(1,34 \pm 0,01) \times 10^8$	$(2,53 \pm 0,37) \times 10^6$	$(1,30 \pm 1,04) \times 10^5$
3	BZR GV 14	$(1,20 \pm 0,17) \times 10^7$	$(6,00 \pm 3,61) \times 10^5$	$(5,33 \pm 4,04) \times 10^4$
4	BZR GV L-1	$(7,58 \pm 2,82) \times 10^8$	$(3,88 \pm 2,33) \times 10^7$	$(9,67 \pm 5,51) \times 10^4$
5	BZR GV L-3	$(1,77 \pm 0,49) \times 10^7$	$(2,30 \pm 1,12) \times 10^6$	$(2,10 \pm 0,10) \times 10^5$

Установлено снижение титра при фильтрации водных вирусных суспензий через поры размером 0,45 мкм на один-два порядка, а при фильтрации через поры размером 0,2 мкм – на два-четыре порядка. Важно отметить, что для успешной процедуры молекулярно-генетической идентификации в пробе должно быть как можно больше вирусной биомассы (гранул/мл). Так как при применении шприцевых фильтров установлено снижение титра суспензий на один-четыре порядка, было

принято решение использовать для дальнейшей процедуры секвенирования водные вирусные суспензии без применения дополнительного этапа очистки. Кроме того, отличительной особенностью пробоподготовки СрGV в данной работе является использование гусениц природной популяции *C. pomonella* 2-5 возраста в качестве биореактора (что позволяет сохранить вирулентность штаммов), в то время как в прочих исследованиях используют лабораторную популяцию *C. pomonella* (Jehle et al., 2008; Fan et al., 2019). Таким образом, модифицирован метод пробоподготовки биоматериала энтомопатогенных бакуловирусов для осуществления процедуры молекулярно-генетической идентификации на примере пяти штаммов СрGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР с использованием гусениц природной популяции *C. pomonella*.

Выделение и очистка ДНК штаммов энтомопатогенных вирусов. В ходе работ выделена ДНК 22 штаммов СрGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР и ДНК штамма-продуцента коммерческого препарата Мадекс Твин, СК в объёме 50 мкл на образец. Концентрации ДНК в нг/мкл приведены в Таблице 5.

Таблица 5 – Концентрация выделенной ДНК штаммов СрGV, 2023 год

№	Штамм/шифр	Препаративная форма	Титр, гранул/мл	Концентрация днк, нг/мкл
1	BZR GV 1	Водная суспензия	$(2,02 \pm 0,17) \times 10^8$	46,1
2	BZR GV 2	Водная суспензия	$(1,37 \pm 0,09) \times 10^8$	4,35
3	BZR GV 3	Водная суспензия	$(5,85 \pm 0,74) \times 10^8$	64,9
4	BZR GV 4	Водная суспензия	$(1,24 \pm 0,22) \times 10^8$	87,5
5	BZR GV 5	Водная суспензия	$(1,35 \pm 0,24) \times 10^8$	51,2
6	BZR GV 6	Водная суспензия	$(5,07 \pm 0,40) \times 10^7$	134,0
7	BZR GV 7	Водная суспензия	$(6,07 \pm 1,33) \times 10^7$	53,6
8	BZR GV 8	Водная суспензия	$(1,09 \pm 0,10) \times 10^8$	125,4
9	BZR GV 9	Водная суспензия	$(7,07 \pm 1,50) \times 10^7$	103,2
10	BZR GV 10	Водная суспензия	$(1,28 \pm 0,13) \times 10^8$	66,7
11	BZR GV 11	Водная суспензия	$(1,03 \pm 0,15) \times 10^9$	57,0
12	BZR GV 12	Водная суспензия	$(3,03 \pm 0,58) \times 10^7$	36,0
13	BZR GV 13	Водная суспензия	$(9,07 \pm 1,90) \times 10^7$	99,8
14	BZR GV 14	Водная суспензия	$(1,08 \pm 0,11) \times 10^8$	65,0
15	BZR GV L-1	Водная суспензия	$(7,00 \pm 1,73) \times 10^7$	139,0
16	BZR GV L-2	Водная суспензия	$(3,30 \pm 0,36) \times 10^8$	52,6
17	BZR GV L-3	Водная суспензия	$(5,03 \pm 1,06) \times 10^7$	41,0
18	BZR GV L-4	Водная суспензия	$(5,03 \pm 2,64) \times 10^7$	24,7
19	BZR GV L-5	Водная суспензия	$(6,03 \pm 3,52) \times 10^7$	74,8
20	BZR GV L-6	Водная суспензия	$(1,19 \pm 0,16) \times 10^8$	102,6
21	BZR GV L-7	Водная суспензия	$(5,20 \pm 0,90) \times 10^8$	53,8
22	BZR GV L-8	Водная суспензия	$(9,07 \pm 1,06) \times 10^7$	51,5
23	Мадекс Твин, СК	Водная суспензия	$(3,00 \pm 0) \times 10^9$	89,6

Таким образом, выделен генетический материал 22 штаммов CrGV, а также генетический материал штамма-продуцента коммерческого препарата Мадекс Твин, СК для последующей подготовки геномных библиотек.

Подготовка и анализ качества библиотек штаммов энтомопатогенных вирусов. В процессе подготовки библиотек выделение фракции ДНК более 150 пн позволило отсеять примеси высокодеградированной ДНК хозяина и деградировавшую вирусную ДНК. Установлено, что доля фракции 150-400 пн составила 4,5-10,0% от тотальной ДНК при ожидаемой 50-80 %, что показывает либо высокий уровень деградации вируса при длительном хранении в виде водной вирусной суспензии, либо заметное загрязнение материала деградированной ДНК хозяина, налипающей на поверхность вирусных частиц. 70 нг фрагментированной ультразвуком ДНК использовано для создания геномных библиотек вирусов. Концентрации исходной ДНК, готовых библиотек, их молярность и идентификаторы индивидуальных баркодов приведены в Таблице 1 (Приложение Г). Таким образом, подготовлены 23 геномные библиотеки высокого качества для их последующего секвенирования.

Проведение массового параллельного секвенирования синтезированных библиотек. Полученные библиотеки 22 геномов вирусов CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР и геном штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК были секвенированы парноконцевыми чтениями 2x150 пн. Реальные объёмы полученных данных после фильтрации выражали в количестве ридов, небольших фрагментах ДНК. Это позволило выполнить сборку геномов данных штаммов с очень высоким покрытием – более 500х. Таким образом, были секвенированы 22 генома вируса гранулеза *C. pomonella* и геном штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК. Более подробная информация о качестве полученных данных представлена в Таблице 6.

Таблица 6 – Качество секвенированных библиотек штаммов CpGV, 2023 год

№	Штамм/шифр	Количество парных ридов, млн
1	BZR GV 1	22,1
2	BZR GV 2	23,6
3	BZR GV 3	26,6
4	BZR GV 4	24,2
5	BZR GV 5	23,1
6	BZR GV 6	23,3
7	BZR GV 7	24,3
8	BZR GV 8	24,3
9	BZR GV 9	25,9
10	BZR GV 10	25,2
11	BZR GV 11	26,2
12	BZR GV 12	25,2
13	BZR GV 13	24,2
14	BZR GV 14	25,8
15	BZR GV L-1	24,2
16	BZR GV L-2	23,5
17	BZR GV L-3	27,2
18	BZR GV L-4	24,4
19	BZR GV L-5	24,1
20	BZR GV L-6	25,1
21	BZR GV L-7	36,2
22	BZR GV L-8	27,4
23	Мадекс Твин, СК	26,1

Сборка геномов штаммов энтомопатогенных вирусов и проведение их структурного анализа. В процессе фильтрации данных при подсчете статистики по картированным прочтениям на референс установлены следующие характеристики, представленные в Таблице 7. Таким образом, была осуществлена фильтрация данных геномов 22 штаммов CpGV и генома штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК по параметрам средней длины прочтения, количеству картированных и некартированных прочтений и показателю покрытия.

Таблица 7 – Характеристика прочтений анализируемых библиотек после картирования на референсный геном штаммов CrGV, 2023 год

№	Штамм/шифр	Средняя длина прочтения, пн	Количество картированных прочтений, шт.	Количество некартированных прочтений, шт.	Показатель покрытия, х
1	BZR GV 1	147	338707	42003081	402,43
2	BZR GV 2	147	2420222	41662646	2875,54
3	BZR GV 3	147	319438	5045376	379,53
4	BZR GV 4	145	719532	45057522	843,68
5	BZR GV 5	145	449308	43078240	526,59
6	BZR GV 6	146	1454397	42551369	1717,53
7	BZR GV 7	146	216656	45687008	256,66
8	BZR GV 8	142	844743	42961295	969,64
9	BZR GV 9	143	125207	48650601	144,74
10	BZR GV 10	142	603465	45106113	692,84
11	BZR GV 11	148	319737	49958381	382,33
12	BZR GV 12	143	1330050	47944286	1537,82
13	BZR GV 13	145	457599	45200381	536,31
14	BZR GV 14	148	172667	48992801	206,55
15	BZR GV L-1	149	508406	45126984	612,4
16	BZR GV L-2	147	371224	43751520	441, 01
17	BZR GV L-3	148	579322	51252770	693,08
18	BZR GV L-4	138	657257	33972431	733,25
19	BZR GV L-5	144	423749	45288401	493,26
20	BZR GV L-6	141	298059	46795285	339,72
21	BZR GV L-7	136	485947	66853493	534,34
22	BZR GV L-8	147	195954	52665374	232,88
23	Мадекс Твин, СК	145	308415	49413757	361, 31

В ходе оценки качества сборок геномов после каждого шага рассматривали такие параметры как число контигов, наибольший контиг, число не определенных нуклеотидов в сборке, общая длина сборки, N50, L50, CG состав. Контиги – группы перекрывающихся фрагментов ДНК, которые в процессе секвенирования упорядочиваются относительно друг друга (группы ридов). N50 – метрика, которую определяли в ходе сортировки контигов от наиболее длинного к наиболее короткому, и их длины суммировали до тех пор, пока сумма не превышала 50,0% общей длины сборки. Длина последнего контига на границе 50% и соответствовала N50. L50 – метрика, отражающая минимальное количество контигов из сборки, которые в сумме покрывали 50,0% генома. CG состав – гуанин-цитозинный состав, выраженный в процентах. Сводная информация представлена в Таблицах 2-24 (Приложение Г). Кроме

того, в каждой таблице представлены характеристики референсного генома для сравнения.

Выявлено, что в большинстве образцов геномов штаммов CrGV и генома штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК присутствовало по два пика GC состава. Такой эффект, может быть, вызван тем, что в образцах присутствовала ДНК насекомого-хозяина. Таким образом, реальный GC состав прочтений стал соответствовать теоретическому. Тем самым подтвердилось предположение о присутствии в сырых данных невирусной ДНК.

В ходе аннотации геномов штаммов CrGV указывали количество кодирующих последовательностей (CDs) в геноме (Таблица 8).

Таблица 8 – Характеристика аннотаций геномов штаммов CrGV, 2023 год

№	Штамм/шифр	Общая длина сборки (пн)	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	референсный геном – NC_002816.1	123500	143	-

Установлено, что разброс по кодирующим последовательностям относительно референса не более 15 штук в обе стороны. Таким образом, сборки

исследуемых геномов схожи по длине с референсным геномом, что подтверждает их принадлежность к группе CrGV (Цыгичко, Асатурова, 2024).

**3.2.2 Анализ генетических последовательностей штаммов
энтомопатогенных вирусов**

Сравнительно-геномный анализ штаммов энтомопатогенных вирусов. В ходе ANI-анализа исследуемых 22 штаммов CrGV к 13 геномам из базы данных NCBI, к геному штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК и референсному геному были заданы значения интервалов, выбранные исходя из полученных значений ANI, и следующие цветовые шкалы:

- от белого к синему – 99,0-99,4%;
- от синего к зелёному – 99,4-99,8%;
- от зелёного к жёлтому – 99,8-99,90%;
- жёлтого к оранжевому – 99,90-99.9999 % (Рисунок 9).

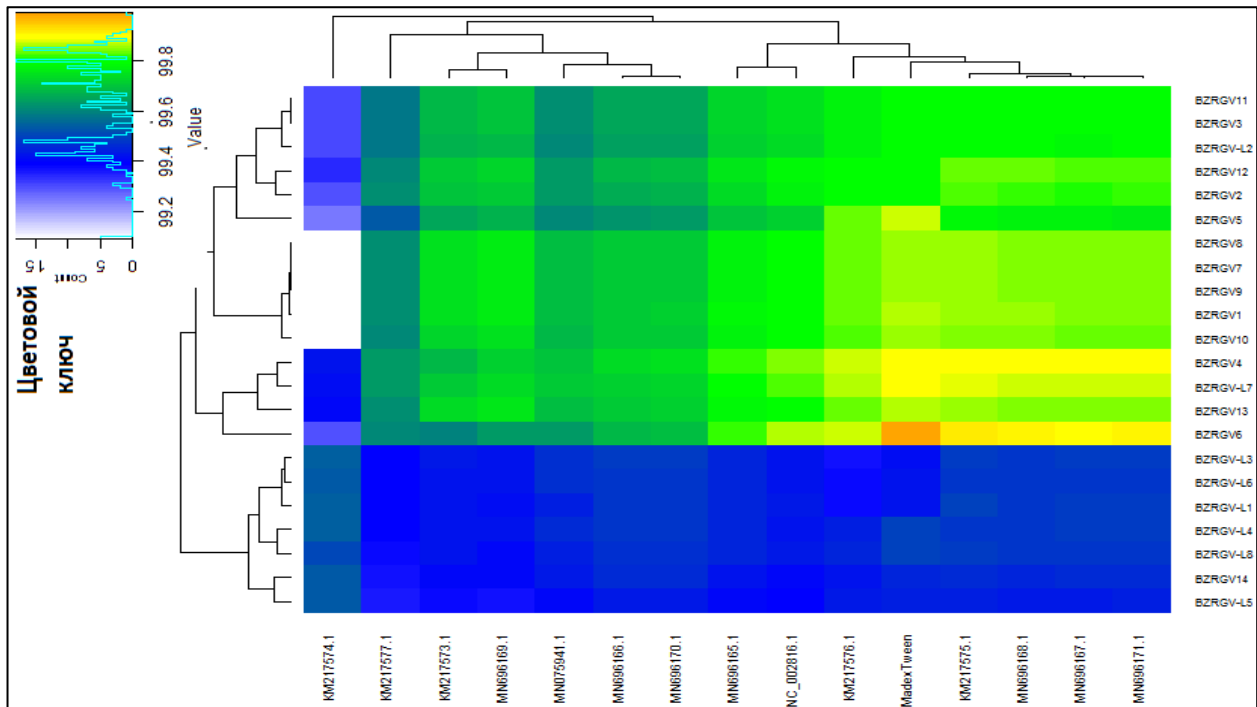


Рисунок 9 – Тепловая карта генетического сходства между геномами штаммов CrGV

Обнаружено наибольшее сродство у штаммов BZR GV 4, BZR GV 6, BZR GV L-7 к пяти геномам из NCBI и геному штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК. Выявлена ANI к изоляту MN696168.1 (isolate CpGV-KS2 китайский) на уровне 99,8904% (BZR GV 4), 99,9102% (BZR GV 6), 99,8778% (BZR GV L-7). К изоляту MN696167.1 (isolate CpGV-KS1 китайский) на уровне 99,8877% (BZR GV 4), 99,9038% (BZR GV 6), 99,8707% (BZR GV L-7). К изоляту KM217575.1 (isolate CpGV-M мексиканский) на уровне 99,8994% (BZR GV 4), 99,9201% (BZR GV 6), 99,8862% (BZR GV L-7). К изоляту MN696171.1 (isolate CpGV-ZY китайский) на уровне 99,8901% (BZR GV 4), 99,9093% (BZR GV 6), 99,8774% (BZR GV L-7). KM217576.1 (isolate CpGV-I12 иранский) на уровне 99,8752% (BZR GV 4), 99,8713% (BZR GV 6), 99,8629% (BZR GV L-7). К штамму-продуценту инсектицида Мадекс Твин, СК на уровне 99,9876% (BZR GV 4), 99,9041% (BZR GV 6), 99,892% (BZR GV L-7). Максимальное значение ANI относительно референсного генома также установлено у штаммов BZR GV 4 (99,477%), BZR GV 6 (99,8682%), BZR GV L-7 (99,8311%).

Таким образом, получены значения $ANI > 99,0\%$ для 22 геномов штаммов CpGV по отношению к геному штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК, к 13 геномам из базы NCBI и к референсному геному.

Выравнивание полногеномных последовательностей и анализ генного репертуара геномов штаммов энтомопатогенных вирусов. В процессе выравнивания полногеномных последовательностей установлено, что текущей аннотации достаточно для просмотра наличия/отсутствия каких-либо глобальных перестроек в геноме. В ходе визуальной оценки результатов выравнивания полногеномных последовательностей 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 инсектицида Мадекс твин, СК. А наиболее похож по строению на референсный геном NC_002816.1 (NCBI) штамм BZR GV L-6. Генетические

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 имеют индивидуальное строение (Рисунок 10).

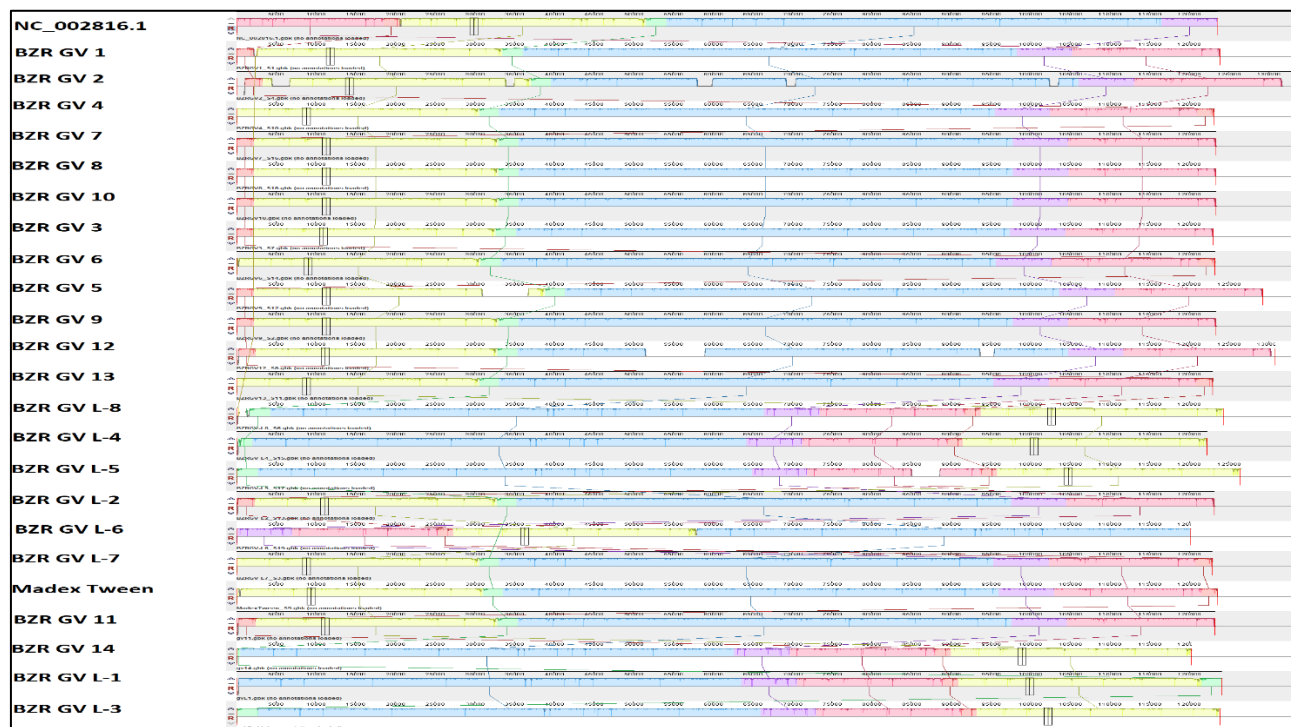


Рисунок 10 – Выравнивание полногеномных последовательностей штаммов CrpGV. Цветом обозначены гомологичные участки в геномах

У некоторых геномов обнаружены делеции относительно референса. Например, геном штамма BZR GV L-5 имеет делецию в районе 85000-88600 пн, а геном штамма BZR GV 5 – в районе 30866-36684 пн. Штамм BZR GV 12 имеет две делеции: в районе 530000-59000 пн и в районе 95000 пн. Штамм BZR GV L-2 имеет небольшие рядом расположенные делеции: в районе 88660-88890 пн и 89425-89925 пн. Штамм BZR GV 2 имеет пять делеций на протяжении всего генома. Предположительно, это объясняется тем, что геномы исследуемых штаммов состоят из нескольких контигов. Так, в геноме BZR GV L-8 наблюдается небольшая вставка в районе 108-392 пн и сразу же делеция около 500 пн, а в геноме BZR GV 1 имеется вставка в районе 2418-2644 пн (Lakhova et al., 2024). Таким образом, в целом исследуемые геномы похожи между собой, а также имеют сходное строение с референсным геномом и геномом штамма-

продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК. Установлено наличие делеций в ряде геномов исследуемых штаммов вируса гранулёза *C. pomonella* относительно референсного генома. Обнаружены небольшие вставки в двух геномах: BZR GV L-8 и BZR GV 1.

На Рисунке 11 представлен результат сравнения генного репертуара 22 исследуемых штаммов CrGV, штамма-продуцента Мадекс Твин, СК, а также технического (a_ref) и биологического (CrGV-M) референсов. Названия генов, наличие которых варьировало между штаммами, и их продуктов представлены в Таблице 25 (Приложение Г).

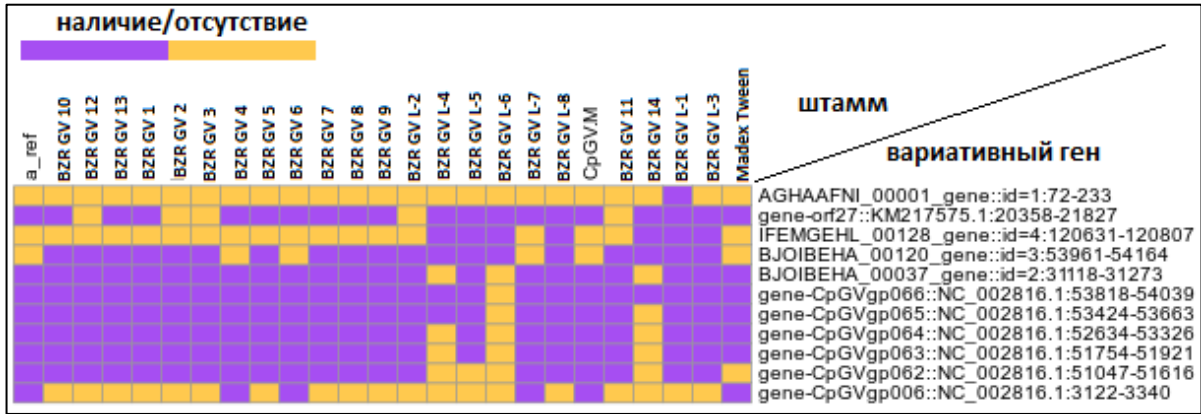


Рисунок 11 – Карта представленности генного репертуара штаммов CrGV относительно технического (a_ref) и биологического (CrGV-M) референсов

Анализ генного репертуара позволил выявить 11 генов, присутствующих лишь у части геномов исследуемых штаммов. Среди них есть два гена, отсутствующие у большинства проанализированных штаммов – это orf6 и IFEMGEHL_00128. При этом три штамма – BZR GV L-7, BZR GV 6 и BZR GV 4 – оказались наиболее близки по своему генному репертуару к штамму-продуценту препарата Мадекс Твин, СК, который отличается от них отсутствием гена orf62. Таким образом, полученные результаты согласуются с результатами сравнительно-геномного исследования на основе ANI-анализа (Lakhova et al., 2024).

Филограммы штаммов CpGV. Полученные генетические последовательности 22 геномов штаммов CpGV, генома штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК, а также референсные геномы CrleGV и CpGV-M были проанализированы на наличие/отсутствие генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом: Inhibitors of apoptosis (IAP), Cathepsin, matrix metalloproteinases (MMP) и Chitinase, которые принимают непосредственное участие в инфекционном процессе вироза. IAP – ингибитор апоптоза, участвующего в реализации естественной клеточной гибели, Cathepsin (катепсин) – фермент, участвующий в гомогенации внутренних тканей насекомого, MMP – матриксная металлопротеаза семейства цинк-зависимых эндопептидаз, разрушающих белки внеклеточного матрикса, Chitinase (хитиназа) – фермент, вызывающий разрушение хитинового покрова насекомого (Kang et al., 1998; Цыган, 2004; Ishimwe et al., 2015). Стоит указать, что для последовательности, кодирующей белок Chitinase в геноме CrleGV, ген помечали как «псевдо», поэтому для него построение дерева происходило без аутгруппы. На Рисунках 12-15 представлены филограммы, построенные на основе генов, кодирующих белки IAP, Cathepsin, MMP и Chitinase, при этом значения на ветвях означают их длину.

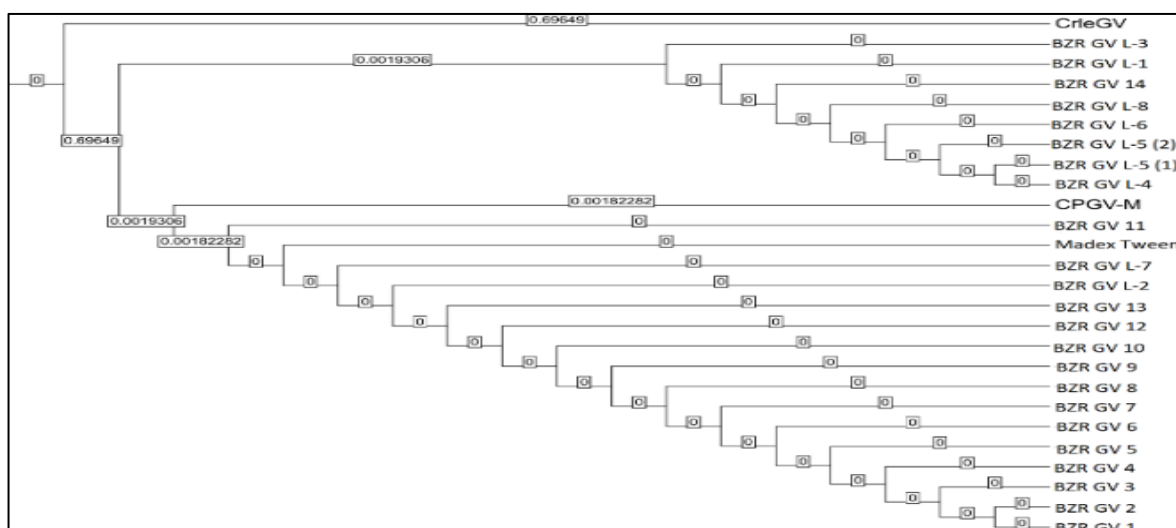


Рисунок 12 – Филограмма штаммов CpGV и штамма-продуцента Мадекс Твин, СК, построенная по гену, кодирующему белок IAP

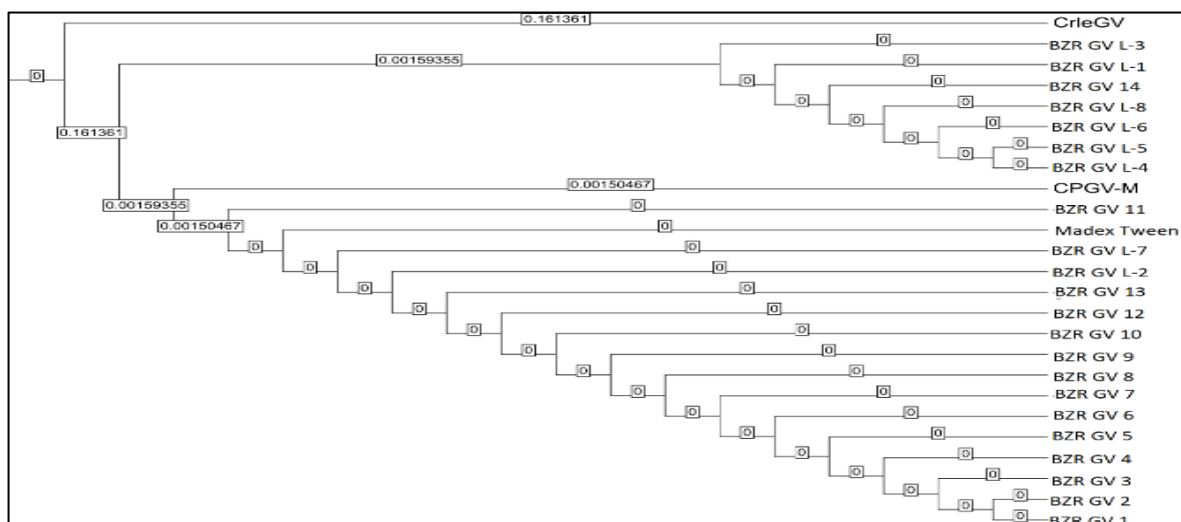


Рисунок 13 – Филограмма штаммов CrGV и штамма-продуцента Мадекс Твин, СК, построенная по гену, кодирующему белок Cathepsin

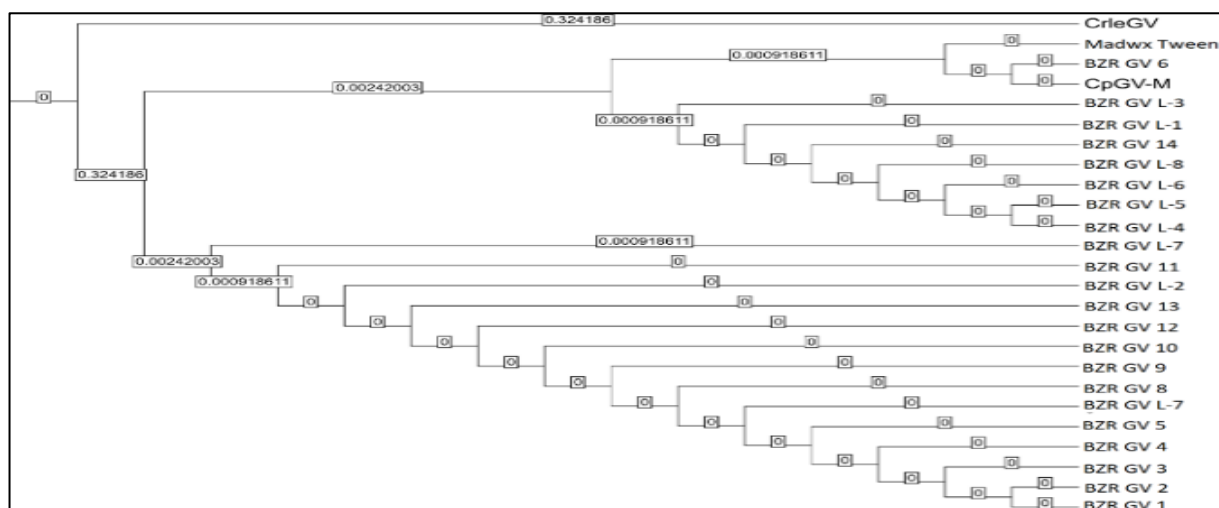


Рисунок 14 – Филограмма штаммов CrGV и штамма-продуцента Мадекс Твин, СК, построенная по гену, кодирующему белок MMP

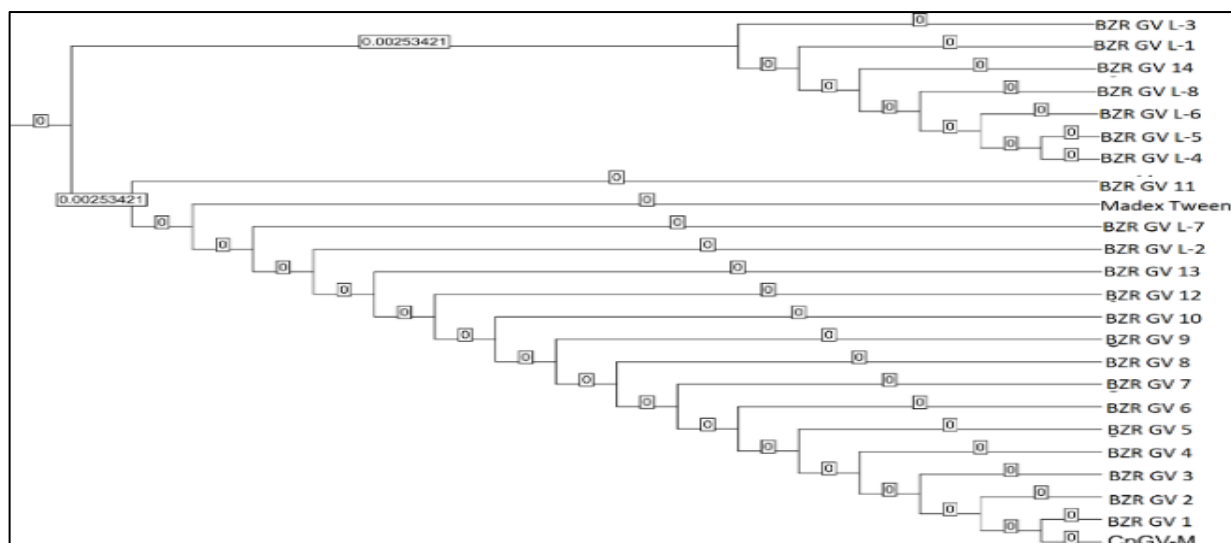


Рисунок 15 – Филограмма штаммов CrGV и штамма-продуцента Мадекс Твин, СК, построенная по гену, кодирующему белок Chitinase

Установлено наличие в геноме штамма BZR GV L-5 двух копий гена IAP, аминокислотные последовательности которых полностью идентичны друг другу. В остальных исследуемых геномах штаммов CpGV, штамма-продуцента Мадекс Твин, СК, CrleGV и CpGV-M обнаружены по одной копии этого гена. В остальных вариантах гены во всех геномах имелись только по одной копии. Нулевые расстояния на ветвях древ одной клады означали, что расстояние между последовательностями генов нулевое, т.е. последовательности идентичны. В таких случаях синонимичные и несинонимичные замены в генах у разных штаммов оказались в одних и тех же позициях и были одинаковыми.

Установлено, что по генам, кодирующим белки IAP и Cathepsin, штаммы 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-2, BZR GV L-7 и штамм-продуцент Мадекс Твин, СК идентичны между собой и находятся в одной кладе (группе) филограммы. Последовательности генов в штаммах 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 идентичны между собой и расположены в другой кладе филограммы. Последовательности генов в референсных геномах (CrleGV и CpGV-M) индивидуальны и расположены на двух отдельных клдах.

Обнаружено, что по гену, кодирующему белок MMP, штаммы BZR GV 1, BZR GV 2, BZR GV 3, BZR GV 4, BZR GV 5, BZR GV 7, BZR GV 8, BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV 12, BZR GV 13, BZR GV L-2 идентичны между собой и находятся в одной кладе на филограмме. Последовательности гена в штаммах BZR GV 14, BZR GV L-1, BZR GV L-3, GV L-4, BZR GV L-5, BZR GV L-6 и BZR GV L-8 идентичны между собой и расположены во второй кладе филограммы. Последовательности гена в штаммах BZR GV 6, референса CpGV-M и штамма-продуцента Мадекс Твин, СК идентичны между собой и расположены в третьей кладе филограммы. Последовательности гена, кодирующие белок, в штамме BZR GV L-7 и референса CrleGV имеют индивидуальное строение и расположены на четвертой и пятой кладе соответственно.

Выявлено, что по гену, кодирующему белок Chitinase, штаммы 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-2, BZR GV L-7, штамм-продуцент инсектицида Мадекс Твин, СК и референс CpGV-M идентичны между собой и находятся в одной кладе филограммы. Последовательности гена в штамме 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 идентичны между собой и расположены в другой кладе филограммы.

Анализ полученных данных позволил установить наличие генов IAP, Cathepsin, MMP и Chitinase во всех исследуемых геномах 22 штаммов CpGV и штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК. 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, BZR GV L-8 отмечена принадлежность к отдельной кладе в каждой из четырёх филограмм. Таким образом, на основе данных биоинформатического анализа можно предположить не только инсектицидный потенциал 22 штаммов CpGV в отношении популяций *C. pomonella*, но и их экологическую пластичность при изменяющихся условиях среды благодаря наличию различной комбинации вариабельных генов, а также присутствием четырёх генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом, в их геноме. Кроме того, генетическое сходство 22 штаммов CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР со штаммом-продуцентом препарата Мадекс Твин, СК, а также с 13 геномами коммерческих изолятов вируса гранулёза позволяет сделать предположение об их высокой инсектицидной активности в отношении яблонной плодовой жорки (Цыгичко, Гырнец, 2024; Цыгичко, 2024).

Депонирование геномов штаммов энтомопатогенных вирусов в NCBI. В ходе работ генетическая информация о 22 штаммах CpGV депонирована в международную базу NCBI с присвоением индивидуальных номеров. Поскольку были получены несколько последовательностей сборок геномов, то к каждому штамму присвоили до 28 номеров: OR651288-OR651296 и OR743626-OR743703. Более подробная информация представлена в Таблице 26 (Приложение Г).

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

Сравнительная оценка энтомопатогенной активности штаммов CrGV в отношении гусениц *C. pomonella* и лабораторной популяции *G. mellonella*. Оценку активности 22 штаммов CrGV проводили по критерию БЭ. Титр водных вирусных суспензий на основе штаммов CrGV составил от $8,0 \times 10^6$ до $1,3 \times 10^8$ гранул/мл, титр рабочего раствора коммерческого биоинсектицида составил $3,0 \times 10^6$ гранул/мл (Таблица 9). Установлено, что БЭ в отношении *C. pomonella* на пятые сутки у штаммов варьировала от 0 до 64,2%, при этом эффективность биологического коммерческого инсектицида составила 53,3%, что свидетельствует о его высокой инсектицидной активности в первые сутки после применения. Стоит выделить штамм BZR GV L-8, БЭ которого составила 64,2%.

Выявлено, что БЭ в отношении *C. pomonella* на 15 сутки у исследуемых штаммов варьировала от 20,1 до 100%. Эффективность коммерческого инсектицида составила 89,5%, что соответствует заявленному производителем уровню. Необходимо отметить штаммы BZR GV 1, BZR GV 3, BZR GV 7, BZR GV 10, BZR GV L-3 и BZR GV L-8, БЭ которых составила 100%, что существенно выше эффективности препарата Мадекс Твин, СК, а также штамм BZR GV 6, инсектицидная активность которого составила 93,0%. Эффективность в вариантах со штаммами BZR GV 4, BZR GV 8, BZR GV 11 и BZR GV 13 была на уровне коммерческого инсектицида – 89,5%.

Отмечено, что при одинаковом уровне БЭ в вариантах с отдельными штаммами гибель насекомых *C. pomonella* отмечалась на протяжении всего периода исследования, а в некоторых – только к концу опыта. Так, например, в варианте BZR GV 5 гибель насекомых отмечалась на протяжении 15 суток, а в варианте BZR GV 13 – с седьмых суток эксперимента. Полученные данные указывают на межштаммовые отличия, которые необходимо учитывать при дальнейшей работе с CrGV (Цыгичко, Томашевич, 2023; Цыгичко, Асатурова, 2024).

Таблица 9 – Энтомопатогенная активность штаммов *CpGV* в отношении насекомых в условиях *in vitro*, 2022 год

№	Штамм/ шифр	БЭ, %/шт. *, сутки																							
		<i>C. pomonella</i>														<i>G. mellonella</i>									
		1	2	3	5	7	10	15	1	2	3	5	7	10	15	1	3	5	7	10	1	3	5	7	10
1	BZR GV 1	25,1	32,8	31,9	36,8	73,0	100	100	3,5 ^{ab}	3,0 ^b	2,8 ^{abcd}	2,5 ^{bcde}	1,0 ^{ab}	0,0 ^a	0,0 ^a	0	0	0	0	0	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^c	5,0 ^c	5,0 ^b
2	BZR GV 2	6,4	7,9	5,7	6,5	46,1	77,4	79,1	4,4 ^{cde}	4,1 ^{defg}	4,0 ^{efgh}	3,7 ^{fghi}	2,0 ^{bcdef}	0,7 ^{abcd}	0,6 ^{abcd}	0	0	0	0	0	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^c	5,0 ^c	5,0 ^b
3	BZR GV 3	0	12,9	10,9	17,5	55,0	87,1	100	5,0 ^e	3,8 ^{bcdef}	3,7 ^{defgh}	3,3 ^{cdefgh}	1,6 ^{abcde}	0,4 ^{abc}	0,0 ^{ab}	0	0	0	8,8	17,7	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^c	4,5 ^{bc}	4,1 ^a
4	BZR GV 4	0	7,9	5,7	9,3	46,1	83,8	89,5	5,0 ^e	4,1 ^{defg}	4,0 ^{fgh}	3,6 ^{efghi}	2,0 ^{bcdef}	0,5 ^{abc}	0,3 ^{abcd}	0	0	13,3	13,3	15,5	5,0 ^a	5,0 ^b	4,3 ^{abe}	4,3 ^{abc}	4,2 ^{ab}
5	BZR GV 5	11,1	20,3	18,8	31,3	55,0	64,5	86,1	4,2 ^{cd}	3,5 ^{bcde}	3,4 ^{cdefg}	2,7 ^{bcdef}	1,6 ^{abcde}	1,2 ^{bcd}	0,4 ^{abcd}	0	0	8,8	11,1	17,7	5,0 ^a	5,0 ^b	4,5 ^{abcde}	4,4 ^{abc}	4,1 ^a
6	BZR GV 6	1,7	7,9	5,7	14,8	52,1	70,9	93,0	4,6 ^{de}	4,1 ^{defg}	4,0 ^{efgh}	3,4 ^{defghi}	1,7 ^{bcdef}	1,0 ^{abcd}	0,2 ^{ab}	0	0	0	8,8	8,8	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^c	4,5 ^{bc}	4,5 ^{ab}
7	BZR GV 7	4,0	5,4	8,3	20,3	76,0	83,8	100	4,5 ^{cde}	4,2 ^{defg}	3,8 ^{efgh}	3,2 ^{cdefgh}	0,8 ^{ab}	0,5 ^{abc}	0,0 ^{ab}	0	0	0	0	8,8	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^c	5,0 ^c	4,5 ^{ab}
8	BZR GV 8	4,0	7,9	18,8	31,3	61,0	70,9	89,5	4,5 ^{cde}	4,1 ^{defg}	3,4 ^{bcdef}	2,7 ^{bcdef}	1,4 ^{abc}	1,0 ^{abcd}	0,3 ^{abcd}	0	0	13,3	17,7	17,7	5,0 ^a	5,0 ^b	4,3 ^{abde}	4,1 ^{ab}	4,1 ^a
9	BZR GV 9	0	17,8	26,7	45,0	73,0	77,4	86,1	5,0 ^e	3,6 ^{bcdef}	3,1 ^{bcdef}	2,2 ^{abc}	1,0 ^{ab}	0,7 ^{abcd}	0,4 ^{abcd}	0	0	11,1	11,1	11,1	5,0 ^a	5,0 ^b	4,4 ^{abcde}	4,4 ^{abc}	4,4 ^{ab}
10	BZR GV 10	8,7	12,9	29,3	39,5	61,0	74,1	100	4,3 ^{cd}	3,8 ^{cdef}	3,0 ^{abcde}	2,4 ^{abcd}	1,4 ^{abc}	0,8 ^{abcd}	0,0 ^{ab}	0	0	0	0	17,7	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^c	5,0 ^c	4,1 ^a
11	BZR GV 11	0	5,4	5,7	3,8	40,1	80,6	89,5	5,0 ^e	4,2 ^{defg}	4,0 ^{fgh}	3,8 ^{fghi}	2,2 ^{cdefg}	0,6 ^{abcd}	0,3 ^{abcd}	0	0	0	8,8	11,1	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^{cde}	4,5 ^{bc}	4,4 ^{ab}
12	BZR GV 12	0	0	0	0	13,1	51,6	72,2	5,0 ^e	5,0 ^g	4,6 ^{hi}	4,5 ⁱ	3,2 ^{gh}	1,6 ^d	0,8 ^{bcd}	0	0	0	0	0	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^c	5,0 ^c	5,0 ^b
13	BZR GV 13	0	0	0	0	52,1	70,9	89,5	5,0 ^e	5,0 ^g	5,0 ⁱ	4,5 ⁱ	1,7 ^{bcdef}	1,0 ^{abcd}	0,3 ^{abcd}	0	2,5	11,1	17,7	17,7	5,0 ^a	4,8 ^b	4,4 ^{abcde}	4,1 ^{ab}	4,1 ^a
14	BZR GV 14	1,7	2,9	5,7	9,3	22,1	9,6	20,1	4,6 ^{de}	4,3 ^{defg}	4,0 ^{fgh}	3,6 ^{efghi}	2,8 ^{fgh}	3,1 ^e	2,5 ^e	0	0	11,1	13,3	20,0	5,0 ^a	5,0 ^b	4,4 ^{abcde}	4,3 ^{abc}	4,0 ^a
15	BZR GV L-1	0	0	0	0	25,1	25,8	65,2	5,0 ^e	5,0 ^g	4,5 ^{hi}	4,1 ^{hi}	2,7 ^{efgh}	2,5 ^e	1,1 ^c	0	0	15,5	24,4	24,4	5,0 ^a	5,0 ^b	4,2 ^a	3,7 ^a	3,7 ^a
16	BZR GV L-2	0	0	0,5	12,0	67,0	74,1	79,1	5,0 ^e	4,5 ^{fg}	4,2 ^{ghi}	3,5 ^{defghi}	1,2 ^{abc}	0,8 ^{abcd}	0,6 ^{abcd}	0	0	0	11,1	17,7	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^c	4,4 ^{abc}	4,1 ^a
17	BZR GV L-3	0	0	0,5	14,8	67,0	80,6	100	5,0 ^e	4,5 ^{fg}	4,2 ^{ghi}	3,4 ^{defghi}	1,2 ^{abc}	0,6 ^{abcd}	0,0 ^{ab}	0	0	0	8,8	11,1	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^c	4,5 ^{bc}	4,4 ^{ab}
18	BZR GV L-4	0	10,4	18,8	28,5	49,1	70,9	75,6	5,0 ^e	4,0 ^{cdef}	3,4 ^{cdefg}	2,8 ^{bcdefg}	1,8 ^{bcdef}	1,0 ^{abcd}	0,7 ^{abcd}	0	0	0	8,8	8,8	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^c	4,5 ^{bc}	4,5 ^{ab}
19	BZR GV L-5	1,7	10,4	5,7	28,5	58,0	77,4	82,6	4,6 ^{de}	4,0 ^{cdef}	4,0 ^{fgh}	2,8 ^{bcdefg}	1,5 ^{abcd}	0,7 ^{abcd}	0,5 ^{abcd}	0	0	2,5	6,6	11,1	5,0 ^a	5,0 ^b	4,8 ^{bcde}	4,6 ^{bc}	4,4 ^{ab}
20	BZR GV L-6	6,4	22,8	37,1	50,5	70,0	77,4	82,6	4,4 ^{cde}	3,4 ^{bcd}	2,6 ^{abc}	2,0 ^{ab}	1,1 ^{abc}	0,7 ^{abcd}	0,5 ^{abcd}	0	0	0	0	0	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^{cd}	5,0 ^c	5,0 ^b
21	BZR GV L-7	15,7	15,3	13,6	12,0	28,1	58,0	65,2	4,0 ^{bc}	3,7 ^{bcdef}	3,6 ^{defgh}	3,5 ^{defghi}	2,6 ^{defgh}	1,4 ^{cd}	1,1 ^c	0	11,1	13,3	13,3	22,2	5,0 ^a	4,4 ^a	4,3 ^{ab}	4,3 ^{abc}	3,8 ^a
22	BZR GV L-8	11,1	30,3	42,4	64,2	85,0	90,3	100	4,2 ^{cd}	3,1 ^{bc}	2,4 ^{ab}	1,4 ^a	0,5 ^a	0,3 ^{ab}	0,0 ^{ab}	0	0	0	0	0	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^{bcde}	5,0 ^c	5,0 ^b
23	Мадекс Твин, СК	27,4	50,2	50,2	53,3	64,0	67,7	89,5	3,4 ^a	2,2 ^a	2,1 ^a	1,8 ^{ab}	1,3 ^{abc}	1,1 ^{bcd}	0,3 ^{abcd}	0	0	0	0	0	5,0 ^a	5,0 ^b	5,0 ^{bcde}	5,0 ^c	5,0 ^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.																									

Обнаружено, что БЭ в отношении лабораторной популяции *G. mellonella* на пятые сутки у исследуемых штаммов варьировала от 0 до 15,5%, при этом эффективность штаммов BZR GV 1, BZR GV 2, BZR GV 3, BZR GV 6, BZR GV 7, BZR GV 10, BZR GV 11, BZR GV 12, BZR GV L-2, BZR GV L-3, BZR GV L-4, BZR GV L-6 была нулевой. Стоит выделить штамм BZR GV L-1, БЭ которого составила 15,5%. Выявлено, что БЭ в отношении лабораторной популяции *G. mellonella* на 10 сутки у исследуемых штаммов варьировала от 0 до 24,4%, при этом инсектицидное действие в вариантах со штаммами BZR GV 1, BZR GV 2, BZR GV 12, BZR GV L-6, BZR GV L-8 обнаружено не было. Стоит также выделить штамм BZR GV L-1, БЭ которого составила 24,4%. В варианте с коммерческим биоинсектицидом эффективность в отношении *G. mellonella* на протяжении всего периода наблюдений была равна нулю вследствие того, что препарат Мадекс Твин, СК рекомендован к применению против *C. pomonella* или *Grapholita molesta*, Busck, 1916, а не против *G. mellonella* (Государственный каталог..., 2023).

Отмечено, что БЭ в отношении *C. pomonella* в 2-10 раз превышает таковую в отношении *G. mellonella*. Стоит выделить, что в работах сторонних авторов исследование инсектицидных свойств бакуловирусов насекомых возможно не только на целевом объекте (Wennmann et al., 2019; Black et al., 2022). Однако в данном исследовании *G. mellonella* не показала БЭ, схожей с таковой у гусениц *C. pomonella*, хотя большая восковая моль является распространенным тест-объектом при оценке энтомопатогенной активности микроорганизмов (Цыгичко, Асатулова, 2022). Таким образом, можно сделать вывод о нецелесообразности использования гусениц лабораторной популяции *G. mellonella* для осуществления процедур скрининга штаммов CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР по критерию энтомопатогенной активности.

В ходе исследований проводили сравнение полученных данных по критерию Дункана. В вариантах с использованием гусениц целевого насекомого (*C. pomonella*) отмечено, что штаммы BZR GV 1, BZR GV L-6, BZR GV L-8 и препарат Мадекс Твин, СК имели достоверное отличие от контроля с первых

или/и вторых суток эксперимента. Штаммы BZR GV 8, BZR GV 9 и BZR GV 10 достоверно отличались от контроля с третьих суток эксперимента. Штамм BZR GV 14 не имел достоверных отличий от контроля на протяжении всего эксперимента.

В вариантах с использованием лабораторной популяции *G. mellonella* отмечено, что штаммы BZR GV 8, BZR GV 13 и BZR GV L-1 имели достоверное отличие от контроля с пятых и/или седьмых суток эксперимента. БЭ в вариантах со штаммами BZR GV 3, BZR GV 5, BZR GV 10, BZR GV 14, BZR GV L-2 и BZR GV L-7 достоверно отличались от БЭ в контроле на десятые сутки эксперимента. В остальных вариантах опыта, включая Мадекс Твин, СК, не отмечено достоверных отличий от контроля на протяжении всего эксперимента.

Учитывая вышеизложенное, можно сделать вывод о том, что уровень достоверной разницы полученных данных по отношению к контролю был выше в эксперименте с использованием целевого насекомого *C. pomonella* (достоверные отличия наблюдали в среднем с третьих по 15 сутки в большинстве вариантов опыта), чем при использовании тест-объекта *G. mellonella* (достоверные отличия отмечали в среднем с седьмых по десятые сутки в отдельных вариантах). Это, в первую очередь, связано с высокой специализацией штаммов вируса CpGV (Shapiro, 2000; Chambers, 2014; Goto et al., 2015; Цыгичко и др., 2019; Wennmann et al., 2019; Гырнец (Бондарчук), Цыгичко, 2022; Black et al., 2022; Цыгичко, Томашевич, 2023; Цыгичко, 2023; Томашевич, Цыгичко, 2023; Tsygichko, et al., 2024).

Анализ выживаемости гусениц *C. pomonella*. При анализе выживаемости гусениц *C. pomonella* использовали метод Каплана-Майера, который позволяет определить долю выживших/погибших особей посредством темпа смертности, выраженного через среднее и медианное время гибели (Таблица 10). Среднее время гибели показывает за какой усреднённый промежуток времени погибают все особи в выборке. Медианное время гибели позволяет определить время, необходимое для гибели определенного % насекомых (в данном случае это 50,0%) в выборке (Слинин и др., 2016). Поэтому чем ниже показатель среднего

и медианного времени гибели особей в популяции, тем выше темп смертности насекомых и тем эффективнее действует инсектицидный препарат/штамм. Таким образом, становится возможным оценить штаммы CpGV не только по критерию инсектицидной активности, но и по критерию скорости их действия.

Таблица 10 – Анализ выживаемости гусениц *C. pomonella*, инокулированных штаммами CpGV 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

Установлено, что по критерию среднего времени гибели наиболее активными были штаммы BZR GV 1, BZR GV 7, BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6 и BZR GV L-8, при этом насекомые погибали на 4,6-6,6 сутки. По критерию медианного времени гибели наиболее активными были штаммы BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6 и BZR GV L-8, их диапазон составил от 3,0 до 5,0 суток. При комплексной оценке среднего и медианного времени гибели отобраны штаммы, обладающие высокой скоростью смертности: BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6 и BZR GV L-8, активность которых была на уровне Мадекс Твин, СК.

Следует отметить, что в варианте с использованием коммерческого препарата в первые дни эксперимента погибла половина популяции (медианное времени гибели насекомых – 2,0 суток). В свою очередь, штамм BZR GV L-8 показал лучший результат как по скорости гибели, так и по эффективности (среднее время гибели – 3,6 суток, медианное время гибели – 3,0 суток). Таким образом, выявлены наиболее перспективные штаммы CpGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР по критерию темпов смертности: BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6 и BZR GV L-8.

Эффективность штаммов CpGV в зависимости от титра водной суспензии. Оценку энтомопатогенной активности CpGV в зависимости от титра водной суспензии проводили с использованием четырёх штаммов из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР в двух концентрациях: титр суспензий составил не менее $1,0 \times 10^6$ гранул/мл и не менее $1,0 \times 10^4$ гранул/мл. Были отобраны штаммы с высокими темпами смертности и высокой БЭ на 15 сутки наблюдений в отношении целевого объекта (*C. pomonella*): BZR GV 9 (86,1%), BZR GV 10 (100%), BZR GV L-6 (82,6%), BZR GV L-8 (100%) (Таблица 11). Титр рабочего раствора коммерческого инсектицида составил $3,0 \times 10^6$ гранул/мл.

Установлено, что БЭ штаммов с титром водной вирусной суспензии не менее $1,0 \times 10^4$ гранул/мл на пятые сутки наблюдений составила от 13,5 до 51,3%, на 15 сутки – от 56,6 до 73,3%. Выявлено, что БЭ штаммов с титром водной вирусной суспензии не менее $1,0 \times 10^6$ гранул/мл на пятые сутки наблюдений составила от 35,1 до 43,2%, на 15 сутки – от 80,0 до 100%. БЭ в варианте с использованием коммерческого биоинсектицида составила на пятые сутки 29,7%, на 15 сутки – 80,0%, что соответствует заявленному уровню. Отмечено, что эффективность большинства вариантов на протяжении всего периода наблюдений была на уровне или выше, чем при использовании Мадекс Твин, СК. Стоит выделить штамм BZR GV 10, который в каждом из двух вариантов титра водных вирусных суспензий (не менее $1,0 \times 10^4$ и $1,0 \times 10^6$ гранул/мл), показал максимальную БЭ (11-100%).

Таблица 11 – Энтомопатогенная активность штаммов CpGV в отношении гусениц *C. pomonella* в зависимости от титра суспензии в условиях *in vitro*, 2023 год

№	Штамм/шифр	Титр, гранул/мл	БЭ, %, сутки							Живые насекомые, шт.*, сутки						
			1	2	3	5	7	10	15	1	2	3	5	7	10	15
1	BZR GV 9	$(4,83 \pm 4,05) \times 10^6$	6,6	0	10,2	18,9	25,7	33,3	56,6	4,6 ^{ab}	4,4 ^a	3,8 ^{abc}	3,3 ^{abd}	2,8 ^a	2,4 ^c	1,4 ^a
2	BZR GV 10	$(1,17 \pm 0,65) \times 10^6$	11,1	15,0	28,2	51,3	74,2	72,7	73,3	4,4 ^{abc}	3,7 ^{ab}	3,1 ^{ab}	2,0 ^c	1,0 ^c	1,0 ^a	0,8 ^{ab}
3	BZR GV L-6	$(1,10 \pm 0,36) \times 10^6$	0	12,5	17,9	21,6	22,8	36,3	66,6	5,0 ^a	3,8 ^{ab}	3,5 ^{abc}	3,2 ^{ab}	3,0 ^{ad}	2,3 ^{bc}	1,1 ^{ab}
4	BZR GV L-8	$(2,53 \pm 1,21) \times 10^6$	0	5,0	7,6	13,5	28,5	36,3	60,0	5,0 ^a	4,2 ^{ab}	4,0 ^{bc}	3,5 ^d	2,7 ^{ab}	2,3 ^{bc}	1,3 ^a
5	BZR GV 9	$(4,83 \pm 4,05) \times 10^4$	20,0	20,0	25,6	35,1	40,0	57,5	80,0	4,0 ^{bc}	4,2 ^{ab}	3,2 ^{ab}	2,6 ^{abc}	2,3 ^{ab}	1,5 ^{abc}	0,6 ^{abc}
6	BZR GV 10	$(1,17 \pm 0,65) \times 10^4$	13,3	20,0	28,2	35,1	40,0	63,6	100	4,3 ^{abc}	3,5 ^{ab}	3,1 ^{ab}	2,6 ^{abc}	2,3 ^{ab}	1,3 ^{ab}	0,0 ^c
7	BZR GV L-6	$(1,10 \pm 0,36) \times 10^4$	24,4	25,0	33,3	43,2	54,2	72,7	80,0	3,7 ^c	3,3 ^b	2,8 ^a	2,3 ^{ac}	1,7 ^{bc}	1,0 ^a	0,6 ^{abc}
8	BZR GV L-8	$(2,53 \pm 1,21) \times 10^4$	15,5	15,0	30,7	35,1	37,1	45,4	86,6	4,2 ^{bc}	3,7 ^{ab}	3,0 ^{ab}	2,6 ^{abc}	2,4 ^{ab}	2,0 ^{abc}	0,4 ^{bc}
9	Мадекс Твин, СК	$3,0 \times 10^6$	8,8	10,0	20,5	29,7	31,4	63,6	80,0	4,5 ^{ab}	4,0 ^{ab}	3,4 ^{abc}	2,8 ^{abc}	2,6 ^{ab}	1,3 ^{ab}	0,6 ^{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 95,0% уровне вероятности.																

При сравнении БЭ вариантов с разным порядком титра обнаружено, что наиболее активны суспензии с титром не менее $1,0 \times 10^6$ гранул/мл. Так, разница в эффективности между суспензиями $1,0 \times 10^4$ и $1,0 \times 10^6$ гранул/мл составила на пятые сутки от 0 до 22,6%, на 15 сутки – от 13,4 до 26,6%. Известно, что в ряде исследований авторы делают акцент на прямой зависимости количества вирусных частиц и гибели насекомых. Таким образом, полученные результаты совпали с литературными данными (Rohrmann, 2013; Sun, 2015).

При сравнении полученных данных по критерию Дункана установлено, что варианты с применением водных вирусных суспензий с титром не менее $1,0 \times 10^4$ гранул/мл достоверно отличались от контроля с третьих-седьмых суток наблюдений, а варианты с применением водных вирусных суспензий с титром не менее $1,0 \times 10^6$ гранул/мл – с первых-третьих суток наблюдений. Стоит выделить штамм BZR GV L-6, который достоверно отличался от контроля на протяжении всего периода наблюдений. Выявлено, что данные, полученные в варианте с использованием коммерческого препарата достоверно отличались от контроля с пятых суток эксперимента.

Анализируя данные, установлено, что наиболее эффективными в отношении гусениц *C. pomonella* являются водные вирусные суспензии штаммов CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР с титром не менее $1,0 \times 10^6$ гранул/мл.

Эффективность штаммов CrGV в зависимости от возраста гусениц *C. pomonella*. Так как в природных популяциях на одной территории одновременно могут присутствовать разновозрастные насекомые, проводили оценку наиболее восприимчивого возраста гусениц *C. pomonella*. Использовали штаммы с высокими темпами смертности и высокой БЭ на 15 сутки наблюдений в отношении целевого объекта: BZR GV 9 (86,1%), BZR GV 10 (100%), BZR GV L-6 (82,6%), BZR GV L-8 (100%) (Таблица 12). Титр водных вирусных суспензий составлял от $1,1 \times 10^6$ до $4,8 \times 10^6$ гранул/мл, Мадек Твин, СК – $3,0 \times 10^6$ гранул/мл.

Таблица 12 – Энтомопатогенная активность штаммов CpGV в зависимости от возраста гусениц *C. pomonella* в условиях *in vitro*, 2023 год

№	Штамм/шифр	Возраст	БЭ, %, сутки							Живые насекомые, шт. *, сутки						
			1	2	3	5	7	10	15	1	2	3	5	7	10	15
1	BZR GV 9	2-3	2,7	0	0	7,6	34,6	100	100	3,8 ^a	3,5 ^{ab}	3,4 ^a	2,6 ^{ab}	1,8 ^a	0,0 ^b	0,0 ^a
2	BZR GV 10		0	0	0	15,3	53,8	85,0	100	4,0 ^a	3,3 ^{ab}	3,1 ^{ab}	2,4 ^{ab}	1,3 ^a	0,3 ^{ab}	0,0 ^a
3	BZR GV L-6		5,5	11,1	21,4	26,9	46,1	85,0	100	3,7 ^a	2,6 ^a	2,4 ^b	2,1 ^{ab}	1,5 ^a	0,3 ^{ab}	0,0 ^a
4	BZR GV L-8		0	0	0	0	30,7	65,0	100	4,2 ^a	3,6 ^b	3,3 ^a	3,0 ^b	2,0 ^{ab}	0,7 ^a	0,0 ^a
5	Мадекс Твин, СК		0	0	3,5	34,6	50,0	65,0	66,6	4,1 ^a	3,4 ^{ab}	3,0 ^{ab}	1,8 ^a	1,4 ^a	0,7 ^a	0,4 ^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	0	10,0	31,5	0	23,8	100	5,0 ^a	4,6 ^a	4,0 ^{ab}	2,8 ^{ab}	2,7 ^a	1,7 ^a	0,0 ^a
8	BZR GV 10		0	0	10,0	15,7	4,1	23,8	100	5,0 ^a	5,0 ^a	4,0 ^{ab}	3,5 ^{ac}	2,5 ^a	1,7 ^a	0,0 ^a
9	BZR GV L-6		0	0	2,5	18,4	0	0	80,9	4,6 ^a	4,5 ^a	4,3 ^a	3,4 ^{ac}	2,8 ^a	2,3 ^a	0,4 ^a
10	BZR GV L-8		0	0	0	34,2	25,0	38,1	66,6	5,0 ^a	5,0 ^a	5,0 ^a	2,7 ^{ab}	2,0 ^a	1,4 ^a	0,7 ^a
11	Мадекс Твин, СК		14,6	17,5	27,5	44,7	25,0	47,6	71,4	3,8 ^b	3,6 ^b	3,2 ^b	2,3 ^b	2,0 ^a	1,2 ^a	0,6 ^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 95,0% уровне вероятности.																

Установлено, что БЭ штаммов в отношении гусениц *C. pomonella* 2-3 возраста на пятые сутки наблюдений составила от 0 до 26,9%, на 15 сутки – 100%. Выявлено, что БЭ штаммов в отношении гусениц *C. pomonella* 4-5 возраста на пятые сутки наблюдений составила от 15,7 до 34,2%, на 15 сутки – от 66,6 до 100%. БЭ Мадекс Твин, СК в отношении гусениц *C. pomonella* обоих возрастных групп составила на пятые сутки от 34,6 до 44,7%, на 15 сутки – от 66,6 до 71,4%, что соответствует заявленному уровню. При сравнении БЭ двух возрастных групп насекомых отмечено, что гусеницы младших возрастов (2-3 возраст) более уязвимы к действию штаммов CrGV, чем гусеницы старших возрастов (4-5 возраст), разница в БЭ на пятые сутки составила 0-34,2%, а на 15 сутки – 0-33,4%. Таким образом, литературные данные подтвердились результатами исследований (Бараненко, Медведева, 2018; Бондарчук и др., 2020). Стоит выделить штаммы BZR GV 9 и BZR GV 10, БЭ которых в двух возрастных группах насекомых на 15 сутки наблюдений была максимальной и составила 100%, что на 28,6-33,4% выше, чем при использовании Мадекс Твин, СК.

При сравнении данных по критерию Дункана отмечено, что варианты с применением исследуемых штаммов и коммерческого биоинсектицида в отношении гусениц 2-3 возраста достоверно отличались от контроля на 7-15 сутки наблюдений. Варианты с использованием гусениц 4-5 возраста достоверно отличались от контроля на пятые и 15 сутки наблюдений, Мадекс Твин, СК – на первые-пятые и 15 сутки наблюдений. Установлено, что уровень достоверной разницы данных по отношению к контролю повышался с течением времени. Выявлено, что водные вирусные суспензии отобранных штаммов вируса CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР наиболее эффективны в отношении гусениц *C. pomonella* 2-3 возраста. Стоит подчеркнуть отсутствие зависимости между данными БЭ 22 штаммов CrGV из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР в отношении *C. pomonella* и *G. mellonella* и данных биоинформатического анализа: наличие генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом, генетические сходство с коммерческими штаммами и прочее.

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*.

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

Оценку энтомопатогенной активности CrGV в полевых условиях в 2023-2024 году проводили с использованием четырёх штаммов из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР. Были отобраны штаммы с высокими темпами смертности и высокой БЭ на 15 сутки наблюдений в отношении целевого объекта (*C. pomonella*): BZR GV 9 (86,1%), BZR GV 10 (100%), BZR GV L-6 (82,6%), BZR GV L-8 (100%) (Таблица 13). Титр водных вирусных суспензий составлял от $1,0 \times 10^6$ до $2,5 \times 10^6$ гранул/мл (Таблицы 2 (Приложение Б)). Титр рабочего раствора коммерческого продукта – $3,0 \times 10^6$ гранул/мл, согласно заявленному производителем уровню.

Таблица 13 – 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 падалище		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	-	-
НСР ₀₅		9,5	27,4	9,4	24,5	4,4	3,7	-	-

Оценку результатов опыта проводили с учетом сложившихся погодных условий, так как они оказывали непосредственное влияние на физиологические процессы, протекающие в растениях, скорость воспроизводства популяций насекомых-вредителей и на работу бакуловирусных инсектицидов, используемых в данном исследовании (Энтомология..., 2024).

Так, в 2023 году минимальный уровень повреждения плодов насекомыми-вредителями на падалице отмечен в варианте с применением штамма BZR GV 10 (БЭ – 85,1%), на съёмном урожае – в варианте с применением штамма BZR GV L-6 (БЭ – 74,7%). Стоит выделить, что БЭ коммерческого препарата на падалице составила 66,1%, на съёмном урожае – 41,2%. Отмечено, что практически у всех вариантов БЭ была выше, чем в вариантах с использованием коммерческого продукта, на 26,4-33,5% в съёмном урожае и на 6,1-19,0% в падалице, кроме штамма BZR GV 9, БЭ которого на падалице составила 59,3%, что ниже Мадекс Твин, СК на 6,8%.

В 2024 году минимальное повреждение плодов насекомыми-вредителями как на падалице (БЭ – 58,6%), так в съёмном урожае (БЭ – 86,4%) установлено в варианте с применением препарата Мадекс Твин, СК в соответствии заявленным уровнем эффективности. Среди исследуемых штаммов можно выделить BZR GV L-8, БЭ которого на падалице составила 17,8%, и BZR GV 9, БЭ которого в съёмном урожае составила 67,3%. Так, у всех вариантов была отмечена БЭ ниже Мадекс Твин, СК на 19,1-81,9% в съёмном урожае и на 40,8-58,8% в падалице.

Сохранённый урожай в 2023 году был на уровне от 5,4 до 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 коммерческого препарата, на 1,8 т/га. Минимальная урожайность получена в варианте со штаммом BZR GV 9 – 15,8 т/га, при этом сохранённый урожай – 5,4 т/га.

Сохранённый урожай в 2024 году был на уровне от 3,0 до 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. Максимальная 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. Минимальная урожайность получена в варианте со штаммом BZR GV L-6 – 11,0 т/га, при этом сохранённый урожай – 3,0 т/га.

При сравнении 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 *S. pomonella*, а, следовательно, увеличении уровня поврежденности плодов. В 2023 году сложились благоприятные погодные условия для реализации инсектицидного потенциала исследуемых штаммов CpGV в отношении *S. pomonella*. Эффективность коммерческого продукта осталась на заявленном уровне. Вероятно, это связано с тем, что в его составе, помимо действующего вещества, присутствовали дополнительные компоненты (солнцезащитные элементы, консерванты, наполнители и др.), которые могли обеспечить его высокую активность при изменяющихся условиях среды.

Отметим, что низкая урожайность яблони сорта Брина (средняя урожайность 75,4 т/га) в период проведения исследований объясняется тем, что сортовой потенциал не был реализован в полной мере за счет отсутствия обработки другими пестицидами, кроме указанных, что привело к значительному росту заболеваний, таких как парша (*Venturia inaequalis* ((Cooke) G. Winter, 1875) (*Pleosporales: Venturiaceae*)), альтернариоз (*Alternaria mali* (Roberts, 1914) (*Pleosporales: Pleosporaceae*)), мучнистая роса (*Podosphaera leucotricha* ((Ellis & Everh.) E.S. Salmon, 1900) (*Erysiphales: Erysiphaceae*)), манииоз (*Monilinia fructigena* (Honey, 1945) (*Helotiales: Sclerotiniaceae*)) и др. (Mahamudul Hashan et al., 2022; Абдурасулов и др., 2022; Muminova, 2023).

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 (при сохранённом урожае 7,8-13,6 т/га), что сопоставимо или выше показателей в варианте с использованием Мадекс Твин, СК с учетом отсутствия разработанной препаративной формы для исследуемых штаммов.

Таким образом, в результате проведенных исследований, установлено, что в условиях полевого мелкоделяночного опыта обработка деревьев яблони 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, 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 инсектицида Мадекс Твин, СК и 13 геномами коммерческих изолятов CpGV не гарантирует высокую эффективность в отношении целевого насекомого, что следует учесть при дальнейшей работе со штаммами бакуловирусов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

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

2. Выявлены наиболее активные штаммы CrGV по критерию БЭ в отношении *G. mellonella*: BZR GV L-1, BZR GV L-7 (22,2-24,4%). Отобраны перспективные штаммы CrGV 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 CrGV 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 CrGV 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 CrGV 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.

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.

СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ

CrGV – вирус гранулёза яблонной плодовой гнили

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

БРК – Биоресурсная коллекция

ФГБОУ ВО АГУ – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Адыгейский государственный университет»

ИЦиГ СО РАН – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

УФ – ультрафиолетовое излучение

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК – рибонуклеиновая кислота

GIS – a geographic information system (глобальные информационные системы)

GPS – the global positioning system (спутниковая система навигации)

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СЗР – средства защиты растений

СК – суспензионный концентрат

СП – смачивающийся порошок

ИПС – искусственная питательная среда

ЭПВ – экономический порог вредоносности

КОЕ – колониеобразующая единица

ЧП – чашки Петри

ANI – average nucleotide identity (средняя нуклеотидная идентичность)

CDs – coding sequence (кодирующая последовательность)

GV – вирус гранулёза

NPV – вирус ядерного полиэдроза

ЭБС – эмбриональная телячья сыворотка

HzNPV – вирус ядерного полиэдроза кукурузной совки

LdNPV – вирус ядерного полиэдроза непарного шелкопряда

OpNPV – вирус ядерного полиэдроза псевдоцуговой огневки

NsNPV – вирус ядерного полиэдроза рыжего соснового пилильщика

AoGV – вирус гранулёза сетчатой листовёртки

HearNPV – вирус ядерного полиэдроза хлопковой совки

HomaGV – вирус гранулёза чайной моли

CrleGV – вирус гранулёза ложной плодовой жорки

MabrNPV – вирус ядерного полиэдроза капустной совки

SeNPV – вирус ядерного полиэдроза малой совки

УНУ – уникальная научная установка

NCBI – National Center for Biotechnology Information (международная база данных)

FASTQ – текстовый формат данных, используемый для представления биологической последовательности

IAP – inhibitor of apoptosis protein (белок-ингибитор апоптоза)

MMP – matrix metalloproteinases (матриксная металлопротеаза)

UPGMA – Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (метод кластеризации данных).

БЭ – биологическая эффективность

N50 – длина набора контигов (максимальная)

L50 – количество контигов (минимальное)

CG состав – гуанин-цитозиновый состав

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдунабиев, Ф. С. Биологическая защита яблони от яблонной плодовой жорки (*Cydia pomonella* L.) в условиях Северного Таджикистана: специальность 06.01.07 «Защита растений» : диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Фируз Собирджонович Абдунабиев; Таджикский аграрный университет имени Шириншох Шотемур. – Таджикистан, 2017. – 146 с. – Библиогр.: с. 53-98. – Текст : непосредственный.
2. Авторское свидетельство № 1722338 А1 СССР. Питательная среда для гусениц хлопковой совки: № 4639962: заявл. 10.11.1988 : опубл. 30.03.1992 / А. В. Лопаткин, И. Н. Михайловская, Ю. В. Кондрахин, К. В. Бондаренко ; патентобладатель Всесоюзный научно-исследовательский институт молекулярной биологии. – EDN AVCNJG. – URL: <https://patents.su/3-1722338-pitatelnaya-sreda-dlya-gusenich-khlopkovojj-sovki.html>.
3. Агробизнес. Китай увеличил поставки яблок в Россию. – 2024. – URL: <https://www.agbz.ru/news/kitay-uvelichil-postavki-yablok-v-rossiyu/> (дата обращения: 06.11.2024).
4. Агроинвестор. Аналитика. Маржа в интенсивном саду. Рентабельность направления доходит до 250 %. – 2018. – URL: <https://www.agroinvestor.ru/analytics/article/29589-marzha-v-intensivnom-sadu/> (дата обращения: 04.04.2018).
5. Агроинвестор. Рынки. Урожай яблок останется на уровне прошлого года. – 2023. – URL: <https://www.agroinvestor.ru/markets/news/41342-urozhay-yablok-ostanetsya-na-urovne-proshlogo-goda/> (дата обращения: 06.11.2024).
6. Актуальные болезни яблони в Краснодарском крае и рекомендации по их контролю в садах / А. А. Абдурасулов, Г. О. Абдусаломов, А. А. Джамбаева, Т. И. Кузьмина // Colloquium-Journal. – 2022. – № 3-1(126). – С. 17-19. – EDN QSULAQ.
7. Артохин, К. С. Вредители сельскохозяйственных культур. Вредители плодовых культур: справочное и учебно-методическое пособие / К. С. Артохин. – Том 3. – М.: Печатный город, 2013. – 532 с.

8. Баврина, А. П. Современные правила применения корреляционного анализа / А. П. Баврина, И. Б. Борисов // Медицинский альманах. – 2021. – № 3(68). – С. 70-79. – EDN TPSSIX.
9. 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. – EDN IZXMBZ.
10. Бакуловирусная система экспрессии, как безопасная и эффективная система для получения рекомбинантных белков / Ш. Ш. Хасанов, С. А. Сасмаков, Ж. М. Абдурахманов [и др.] // Universum: химия и биология. – 2019. – № 6(60). – С. 13-16.
11. Балыкина, Е. Б. Резистентность и биотический потенциал клещей-фитофагов на фоне применения акарицидов / Е. Б. Балыкина, Л. П. Ягодинская – DOI 10.25684/NBG.scbook.148.2019.09 // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. – 2019. – Т. 148. – С. 85-95. – EDN HVTYRN.
12. Бараненко, Т. Ю. Яблонная плодожорка, меры борьбы с ней / Т. Ю. Бараненко, Л. М. Медведева // АПК России. – 2018. – Т. 25, № 2. – С. 199-203. – EDN URTLLO.
13. Беньковская, Г. В. Принципы содержания лабораторных линий насекомых / Г. В. Беньковская // Биомика. – 2017. – Т. 9, № 1. – С. 024-032. – EDN ZAXQYL.
14. Биологизированная система управления численностью хлопковой совки *Helicoverpa armigera* Hbn. в табачном агроценозе / Т. В. Плотникова, Г. Ю. Ишмуратов, В. Я. Исмаилов [и др.] – DOI 10.33952/09.09.2019.43 // 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. 96-98. – EDN DTTPGM.

15. Биологический контроль численности яблонной плодовой мушки на основе энтомопатогенных микроорганизмов (обзор) / Е. Ю. Бондарчук, А. М. Асатурова, Н. С. Томашевич [и др.] – DOI 10.24411/0235-2451-2020-11108 // Достижения науки и техники АПК. – 2020. – Т. 34, № 11. – С. 53-66. – EDN MBPOAG.

16. Биологический контроль численности яблонной плодовой мушки на основе энтомопатогенных вирусов (обзор) / А. А. Цыгичко, А. М. Асатурова, 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.

17. Блажевич, О. В. Культивирование клеток: курс лекций / О. В. Блажевич. – Минск: БГУ, 2004. – 78 с.

18. Бойкова, Е. В. Некоторые возможности получения и применения коллекции энтомопатогенных вирусов с целью создания биологических средств защиты растений / Е. В. Бойкова, Ж. А. Ширинян, В. Я. Исмаилов // Биологическая защита растений - основа стабилизации агроэкосистем: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию ВНИИБЗР, Краснодар, 21–24 сентября 2010 года. Том Выпуск 6. – Краснодар: Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений РАСХН, 2010. – С. 419-433. – EDN SFASMB.

19. 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.

20. Васильев, А. Л. Биоэкологическое обоснование выбора *Trichogramma jaxarticum* Sor. (Hym., Trichogrammatidae) для борьбы с яблонной плодовой мушкой в садах Приазовья: специальность 06.01.07 «Защита растений» диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Андрей Леонидович Васильев; Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений». – СПб., 2008. – 121 с. – Библиогр.: с. 51-92. – Текст : непосредственный.

21. Васильев, В. П. Вредители сельскохозяйственных культур и лесных насаждений. Вредные нематоды, моллюски, членистоногие / В. П. Васильев; под. общ. ред. В. Г. Долина. – 2 изд. – Т. 1. – Киев: Урожай, 1987. – 440 с.

22. Включение метода автодиссеминации в систему экологизированной защиты яблони от яблонной плодовой жорки (*Cydia pomonella* L.) / И. Н. Пастарнак, А. А. Пачкин, М. В. Пушня [и др.] // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем: Материалы докладов, представленных на 8-ю Международную конференцию, Краснодар, 16–18 сентября 2014 года. Том Выпуск 8. – Краснодар: Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений Россельхозакадемии, 2014. – С. 472-474. – EDN TERVFX.

23. Голуб, В. Б. Коллекции насекомых: сбор, обработка и хранение материала / В. Б. Голуб, М. Н. Цуриков, А. А. Прокин. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. – 339 с.

24. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ. Часть I. Пестициды. – М.: МСХ РФ, 2017. – 938 с.

25. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ. Часть I. Пестициды. – М.: МСХ РФ, 2018. – 960 с.

26. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ. Часть I. Пестициды. – М.: МСХ РФ, 2019. – 871 с.

27. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ. Часть I. Пестициды. – М.: МСХ РФ, 2020. – 829 с.

28. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ. Часть I. Пестициды. – М.: МСХ РФ, 2021. – 819 с.

29. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ. Часть I. Пестициды. – М.: МСХ РФ, 2022. – 852 с.

30. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ. Часть I. Пестициды. – М.: МСХ РФ, 2023. – 924 с.

31. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ. Микробиологические и биологические пестициды. – М.: МСХ РФ, 2024. – 81 с.

32. Гржибовский, А. М. Анализ трех и более независимых групп количественных данных / А. М. Гржибовский // Экология человека. – 2008. – № 03. – С. 50-58.

33. 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.

34. Гырнец, Е. Ю. Изучение полифункциональных свойств перспективных бактериальных агентов в отношении фитофагов и возбудителей болезней плодового ценоза / Е. Ю. Гырнец, А. М. Асатулова – DOI 10.53859/02352451_2023_37_5_39 // Достижения науки и техники АПК. – 2023. – Т. 37, № 5. – С. 39-45. – EDN WMQVON.

35. Данилов, Л. Г. Состояние, перспективы изучения и практического использования энтомопатогенных нематод (*Steinernematidae*) и их симбиотических бактерий (*Xenorhabdus*) против насекомых и возбудителей заболеваний растений / Л. Г. Данилов, В. А. Павлюшин // Вестник защиты растений. – 2015. – № 3(85). – С. 10-15. – EDN VQABNX.

36. Долженко, В. И. Эффективность биоинсектицида на основе вируса гранулеза яблонной плодовой жорки / В. И. Долженко, Т. В. Долженко // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии: Материалы VII Международной конференции: Посвящается 35-летию Института микробиологии НАН Беларуси, Минск, 31 мая – 04 2010 года. – Минск: Издательский дом «Беларуская навука», 2010. – С. 436-437. – EDN YTKDET.

37. Долженко, Т. В. Биологизация и экологическая оптимизация ассортимента средств защиты сельскохозяйственных культур от вредителей:

специальность 06.01.07 «Защита растений» диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Татьяна Васильевна Долженко; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет». – СПб., 2017. – 301 с. – Библиогр.: с. 13-218. – Текст : непосредственный.

38. Долженко, Т. В. Инсектициды на основе энтомопатогенных вирусов / Т. В. Долженко, В. И. Долженко // Агрохимия. – 2017. – № 4. – С. 26-33. – EDN YRCQGT.

39. Долженко, Т. В. Новые вирусные инсектициды – регуляторы численности вредителей сельскохозяйственных культур / Т. В. Долженко, В. И. Долженко // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2013. – № 32. – С. 61-64. – EDN SBYRHR.

40. Ермакова, Н. И. Оптимизация использования бакуловирусов для контроля численности вредных насекомых: специальность 03.00.09 «Энтомология»: автореферат диссертации на соискание доктора биологических наук / Надежда Ивановна Ермакова; Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» Российской академии сельскохозяйственных наук. – СПб., 1995. – 40 с. – Библиогр.: с. 3-35. – Место защиты: Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» Российской академии сельскохозяйственных наук – Текст : непосредственный.

41. Жилинская, И. А. Вопросы общей вирусологии: учебное пособие / И. А. Жилинская, О. И. Киселёв. – СПб: ГМА им. И. И. Мечникова, 2007. – 374 с.

42. Журавлева, Е. А. Потенциал сельского хозяйства Краснодарского края в обеспечении экономического роста / Е. А. Журавлева // Никоновские чтения. – 2009. – № 14. – С. 191-192. – EDN OCOUTP.

43. Изучение биологических особенностей популяций эктопаразита *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera, Braconidae) для биологической защиты растений / И. С. Агасьева, В. Я. Исмаилов, В. И. Киль [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. – ISBN: 978-5-905120-06-0. – С. 106-111. – EDN WLQWDZ.

44. Изучение межвидовой химической коммуникации для синхронного регулирования численности основных вредителей яблони / И. С. Агасьева, В. Я. Исмаилов, М. В. Нефедова [и др.] – DOI 10.53859/02352451_2022_36_3_39 // Достижения науки и техники АПК. – 2022. – Т. 36, № 3. – С. 39-44. – EDN MEMPUJ.

45. Ильиных, А. В. Вертикальная передача бакуловирусов / А. В. Ильиных – DOI 10.1134/S0002332919030032 // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2019. – № 3. – С. 321-330. – EDN DXMKWC.

46. Ильиных, А. В. Вертикальная передача бакуловирусов и закономерности проявления полиэдрозов у лесных насекомых-филлофагов: специальность 03.00.09 «Энтомология» диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Александр Васильевич Ильиных; Институт систематики и экологии Сибирского отделения Российской академии наук. – Новосибирск, 2006. – 288 с. – Библиогр.: с. 157-235. – Текст: непосредственный.

47. Инвазия и биология самшитовой огнёвки на Черноморском побережье России / Н. Н. Карпун, В. Л. Пономарёв, А. Э. Нестеренкова [и др.] // Карантин растений. Наука и практика. – 2019. – Т. 3, № 29. – С. 49.

48. Инструменты биологизации систем защиты садов и виноградников от вредителей и болезней / Е. Г. Юрченко, Г. В. Якуба, С. В. Прах [и др.] – DOI 10.30679/2587-9847-2023-36-191-200 // Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. – 2023. – Т. 36. – С. 191-200.

49. Интерфакс. Россия за пять лет увеличила сбор яблок и груш в 1,7 раза. – 2022. – URL: <https://www.interfax.ru/business/857358> (дата обращения: 15.03.2023).

50. Исключение неверно картированных прочтений при таргетном высокопроизводительном секвенировании ДНК с использованием технологии Ion AmpliSeq / К. О. Карандашева, К. И. Аношкин, И. В. Володин [и др.] – DOI 10.25557/2073-7998.2018.05.19-22 // Медицинская генетика. – 2018. – Т. 17, № 5. – С. 19-22. – EDN OTEJCB.

51. Исмаилов, В. Я. *Habrobracon hebetor* Say - эффективный паразит в борьбе с яблонной плодовой жоркой / В. Я. Исмаилов, И. С. Агасьева, А. С. Настасий – DOI 10.31676/0235-2591-2020-2-52-57 // Садоводство и виноградарство. – 2020. – № 2. – С. 52-57. – EDN QEIPAW.

52. Использование новых штаммов вируса гранулеза для разработки эффективных средств борьбы с яблонной плодовой жоркой *Cydia pomonella* L. / М. В. Пушня, Е. Г. Снесарева, Е. Ю. Родионова [и др.] – DOI 10.31676/2073-4948-2019-58-172-179 // Плодоводство и ягодоводство России. – 2019. – Т. 58. – С. 172-179. – EDN GBKONO.

53. Коваленков, В. Г. Химическому методу необходимы биологические противовесы / В. Г. Коваленков // Защита и карантин растений. – 2007. – № 9. – С. 4-8. – EDN LETWNP.

54. Колокольцова, Т. Д. Культуры клеток человека и животных: выделение, культивирование, криоконсервация и контроль / Т. Д. Колокольцова, И. Н. Сабурова, А. А. Кубатиев // Патогенез. – 2015. – Т. 13, № 2. – С. 50-65. – EDN VZEDJH.

55. Колосов, А. В. Разработка и испытание вирусных энтомопатогенных препаратов для защиты растений: специальность 03.01.06 «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), биологические науки» диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Алексей Владимирович Колосов; Федеральное бюджетное учреждение науки государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». – Кольцово, 2011. – 131 с. – Библиогр.: с. 45-85. – Текст : непосредственный.

56. Комаров, К. М. Методы сбора, препарирования и хранения насекомых: учебно-методическое пособие / К. М. Комаров. – Томск: ТГУ, 2005. – 15 с.
57. Кононенко, С. В. Биоэкологические особенности и вредоносность восковой цикадки (*Metcalfa pruinosa* SAY.) на виноградниках в условиях Западного Предкавказья (Россия) / С. В. Кононенко, Е. Г. Юрченко – DOI 10.30679/2219-5335-2021-4-70-210-221 // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2021. – № 70(4). – С. 210-221.
58. Кузина, А. А. Биодиагностика устойчивости почв Черноморского побережья Краснодарского края к загрязнению нефтью и тяжелыми металлами: монография / А. А. Кузина, С. И. Колесников, К. Ш. Казеев. – Ростов-на Дону: Южный федеральный университет, 2015. – 125 с.
59. Ладюков, С. В. Использование бакуловирусов как высокоэффективных векторов в клетках / С. В. Ладюков // Вавиловские чтения «Наследие Н.И. Вавилова в современной науке»: Материалы национальной научно-практической конференции, посвящённой деятельности Н.И. Вавилова, Новосибирск, 30 ноября 2018 года. – Новосибирск: Издательский центр «Золотой колос», 2019. – С. 48-49. – EDN ZBYVNH.
60. Медицинская вирусология. Часть 1. Общая вирусология: учебно-методическое пособие / Н. С. Горячкина, Е. Д. Радакова, Л. И. Кафарская [и др.]. – М.: Московский факультет РГМУ, 2011. – 120 с.
61. Методические указания по определению гранул вируса гранулеза яблонной плодовой гнили на растительных объектах иммунофлюоресцентным методом. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: справочник / В. И. Касьяненко, В. И. Трусов, В. Л. Васильева [и др.]; под общ. ред. М. А. Клисенко, А. А. Калинина, К. Ф. Новикова. – М: Агропромиздат, 1992. – 416 с.
62. 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.

63. Методы оценки экологической безопасности пестицидов при использовании их в интегрированной защите растений: методические указания / В. Н. Буров, С. Л. Тютюрев, Г. И. Сухорученко [и др.]. – СПб, 1995. – 14 с.
64. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации. Аграрии собрали более 85 тысяч тонн яблок. – 2025. – URL: <https://mcx.gov.ru/press-service/news/agrarii-sobrali-bolee-85-tysyach-tonn-yablok/> (дата обращения: 22.08.2025)
65. Митина, Г. В. Особенности развития микозов оранжерейной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* в зависимости от стратегии паразитизма штаммов *Lecanicillium muscarium* / Г. В. Митина, И. В. Сендерский, А. Л. Первушин // Евразийский энтомологический журнал. – 2014. – Т. 13, № 6. – С. 503-510. – EDN TPTJYN.
66. Митрофанов, В. Б. Гранулез яблонной плодовой гнили *Laspeyresia pomonella* L.: 03.00.09 «Энтомология» диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Василий Борисович Митрофанов; Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений». – Ленинград, 1976. – 182 с. – Библиогр.: с. 4-67. – Текст : непосредственный.
67. Митрофанов, В. Б. Энтомопатогенные вирусы в защите растений. Производство экологически безопасной продукции растениеводства: вып. 4 / В. Б. Митрофанов, О. В. Смирнов; под общ. ред. М. С. Соколова, Е. П. Угрюмова. – Пушкино, 1998. – С. 43-47.
68. Митюшев, И. М. Феромоны насекомых и их применение в защите растений: учебное пособие / И. М. Митюшев. – М.: РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, 2015. – 124 с.
69. Мониторинг экономически значимых фитофагов сельскохозяйственных культур с использованием различных устройств / А. А. Пачкин, О. Ю. Кремнева, М. В. Иванисова [и др.] – DOI 10.53859/02352451_2022_36_3_33 // Достижения науки и техники АПК. – 2022. – Т. 36, № 3. – С. 33-38. – EDN ZKSKWN.

70. НИА-Кубань. Экономика. В Краснодарском крае увеличилось количество садов. – 2022. – URL: <https://www.23rus.org/news/economy/41482.html> (дата обращения: 14.11.2022)

71. Нугманова, Т. А. Использование биологических препаратов для растений для получения экологически чистых продуктов питания / Т. А. Нугманова // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: Сборник научных трудов / Под общей редакцией Зеленкова В.Н. Том Выпуск 23. – Москва: Российская академия естественных наук, 2016. – С. 103-107. – EDN XSSWHV.

72. Общая методика и результаты наземных гиперспектральных исследований сезонного изменения отражательных свойств посевов сельскохозяйственных культур и отдельных видов сорных растений / Р. Ю. Данилов, О. Ю. Кремнева, В. Я. Исмаилов [и др.] – DOI 10.21046/2070-7401-2020-17-1-113-127 // Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 113-127. – EDN KQOQXG.

73. Околелов, А. Ю. Распространение плодopовреждающих вредителей в насаждениях яблони на примере яблонной плодopожки / А. Ю. Околелов, Д. Н. Цуканова // Статистические методы исследования социально-экономических и экологических систем региона: Материалы II Международной научно-практической конференции, Тамбов, 20–21 ноября 2018 года. Том 2, Выпуск 2. – Тамбов: Тамбовский государственный технический университет, 2019. – С. 346-351. – EDN XCGAML.

74. Оптимизация технологии культивирования хлопковой совки (*Helicoverpa armigera*) в лабораторных условиях / А. А. Томилов, О. В. Охлопкова, А. В. Дручинина, А. В. Колосов // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии: Сборник тезисов XVIII Всероссийской конференции молодых учёных, посвященной памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева, Москва, 19–20 апреля 2018 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-

исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», 2018. – С. 246-247. – EDN XPZXIT.

75. Органическое земледелие в Российской Федерации. Биопестициды в производстве органической продукции / О. В. Мироненко, А. М. Асатунова, Е. Ю. Шипиевская [и др.]. – Краснодар : Издательство ООО "Просвещение-Юг", 2024. – 84 с. – ISBN 978-5-93491-991-8. – EDN IGTUUK.

76. Основные типы вирусных болезней насекомых. – 2020. – URL: <http://www.activestudy.info/osnovnye-tipy-virusnyx-boleznej-nasekomyx> (дата обращения: 09.10.2020)

77. Осокина, А. С. Биологические основы разведения большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) как источника биологически активных веществ: монография / А. С. Осокина, Л. М. Колбина, А. В. Гущин. – Ижевск: Издательство Анны Зелениной, 2019. – 166 с.

78. Осокина, А. С. Ресурсный потенциал применения большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) при выращивании в лабораторных условиях: 03.02.14 «Биологические ресурсы» диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Анастасия Сергеевна Осокина; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия». – Ижевск, 2016. – 143 с. – Библиогр.: с. 12-143. – Текст : непосредственный.

79. Оценка биологической эффективности биологических средств защиты растений против основных вредителей кукурузы / И. С. Агасьева, Е. Ф. Федоренко, М. В. Нефедова, В. Я. Исмаилов // Масличные культуры. – 2019. – № 3(179). – С. 124-129. – EDN ZNCKYW.

80. Оценка энтомопатогенной активности вируса гранулёза в отношении яблонной плодовой гнили / А. А. Цыгичко, А. М. Асатунова, 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 QNQTCW.

81. Павличенко, Т. И. Климат Краснодара / Т. И. Павличенко. – Л.: Гидрометеиздат, 1990. – 190 с.

82. Павлюшин, В. А. Микробиологическая защита растений в технологиях фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: теория и практика (обзор) / В. А. Павлюшин, И. И. Новикова, И. В. Бойкова – DOI – 10.15389/agrobiology.2020.3.421rus // Сельскохозяйственная биология. – 2020. – Т. 55, № 3. – С. 421-438.

83. Павлюшин, В. А. Перспективы и возможности микробиологической защиты растений для повышения уровня экологической безопасности в агроценозах (обзор) / В. А. Павлюшин, И. И. Новикова, И. В. Бойкова – DOI 10.47528/1026-8634_2022_4_10 // Защита и карантин растений. – 2022. – № 4. – Р. 10-18.

84. Паспорт гидрометеорологической безопасности Краснодарского края. Министерство природных ресурсов и экологии РФ. Росгидромет. – Обнинск: ФГБУ «ВНИИГМИ-МЦД». 2017. – 117 с.

85. Патент № 2156300 С2 Российская Федерация, МПК А01N 63/00, С07К 14/01, С07К 14/435. Рекомбинантный стабильный окклюдированный вирус ядерного полиэдроза (варианты), инсектицидная композиция и способ борьбы с насекомыми на участке: № 93056145/13: заявл. 20.03.1992 : опубл. 20.09.2000 / П. Д. Кейлей, Л. М. С. Дайт, Р. Д. Посси, М. Ф. Лопес ; патентообладатель Нэтчурал Энвайронмент Рисерч Каунсыл. – EDN MSMVNR. – URL: <https://patents.google.com/patent/RU2156300C2/ru>.

86. Патент № 2210210 С1 Российская Федерация, МПК А01К 67/033. способ разведения *Galleria mellonella* L.: № 2001131301/13: заявл. 21.11.2001: опубл. 20.08.2003 / В. Я. Исмаилов, Ж. А. Ширинян, О. И. Квасенков; патентообладатель Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений. – EDN ZNOERN. – URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_37903039_26745583.pdf.

87. Патент № 2396750 С2 Российская Федерация, МПК А01N 63/00. Препарат для борьбы с хлопковой совкой: № 2008139622/13: заявл. 07.10.2008 : опубл. 20.08.2010 / Ю. А. Кошелев, Г. А. Рыжиков, В. Е. Репин [и др.] ; патентообладатели Кошелев Ю.А., Рыжиков Г.А., Репин В.Е., Колосов А.В.,

Залесов А.С. — EDN XMAIVP. — URL:
<https://patents.google.com/patent/RU2396750C2/ru>.

88. Патент № 2744522 С1 Российская Федерация, МПК С12N 7/00, А01N 63/40. Штамм вируса гранулёза яблонной плодовой Cydia pomonella L., обладающий инсектицидной активностью: № 2020117838: заявл. 30.05.2020: опубл. 11.03.2021 / А. А. Цыгичко, А. М. Асатурова, В. Я. Исмаилов, М. В. Пушня; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр биологической защиты растений». — EDN ILLLOH. — URL: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_45806560_40699593.PDF.

89. Пачкин, А. А. Разработка новых способов управления численностью вредных видов насекомых с помощью феромонов и энтомопатогенов на примере яблонной плодовой: специальность 06.01.07 «Защита растений» диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Алексей Александрович Пачкин; Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений». — М., 2016. — 153 с. — Библиогр.: с. 7-44. — Текст : непосредственный.

90. Погода и климат. Летопись погоды в Славянске-на-Кубани. — 2024. URL: <http://www.pogodaiklimat.ru/history/34924.htm> (дата обращения: 18.10.2024).

91. Подгорная, М. Е. Эффективность новых инсектицидов при защите яблони от яблонной плодовой (Carpocapsa pomonella L.) / М. Е. Подгорная // Плодоводство и ягодоводство России. — 2012. — Т. 29, № 2. — С. 79-84. — EDN ОРУНЕР.

92. Приемы и методы биологической защиты яблони в органическом земледелии / А. А. Пачкин, Л. А. Васильева, В. А. Яковук [и др.] // Таврический вестник аграрной науки. — 2016. — № 1(5). — С. 44-57. — EDN XIDEID.

93. Пушня, М. В. Результаты испытания новых биопрепаратов против чешуекрылых вредителей / М. В. Пушня, Е. В. Бойкова, А. О. Умарова // Инновационные исследования и разработки для научного обеспечения производства и хранения экологически безопасной сельскохозяйственной и пищевой продукции: Сборник материалов II Международной научно-практической

конференции , Краснодар, 05–26 июня 2017 года. – Краснодар: Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт табака, махорки и табачных изделий Российской академии сельскохозяйственных наук, 2017. – С. 262-265. – EDN ZUOGVD.

94. Разработка методов контроля численности жуков-щелкунов на сое с помощью синтетических половых феромонов / В. Я. Исмаилов, М. В. Пушня, А. А. Команцев, А. С. Замотайлов – DOI 10.21515/1999-1703-95-87-93 // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2022. – № 95. – С. 87-93. – EDN DFLCIN.

95. Результаты полевых испытаний вируса гранулеза яблонной плодовой жоржки / В. Я. Исмаилов, И. С. Агасьева, П. Фишер [и др.] // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию ВНИИБЗР, Краснодар, 21–24 сентября 2010 года. Том Выпуск 6. – Краснодар: Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений РАСХН, 2010. – С. 433-436. – EDN SFARCH.

96. Садыков, Т. Ф. Молекулярно-генетическая лаборатория: необходимость, назначение, перспективы / Т. Ф. Садыков, Ю. В. Волкова, Л. В. Кудрявцева // Лабораторная служба. – 2012. – Т. 1, № 2. – С. 20-25. – EDN PUXILR.

97. 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. Асатулова, 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.

98. Сельское хозяйство в России: статистический сборник. – М.: Росстат, 2021. – 100 с.

99. Сергеева, Ю. А. Технология малотоннажного производства Неовира – нового биологического средства для защиты леса от рыжего соснового пилильщика / Ю. А. Сергеева, Ю. И. Гниненко, С. О. Долмонева. – Пушкино: ВНИИЛМ, 2016. – 30 с.

100. Скрининг перспективных штаммов вируса гранулёза яблонной плодовой гнили / 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.

101. Слинин, А. С. Анализ выживаемости и вероятности возникновения отдельных событий у пациентов с острым лейкозом / А. С. Слинин, О. И. Быданов, А. И. Карачунский – DOI 10.20953/1726-1708-2016-3-34-39 // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2016. – Т. 15, № 3. – С. 34-39. – EDN WYQIBD.

102. Современные системы интегрированной защиты сельскохозяйственных растений / Д. О. Морозов, С. А. Коршунов, А. А. Любовецкая [и др.]. – М: ФГБНУ «Росинформагротех», 2019. – 92 с.

103. Создание ДНК-инсектицидов – новое направление в защите растений / В. В. Оберемок, Е. В. Лайкова, А. С. Зайцев [и др.] // Защита и карантин растений. – 2016. – № 11. – С. 14-16. – EDN WXEASR.

104. Союз органического земледелия. Перечень биопрепаратов и биоудобрений для органического сельского хозяйства, биологической и интегрированной защиты растений. – 2024. – URL: <https://soz.bio/perechen-biopreparatov-i-bioudobren-2/> (дата обращения: 25.01.2024).

105. Стейнберг (Прохоренко), Э. В. Роль биоинсектицидов в защите лесных насаждений / Э. В. Стейнберг (Прохоренко), Е. Гепперт // Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина. – 2017. – № 3(44). – С. 79-84. – EDN YTNDYB.

106. Тарасевич, Л. М. Вирусы насекомых служат человеку / Л. М. Тарасевич. – М.: 1985. – 143 с.

107. Тасс. Россия за семь месяцев нарастила импорт яблок из Китая почти в три раза. – 2024. – URL: <https://tass.ru/ekonomika/21949063> (дата обращения: 06.11.2024).

108. 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.

109. Цыган, В. Н. Роль апоптоза в регуляции иммунного ответа / В. Н. Цыган // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 62-78. – EDN HVGPXH.

110. 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.

111. Цыгичко, А. А. Вирус гранулёза яблоневого плодового жоржика *Cydia pomonella* как коммерческий агент 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.

112. Цыгичко, А. А. Вирус гранулёза яблонной плодовой жоржки как коммерческий агент биологического контроля *Cydia pomonella* L / А. А. Цыгичко,

А. М. Асатунова // 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.

113. Цыгичко, А. А. Вирусы гранулеза яблонной плодовой гнили 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.

114. Цыгичко, А. А. Выделение штаммов вирусов, перспективных для создания лабораторного образца биопрепарата против *Cydia pomonella* L. (обзор) / А. А. Цыгичко, А. М. Асатунова // 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. Коцаев. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2018. – С. 107-109. – EDN YULRRR.

115. 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. 8.

116. Цыгичко, А. А. Идентификация штаммов грануловирuсов насекомых, обладающих инсектицидной активностью / А. А. Цыгичко, А. М. Асатунова // 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.

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

118. Цыгичко, А. А. Скрининг новых штаммов вируса гранулёза в отношении большой восковой моли *Galleria mellonella* / А. А. Цыгичко, А. М. Асатунова – DOI 10.53859/02352451_2022_36_3_45 // Достижения науки и техники АПК. – 2022. – Т. 36, № 3. – С. 45-52. – EDN UDPHZK.

119. 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.

120. Цыгичко, А. А. Средства защиты растений на основе энтомопатогенных вирусов против яблонной плодовой жорки (обзор) / А. А. Цыгичко, А. М. Асатунова // 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.

121. Цыгичко, А. А. Эффективность штаммов вируса гранулёза яблонной плодовой жорки 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.

122. Чеплянский, И. Я. Затраты и особенности получения исходного сухого биоматериала для наработки эталона вирусного препарата против рыжего соснового пилильщика / И. Я. Чеплянский, Н. С. Латышова, Ю. И. Алпацкая // Актуальные проблемы лесного комплекса. – 2015. – № 43. – С. 106-111. – EDN VBWCPX.

123. Черкезова, С. Р. Разработка технологии защиты яблоневого сада против комплекса чешуекрылых вредителей в условиях погодных стрессов / С. Р. Черкезова – DOI 10.30679/2219-5335-2019-1-55-107-119 // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2019. – № 55(1). – С. 107-119. – EDN YTVOKT.

124. Чернов, В. В. Особенности формирования урожайности и качества плодов яблони путем оптимизации технологии защиты против яблонной плодовой жорки: специальность 06.01.08 «Плодоводство, виноградарство» диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Василий Вячеславович Чернов; Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия». – Краснодар., 2020. – 137 с. – Библиогр.: с. 18-27. – Текст : непосредственный.

125. Шаламов, В. Н. Яблонная плодовая жорка: меры борьбы и профилактики / В. Н. Шаламов // Уральский садовод. – 2015. – №. 2. – С. 11.

126. Шарашова, Е. Е. Применение анализа выживаемости в здравоохранении с использованием пакета статистических программ SPSS / Е. Е. Шарашова, К. К. Холматова, М. А. Горбатова [и др.] // Наука и Здравоохранение. – 2017. – №. 5. – С. 5-28.

127. Ширинян, Ж. А. Технология экспериментального производства и применения энтомопатогенных препаратов на основе вируса ядерного полиэдроза для биологического контроля насекомых-вредителей (*Lepidoptera, Noctuidae*) / Ж. А. Ширинян, Е. В. Бойкова, В. Я. Исмаилов // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем : Материалы международной научно-практической конференции , Краснодар, 20-22 сентября 2006 года / Под редакцией члена-корреспондента РАСХН В.Д. Надыкты, к.б.н. В.Я. Исмаилова, д.б.н.,

профессора Е.С. Сугоняева, к.б.н. Г.И. Левашовой. Том Выпуск 4. – Краснодар: ИП Тафинцев А.Г., 2006. – С. 257-264. – EDN TNGWIB.

128. Шорохова, И. С. Статистические методы анализа / И. С. Шорохова, Н. В. Кисляк, О. С. Мариев. – Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2015. – 300 с.

129. Штерншис, М. В. Биологическая защита растений: 5-е издание / М. В. Штерншис, И. В. Андреева, О. Г. Томилова. – СПб: Лань, 2021. – 332 с.

130. Щелково Агрохим. Феромонные ловушки для вредителей плодовых и ягодных культур. – 2023. – URL: <https://betaren.ru/catalog/sredstva-zashchity-rasteniy/pheromones/dlya-vrediteley-plodovykh-i-yagodnykh-kultur/> (дата обращения: 28.02.2023).

131. Эколого-экономическая оценка эффективности современных систем защиты яблони от яблонной плодовой жорки / Е. А. Егоров, М. Е. Подгорная, Ж. А. Шадрина, Г. А. Кочьян – DOI 10.31676/0235-2591-2024-2-47-52 // Садоводство и виноградарство. – 2024. – № 2. – С. 47-52. – EDN IKLKEC.

132. Энтомология. Факторы динамики численности популяций. – 2010. – URL: <http://www.entomologa.ru/book/35.htm> (дата обращения: 30.01.2024).

133. Энтомопатогенные микроорганизмы в очагах непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) орехово-плодовых лесов юга Кыргызстана / В. П. Ходырев, С. А. Бахвалов, З. А. Тешебаева, Б. А. Токторалиев // Сибирский экологический журнал. – 2010. – Т. 17, № 5. – С. 701-707. – EDN NCIIICL.

134. Эффективность отобранных образцов вируса гранулёза яблонной плодовой жорки в отношении лабораторных насекомых / А. А. Цыгичко, А. М. Асатурова, 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. Коцаев. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2019. – С. 93-94. – EDN KBCKLJ.

135. Ярославцев, М. В. Оценка устойчивости черноземов юга России к загрязнению тяжелыми металлами по биологическим показателям / М. В.

Ярославцев, С. И. Колесников // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2011. – №. 4. – С. 83-86.

136. A new cyrovirus-1 strain as a promising agent for Lepidopteran pest control / V. V. Martemyanov, Yu. B. Akhanaev, I. A. Belousova [et al.] – DOI 10.1128/spectrum.03855-22 // Microbiology Spectrum. – 2023. – Т. 11, № 3. – С. e03855-22.

137. A robust and flexible baculovirus-insect cell system for AAV vector production with improved yield, capsid ratios and potency / Y. Marwidi, H.-O.B. Nguyen, D. Santos, T. Wangzor [et al.] – DOI 10.1016/j.omtm.2024.101228 // Molecular Therapy Methods & Clinical Development. – 2024. – Vol. 32, № 2. – P. 101228.

138. Abbott, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide / W. S. Abbott // Journal of economic entomology. – 1925. – № 18. – P. 265-267.

139. Abercade consulting. Российский рынок биопрепаратов может составить около 100 млрд. рублей к 2030 году. – 2017. – URL: <http://www.abercade.ru/research/analysis/17237.html> (дата обращения: 06.12.2021).

140. Activity of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins against codling moth (*Cydia pomonella* L.) larvae / R. Boncheva, S. Dukiandjiev, I. Minkov [et al.] – DOI 10.1016/j.jip.2006.01.004 // Journal of Invertebrate Pathology. – 2006. – № 92(2). – P. 96-99.

141. Agromarketsrbija. CARPOVIRUSINE EVO 2. – 2023. – URL: <https://www.agromarketsrbija.rs/srb/proizvod/184/Biozastita/CARPOVIRUSINE-EVO-2> (дата обращения: 03.03.2023).

142. Ali, M. P. Improved insecticidal activity of a recombinant baculovirus expressing spider venom cyto-insectotoxin / M. P. Ali, T. Kato, E. Y. Park – DOI 10.1007/s00253-015-6846-0 // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2015. – № 99(23). P. 10261-10269.

143. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. Quantitative Biology. Genomics – Текст: электронный // H. Li. – 2013. – URL: <https://doi.org/10.6084/M9.FIGSHARE.963153.V1> (дата обращения: 09.09.2023).

144. An Overview of Some Biopesticides and Their Importance in Plant Protection for Commercial Acceptance / J. Kumar, A. Ramlal, D. Mallick, V. Mishra – DOI 10.3390/plants10061185 // Plants. – 2021. – № 10. – P. 1185.
145. Andermatt. Helicovex. – 2022. – URL: <https://www.anderstatt.com/product/helicovex/> (дата обращения: 06.0.2023).
146. Andermatt. Madex Top – Codling Moth Granulovirus Insecticide. – 2023. – URL: Режим доступа: <https://www.anderstattuk.com/insecticides/madex-top> (дата обращения: 06.0.2023).
147. Animal Cell Technology: From Biopharmaceuticals to Gene Therapy / L. R. Castilho, A. M. Moraes, E. F. P. Augusto [et al.]. – US: Taylor & Francis Group, 2008. – 545 p.
148. Application of Baculovirus Expression Vector system (BEV) for COVID-19 diagnostics and therapeutics: a review / M. A. Azali¹, S. M. Azian, H. Azian [et al.] – DOI 10.1186/s43141-022-00368-7 // Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. – 2022. – № 20:98.
149. Arthurs, S. Microbial biopesticides for invertebrate pests and their markets in the United States / S. Arthurs, S. K. Dara – DOI 10.1016/j.jip.2018.01.008// Journal of Invertebrate Pathology. – 2019. – T. 165. – P.13-21.
150. 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.
151. Asser-Kaiser, S. Rapid Emergence of Baculovirus Resistance in Codling Moth Due to Dominant, Sex-Linked Inheritance / S. Asser-Kaiser, E. Fritsch, K. Undorf-Spahn // Science. – 2007. – Vol. 17. – P. 1916-1918.
152. Axmatovich, J. R. In Vitro Rearing of Parasitoids (*Hymenoptera: Trichogrammatidae* and *Braconidae*) / J. R. Axmatovich // Texas Journal of Agriculture and Biological Sciences. – 2022. – № 4. – P. 33-37.

153. Babraham bioinformatics. – 2012. URL: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> (дата обращения: 30.01.2023).
154. Baculovirus resistance in codling moth is virus isolate-dependent and the consequence of a mutation in viral gene pe38 / M. Gebhardt, K. E. Eberle, P. Radtke [et al.] – DOI 10.1073/pnas.1411089111 // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2014. – Vol. 111, № 44. – P. 15711-15716.
155. Baculoviruses – re-emerging biopesticides / B. Szewczyk, L. Hoyos-Carvajal, M. Paluszek [et al.] – DOI 10.1016/j.biotechadv.2005.09.001 // Biotechnology Advances. – 2005. – № 24(2). – P. 143-160.
156. Bayramoglu, Z. Development of novel betabaculovirus (HycuGV-Hc1) as a biopesticide (HycuGV-TR61) and its efficacy on the fall webworm, *Hyphantria cunea* Drury (*Lepidoptera: Erebidæ*) larvae / Z. Bayramoglu, D. Gencer, I. Demir – DOI 10.1186/s41938-023-00666-3 // Egyptian Journal of Biological Pest Control. – 2023. – № 33:21.
157. 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, № 10. – P. 1991. – EDN KEGZXJ.
158. Biodiversity, Evolution and Ecological Specialization of Baculoviruses: A Treasure Trove for Future Applied Research / J. Thézé, C. Lopez-Vaamonde, J. Cory [et al.] – DOI 10.3390/v10070366 // Viruses. – 2018. – № 10(7). – P. 366.
159. Bio-efficacy of entomopathogenic fungi and bacteria against invasive pest *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) under laboratory condition / P. H. Patel, D. B. Sisodiya, B. L. Raghunandan [et al.] // Journal of Entomology and Zoology Studies. – 2020. – № 8(6). – P. 716-720.
160. Biology of *Mastrus ridibundus* (Gravenhorst), a potential biological control agent for area-wide management of *Cydia pomonella* (Linneaus) (*Lepidoptera: Tortricidae*) / L. Devotto, C. del Valle, R. Ceballos [et al.] – DOI 10.1111/eea.13417 // Journal of Applied Entomology. – 2010. – № 134(3). – P. 243-250.

161. Biopesticides: Where We Stand? / J. Mishra, S. Tewari, S. Singh [et al.] – DOI 10.1007/978-81-322-2068-8_2 // Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets. – 2014. – P. 37-75.
162. Bird, F. T. A nuclear and a cytoplasmic polyhedral virus disease of the spruce budworm / F. T. Bird, M. M. Whalen – DOI 10.1139/z54-010 // Canadian Journal of Zoology. – 1954. – № 32(2). – P. 82-86.
163. Bloem S., Carpenter J.E., Bloem K.A., Tomlin L., Taggart S. Effect of rearing strategy and gamma radiation on field competitiveness of mass-reared codling moths (*Lepidoptera: Tortricidae*) / S. Bloem, J. E. Carpenter, K. A. Bloem [et al.] // Journal of Economic Entomology. – 2004. – № 97. – P. 1891-1898.
164. Bloem, S. Mobility of Mass-Reared Diapaused and Nondiapaused *Cydia pomonella* (*Lepidoptera: Tortricidae*): Effect of Mating Status and Treatment with Gamma Radiation / S. Bloem, J. E. Carpenter, S. Dorn – DOI 10.1603/0022-0493-99.3.699 // Journal of Economic Entomology. – 2006. – № 99(3). – P. 699-706.
165. Brinton, F. E. Artificial diet for mass production of the codling moth, *Carpocapsa pomonella* (*Lepidoptera: Olethreutidae*) / F. E. Brinton, M. Proverbs D., B. E. Carty // The Canadian Entomologist. – 1969. – № 101. – P. 577-584.
166. 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 – DOI 10.1186/1471-2180-10-129 // BMC Microbiology. – 2010. – № 10(1). – P. 129.
167. Broderick, N. A. Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity / N. A. Broderick, K. F. Raffa, J. Handelsman – DOI 10.1073/pnas.0604865103 // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2006. – № 103(41). – P. 15196-15199.
168. Can biocontrol be the game-changer in integrated pest management? A review of definitions, methods and strategies / M. Galli, F. Feldmann, U. K. Vogler [et al.] – DOI 10.1007/s41348-024-00878-1 // Journal of Plant Diseases and Protection. – 2024. – № 131. – P. 265-291.

169. Chambers, C. B. Production of *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) in a heterologous host, *Thaumatotibia leucotreta* (Meyrick) (false codling moth): PhD thesis / Craig Brian Chambers. – Makhanda, 2014. – 130 p.
170. Chang, C. C. Ecological succession in a changing world / C. C. Chang, B. L. Turner – DOI 10.1111/1365-2745.13132 // Journal of Ecology. – 2019. – № 107(2). – P. 503-509.
171. Characterization of a Betabaculovirus from the fall webworm, *Hyphantria cunea* Drury. (*Lepidoptera: Erebidæ*), in Turkey / Z. Bayramoglu, R. Nalcacioglu, Z. Demirbag [et al.] – DOI 10.1080/09583157.2018.1520197 // Biocontrol Science and Technology. – 2018. – P. 1-13.
172. Chemical and biological stress factors on the activation of nucleopolyhedrovirus infections in covertly infected *Spodoptera exigua* / C. Virto, D. Navarro, M. M. Tellez [et al.] – DOI 10.1111/jen.12349 // Journal of Applied Entomology. – 2016. – № 141(5). – P. 384-392.
173. Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture / P. Nicolopoulou-Stamati, S. Maipas, C. Kotampasi [et al.] – DOI 10.3389/fpubh.2016.00148 // Frontiers in Public Health. – 2016. – P. 4.
174. Chen, S. Ultrafast one-pass FASTQ data preprocessing, quality control, and deduplication using fastp / S. Chen – DOI 10.1002/imt2.107 // iMeta. – 2023. – T. 2, № 2.
175. Chiu, E. Insect virus polyhedra, infectious protein crystals that contain virus particles / E. Chiu, F. Coulibaly, P. Metcalf – DOI 10.1016/j.sbi.2012.02.003 // Current Opinion in Structural Biology. – 2012. – № 22(2). – P. 234-240.
176. Codling moth *Cydia pomonella* (L.) (*Lepidoptera: Tortricidae*) management a potential threat to horticulture industry / A. Dar Showket, A. Padder Bilal, G. Mahendran [et al.] // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. – 2017. – № 6(3). – P. 312-319.
177. 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 [et al.] // Pest Management Science. – 2011. – T. 67, № 6. – P. 705-713.

178. Commercialization of Baculoviral Insecticides The Baculoviruses. The Viruses / B. C. Black, L. A. Brennan, P. M. Dierks [et al.]; edited by L. K. Miller. – Boston: Springer, 1997. – P. 341-387.
179. Comparative analysis of the four formulas commonly used for calculating the control efficacy of fungicides on disease in field trials / Xiong L.I., Zhang N., Li X. [et al.] – DOI 10.16801/j.issn.10087303.2021.0077 // Chinese Journal of Pesticide Science. – 2021. – № 23(3). – P. 492-498.
180. Comprehensive study on Wave bioreactor system to scale up the cultivation of and recombinant protein expression in baculovirus-infected insect cells / A. Ghasemi, A. Bozorg, F. Rahmati [et al.] – DOI 10.1016/j.bej.2018.12.011 // Biochemical Engineering Journal. – 2019. – № 143. – P. 121-130.
181. Contributions of cellular and humoral immunity of *Galleria mellonella* larvae in defence against oral infection by *Bacillus thuringiensis* / E. V. Grizanova, I. M. Dubovskiy, V. V. Glupov, M. M. A. Whitten – DOI 10.1016/j.jip.2014.04.003 // Journal of Invertebrate Pathology. – 2014. – Vol. 119. – P. 40-46. – EDN SPJAZR.
182. Cool-textured diets for use in baculovirus production / N. Zamora-Avilés, A. M. Martínez, S. Pineda [et al.] – DOI 10.1080/09583157.2017.1397598 // Biocontrol Science and Technology. – 2017. – № 27(11). – P. 1327-1338.
183. Covert Infection of Insects by Baculoviruses / T. Williams, C. Virto, R. Murillo [et al.] – DOI 10.3389/fmicb.2017.01337 // Frontiers in Microbiology. – 2017. – № 8.
184. CRISPR/Cas9-Mediated Disruption of the *lef8* and *lef9* to Inhibit Nucleopolyhedrovirus Replication in Silkworms / Y. Liu, X. Zhang, D. Chen [et al.] – DOI 10.3390/v14061119 // Viruses. – 2022. – № 14. – P. 1119.
185. Cross-talk between immunity and behavior: insights from entomopathogenic fungi and their insect hosts / W. Zhang, X. Chen, I. Eleftherianos [et al.] – DOI 10.1093/femsre/fuae003 // FEMS Microbiology Reviews. – 2024. – № 48(1). – P. fuae003.
186. *Cryptophlebia peltastica* nucleopolyhedrovirus is highly infectious to codling moth larvae and cells / J. T. Wennmann, M. Eigenbrod, T. Marsberg [et al.] – DOI

10.1128/aem.00795-19 // Applied and Environmental Microbiology. – 2019. – P. 85:e00795-19.

187. Culturing Insect Cells. Oxford Expression Technologies Ltd. – 2019. – URL: <https://www.oetltd.com/post/culturing-insect-cells> (дата обращения: 16.10.2024).

188. Current Status of Genetically Modified Baculovirus Insecticide for Pest Control / A. A. Muhammad, M. Salmah, H. Azian [et al.] – DOI 10.17576/jsm-2022-5102-11 // Sains Malaysiana. – 2022. – № 51(2). – P. 461-472.

189. *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 [et al.] – DOI 10.1128/aem.01998-08 // Applied and Environmental Microbiology. – 2008. – № 75(4). – P. 925-930.

190. Dar, S. A. Insect pest management by entomopathogenic fungi / S. A. Dar, B. A. Rather, A. A. Kandoo // Journal of entomology and zoology studies. – 2017. – Т. 5. – P. 1185-1190.

191. Darling, A. E. progressiveMauve: Multiple Genome Alignment with Gene Gain, Loss and Rearrangement / A. E. Darling, B. Mau, N. T. Perna – DOI 10.1371/journal.pone.0011147 // PLoS One. – 2010. – Т. 5, № 6. – P. e11147.

192. Deciphering Single Nucleotide Polymorphisms and Evolutionary Trends in Isolates of the *Cydia pomonella* granulovirus / J. Wennmann, P. Radtke, K. Eberle [et al.] – DOI 10.3390/v9080227 // Viruses. – 2017. – № 9(8). – P. 227.

193. Denlinger, D. L. Diapause. Encyclopedia of insects / D. L. Denlinger; edited by V. H. Resh, R. T. Cardé. – DOI 10.1016/B978-0-12-374144-8.00202-2. – San Deigo: Academic CA, 2009. – P. 267-271.

194. Denlinger, D. L. Insect Diapause / D. L. Denlinger. – Ohio: Cambridge University Press, 2022. – 723 p.

195. Development of an artificial diet with a mass-rearing and low-cost approach for *Spodoptera frugiperda* reproduction / J. González-Cabrera, Y. Contreras-Bermúdez, J. A. Sánchez-González [et al.] – DOI 10.1007/s42690-024-01228-2 // International Journal of Tropical Insect Science. – 2024. – № 44. – P. 1195-1205.

196. Diapause quantitative characterization of the codling moth *Cydia pomonella* L. in Cuauhtémoc, Chihuahua, México / J. L. Jacobo-Cuellar, G. Mora-Aguilera, M. R. Ramírez-Legarreta [et al.] // *Agrociencia*. – 2005. – № 39. – P. 221-229.
197. Direct and indirect host-related volatile compounds attract a fruit fly parasitoid, *Diachasmimorpha longicaudata* / F. Devescovi, P. C. Fernández, G. E. Bachmann [et al.] – DOI 10.1111/eea.13417 // *Entomologia Experimentalis et Applicata*. – 2024. – № 172(6). – P. 455-459.
198. Dyck, V. A. Rearing codling moth for the sterile insect technique / V. A. Dyck. – Rome: Food and agriculture organization of the united nations, 2010. – 199 p.
199. Dyczko, D. Entomopathogenic Fungi in Forest Habitats of *Ixodes ricinus* / D. Dyczko, K. Plewa-Tutaj, D. Kiewra – DOI 10.3390/insects15050341 // *Insects*. – 2024. – № 15(341).
200. 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 [et al.] – DOI 10.1111/eea.12499 // *Entomologia Experimentalis et Applicata*. – 2016. – № 161(2). – P. 112-120.
201. Effects of cover crops on the overwintering success of entomopathogenic nematodes and their antagonists / G. Jaffuel, R. Blanco-Pérez, L. Büchi [et al.] – DOI 10.1016/j.apsoil.2017.02.006 // *Applied Soil Ecology*. – 2017. – № 114. – P. 62-73.
202. Efficacy of *Helicoverpa Armigera* Nucleopolyhedrovirus on Soybean for Control of *Helicoverpa zea* (Boddie) (*Lepidoptera: Noctuidae*) in Arkansas Agriculture / J. L. Black, G. M. Lorenz, A. J. Cato [et al.] – DOI 10.3390/insects13010091 // *Insects*. – 2022. – № 13(1):91.
203. Efficacy of selected biopesticides on key pests of chilli pepper for increased productivity in Ghana / M. Adom, K. O.Fening, M. K. Billah [et al.] – DOI 10.1016/j.cropro.2023.106497 // *Crop Protection*. – 2024. – Vol. 176. – P. 106497.
204. Efficacy of *Trichogramma evanescens* and *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki in control of *Cydia pomonella* (L.) in Turkey / S. Öztemiz, A. Küden, S. Nas [et al.] – DOI 10.3906/tar-1701-124 // *Turkish journal of agriculture and forestry*. – 2017. – № 41. – P. 201-207.

205. Eli-Chukwu, N. C. Applications of Artificial Intelligence in Agriculture: A Review / N. C. Eli-Chukwu – DOI 10.48084/etasr.2756 // Engineering, Technology & Applied Science Research. – 2019. – № 9(4). – P. 4377-4383.
206. Elucidating the genetic diversity of *Phthorimaea operculella* granulovirus (PhopGV) / A. Larem, S. Ben-Tiba, J. T. Wennmann [et al.] – DOI 10.1099/jgv.0.001215 // Journal of General Virology. – 2019. – № 100. – P. 679-690.
207. 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 – 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.
208. Entomopathogenic fungi as microbial biocontrol agent / S. Khan, L. Guo, Y. Maimaiti [et al.] – DOI 10.5376/mpb.2012.03.0007 // Molecular Plant Breeding. – 2012. – T. 3, №. 7. – P. 63-79.
209. Entomopathogenic fungi in crops protection with an emphasis on bioactive metabolites and biological activities / M. Shahbaz, K. Palaniveloo, Y. Tan [et al.] – DOI 10.1007/s11274-024-04022-x // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2024. – № 40(217).
210. Entomopathogenic Nematodes and Their Symbiotic Bacteria from the National Parks of Thailand and Larvicidal Property of Symbiotic Bacteria against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* / Thanwisai A., Muangpat P., Meesil W. [et al.] – DOI 10.3390/biology11111658 // Biology. – 2022. – № 11. – P. 1658.
211. Entomopathogenic Nematodes. Integrated Pest Management. – 2013. – URL: <https://pnwhandbooks.org/insect/ipm/entomopathogenic-nematodes> (дата обращения: 17.05.2023).
212. Entomopathogenic pseudomonads can share an insect host with entomopathogenic nematodes and their mutualistic bacteria / M. Zwyssig, A. Spescha, T.

Patt [et al.] – DOI 10.1093/ismejo/wrae02 // The ISME Journal. – 2024. – Vol. 18, №1. – P. wrae028.

213. Entomopathogenic Viruses and Bacteria for Insect-Pest Control / C. S. Kalha, P. P. Singh, S. S. Kang [et al.] – DOI 10.1016/b978-0-12-398529-3.0001 // Integrated Pest Management. – 2014. – P. 22-244.

214. Entomopathogens and their role in insect pest management / K. A. Singh, I. Nangkar, A. Landge [et al.] – DOI 10.18311/jbc/2024/35752 // Journal of Biological Control. – 2024. – № 38(1). – P. 1-17.

215. Entomophagous insects: Predators and parasitoids that shape insect communities and offer valuable tools for insect pest management / D. F. Segura, M. F. Cingolani, E. Wajnberg [et al.] – DOI 10.1111/eea.13446 // Entomologia Experimentalis et Applicata. – 2024. – № 172. – P. 455-459.

216. Erturk, O. Studies on bacterial flora and biological control agent of *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) / O. Erturk, Z. Demirbag / African journal of biotechnology. – 2006. – Vol 5, № 22. – P. 2081-2085.

217. Expression, purification, and function of baculovirus infected insect cells-derived hookworm AIP-1 and AIP-2 proteins / C. E. Lee, H. J. Chung, D. W. Lee – DOI 10.1111/1748-5967.12760 // Entomological Research. – 2024. – № 54(8). – P. e12760.

218. Extracellular peptidases of insect-associated fungi and their possible use in biological control programs and as pathogenicity markers / T. A. Semenova, G. A. Beljakova, Y. E. Dunaevsky, M. A. Belozersky – DOI 10.1016/j.funbio.2019.11.005 // Fungal Biology. – 2020. – Vol. 124, № 1. – P. 65-72. – EDN YQUMNY.

219. Falcon, L. A. Electron Microscope Observations of Multiple Occluded Virions in the Granulosis Virus of the Codling Moth, *Cydia pomonella* / L. A. Falcon, R. T. Hess // Journal of invertebrate pathology. – 1985. – № 45. – P. 356-359.

220. Fan, J. Partial Loss of Inheritable Type I Resistance of Codling Moth to *Cydia pomonella* granulovirus / J. Fan, J. T. Wennmann, J. A. Jehle – DOI 10.3390/v11060570 // Viruses. – 2019. – № 11(6). – P. 570.

221. Fan, J. Population structure of *Cydia pomonella* granulovirus isolates revealed by quantitative analysis of genetic variation / J. Fan, J. A. Jehle, J. T. Wennmann – DOI 10.1093/ve/veaa073 // Virus Evolution. – 2020. – № 6(2). – P. veaa073.
222. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor / S. Chen, Y. Zhou, Y. Chen [et al.] – DOI 10.1002/imt2.107 // Bioinformatics. – 2018. – T. 34, № 17. – P. i884-i890.
223. Federici, B. A. Pathogens of insects. Encyclopedia of insects. Second Edition / B. A. Federici; edited by V. H. Resh, R. T. Cardé. – DOI 10.1016/B978-0-12-374144-8.00202-2. – San Deigo: Academic CA, 2009. – P. 757-765.
224. Ferrelli, M. L. Effects of Mixed Baculovirus Infections in Biological Control: A Comprehensive Historical and Technical Analysis / M. L. Ferrelli, R. Salvador – DOI 10.3390/v15091838 // Viruses. – 2023. – № 15(9). – P. 1838.
225. Gabrielaite, M. GenAPI: a tool for gene absence-presence identification in fragmented bacterial genome sequences / M. Gabrielaite, R. L. Marvig – DOI 10.1186/s12859-020-03657-5 // BMC Bioinformatics. – 2020. – T. 21, № 1. – P. 320.
226. Ganesan, A. Systematic approaches to machine learning models for predicting pesticide toxicity / A. Ganesan, M. Iyapparaja – DOI 10.1016/j.heliyon.2024.e28752 // – Heliyon. – 2024. – № 10(7). – P. e28752.
227. Gao, Y. Recent research progress and outlook on applications of Raman scattering in pest detection and control: Raman spectroscopy and its application in entomology / Y. Gao, M. L. Xu – DOI 10.1080/05704928.2024.2407112 // Applied Spectroscopy Reviews. – 2024. – P. 1-20.
228. Gasque, S. N. Where the baculoviruses lead, the caterpillars follow: Baculovirus-induced alterations in caterpillar behavior / S. N. Gasque, M. M. van Oers, V. I. Ros – DOI 10.1016/j.cois.2019.02.008 // Current Opinion in Insect Science. – 2019. – № 33. – P. 30-36.
229. Genetic Engineering of Baculoviruses. Current Issues in Molecular Virology. Viral Genetics and Biotechnological Applications / S. Haase, L. Ferrelli, M. Luis [et al.]; edited by V. Romanowski. – DOI 10.5772/56976 – Rijeka: InTech, 2013. – P. 79-233.

230. Genetic evidence of broad spreading of *Lymantria dispar* in the West Siberian Plain / V. Martemyanov, I. Belousova, Y. Akhanaev [et al.] – DOI 10.1371/journal.pone.0220954 // PLoS ONE. – 2019. – Т. 14, № 8. – С. e0220954.
231. GFinisher – Genome Finisher. Easy and rapid to improve, refine and close your genome assembly. – 2016. Режим доступа: <https://gfinisher.sourceforge.net/>.
232. GFinisher: a new strategy to refine and finish bacterial genome assemblies / D. Guizelini, R. T. Raittz, L. M. Cruz [et al.] – DOI 10.1038/srep34963 // Scientific reports. – 2016. – Т. 6, №. 1. – P. 34963.
233. Gismeteo. Прогноз погоды. Дневник погоды для школьников. – 2024. – URL: <https://www.gismeteo.ru/diary/5136/> (дата обращения: 06.03.2024).
234. GitHub. broadinstitute. pilon. – 2023. Режим доступа: <https://github.com/broadinstitute/pilon> (дата обращения: 30.01.2023).
235. GitHub. cguyomar. MinYS. – 2023. URL: <https://github.com/cguyomar/MinYS> (дата обращения: 30.01.2023).
236. GitHub. lh3. bwa. – 2024. URL: <https://github.com/lh3/bwa>.
237. GitHub. MigleSur. GenAPI. – 2023. URL: <https://github.com/MigleSur/GenAPI/tree/master> (дата обращения: 30.01.2023).
238. GitHub. ParBLiSS. FastANI. – 2023. URL: <https://github.com/ParBLiSS/FastANI> (дата обращения: 30.01.2023).
239. GitHub. talgalili. gplots. – 2023. URL: <https://github.com/talgalili/gplots> (дата обращения: 30.01.2023).
240. GitHub. tseemann. prokka. – 2023. URL: <https://github.com/tseemann/prokka> (дата обращения: 30.01.2023).
241. GoldenBac: a simple, highly efficient, and widely applicable system for construction of multi-gene expression vectors for use with the baculovirus expression vector system / J. Neuhold, K. Radakovics, A. Lehner [et al.] – DOI 10.1186/s12896-020-00616-z // BMC Biotechnology. – 2020. – № 20(1).
242. Goodman, C. L. Production of Baculoviruses for Insect Control Using Cell Culture. Insect Cell Biotechnology / C. L. Goodman, A. H. McIntosh; edited by K. Maramoroch, A. H. McIntosh. – Boston: CRC Press, 1994. – P. 33-56.

243. Goto, C. Two Year Field Study to Evaluate the Efficacy of *Mamestra brassicae* Nucleopolyhedrovirus Combined with Proteins Derived from *Xestia c-nigrum* Granulovirus / C. Goto, S. Mukawa, T. Mitsunaga – DOI 10.3390/v7031062 // Viruses. – 2015. – № 7(3). – P. 1062-1078.
244. Grigg, T. Billington R.A. The use of insect cell line Sf21 for ecotoxicity testing / T. Grigg, R. D. Handy – DOI 10.1007/s10646-024-02781-9 // Ecotoxicology. – 2024. – № 33. – P. 831-838.
245. Guidance document on Baculoviruses as plant protection products. – Текст: электронный // Organisation for Economic Co-operation and Development. – 2023. – URL: [https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO\(2023\)21/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO(2023)21/en/pdf) (дата обращения: 17.10.2024).
246. Gupta, R. K. Selection and Field Effectiveness of Nucleopolyhedrovirus Isolates Against *Helicoverpa armigera* (Hübner) / R. K. Gupta, J. C. Raina, R. K. Arora // International Journal of Virology. – 2007. – Vol.3. – P. 45-59.
247. Haase, S. Baculovirus Insecticides in Latin America: Historical Overview, Current Status and Future Perspectives / S. Haase, A. Sciocco-Cap, V. Romanowski – DOI 10.3390/v7052230 // Viruses. – 2015. – №7(5). – P. 2230-2267.
248. Hafsa, M. New insights on entomopathogenic bacteria isolated from soil of citrus crops to combat the polyphagous aphid pest *Hyalopterus pruni* (Geoffroy 1762) (Hemiptera, Aphididae) / M. Hafsa, L. A. Benfekih – DOI 10.1186/s41938-024-00817-0 // Egyptian Journal of Biological Pest Control. – 2024. – № 34(51).
249. Harrison, R. L. The *Parapoyx stagnalis* Nucleopolyhedrovirus (PastNPV), a Divergent Member of the Alphabaculovirus Group I Clade, Encodes a Homolog of Ran GTPase / R. L. Harrison, D. L. Rowley – DOI 10.3390/v14102289 // Viruses. – 2022. – № 14(10). – P. 2289.
250. Harvey, J. P. Biochemical and Biological Variation of *Cydia pomonella* (Codling Moth) Granulosis Virus / J. P. Harvey, L. E. Volkman // Virology. – 1983. – № 124. – P. 21-34.

251. Henderson C. F. Tests with acaricides against brown wheat mite / C. F. Henderson, E. W. Tilton // *Journal of Economic Entomology*. – 1955. – № 48. – P. 157-161.
252. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries / C. Jain, L. M. Rodriguez-R, A. M. Phillippy [et al.] – DOI 10.1038/s41467-018-07641-9 // *Nature communications*. – 2018. – Т. 9, №. 1. – P. 5114.
253. Host aphid immunosuppression by *Aphidius ervi* venom / E. Russo, A. Becchimanzi, G. Magoga [et al.] – DOI 10.1111/eea.13446 // *Entomologia Experimentalis et Applicata*. – 2024. – № 172(6). – P. 455-459.
254. How plant composition in margins influences the assemblage of pests and predators and its effect on biocontrol in melon fields / J. A. Sanchez, L. de Pedro, E. López-Gallego [et al.] – DOI 10.1038/s41598-024-63985-x // *Scientific Reports*. – 2024. – № 14(13094).
255. Howell, J. F. Rearing codling moths on an artificial diet in trays / J. F. Howell, A. E. Clift // *Journal of Economic Entomology*. – 1972. – № 65. – P. 888-890.
256. ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Baculoviridae* / R. L. Harrison, E. A. Herniou, J. A. Jehle [et al.] – DOI 10.1099/jgv.0.001107 // *Journal of General Virology*. – 2018. – № 99. – P. 1185-1186.
257. ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. – 2024. – URL: <https://ictv.global/report> (дата обращения: 16.10.2024).
258. Identification and characterization of the *Cydia pomonella* granulovirus cathepsin and chitinase genes / W. Kang, M. Tristem, D. R. O'Reilly [et al.] – DOI 10.1099/0022-1317-79-9-2283 // *Journal of General Virology*. – 1998. – № 79(9). – P. 2283-2292.
259. Importance of Host Feeding in the Biological Control of Insect Pests: Case Study of Egg Parasitoid Species (*Hymenoptera: Chalcidoidea: Trichogrammatidae*) / T. Cabello, J. R. Gallego, I. Lopez [et al.] – DOI 10.3390/insects15070496 // *Insects*. – 2024. – № 15(7). – P. 496.
260. Importance of the Host Phenotype on the Preservation of the Genetic Diversity in Codling Moth Granulovirus / B. Graillot, C. Blachère-Lopez, S. Besse [et al.]

– DOI 10.3390/v11070621 // Viruses. Special Issue: Insect Viruses and Pest Management.
– 2019. – № 11 (7). – P. 621.

261. Inceoglu, A. B. Genetically Modified Baculoviruses: A Historical Overview and Future Outlook / A. B. Inceoglu, S. G. Kamita, B. D. Hammock – DOI 10.1016/s0065-3527(06)68009-3 // Insect Viruses: Biotechnological Applications. – 2006. – P. 323-360.

262. Influence of Some Fruit Traits on Codling Moth (*Cydia pomonella* L.) Preference among Apple Varieties in Two Contrasted Climatic Conditions / D. Akroute, A. Douaik, K. Habbadi [et al.] – DOI 10.3390/horticulturae9070788 // Horticulturae. – 2023. – № 9(7):788.

263. Insect cell culture medium. Clinisciences. – 2024. – URL: <https://www.clinisciences.com/en/buy/cat-insect-cell-culture-medium-6220.html> (дата обращения: 16.10.2024).

264. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future / L. A. Lacey, D. Grzywacz, D. I. Shapiro-Ilan [et al.] – DOI 10.1016/j.jip.2015.07.00 // Journal of Invertebrate Pathology. – 2015. – № 132. – P. 1-41.

265. Insect pest management with sex pheromone precursors from engineered oilseed plants / H.-L. Wang, B.-J. Ding, J.-Q. Dai [et al.] – DOI 10.1038/s41893-022-00949-x // Nature Sustainability. – 2022. – Vol. 5. – P. 981-990.

266. Insecticidal potential of *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* individually and their synergistic effect with barazide against *Spodoptera litura* / A. Sharma, N. Thakur, A. Hashem [et al.] – DOI 10.1016/j.heliyon.2024.e37175 // Heliyon. – 2024. – Vol. 10, № 17. – P. e37175.

267. Insecticide Susceptibility and Detoxification Enzyme Activity of *Frankliniella occidentalis* under Three Habitat Conditions / R. Fan, Z. Fan, Z. Sun [et al.] – DOI 10.3390/insects14070643 // Insects. – 2023. – № 14(643).

268. Intra-specific and inter-specific recombination of tortricid-specific granuloviruses during co-infection in insect larvae / J. A. Jehle, E. Fritsch, J. Huber [et al.] // Archives of virology. – 2003. – P.148.

269. Iraqui, S. E. Assessment of control strategies against *Cydia pomonella* (L.) in Morocco / S. E. Iraqui, M. Hmimina – DOI 10.1515/jppr-2016-0012 // Journal of Plant Protection Research. – 2016. – № 56(1). – P. 82-88.
270. Ishimwe, E. Expression of the *Cydia pomonella* granulovirus matrix metalloprotease enhances *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus virulence and can partially substitute for viral cathepsin / E. Ishimwe, J. J. Hodgson, A. L. Passarelli – DOI 10.1016/j.virol.2015.02.022 // Virology. – 2015. – № 481. – P. 166-178.
271. ITOL Interactive Tree Of Life. – 2023. – URL: <https://itol.embl.de/> (дата обращения: 30.01.2023).
272. Ivaldi-Sender, C. Techniques simples pour élevage permanent de la tordeuse orientale, *Grapholita molesta* (Lep., Tortricidae), sur milieu artificiel / C. Ivaldi-Sender // Annales de Zoologie Ecologie Animale. – 1974. – № 6. – P. 337-343.
273. Jehle, J. A. The Future of *Cydia pomonella* Granulovirus in Biological Control of Codling Moth / J. A. Jehle // 13th International Conference «Ecofruit. Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing», Weinsberg, 18-20 February, 2008. P. 265-270.
274. Job Dispatcher. EMBL's European Bioinformatics Institute. – 2024. – URL: https://www.ebi.ac.uk/Tools/phylogeny/simple_phylogeny/ (дата обращения: 02.05.2023).
275. Journey of enzymes in entomopathogenic fungi / S. Mondal, S. Baksi, A. Koris [et al.] – DOI 10.1016/j.psra.2016.10.001 // Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering. – 2016. – № 18(2). – P. 85-99.
276. Killiny, N. Generous hosts: Why the larvae of greater wax moth, *Galleria mellonella* is a perfect infectious host model? / N. Killiny – DOI 10.1080/21505594.2018.1454172 // Virulence. – 2018. – № 9(1). – P. 860-865.
277. Kishore, J. Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate / J. Kishore, M. Goel, P. Khanna – DOI 10.4103/0974-7788.76794 // International Journal of Ayurveda Research. – 2010. – № 1(4). – P. 274.

278. Koppenhöfer, A. M. Entomopathogenic Nematodes in Sustainable Food Production / A. M. Koppenhöfer, D. I. Shapiro-Ilan, I. Hiltbold – DOI 10.3389/fsufs.2020.00125 // Frontiers in Sustainable Food Systems. – 2020. – № 4.
279. Labaude, S. Transmission Success of Entomopathogenic Nematodes Used in Pest Control / S. Labaude, C. Griffin – DOI 10.3390/insects9020072 // Insects. – 2018. – № 9(2). – P. 72.
280. Lacey, L. A. Effect of Temperature on Long-Term Storage of Codling Moth Granulovirus Formulations / L. A. Lacey, H. L. Headrick, S. P. Arthurs – DOI 10.1093/jee/101.2.288 // Journal of Economic Entomology. – 2008. – № 101(2). – P. 288-294.
281. Lalita, Y. K. Seasonal incidence of Greater wax moth, *Galleria mellonella* Linnaeus in *Apis mellifera* colonies in ecological condition of Hisar / Y. K. Lalita, Y. Sunita // Journal of Entomology and Zoology Studies. – 2018. – Vol. 6, № 1. – P. 790-795.
282. Lander, E. S. Genomic mapping by random fingerprinting clones: a mathematical analysis / E. S. Lander, M. S. Waterman // Genomics. – 1998. – № 2. – P. 231-239.
283. Li, Y. Entomopathogenic nematodes in insect pest biocontrol: Diversity and function of excretory/secretory proteins / Y. Li, S.-Y. Wu – DOI 10.1016/j.jip.2024.108205 // Journal of Invertebrate Pathology. – 2024. – Vol. 207. – P. 108205.
284. Machine learning - based q-RASAR modeling to predict acute contact toxicity of binary organic pesticide mixtures in honey bees / M. Chatterjee, A. Banerjee, S. Tosi [et al.] – DOI 10.1016/j.jhazmat.2023.132358 // Journal of Hazardous Materials. – 2023. – № 460. – P. 132358.
285. Maggi, C. Codling Moth (*Cydia pomonella*) Biology, and Integrated Pest Management / C. Maggi, R. Chreil // Tree Fruit Insects. – 2023. – № 1. – P. 1-12.
286. Mahamudul Hashan, A. Apple Leaf Disease Classification Using Image Dataset: a Multilayer Convolutional Neural Network Approach / A. Mahamudul Hashan,

R. Md Rakib Ul Islam, K. Avinash – DOI 10.15622/ia.21.4.3 // Informatics and Automation. – 2022. – Vol. 21, №. 4. – P. 710-728.

287. Mansour, M. Development and reproduction of *Trichogramma cacoeciae* Marchal, 1927 (*Hymenoptera: Trichogrammatidae*) on *Cydia pomonella* (Linnaeus, 1758) (*Lepidoptera: Tortricidae*) eggs / M. Mansour – DOI 10.2478/pjen-2019-0003 // Polish Journal of Entomology. – 2019. – № 88(1). – P. 25-39.

288. Manufacturing of recombinant adeno-associated viruses using mammalian expression platforms / M.-A. Robert, P. S. Chahal, A. Audy [et al.] – DOI 10.1002/biot.201600193 // Biotechnology Journal. – 2017. – № 12(3). – P. 1600193.

289. Mascarin, G. M. Insecticidal Activity of the Granulosis Virus in Combination with Neem Products and Talc Powder Against the Potato Tuberworm *Phthorimaea operculella* (Zeller) (*Lepidoptera: Gelechiidae*) / G. M. Mascarin, I. Delalibera – DOI 10.1007/s13744-012-0044-x // Neotropical Entomology. – 2012. – № 41(3). – P. 223-231.

290. Microbial pesticides – challenges and future perspectives for testing and safety assessment with respect to human health / K. Wend, L. Zorrilla, F. M. Freimoser [et al.] – DOI 10.1186/s12940-024-01090-2 // Environ Health. – 2024. – № 23(1):49.

291. MinYS: mine your symbiont by targeted genome assembly in symbiotic communities / C. Guyomar, W. Delage, F. Legeai [et al.] – DOI 10.1093/nargab/lqaa047 // NAR Genomics Bioinforma. – 2020. – T. 2, № 3.

292. Misra, A. K. Modeling the effects of baculovirus to control insect population in agricultural fields / A. K. Misra, A. Yadav, M. Sajid – DOI 10.1016/j.matcom.2023.12.002 // Mathematics and Computers in Simulation. – 2024. – Vol. 218. – P. 420-434.

293. Mohamad, F. Effects of biological and environmental factors on sex ratio in *Ascogaster quadridentata* Wesmael (*Hymenoptera: Braconidae*), a parasitoid of *Cydia pomonella* L. (*Tortricidae*) / F. Mohamad, M. Mansour, A. Ramadan – DOI 10.1515/jpppr-2015-0019 // Journal of Plant Protection Research. – 2015. – № 55(2). – P. 151-155.

294. Molecular and biological characterization of new isolates of *Cydia pomonella* granulovirus from Iran / M. Rezapanah, S. Shojai-Estabragh, J. Huber [et al.]

– DOI 10.1007/s10340-008-0204-2 // Journal of Pest Science. – 2008. – № 81(4). – P. 187-191.

295. More than a colour change: Insect melanism, disease resistance and fecundity / I. M. Dubovskiy, V. Y. Kryukov, O. N. Yaroslavtseva [et al.] – DOI 10.1098/rspb.2013.0584 // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2013. – Vol. 280, № 1763. – P. 20130711. – EDN PQTVTJ.

296. Morphomolecular characterization of invasive fruit borer infesting apple / D. Aziz, I. Ahad, Z. A. Shah [et al.] – DOI 10.1038/s41598-024-61585-3 // Scientific Reports. – 2024. – T. 14. – №. 1. – P. 11972.

297. Muminova, R. Malus Pests and Diseases / R. Muminova – DOI 10.33619/2414-2948/90/22 // Bulletin of Science and Practice. – 2023. – Vol. 9, № 5. – P. 175-180. – EDN ULXSZG.

298. Murhammer, D. W. Baculovirus and Insect Cell Expression Protocols. Methods in Molecular Biology / D. W. Murhammer. – DOI 10.1007/978-1-4939-3043-2 – New York: Humana New York, 2016. – 502 p.

299. Murillo, R. Evidence for covert baculovirus infections in a *Spodoptera exigua* laboratory culture / R. Murillo, M. S. Hussey, R. D. Possee – DOI 10.1099/vir.0.028027-0 // Journal of General Virology. – 2011. – № 92(5). – P. 1061-1070.

300. Myco-biocontrol of insect pests: factors involved, mechanism, and regulation / S. S. Sandhu, A. K. Sharma, V. Beniwal [et al.] – DOI 10.1155/2012/126819 // Journal of pathogens. – 2012. – T. 2012.

301. National Library of Medicine. Nucleotide. *Cryptophlebia leucotreta* granulovirus, complete genome. NCBI Reference Sequence: NC_005068. – 2022. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_005068 (дата обращения: 30.01.2023).

302. National Library of Medicine. Nucleotide. *Cydia pomonella* granulovirus, complete genome. NCBI Reference Sequence: NC_002816.1. – 2017. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_002816 (дата обращения: 30.01.2023).

303. National Library of Medicine. Welcome to NCBI. – 2024. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения: 30.02.2024).

304. NCBI Virus. NCBI Visual Data Dashboard. – 2024. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/virus/vssi/#/find-data/virus> (дата обращения: 30.01.2023).

305. 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).

306. NIAB. Codling moth (*Cydia pomonella* L.). – 2023. URL: <https://www.niab.com/codling-moth-cydia-pomonella-l> (дата обращения: 30.01.2023).

307. Novel diversity and virulence patterns found in new isolates of *Cydia pomonella* granulovirus from China / J. Fan, J. T. Wennmann, D. Wang [et al.] – DOI 10.1128/aem.02000-19 // Applied and Environmental Microbiology. – 2020. – T. 86, № 2. – P. e02000-19.

308. 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 [et al.] – DOI 10.1371/journal.pone.0179157 // Plos one. – 2017. – № 12(6). – P. e0179157.

309. 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 [et al.] – DOI 10.1111/jen.12230 // Journal of Applied Entomology. – 2015. – № 140(1-2). – P. 142-149.

310. Nucleopolyhedroviruses of forest and western tent caterpillars: cross-infectivity and evidence for activation of latent virus in high-density field populations / D. Cooper, J. S. Cory, D. A. Theilmann [et al.] – DOI 10.1046/j.1365-2311.2003.00474 // Ecological Entomology. – 2003. – № 28(1). – P. 41-50.

311. Occurrence of granulovirus infecting *Cydia pomonella* in high altitude cold arid region of India / B. Hussain, K. Z. Masoodi, A. R. War [et al.] – DOI 10.1007/s13337-020-00638-3 // VirusDisease. – 2020.

312. Odendaal, D. Control of Codling Moth (*Cydia pomonella*) (*Lepidoptera: Tortricidae*) in South Africa with Special Emphasis on Using Entomopathogenic

Nematodes / D. Odendaal, M. F. Addison, A. P. Malan – DOI 10.4001/003.023.0224 // African Entomology. – 2015. – № 23(2). – P. 259-274.

313. Overcoming the resistance of codling moth against conventional *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV-M) by a new isolate CpGV-I12 / K. E. Eberle, S. Asser-Kaiser, S. M. Sayed [et al.] – DOI 10.1016/j.jip.2008.03.003 // Journal of Invertebrate Pathology. – 2008. – № 98(3). – P. 293-298.

314. Patent № US 10301602 B2. MIIK C12N7/00. Production of virus occlusion bodies that occlude virions comprising genomes of different species of baculoviruses that can be used to combat insect pests: № US15/024,207: Application : 23.09.2013. Publication: 26.03.2015 / P. C. Murillo, I. Beperet, O. S. De Goñi [et al.] ; Applicants: Consejo Superior de Investigaciones Cientificas CSIC, Universidad Publica de Navarra, Association pour la Recherche et le Developpement des Methodes et Processus Industriels, Instituto de Ecologia AC. – URL: <https://patentscope.wipo.int/search/en/WO2015039704>.

315. Patent № US 7521219 B2. MIIK C12N7/02. Method of producing baculovirus: № US10/578,197: Application : 10.11.2004. Publication: 21.04.2009 / S. Reid, L. Lua ;. Applicants: The University Of Queensland. – URL: <https://patents.google.com/patent/WO2005045014A1/zh>.

316. Pathogenicity of three entomopathogenic fungi, to the aphid species, *Metopolophium dirhodum* (Walker) (*Hemiptera: Aphididae*), and their Alkaline protease activities / O. Abdelaziz, M. M. Senoussi, A. Oufroukh, A. K. Birgücü, İ. Karaca, F. Kouadri, B. Naima, A. Bensegueni // Egyptian Journal of Biological Pest Control. – 2018. – № 28(1). – P. 24

317. Petrova, V. Productive manifestations and sensitivity to codling moth (*Cydia (Laspeyresia) pomonella* (L.) of apple cultivars and hybrids / V. Petrova, S. Dimitrova, D. Sotirov – DOI 10.15547/ast.2024.02.018 // Agricultural Science and Technology. – 2024. – Vol. 16, № 2. – P. 60-66. – EDN FHMRJI.

318. Phylogenomics of braconid wasps (*Hymenoptera, Braconidae*) sheds light on classification and the evolution of parasitoid life history traits / J. M. Jasso-Martínez,

B. F. Santos, A. Zaldívar-Riverón [et al.] – DOI 10.1016/j.ympev.2022.107452 // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2022. – Vol. 173. – P. 107452.

319. Pilon: An Integrated Tool for Comprehensive Microbial Variant Detection and Genome Assembly Improvement / B. J. Walker, T. Abeel, T. Shea [et al.] – DOI 10.1371/journal.pone.0112963 // PLoS One. – 2014. – T. 9, № 11. – P. e112963.

320. PluriBAC: A Versatile Baculovirus-Based Modular System to Express Heterologous Genes in Different Biotechnological Platforms / L. C. Amorós Morales, A. Marchesini, S. M. Gómez Bergna [et al.] – DOI 10.3390/v15101984 // Viruses. – 2023. – № 15(10). – P. 1984.

321. Potential Health Effects of Pesticides. PennState Extension. – 2022. – URL: <https://extension.psu.edu/potential-health-effects-of-pesticides> (дата обращения: 03.03.2023).

322. Potential of betabaculoviruses to control the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) / J. A. Gómez Valderrama, G. Barrera, M. López-Ferber [et al.] – DOI 10.1111/jen.12406 // Journal of Applied Entomology. – 2017. – № 142(1-2). – P. 67-77.

323. Price, R. H. M. Association between viral seasonality and meteorological factors / R. H. M. Price, C. Graham, S. Ramalingam – DOI 10.1038/s41598-018-37481-y // Scientific Reports. – 2019. – Vol. 9, № 929.

324. Production of Entomopathogenic Nematodes / A. Peters, R. Han, X. Yan [et al.] – DOI 10.1016/b978-0-12-803527-6.000 // Microbial Control of Insect and Mite Pests. – 2017. – P. 157-170.

325. Production of Insecticidal Baculoviruses in Insect Cell Cultures: Potential and Limitations / J. D. Claus, V. V. Gioria, G. A. Micheloud [et al.]; edited by S. Soloneski, M. L. Larramendy. – Croatia: InTechJaneza, 2012. – P. 7-152.

326. Progressive Adaptation of a CpGV Isolate to Codling Moth Populations Resistant to CpGV-M / B. Graillot, M. Berling, C. Blachere-López [et al.] – DOI 10.3390/v6125135 // Viruses. – 2014. – № 6(12). – P. 5135-5144.

327. Protein-Gene Orthology in *Baculoviridae*: An Exhaustive Analysis to Redefine the Ancestrally Common Coding Sequences / C. S. Cerrudo, L. F. Motta, F. U.

Cuccovia Warlet [et al.] – DOI 10.3390/v15051091 // Viruses. – 2023. – № 15(5). – P. 1091.

328. ПроБизнес 72. Рынок яблок в России и мире. – 2022. – URL: <https://www.pbs72.ru/articles/mneniya/rynok-yablok-v-rossii-i-mire/> (дата обращения: 27.05.2022).

329. QCAST: Quality assessment tool for genome assemblies / A. Gurevich, V. Saveliev, N. Vyahhi, G. Tesler – DOI 10.1093/bioinformatics/btt086 // Bioinformatics. – 2013. – Vol. 29, № 8. – P. 1072-1075. – EDN RFDQML.

330. Quicke, D. L. J. The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps: biology, Systematics, Evolution and Ecology / D. L. J. Quicke – DOI 10.1002/9781118907085. – Chennai: John Wiley & Sons, Ltd, 2014. – 730 p.

331. Reach24h. 年我国新农药（有效成分）登记汇总，涉及19个制剂产品（含登记特点） [=Краткая информация о регистрации новых пестицидов (активных ингредиентов) в Китае в 2019 году, включающая 19 препаратов (включая регистрационные характеристики)] – 2023. – URL: <https://www.reach24h.com/agrochemical/industry-news/new-pesticide-registrations-2023> (дата обращения: 17.10.2024).

332. 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 [et al.] – DOI 10.1111/1744-7917.12289 // Insect Science. – 2016. – № 24(3). – P. 397-408.

333. Research and market. Global biopesticides market by type (bioinsecticides, biofungicides, bionematicides), crop type (cereals & grains, oilseeds & pulses), formulation (liquid and dry), source (microbials, biochemicals) mode of application, region – forecast. – 2024. – URL: <https://www.researchandmarkets.com/report/biopesticide#reld0-5820923> (дата обращения: 17.10.2024).

334. Research Nester. Global Market Size, Forecasts and Trend Highlights Over 2025-2037. – 2021. – URL: <https://www.researchnester.com/reports/virus-based-biopesticides-market/3405> (дата обращения: 04.07.2021).

335. Researchgate. Modern Techniques of Pest Management – Текст: электронный // Priya S., Bhatt K., Anand Ray M. [et al.]. – 2023. – URL: https://www.researchgate.net/publication/375914805_Modern_Techniques_of_Pest_Management#fullTextFileContent (дата обращения: 14.10.2024).
336. Resistance to bio-insecticides or how to enhance their sustainability: a review / M. Siegwart, B. Graillot, C. Blachere Lopez [et al.] – DOI 10.3389/fpls.2015.00381 // Frontiers in Plant Science. – 2015. – № 6. P. 1-19.
337. Resistance to *Cydia pomonella* granulovirus follows a geographically widely distributed inheritance type within Europe / T. Zichová, J. Stará, J. K. Kundu [et al.] // BioControl. – 2013. – № 58 (4). – P. 525-534.
338. Rezapanah, M. Screening *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) isolates via comparative bioassays / M. Rezapanah – DOI 10.21859/isv.9.3.1 // Iranian Journal of Virology. – 2015. – № 9(3). – P. 1-5.
339. Rohrmann, G. F. Baculovirus Molecular Biology: 3nd. Edition / G. F. Rohrmann. – Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2013. – 78 p.
340. Rp5.ru. Архив погоды в Славянске-на-Кубани. – 2024. – URL: https://rp5.ru/%D0%90%D1%80%D1%85%D0%B8%D0%B2_%D0%BF%D0%BE%D0%B3%D0%BE%D0%B4%D1%8B_%D0%B2_%D0%A1%D0%BB%D0%B0%D0%B2%D1%8F%D0%BD%D1%81%D0%BA%D0%B5-%D0%BD%D0%B0-%D0%9A%D1%83%D0%B1%D0%B0%D0%BD%D0%B8 (дата обращения: 18.10.2024).
341. Ruiu, L. Microbial biopesticides in agroecosystems / L. Ruiu – DOI 10.3390/agronomy8110235 // Agronomy. – 2018. – Т. 8. – №. 11. – P. 235.
342. Ryan, M. An interdisciplinary approach to artificial intelligence in agriculture / M. Ryan, G. Isakhanyan, B. Tekinerdogan – DOI 10.1080/27685241.2023.2168568 // NJAS: Impact in Agricultural and Life Sciences. – 2023. – № 95(1).
343. Samtools. – 2023. – URL: <http://www.htslib.org/> (дата обращения: 31.01.2023).

344. Sauer, A. J. Novel types of resistance of codling moth to *Cydia pomonella* granulovirus: PhD thesis / Sauer Annette Juliane. – Darmstadt, 2017. – 130 p.
345. Seemann, T. Prokka. Rapid prokaryotic genome annotation / T. Seemann – DOI 10.1093/bioinformatics/btu153 // Bioinformatics. – 2014. – T. 30, № 14. – P. 2068-2069.
346. Shapiro, M. Effect of Two Granulosis Viruses on the Activity of the Gypsy Moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) Nuclear Polyhedrosis Virus / M. Shapiro // Biological and microbial control. – 2000. – Vol. 96, № 6. – P. 1633-1637.
347. Shapiro-Ilan, D. I. Entomopathogenic Nematodes as Biological Control Agents / D. I. Shapiro-Ilan, E. E. Lewis – DOI 10.1079/9781800620322.0000. – Boston: CAB International, 2024. – 543 p.
348. Sharon, D. Advancements in the design and scalable production of viral gene transfer vectors / D. Sharon, A. Kamen – DOI 10.1002/bit.26461 // Biotechnology and Bioengineering. – 2017. – № 115(1). – P. 25-40.
349. Shaw Stewart, P. D. Seasonality and selective trends in viral acute respiratory tract infections / P. D. Shaw Stewart – DOI 10.1016/j.mehy.2015.11.005 // Medical Hypotheses. – 2016. – Vol. 86. – P. 104-119.
350. Side effects of traditional pesticides on soil microbial respiration in orchards on the russian black sea coast / N. N. Karpun, E. B. Yanushevskaya, Y. V. Mikhailova [et al.] – DOI 10.1111/epp.13019 // Current Protocols Chemosphere. – 2021. – T. 275. – № 1. – C. 130040.
351. Significance and interpretation of molecular diagnostics for insecticide resistance management of agricultural pests / T. Van Leeuwen, W. Dermauw, K. Mavridis [et al.] – DOI 10.1016/j.cois.2020.03.006 // Current Opinion in Insect Science. – 2020. – Vol., № 39. – P. 69-76.
352. Single nucleotide polymorphism (SNP) frequencies and distribution reveal complex genetic composition of seven novel natural isolates of *Cydia pomonella* granulovirus / J. Fan, J. T. Wennmann, D. Wang [et al.] – DOI 10.1016/j.virol.2019.11.016 // Virology. – 2020. – T. 541. – P. 32-40.

353. SmartBac, a new baculovirus system for large protein complex production / Y. Zhai, D. Zhang, L. Yu [et al.] – DOI 10.1016/j.yjsbx.2019.100003 // Journal of Structural Biology. – 2019. – № X. – P. 100003.
354. Smith, I. R. L. In Viva Isolation of Baculovirus Genotypes / I. R. L. Smith, N. E. Crook // Virology. – 1988. – № 166. – P. 240-244.
355. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing / A. Bankevich, S. Nurk, D. Antipov [et al.] – DOI 10.1089/cmb.2012.0021 // Journal of Computational Biology. – 2012. – Vol. 19, № 5. – P. 455-477. – EDN PDOPXT.
356. Species Composition of Phytophagous and Entomophagous Insects and Mites on Soybeans in Krasnodar and Stavropol Territories, Russia / I. S. Agasyeva, V. Ya. Ismailov, M. V. Petrishcheva [et al.] – DOI 10.3390/agronomy14071440 // Agronomy. – 2024. – Vol. 14, № 7. – P. 1440. – EDN W XKJBG.
357. Statista. Number of registered agricultural chemicals in Japan in the agricultural year 2019, by type. – 2019. – URL: <https://www.statista.com/statistics/1361765/japan-number-registered-agricultural-chemicals-by-type/> (дата обращения: 31.01.2024).
358. Suitability of different artificial diets for mass rearing of six lepidopteran pest species / E. Strydom, A. Erasmus, H. D. Plessis [et al.] – DOI 10.1007/s42690-024-01292-8 // International Journal of Tropical Insect Science. – 2024. – Vol. 44. – P. 2403-241.
359. Sun, X. History and Status of Development and Use of Viral Insecticides in China / X. Sun – DOI 10.3390/v7010306 // Viruses. – 2015. – № 7(1). P. 306-319.
360. Szewczyk, B. Baculovirus biopesticides - a safe alternative to chemical protection of plants / B. Szewczyk, L. Rabalski, E. Krol // Journal of Biopesticides. – 2009. – Vol. 2(2). – P. 209-216.
361. Testing local isolates of entomopathogenic nematodes against the green stink bug *Nezara viridula* L / M. V. Pushnya, E. Yu. Rodionova, I. V. Balakhnina [et al.] – DOI 10.5424/sjar/2023213-20239 // Spanish Journal of Agricultural Research. – 2023. – Vol. 21, № 3. – P. 1001. – EDN EEBAJE.

362. The Application of Entomophagous and Acariphagous Species in Biological Protection Systems of an Apple Orchard (*Malus domestica* Borkh) / V. Ya. Ismailov, I. S. Agasieva, A. S. Nastasy [et al.] – DOI 10.3390/horticulturae9030379 // Horticulturae. – 2023. – Vol. 9, № 3. – P. 379. – EDN DXTYIT.

363. The atomic structure of baculovirus polyhedra reveals the independent emergence of infectious crystals in DNA and RNA viruses / F. Coulibaly, E. Chiu, S. Gutmann [et al.] – DOI 10.1073/pnas.0910686106 // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2009. – № 106(52). – P. 22205-22210.

364. The complete genome and biological activity of a novel *Spodoptera litura* multiple nucleopolyhedrovirus for controlling *Spodoptera frugiperda* / Z. Shi, Y. Li, Sh. Wu [et al.] – DOI 10.1016/j.biocontrol.2023.105412 // Biological Control. – 2024. – Vol.188. – P. 105412.

365. The *Cryptophlebia leucotreta* Granulovirus – 10 Years of Commercial Field Use / S. Moore, W. Kirkman, G. Richards [et al.] – DOI 10.3390/v7031284 // Viruses. – 2015. – № 7(3). – P. 1284-1312.

366. the Darling lab | computational (meta)genomics. Mauve. – 2023. – URL: <https://darlinglab.org/mauve/mauve.html> (дата обращения: 30.01.2023).

367. The Impact of a Cypovirus on Parental and Filial Generations of *Lymantria dispar* L / Y. B. Akhanaev, S. V. Pavlushin, D. D. Kharlamova [et al.] – DOI 10.3390/insects14120917 // Insects. – 2023. – Vol. 14, №. 12. – EDN HWJRCW.

368. The method used to culture host cells (Sf9 cells) can affect the qualities of baculovirus budding particles expressing recombinant proteins / T. Hattori, K. Nakanishi, T. Mori [et al.] – DOI 10.1080/09168451.2015.1101331 // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. – 2015. – № 80(3). – P. 445-451.

369. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools / H. Li, B. Handsaker, A. Wysoker [et al.] – DOI 10.1093/bioinformatics/btp352 // Bioinformatics. – 2009. – Vol. 25, № 16. – P. 2078-2079.

370. The untapped potential of cell culture in disentangling insect-microbial relationships / C. V. Macpherson, B. A. Daisley, E. Mallory [et al.] – DOI 10.20517/mrr.2023.66 // Microbiome Research Reports. – 2024. – № 3:20.

371. The use of baculovirus *Spodoptera* SfMNPV alone and combined with herbicides and adjuvant to control *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (*Lepidoptera: Noctuidae*) / R. M. A. Maciel, P. G. G. Luski, W. P. Sutil [et al.] – DOI 10.1016/j.biocontrol.2023.105408 // Biological Control. – 2024. – Vol. 188. – P. 105408.
372. 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 [et al.] – DOI 10.1128/aem.01036-17 // Applied and Environmental Microbiology. – 2017. – № 83(17).
373. Toba, H. H. An improved system for mass-rearing codling moths / H. H. Toba, J. F. Howell // Journal of the Entomological Society of British Columbia. – 1991. – № 88. – P. 22-27.
374. Transgenic *Metarhizium* rapidly kills mosquitoes in a malaria-endemic region of Burkina Faso / B. Lovett, E. Bilgo, S. A. Millogo [et al.] – DOI 10.1126/science.aaw8737 // Science. – 2019. – № 364(6443). – P. 894-897.
375. Tsai, C. J.-Y. *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing / C. J.-Y. Tsai, J. M. S. Loh, T. Proft – DOI 10.1080/21505594.2015.1135289 // Virulence. – 2016. – № 7(3). – P. 214-229.
376. Twelve years of SAMtools and BCFtools. GigaScience / P. Danecek, J. K. Bonfield, J. Liddle [et al.] – DOI 10.1093/gigascience/giab008 // Gigascience. – 2021. – T. 10, № 2.
377. Using Next Generation Sequencing to Identify and Quantify the Genetic Composition of Resistance-Breaking Commercial Isolates of *Cydia pomonella* Granulovirus / G. Alletti, A. Sauer, B. Weihrauch [et al.] – DOI 10.3390/v9090250 // Viruses. – 2017. – № 9(9). – P. 250.
378. Using SPAdes De Novo Assembler / A. Prjibelski, D. Antipov, D. Meleshko [et al.] – DOI 10.1002/cpbi.102 // Current Protocols Bioinformatics. – 2020. – T. 70. – № 1.
379. Vahedi, H.-A. *Lepidopter Parasitoidea* / H.-A. Vahedi, J. Valipour, A. Ali Zamani – DOI 10.5772/intechopen.86381 // Trends in Integrated Insect Pest Management. – 2020.

380. Van Beek, N. Baculovirus Insecticide Production in Insect Larvae / N. Van Beek, D. C. Davis – DOI 10.1007/978-1-4939-3043-2_20 // Baculovirus and Insect Cell Expression Protocols. – 2016. – P. 393-405.
381. Viral and cellular determinants of polarized trafficking of viral envelope proteins from insect-specific and insect-vectored viruses in insect midgut and salivary gland cells / J. J. Hodgson, R. Y. Chen, G. W. Blissard [et al.] – DOI 10.1128/jvi.00540-24 // Journal of Virology. – 2024. – № 98(9). – P. e0054024.
382. Viral diseases of insects. In: Invertebrate Pathology / V. I. D. Ros, D. Panziera, R. Nalcacioglu [et al.]; edited by A. F. Rowley, C. J. Coates, M. M. A. Whitten. – DOI 10.1093/oso/9780198853756.003.0010 – UK: Oxford University Press, 2022. – P. 249-285.
383. Virin HSK and Helicovex SK – efficacy and safety of baculovirus-based bioinsecticides / V. Ya. Ismailov, I. S. Agasieva, G. G. Ananko, A. V. Kolosov – DOI 10.1051/bioconf/20202100022 // XI International Scientific and Practical Conference «Biological Plant Protection is the Basis of Agroecosystems Stabilization», Krasnodar, 21–24 сентября 2020 года. Vol. 21. – Krasnodar: EDP Sciences, 2020. – P. 00022. – EDN BKDSUA.
384. Wan, N.-F. Effect of host plants on the infectivity of nucleopolyhedrovirus to *Spodoptera exigua* larvae / N.-F. Wan, J.-X. Jiang, B. Li – DOI 10.1111/jen.12298 // Journal of Applied Entomology. – 2016. – № 140(8). – P. 636-644.
385. Whitfield, E. C. Future semiochemical control of codling moth, *Cydia pomonella* / E. C. Whitfield, M. T. Fountain – DOI 10.3389/fhort.2024.1446806 // Frontiers in Horticulture. – 2024. – № 3:1446806.
386. Williams, T. Ecology of Invertebrate Diseases / T. Williams – DOI 10.1002/9781119256106.ch7 // Viruses. – 2017. – P. 213-285.
387. Xiao Y. Recent progress on the interaction between insects and *Bacillus thuringiensis* crops / Y. Xiao, K. Wu – DOI 10.1098/rstb.2018.0316 // Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2019. – № 374(1767). – P. 20180316.

388. 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. Huger, R. Kleespies – DOI 10.3390/insects4030425 // Insects. – 2013. – № 4(3). – P. 425-446.

389. 昆虫ウイルスを利用した 害虫防除資材の現状と展望
[=Современное состояние и перспективы применения средств борьбы с вредителями с использованием вирусов насекомых] / 仲井まどか // 化学と生物 . [=/ Мадока Накаи // Химия и биология] – 2013. – Vol. 51. – № 10. P. 693-701.

Режим

доступа:

https://www.jstage.jst.go.jp/article/kagakutoseibutsu/51/10/51_693/_pdf.

ПРИЛОЖЕНИЕ А Метеорологические условия

Таблица 1 – Метеорологические условия за период проведения полевых мелкоделяночных опытов, метеостанция Славянская, Славянск-на-Кубани (45° 15' с.ш., 38° 08' в.д.), 2023-2024 годы

Показатели	2023 год			2024 год		
	ср. значение за год/ кол-во дней с осадками	мин. значение/ дата	макс. значение/ дата	ср. значение за год/ кол-во дней с осадками	мин. значение/ дата	макс. значение/ дата
температура воздуха, °С	+13	- 13,5/09.01.2023	+37,0/06.08.2023	+14	- 12,2/13.01.2024	+38,3/17.07.2024
относительная влажность воздуха, %	71	14/20.08.2023 и 21.08.2023	—	66	12/19.08.2024	—
количество осадков, мм	732/152	—	38/09.07.2023	450/134	—	24/10.09.2024

Таблица 2 – Метеорологические условия, вегетационный период яблони сорта Брина, метеостанция Славянская, Славянск-на-Кубани (45° 15' с.ш., 38° 08' в.д.), 2023-2024 годы

Месяц	2023 год			2024 год		
	температура воздуха, °С	влажность воздуха, %	кол-во осадков, мм	температура воздуха, °С	влажность воздуха, %	количество осадков, мм
март	8	73	33	7,2	70	25
апрель	12	74	60	16,5	57	6
май	16,3	70	68	16,2	59	41
июнь	21,2	70	99	24,1	60	37
июль	23,9	67	70	27,7	46	27
август	26	55	5	24,8	55	12
сентябрь	20,4	56	5	21,5	54	42

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Полевой мелкоделяночный опыт

Таблица 1 – Мониторинг лёта *C. pomonella* за период проведения полевых мелкоделяночных опытов, хутор Покровский, 2023-2024 годы

№	2023 год		2024 год	
	дата учета	насекомые, шт.	дата учета	насекомые, шт.
1	07.04.2023	0	05.04.2024	0
2	26.04.2023	1	19.04.2024	0
3	05.05.2023	3	10.05.2024	1
4	19.05.2023	8	24.05.2024	9
5	02.06.2023	5	07.06.2024	5
6	22.06.2023	9	14.06.2024	3
7	07.07.2023	10	28.06.2024	4
8	28.07.2023	2	19.07.2024	8
9	04.08.2023	7	26.07.2024	6
10	18.08.2023	3	16.08.2024	10
11	08.09.2023	6	23.08.2024	5
13	22.09.2023	2	20.09.2024	6

Таблица 2 – Титр водных вирусных суспензий, полученных на основе гусениц *C. pomonella*, используемых для оценки эффективности штаммов в условиях полевого мелкоделяночного опыта, 2023-2024 год

№	Вариант	Титр, гранул/мл			
		обработка 1 (19.05.2023)	обработка 2 (22.06.2023)	обработка 1 (24.05.2024)	обработка 2 (07.06.2024)
1	BZR GV 9	$(1,00 \pm 0) \times 10^6$	$(2,40 \pm 0) \times 10^6$	$(1,02 \pm 0,53) \times 10^6$	$(1,02 \pm 0,53) \times 10^6$
2	BZR GV 10	$(1,17 \pm 0,65) \times 10^6$	$(1,17 \pm 0,65) \times 10^6$	$(2,40 \pm 1,87) \times 10^6$	$(2,40 \pm 1,87) \times 10^6$
3	BZR GV L-6	$1,10 \pm 0,36) \times 10^6$	$(1,10 \pm 0,36) \times 10^6$	$(2,10 \pm 1,45) \times 10^6$	$(2,10 \pm 1,45) \times 10^6$
4	BZR GV L-8	$(1,20 \pm 0) \times 10^6$	$(2,53 \pm 1,21) \times 10^6$	$(1,90 \pm 0,35) \times 10^6$	$(1,90 \pm 0,35) \times 10^6$
5	Мадекс Твин, СК	$3,00 \times 10^6$	$3,00 \times 10^6$	$3,00 \times 10^6$	$3,00 \times 10^6$

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Титр водных вирусных суспензий

Таблица 1 – Титр водных вирусных суспензий, полученных на основе гусениц насекомых, 2022 год

№	Штамм/шифр	<i>C. pomonella</i>		<i>G. mellonella</i>	
		титр, гранул/мл	lg, гранул/мл	титр, гранул/мл	lg, гранул/мл
1	BZR GV 1	$(8,00 \pm 3,00) \times 10^6$	6,88	$(3,20 \pm 0,35) \times 10^7$	7,50
2	BZR GV 2	$(9,00 \pm 2,00) \times 10^6$	6,95	$(1,70 \pm 0,36) \times 10^7$	7,22
3	BZR GV 3	$(1,00 \pm 0,40) \times 10^7$	6,97	$(2,80 \pm 0) \times 10^7$	7,45
4	BZR GV 4	$(2,13 \pm 0,32) \times 10^7$	7,33	$(2,90 \pm 0,53) \times 10^7$	7,46
5	BZR GV 5	$(3,40 \pm 0,79) \times 10^7$	7,52	$(3,16 \pm 0,21) \times 10^7$	7,50
6	BZR GV 6	$(2,97 \pm 2,02) \times 10^7$	7,41	$(4,16 \pm 1,40) \times 10^7$	7,60
7	BZR GV 7	$(1,50 \pm 0,20) \times 10^7$	7,17	$(2,00 \pm 0) \times 10^7$	7,30
8	BZR GV 8	$(1,47 \pm 0,41) \times 10^7$	7,15	$(2,60 \pm 0,17) \times 10^7$	7,41
9	BZR GV 9	$(1,03 \pm 0,25) \times 10^7$	7,01	$(2,10 \pm 0,10) \times 10^7$	7,32
10	BZR GV 10	$(1,93 \pm 0,05) \times 10^7$	7,29	$(3,30 \pm 0,44) \times 10^7$	7,52
11	BZR GV 11	$(2,47 \pm 0,70) \times 10^7$	7,38	$(2,76 \pm 0,06) \times 10^7$	7,44
12	BZR GV 12	$(2,40 \pm 0,52) \times 10^7$	7,37	$(3,50 \pm 0,50) \times 10^7$	7,54
13	BZR GV 13	$(1,37 \pm 0,32) \times 10^7$	7,13	$(3,06 \pm 0,15) \times 10^7$	7,49
14	BZR GV 14	$(1,18 \pm 0,79) \times 10^7$	7,01	$(2,86 \pm 0,67) \times 10^7$	7,45
15	BZR GV L-1	$(1,03 \pm 0,15) \times 10^7$	7,01	$(3,76 \pm 0,23) \times 10^7$	7,58
16	BZR GV L-2	$(2,70 \pm 0,36) \times 10^7$	7,43	$(1,16 \pm 0,55) \times 10^7$	7,04
17	BZR GV L-3	$(4,07 \pm 0,81) \times 10^7$	7,60	$(2,70 \pm 0,70) \times 10^7$	7,42
18	BZR GV L-4	$(4,53 \pm 2,91) \times 10^7$	7,60	$(2,10 \pm 1,01) \times 10^7$	7,28
19	BZR GV L-5	$(6,77 \pm 4,60) \times 10^7$	7,75	$(1,80 \pm 0,79) \times 10^7$	7,23
20	BZR GV L-6	$(1,39 \pm 0,19) \times 10^8$	8,14	$(2,33 \pm 0,84) \times 10^7$	7,35
21	BZR GV L-7	$(9,00 \pm 3,61) \times 10^6$	6,93	$(1,80 \pm 0,17) \times 10^7$	7,25
22	BZR GV L-8	$(9,57 \pm 1,71) \times 10^7$	7,98	$(3,23 \pm 0,64) \times 10^7$	7,50

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Идентификация и биоинформатический анализ штаммов энтомопатогенных вирусов

Таблица 1 – Характеристики полученных геномных библиотек, 2023 год

№	Штамм/шифр	Концентр. исходной днк, нг/мкл	Концентр. озвученной днк, нг/мкл	Концентр. готовых библиотек, нг/мкл	Молярность библиотек, нмоль	Баркод (кара ud)
1	BZR GV 1	46,1	17,2	3,68	14,72	UDI49
2	BZR GV 2	4,35	1,5	1,71	6,84	UDI50
3	BZR GV 3	64,9	26,6	4,3	18,06	UDI51
4	BZR GV 4	87,5	29	2,24	9,41	UDI52
5	BZR GV 5	51,2	12,2	1,75	7,35	UDI53
6	BZR GV 6	134	41	2,14	8,99	UDI54
7	BZR GV 7	53,6	17,8	2,4	10,08	UDI55
8	BZR GV 8	125,4	33,6	4,09	17,18	UDI56
9	BZR GV 9	103,2	38	3	12,60	UDI57
10	BZR GV 10	66,7	12	3,62	15,20	UDI58
11	BZR GV 11	57	7	19,9	79,6	UDI73
12	BZR GV 12	36	8,8	3,44	14,45	UDI59
13	BZR GV 13	99,8	33	3,96	16,63	UDI60
14	BZR GV 14	65	10,5	27,4	109,6	UDI74
15	BZR GV L-1	139	10,5	16,5	66	UDI75
16	BZR GV L-2	52,6	25	2,81	11,80	UDI61
17	BZR GV L-3	41	7	10,3	41,2	UDI76
18	BZR GV L-4	24,7	6,8	5	25,00	UDI62
19	BZR GV L-5	74,8	22,4	3,82	16,81	UDI63
20	BZR GV L-6	102,6	26,4	2,47	10,87	UDI64
21	BZR GV L-7	53,8	12,3	2,86	12,01	UDI65
22	BZR GV L-8	51,5	23,5	10	42,00	UDI66
23	Мадекс Твин, СК	89,6	31,5	7	29,40	UDI67

Таблица 2 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 1, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	3	3	4	1
	MinYS	7	7		
наибольший контиг	Spades	123464	123464	121196	123500
	MinYS	75347	75347		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	81	81	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123948	123948	123848	123500
	MinYS	123041	123041		
N50, L50	Spades	123464, 1	123464, 1	121196	123500, 1
	MinYS	75347, 1	75347, 1		
CG состав (%)	Spades	45.23	45.23	45.23	45.27
	MinYS	45.22	45.22		

Таблица 3 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 2, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	94	94	28	1
	MinYS	71	71		
наибольший контиг	Spades	123474	123474	33116	123500
	MinYS	4944	4944		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	80.99	80.99	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	146410	146410	133678	123500
	MinYS	110866	110866		
N50, L50	Spades	123474, 1	123474, 1	28162,3	123500, 1
	MinYS	2409, 17	2409, 17		
CG состав (%)	Spades	45.23	45.23	45.25	45.27
	MinYS	45.14	45.14		

Таблица 4 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 3, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	1	1	1	1
	MinYS	8	8		
наибольший контиг	Spades	123463	123463	122997	123500
	MinYS	75347	75347		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	81	81	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123463	123463	122997	123500
	MinYS	123485	123485		
N50, L50	Spades	123464, 1	123464, 1	122197, 1	123500, 1
	MinYS	75347, 1	75347, 1		
CG состав (%)	Spades	45.23	45.23	45.23	45.27
	MinYS	45.22	45.22		

Таблица 5 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 4, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	4	4	2	1
	MinYS	16	16		
наибольший контиг	Spades	123093	123093	122952	123500
	MinYS	35496	35496		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	0	0	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123706	123706	123038	123500
	MinYS	121681	121681		
N50, L50	Spades	123093, 1	123093, 1	122952, 1	123500, 1
	MinYS	13715, 3	13715, 3		
CG состав (%)	Spades	45.26	45.26	45.25	45.27
	MinYS	45.35	45.35		

Таблица 6 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 5, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	4	4	4	1
	MinYS	8	8		
наибольший контиг	Spades	123468	123468	92474	123500
	MinYS	75347	75347		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	80.36	80.36	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	124740	124740	129218	123500
	MinYS	123360	123360		
N50, L50	Spades	123468, 1	123468, 1	92474, 1	123500, 1
	MinYS	75347, 1	75347, 1		
CG состав (%)	Spades	45.18	45.18	45.06	45.27
	MinYS	45.22	45.22		

Таблица 7 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 6, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	21	21	6	1
	MinYS	27	27		
наибольший контиг	Spades	123023	123023	97631	123500
	MinYS	20557	20557		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	0	0	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	126606	126606	123191	123500
	MinYS	120418	120418		
N50, L50	Spades	123023, 1	123023, 1	97631, 1	123500, 1
	MinYS	7625, 5	7625, 5		
CG состав (%)	Spades	45.27	45.27	45.26	45.27
	MinYS	45.26	45.26		

Таблица 8 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 7, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	1	1	2	1
	MinYS	7	7		
наибольший контиг	Spades	123463	123463	121196	123500
	MinYS	75347	75347		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	81	81	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123463	123463	123363	123500
	MinYS	123041	123041		
N50, L50	Spades	123463, 1	123463, 1	121196, 1	123500, 1
	MinYS	75347, 1	75347, 1		
CG состав (%)	Spades	45.23	45.23	45.23	45.27
	MinYS	45.22	45.22		

Таблица 9 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 8, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	3	3	2	1
	MinYS	12	12		
наибольший контиг	Spades	123469	123469	121195	123500
	MinYS	33069	33069		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	80.99	80.99	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123939	123939	123369	123500
	MinYS	122841	122841		
N50, L50	Spades	123469, 1	123469, 1	121195, 1	123500, 1
	MinYS	15009, 3	15009, 3		
CG состав (%)	Spades	45.23	45.23	45.23	45.27
	MinYS	45.21	45.21		

Таблица 10 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 9, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	1	1	2	1
	MinYS	7	7		
наибольший контиг	Spades	123464	123464	121196	123500
	MinYS	75347	75347		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	81	81	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123464	123464	123364	123500
	MinYS	123037	123037		
N50, L50	Spades	123464, 1	123464, 1	121196, 1	123500, 1
	MinYS	75347, 1	75347, 1		
CG состав (%)	Spades	45.23	45.23	45.23	45.27
	MinYS	45.22	45.22		

Таблица 11 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 10, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	3	3	3	1
	MinYS	9	9		
наибольший контиг	Spades	123463	123463	69475	123500
	MinYS	54087	54087		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	81	81	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123927	123927	123362	123500
	MinYS	122806	122806		
N50, L50	Spades	123463, 1	123463, 1	69475, 1	123500, 1
	MinYS	21219, 2	21219, 2		
CG состав (%)	Spades	45.23	45.23	45.23	45.27
	MinYS	45.23	45.23		

Таблица 12 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 11, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	3	3	3	1
	MinYS	7	7		
наибольший контиг	Spades	123464	123464	122998	123500
	MinYS	75347	75347		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	81	11.34	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123670	123670	123204	123500
	MinYS	123021	123021		
N50, L50	Spades	123464, 1	123464, 1	122998, 1	123500, 1
	MinYS	75347, 1	75347, 1		
CG состав (%)	Spades	45.22	45.25	45.23	45.27

Таблица 13– Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 12, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	10	10	6	1
	MinYS	17	17		
наибольший контиг	Spades	123466	123466	53523	123500
	MinYS	35886	35886		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	80.99	80.99	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	125654	125654	130804	123500
	MinYS	122416	122416		
N50, L50	Spades	123466, 1	123466, 1	41627, 2	123500, 1
	MinYS	16238, 3	16238, 3		
CG состав (%)	Spades	45.23	45.23	45.29	45.27
	MinYS	45.22	45.22		

Таблица 14 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 13, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	3	3	2	1
	MinYS	9	9		
наибольший контиг	Spades	122984	122984	122843	123500
	MinYS	50021	50021		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	0	0	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123363	123363	122929	123500
	MinYS	122278	122278		
N50, L50	Spades	122984, 1	122984, 1	122843, 1	123500, 1
	MinYS	25325, 2	25325, 2		
CG состав (%)	Spades	45.24	45.24	45.24	45.27
	MinYS	45.27	45.27		

Таблица 15 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV 14, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	3	3	2	1
	MinYS	3	3		
наибольший контиг	Spades	120272	120272	120002	123500
	MinYS	88548	88548		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	0	0	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	120745	120745	120242	123500
	MinYS	119852	119852		
N50, L50	Spades	120272, 1	120272, 1	120002, 1	123500, 1
	MinYS	88548, 1	88548, 1		
CG состав (%)	Spades	45.44	45.44	45.45	45.27
	MinYS	45.44	45.44		

Таблица 16 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV L-1, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	3	3	2	1
	MinYS	14	14		
наибольший контиг	Spades	120272	120272	123818	123500
	MinYS	50055	50055		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	0	0	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	124159	124159	124082	123500
	MinYS	121549	121549		
N50, L50	Spades	120272, 1	120272, 1	123818, 1	123500, 1
	MinYS	16864, 2	16864, 2		
CG состав (%)	Spades	45.24	45.24	45.24	45.27
	MinYS	45.31	45.31		

Таблица 17 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV L-2, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	2	2	2	1
	MinYS	7	7		
наибольший контиг	Spades	123470	123470	123004	123500
	MinYS	75347	75347		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	80.99	80.99	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123592	123592	123126	123500
	MinYS	123045	123045		
N50, L50	Spades	123470, 1	123470, 1	123004, 1	123500, 1
	MinYS	75347, 1	75347, 1		
CG состав (%)	Spades	45.23	45.23	45.23	45.27
	MinYS	45.22	45.22		

Таблица 18 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV L-3, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	3	3	2	1
	MinYS	6	6		
наибольший контиг	Spades	120272	120272	121218	123500
	MinYS	88155	88155		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	0	0	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123939	123939	123862	123500
	MinYS	122471	122471		
N50, L50	Spades	120272, 1	120272, 1	121218, 1	123500, 1
	MinYS	88155, 1	88155, 1		
CG состав (%)	Spades	45.24	45.24	45.24	45.27
	MinYS	45.26	45.26		

Таблица 19 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV L-4, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	11	11	4	1
	MinYS	7	7		
наибольший контиг	Spades	120272	120272	121216	123500
	MinYS	41753	41753		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	0	0	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123706	123706	122210	123500
	MinYS	119262	119262		
N50, L50	Spades	120272, 1	120272, 1	121216, 1	123500, 1
	MinYS	22608, 2	22608, 2		
CG состав (%)	Spades	45.42	45.42	45.42	45.27
	MinYS	45.43	45.43		

Таблица 20 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV L-5, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	5	5	3	1
	MinYS	7	7		
наибольший контиг	Spades	120194	120194	87241	123500
	MinYS	88233	88233		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	0	0	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123277	123277	126442	123500
	MinYS	122140	122140		
N50, L50	Spades	120194, 1	120194, 1	87241, 1	123500, 1
	MinYS	88233, 1	88233, 1		
CG состав (%)	Spades	45.28	45.28	45.29	45.27
	MinYS	45.39	45.39		

Таблица 21 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV L-6, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	2	2	1	1
	MinYS	3	3		
наибольший контиг	Spades	120272	120272	120194	123500
	MinYS	88548	88548		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	0	0	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	120511	120511	120194	123500
	MinYS	119852	119852		
N50, L50	Spades	120272, 1	120272, 1	120194, 1	123500, 1
	MinYS	88548, 1	88548, 1		
CG состав (%)	Spades	45.44	45.44	45.44	45.27
	MinYS	45.44	45.44		

Таблица 22 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV L-7, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	3	3	2	1
	MinYS	9	9		
наибольший контиг	Spades	122917	122917	122776	123500
	MinYS	50021	50021		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	0	0	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123296	123296	122862	123500
	MinYS	122422	122422		
N50, L50	Spades	122917, 1	122917, 1	122776, 1	123500, 1
	MinYS	25325, 2	25325, 2		
CG состав (%)	Spades	45.25	45.25	45.25	45.27
	MinYS	45.24	45.24		

Таблица 23 – Характеристики качества сборок для генома вируса BZR GV L-8, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	7	7	4	1
	MinYS	7	7		
наибольший контиг	Spades	120124	120124	123670	123500
	MinYS	88155	88155		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	0	0	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	124847	124847	124273	123500
	MinYS	122926	122926		
N50, L50	Spades	120124, 1	120124, 1	123670, 1	123500, 1
	MinYS	88155, 1	88155, 1		
CG состав (%)	Spades	45.25	45.25	45.24	45.27
	MinYS	45.26	45.26		

Таблица 24 – Характеристики качества сборок для генома штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК, 2023 год

Характеристики	Инструмент для сборки	До pilon	После pilon	Gfinisher	Reference
число контигов	Spades	4	4	4	1
	MinYS	7	7		
наибольший контиг	Spades	123071	123071	123071	123500
	MinYS	82411	82411		
число не определенных нуклеотидов в сборке (N на 100 kbp)	Spades	0	0	0	0
	MinYS	0	0		
общая длина сборки	Spades	123542	123542	123542	123500
	MinYS	122566	122566		
N50, L50	Spades	123071, 1	123071, 1	123071, 1	123500, 1
	MinYS	82411, 1	82411, 1		
CG состав (%)	Spades	45.27	45.27	45.27	45.27
	MinYS	45.26	45.26		

Таблица 25 – Перечень генов и их продуктов, наличие которых различалось между исследуемыми штаммами вирусов, 2023 год

№	Название гена*	Название продукта	Соответствующие идентификаторы генов на рисунке 11
1	orf6	ORF6	gene-CpGVgp006::NC_002816.1:3122-3340
2	orf62	ORF62 гомологичный к ORF50 в PxGV	gene-CpGVgp062::NC_002816.1:51047-51616
3	orf63 bro	ORF63 BRO	gene-CpGVgp063::NC_002816.1:51754-51921
4	orf64	ORF64 гомологичный к ORF66 в XcGV	gene-CpGVgp064::NC_002816.1:52634-53326
5	orf65	ORF65 гомологичный к ORF79 в AcMNPV	gene-CpGVgp065::NC_002816.1:53424-53663
6	orf66 ptp-2	ORF66 PTP-2	gene-CpGVgp066::NC_002816.1:53818-54039
7	BJOIBENA_00037	hypothetical protein	BJOIBENA_00037_gene::id=2:31118-31273
8	BJOIBENA_00120	hypothetical protein	BJOIBENA_00120_gene::id=3:53961-54164
9	IFEMGEHL_00128	hypothetical protein	IFEMGEHL_00128_gene::id=4:120631-120807
10	orf27	ORF27	gene-ort27::KM217575.1:20358-21827
11	AGHAAFNI_0001	hypothetical protein	-

*примечание: гены № 1-6 указаны в соответствии с обозначениями, принятыми в аннотации технического референса (a_ref), гены № 7-9 – это предсказанные программой Prokka гены в исследуемых геномах, ген № 10 указан в соответствии с обозначениями, принятыми в аннотации CpGV-M.

Таблица 26 – Штаммы вируса гранулёза *C. rotonella* из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР, депонированные в NCBI, 2023 год

№	Штамм/шифр	Id последовательности в сборке генома	Инвентарный номер последовательности в.ncbi
1	BZR GV 1	id=1 id=2 id=3 id=4	OR743626 OR743627 OR743628 OR743629
2	BZR GV 2	id=1 id=2 id=3 id=4 id=5 id=6 id=7 id=8 id=9 id=10 id=11 id=12 id=13 id=14 id=15 id=16 id=17 id=18 id=19 id=20 id=21 id=22 id=23 id=24 id=25 id=26 id=27 id=28	OR743630 OR743631 OR743632 OR743633 OR743634 OR743635 OR743636 OR743637 OR743638 OR743639 OR743640 OR743641 OR743642 OR743643 OR743644 OR743645 OR743646 OR743647 OR743648 OR743649 OR743650 OR743651 OR743652 OR743653 OR743654 OR743655 OR743656 OR743657
3	BZR GV 3	id=1	OR743658
4	BZR GV 4	id=1_gv4 id=2_gv4	OR743675 OR743676
5	BZR GV 5	id=1_gv5 id=2_gv5 id=3_gv5 id=4_gv5	OR743677 OR743678 OR743679 OR743680
6	BZR GV 6	id=1 id=2 id=3 id=4 id=5 id=6	OR743681 OR743682 OR743683 OR743684 OR743685 OR743686

№	Штамм/шифр	Id последовательности в сборке генома	Инвентарный номер последовательности в ncbi
7	BZR GV 7	id=1_gv7 id=2_gv7	OR743687 OR743688
8	BZR GV 8	id=1_gv8 id=2_gv8	OR743689 OR743690
9	BZR GV 9	id=1_gv9 id=2_gv9	OR743691 OR743692
10	BZR GV 10	id=1_gv10 id=2_gv10 id=3_gv10	OR743693 OR743694 OR743695
11	BZR GV 11	id=1 id=2 id=3	OR651288 OR651289 OR651290
12	BZR GV 12	id=1 id=2 id=3 id=4 id=5 id=6	OR743696 OR743697 OR743698 OR743699 OR743700 OR743701
13	BZR GV 13	id=1_gv13 id=2_gv13	OR743702 OR743703
14	BZR GV 14	id=1 id=2	OR651291 OR651292
15	BZR GV L-1	id=1 id=2	OR651293 OR651294
16	BZR GV L-2	Seq1_L2 Seq2_L2	OR743659 OR743660
17	BZR GV L-3	id=1 id=2	OR651295 OR651296
18	BZR GV L-4	Seq1_L4 Seq2_L4 Seq3_L4 Seq4_L4	OR743661 OR743662 OR743663 OR743664
19	BZR GV L-5	Seq1_L5 Seq2_L5 Seq3_L5	OR743665 OR743666 OR743667
20	BZR GV L-6	Seq1_L6	OR743668
21	BZR GV L-7	Seq1_L7 Seq2_L7	OR743669 OR743670
22	BZR GV L-8	Seq1_L8 Seq2_L8 Seq3_L8 Seq4_L8	OR743671 OR743672 OR743673 OR743674

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Интеллектуальная собственность, полученная в ходе проведения
диссертационных исследований

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ 	
СВИДЕТЕЛЬСТВО о государственной регистрации базы данных № 2022622697	
Энтомопатогенные вирусы из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и полезных микроорганизмов» Правообладатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (RU) Авторы: Цыгичко Александра Александровна (RU), Асатурова Анжела Михайловна (RU), Исмаилов Владимир Яковлевич (RU)	
	Заявка № 2022622605 Дата поступления 24 октября 2022 г. Дата государственной регистрации в Реестре баз данных 01 ноября 2022 г. Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ Сертификат 68b80077e14e4010a94e6bd24145d5c7 Владелец: Зубов Юрий Сергеевич Действителен с 26.05.2022 по 26.05.2023 Ю.С. Зубов

Утверждаю:

Директор ФГБНУ ФНЦБЗР

А. М. Асатулова

«10» сентября 2023 г.



Утверждаю:

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

Хагуров Т.А.

«10» сентября 2023 г.



АКТ

внедрения базы данных

**«Энтомопатогенные вирусы из Биоресурсной коллекции ФГБНУ
ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и полезных
микроорганизмов»**

Краткое описание разработки: База данных содержит информацию о штаммах бакуловирусов насекомых из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и полезных микроорганизмов» (видовая принадлежность, авторство, география происхождения штамма, источник выделения/целевой объект, дата выделения, способ хранения, идентификация методом полногеномного секвенирования, депонирование в ведомственных коллекциях, биологическая эффективность в отношении целевого объекта/тест-объекта, норма применения и др.).

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: Авторы: Цыгичко А.А., Асатулова А.М., Исмаилов В.Я.

Основание выполнения: договор о научно-техническом сотрудничестве № 10/2023-ИС-2023-109 от 15.05.2023 г.

Сведения о внедрении: информация об энтомопатогенных штаммах вирусов насекомых, в том числе аборигенных для Юга России, представленная в базе данных (свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022622697 от 01.11.2022 «Энтомопатогенные вирусы из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и полезных микроорганизмов» (авторы: Цыгичко А.А., Асатулова А.М.,

Исмаилов В.Я.)), 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 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.

УТВЕРЖДАЮ:

Директор ФГБНУ ФНЦБЗР

А. М. Асатулова

« 08 » август 2025 г.



АКТ

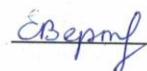
внедрения базы данных «Энтомопатогенные вирусы из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и полезных микроорганизмов» в учебный процесс Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений»

Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что информация, представленная в базе данных № 2022622697 от 01.11.2022 г. «Энтомопатогенные вирусы из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и полезных микроорганизмов» (авторы: Цыгичко А.А., Асатулова А.М., Исмаилов В.Я.) 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».

Заведующий отделом
интеллектуальной собственности и
инновационного 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