

УДК 632.937:615.9

<https://doi.org/10.33573/ujoh2024.01.044>

ОСОБЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ БІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ІНСЕКТИЦИДНОЇ ДІЇ НА ОСНОВІ *BACILLUS THURINGIENSIS*, *METARHIZIUM ANISOPLIAE* (ROBERTSI), *BEAUVERIA BASSIANA* В СІЛЬСЬКОМУ ГОСПОДАРСТВІ

Пригунова В. В., Донцова Д. О., Коваленко В. Ф., Ішейкін К. Є.

Державна установа «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Вступ. Населення планети Земля значною мірою залежить від сільськогосподарського виробництва рослин і тварин для задоволення потреби в їжі. Однак люди — не єдині організми, які зі задоволенням споживають ці продукти. Щороку комахи-шкідники завдають серйозної шкоди сільському господарству. Втрата продуктивності та висока вартість хімічних пестицидів збільшують собівартість продукції. Постійне використання хімічних пестицидів створює селективний тиск, який сприяє виникненню стійкості шкідників. Надлишкові залишки хімічних пестицидів також забруднюють навколишнє середовище, зокрема ґрунт і воду. Тому біологічна боротьба з комахами-шкідниками в сільськогосподарській галузі набуває більшого значення завдяки безпечності харчових продуктів і екологічності. У цьому відношенні бактеріальні інсектициди пропонують кращу альтернативу хімічним пестицидам. Це не тільки допомагає встановити продовольчу безпеку через боротьбу з комахами-шкідниками, але й забезпечує безпечність харчових продуктів.

Мета дослідження — обґрунтування умов безпечного застосування біологічних препаратів інсектицидної дії в сільському господарстві.

Матеріали та методи дослідження. Об'єкт дослідження: біологічний препарат інсектицидної дії INSECTA BBM, ЗП (діючі чинники — *Bacillus thuringiensis*, не менше ніж $1,0 \cdot 10^9$ КУО/г, *Metarhizium anisopliae* (robertsi), не менше ніж $1,0 \cdot 10^8$ КУО/г, *Beauveria bassiana*, не менше ніж $1,0 \cdot 10^8$ КУО/г), токсиколого-гігієнічна оцінка з позицій безпечності для здоров'я людини та природного навколишнього середовища, методи експертно-аналітичного дослідження наукової інформації токсикологічних властивостей, гігієнічні, оцінка ризику.

Результати. Ентомопатогенні гриби препарату *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* здатні проростати крізь хітинові та інші покриття шкідників, вражаючи жирову тканину та кишковий тракт, вони розкладають хітин та утворюють ватяний наріст міцелію на тілі шкідників, спричиняючи порушення всіх функцій організму. Хітинази грибів розкладають хітин фітопатогенів, що сприяє знищенню збудників хвороб рослин. Гриби мають властивість приживатися в ґрунті, надаючи біопрепарату багаторічну дію — стримування розмноження комах. Перспективним напрямом дослідження є поєднання штамів для виробництва препаратів, які були б універсальні та вражали більше видів комах-шкідників, а також пролонгували термін зберігання ентомопатогенних препаратів.

Висновки. Використання мікоінсектицидів є найважливішою альтернативою для боротьби з комплексом ґрунтових шкідників і може скоротити використання пестицидів широкого спектра дії на овочевих культурах, щоб посилити природний контроль за допомогою збільшення числа природних ворогів. Узагальнено наукові дані щодо особливостей технології виробництва біологічних препаратів інсектицидної дії на основі *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium anisopliae* (robertsi) та *Beauveria bassiana*. За результатами проведеної токсикологічної оцінки препарату можна зробити висновок про достатній ступінь безпеки біопрепарату для здоров'я людини та природного навколишнього середовища.

Ключові слова: токсиколого-гігієнічна оцінка, біопрепарат інсектицидної дії, *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium anisopliae* (robertsi), *Beauveria bassiana*, сільське господарство

Вступ

Біологічний контроль є ефективною та стійкою альтернативою або доповненням до традиційних пестицидів для боротьби з грибовими та бактеріальними захворюваннями рослин. Одними з найбільш

інтенсивно досліджуваних агентів біологічного контролю є бактерії, які можуть використовувати численні механізми, що пов'язані з обмеженням розвитку захворювань рослин, і кілька продуктів на основі бактерій уже зареєстровані та продаються як

біопестициди. Проте все ще потрібні зусилля для збільшення кількості комерційно доступних мікробних біопестицидів. Непослідовність у продуктивності бактеріальних біоконтрольних агентів у біологічному контролі обмежила їхнє широке використання в промисловому сільському господарстві [1].

Удосконалення існуючих сучасних сортів і розробка модифікованих сільськогосподарських культур неможлива без застосування високоефективних засобів захисту рослин та агрохімікатів. Проте навіть збалансованість за кількісним і якісним складом макро- та мікроелементів, що надходять у ґрунт з добривами мінерального або органічного походження, не здатна створити умови їхньої оптимальної біодоступності на фоні недостатньої кількості ґрунтової мікрофлори, яка є трофічним посередником між ґрунтом і рослиною.

Розв'язання цієї проблеми покладається на ґрунтову мікробіологію, яка досліджує природне середовище існування мікроорганізмів, їхнє поширення, кількісний і якісний склад, особливості обміну речовин, а також тонкі механізми функціонування системи ґрунт-мікроорганізми-рослина. Результати цих досліджень є науковим підґрунтям для створення та впровадження в практику сільськогосподарського виробництва бактеріальних препаратів на основі культур корисних ґрунтових мікроорганізмів. Унікальність таких препаратів полягає в тому, що вони містять не поживні компоненти для рослин, які накопичуються в ґрунті та погано розкладаються, а лише мікроорганізми, що сприяють поліпшенню живлення рослин, рекультивації земель, підвищенню стійкості сільськогосподарських культур до фітопатогенів.

Для захисту рослин від збудників хвороб створено препарати на основі бактерій і грибів.

Матеріали та методи дослідження

Об'єкт дослідження: біологічний препарат інсектицидної дії INSECTA BBM, ЗП (діючі чинники — *Bacillus thuringiensis*, не менше ніж $1,0 \cdot 10^9$ КУО/г, *Metarhizium anisopliae* (robertsi), не менше ніж $1,0 \cdot 10^8$ КУО/г, *Beauveria bassiana*, не менше ніж $1,0 \cdot 10^8$ КУО/г), який було включено до «Плану проведення державних випробувань пестицидів і агрохімікатів» для застосування в сільському господарстві шляхом обприскування по вегетації томатів з нормою витрати 1,0–1,5 кг/га, 1–2-разово.

Препарат рекомендується для захисту рослин (інфекційна, антимікробна, азотфіксуюча, фунгіцидна дія у відношенні до грибних хвороб) і для позитивного впливу на ґрунт (біологічна трансформація нерозчинних сполук фосфору та калію в ґрунті), що призводить до підвищення урожайності та якості сільськогосподарської продукції, пригнічення фітопатогенної мікрофлори.

Діючі чинники препарату — штами *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium anisopliae* (robertsi) та *Beauveria bassiana* належать до групи авірулентних мікроорганізмів.

Результати дослідження та їх обговорення

Завдяки різноплановим діючим чинникам препарату (мікроорганізмам — бактеріям і грибам) виконується багатофункціональна дія — інфекційна, антимікробна, азотфіксуюча, фунгіцидна дія відносно грибних хвороб, біологічна трансформація нерозчинних сполук фосфору та калію в ґрунті, що призводить до підвищення урожайності та якості сільськогосподарської продукції, пригнічення фітопатогенної мікрофлори [2, 3].

Це біологічні пестициди на основі патогенних мікроорганізмів, що є специфічними для цільового шкідника, які забезпечують екологічно безпечне та ефективне рішення проблем шкідників. Вони становлять меншу загрозу для навколишнього середовища та здоров'я людини. Найчастіше використовуються живі організми, які є патогенними для шкідників.

Потенційні переваги для сільського господарства та програм охорони здоров'я завдяки використанню біопестицидів є значними [4].

Переваги використання біопестицидів (замість інших засобів захисту рослин) базуються на таких факторах:

- екологічна користь (за своєю суттю менш шкідливі і менше навантажують навколишнє середовище);
- цільова специфіка (мають специфічну дію на конкретних шкідників, що дозволяє зберегти корисні комахи та мікроорганізми);
- екологічність (часто ефективні в дуже малих кількостях, виготовляються з використанням живих організмів або природних речовин, які розкладаються в середовищі без залишкового накопичення шкідливих речовин, що уникає проблем зі забрудненням);

- придатність (якщо їх використовувати як компонент інтегрованих програм боротьби зі шкідниками, то біопестициди можуть значно сприяти цьому) [5];
- відсутність ризику розвитку стійкості шкідників (імунітет шкідників до них розвивається дуже повільно або не розвивається взагалі);
- відсутність залишків на продукції (не залишає залишків на сільськогосподарській продукції, що робить її безпечною для споживача);
- створення балансу в екосистемі (сприяють збереженню біорізноманіття та збалансованому функціонуванню екосистеми, оскільки не впливають на природні процеси).

Можливість використання в органічному сільському господарстві: біопестициди відповідають стандартам органічного виробництва та можуть бути використані в системах органічного сільського господарства, відіграють важливу роль у захисті врожаю, хоча найчастіше в поєднанні з іншими інструментами, включаючи хімічні пестициди, як частину біоінтенсивної інтегрованої боротьби зі шкідниками.

До них відносяться біофунгіциди (Триходерма), біогербіциди (Фітоптора) та біоінсектициди (*Bacillus thuringiensis*, *B. sphaericus*).

Бактерії *Bacillus thuringiensis* — грампозитивні мікроорганізми, що утворюють спори, факультативні аероби. Вегетативні клітини мають форму паличок з обрубленими або злегка заокругленими кінцями розміром $2-7 \cdot 0,8-2,0$ мкм, можуть розташовуватись окремо або у вигляді ланцюжка по 4–10 клітин або у вигляді скупчень. Оптимальний ріст при температурі 28–30 °C та pH від 6,0 до 9,5.

Строки росту культур на агаризованих середовищах — 18–24 год; при рості на модифікованому середовищі Пивоварова та казеїн-поліміксовому агарі відмічена деяка затримка росту до 24–36 год. У рідких поживних середовищах зазвичай утворюють рівномірне помутніння з осадом білого кольору та плівку білого кольору на поверхні.

Мікроорганізми *Bacillus thuringiensis* розщеплюють желатин, гідролізують крохмаль і казеїн, мають лецитиназну та гемолітичну активність, дають позитивну реакцію з метилротом і реакцію на ацетоїн (реакція Фогес-Проскауера), редукують нітрати, не утворюють індолу та сірководню. Дані мікроорганізми ферментують до кислоти глюкозу, фруктозу, рибозу, мальтозу, гліцерин, тригалоу, розчинний крохмаль.

Штам бактерій *Bacillus thuringiensis* MBS-3 є природним ізолятом, який був виділений у 2007 році з кишківника личинок *Melolontha melolontha* в Київській, Черкаській, Миколаївській областях [6]. Штам ентомопатогенний, відноситься до III класу небезпечності мікроорганізмів і дозволений до використання у виробництві.

Штам мікроорганізму *Bacillus thuringiensis*, який використовували при виробництві біопрепарату INSECTA BBM, ЗП, первісно задепонований в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України. Реєстраційний номер, який наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм — *Bacillus thuringiensis* IMB B-8034.

Metarhizium anisopliae — один з декількох загальних ентомопатогенних грибів, які можуть бути використані для контролю різноманітних комах-шкідників; існують відомості про зараження приблизно 200 видів комах та членистоногих [7]. Фарія та Рейт (2007 р.) визначили, що існує 47 різних комерційно доступних по всьому світу продуктів на основі *Metarhizium* [8].

Гриб *Metarhizium anisopliae* вперше був ідентифікований і названий в честь виду комах І. І. Мечниковим як *Entomophthora anisopliae* у 1879 році. Після успішних експериментів з буряковими довгоносиками та білими личинками листяної чіпки гриб був визнаний інтродукційним агентом біологічної боротьби. *Metarhizium anisopliae* завдяки своєму вузькому спектру господарів і природному екологічно чистому характеру, а також здатності легко адаптуватися до комах-господарів, став чудовим прикладом ефективного довготривалого використання ентомопатогенних грибів для контролю комах-шкідників, що відкриває перспективи для зміни парадигми в промисловості пестицидів, яка базується на теоретичних і методологічних моделях. Ці ентомопатогенні гриби зустрічаються в усьому світі та були виділені з багатьох видів ґрунтів і трупів комах. Фактично відомо, що вони є частиною ґрунтової флори майже в усіх кліматичних умовах чи регіонах [9].

Спосіб дії *Metarhizium anisopliae* полягає в тому, що гриб виділяє суміш ферментів, які руйнують кутикулу, та надає механічний тиск, який веде до проникнення всередину кутикули. Відомо, що *Metarhizium anisopliae* має гени Mad1 і Mad2, які допомагають прикріплюватися до кутикули цільового господаря, а потім утворювати зародкову трубку, що викликана зовнішніми джерелами азоту

та вуглецю від комах. При проростанні виділяється фермент трегалоза, після цього спори випинаються, щоб диференціюватися в апресорії. Надалі гриб переходить до стадії проникнення, де він виробляє білки: карбоксипептидази, субтилізини, хімотрипсини та трипсини. Потрапляючи всередину господаря, гриб колонізує господаря та виробляє деструксини, які пригнічують імунну систему комах. Нарешті відбувається спороношення та спостерігається екструзія гіф, коли на туші комах утворюється зелений міцелій гриба [10].

Виробництво *Metarhizium anisopliae* є досить вигідним. Гриб може розвиватися на різних субстратах, таких як нут, сорго, кукурудза, голубиний горох, арахіс, рис тощо. Існують різні типи рецептур мікосектицидів, включаючи контактний порошок, гранули, змочуваний порошок, суспензії, масляні дисперсії та масляні текучі концентрати.

Дослідження вірулентності штаму мікроміцету *Metarhizium anisopliae* IMB F-100188 проведено в Інституті мікробіології і вірусології НАН України на моделі білих мишей згідно з методичними рекомендаціями [11]. Штам мікроорганізму *Metarhizium anisopliae* (robertsi), який використовували при виробництві біопрепарату INSECTA BBM, ЗП, первісно депонований в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України. Реєстраційний номер, який наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм — *Metarhizium anisopliae* IMB F-100188.

Beauveria bassiana — ентомопатогенні гриби сімейства Clavicipitaceae. Відмінною особливістю ентомопатогенних грибів від ентомопатогенів бактеріальної або вірусної природи є здатність проникати в організм комах через кутикулу. *Beauveria bassiana* широко відомий як збудник білої мускардини, широко використовується як біоінсектицид для контролю шкідників сільськогосподарських, квітково-декоративних, лісових культур. Препарати на основі *Metarhizium* (Миколар М) та *B. bassiana* (Миколар В, Боверин) ефективні проти різних видів попелиць і трипсів, тепличної білокрилки, личинок колорадського жука, а також деяких видів листогризух шкідників [12].

Цей вид названий на честь італійського ентомолога Агостіно Бассі, який виявив його в 1835 році у шовкопрядів (*Bombyx mori*) [13].

Зараженню можуть підпадати особи майже на всіх фазах розвитку: імаго, лялечки, личинки, іноді яйця. Гриб *Beauveria bassiana* розмножується тільки конідіями, які, потрапивши на тіло комах, виді-

ляють фермент у місцях прикріплення. Він розчиняє кутикулу й конідії проростають у порожнину тіла.

Одним з головних механізмів дії *Beauveria bassiana* є гідразин, який проникає крізь екзоскелет комах та руйнує клітини її тіла. Оскільки цей гриб є специфічним для комах, він вважається безпечним для людини та інших тварин. Міцелій зі спорами може бути збережений як в організмах хворих комах, так і в рослинних рештках. Крім цього, він може бути поширений стійкими до штамів гриба комахами, дощем, вітром, цикл розвитку гриба повторюється.

Штам мікроорганізму *Beauveria bassiana*, який використовували при виробництві біопрепарату INSECTA BBM, ЗП, первісно депонований в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України. Реєстраційний номер, який наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм — *Beauveria bassiana* IMB F-100189.

Токсикологічні дослідження

Bacillus thuringiensis

Носій інсектицидної активності бактерій *Bacillus thuringiensis* є кристалічний білок — δ -ендотоксин, що не справляє на ссавців токсичної дії при надходженні через шлунково-кишковий тракт. Деякі штами бактерій продукують термостабільний β -екзотоксин нуклеотидної природи, що чинить виражену токсичну дію на широкий спектр комах, а при надходженні до шлунково-кишкового тракту лабораторних тварин теж є малотоксичним, у разі парентерального проникнення в організм може проявляти токсичну дію, як структурний аналог АТФ спричиняти порушення обміну речовин [14, 15].

За даними [15], ЛД₅₀ *Bacillus thuringiensis* для білих мишей і щурів: при пероральному надходженні — $> 10^9$ КУО/тварину, при внутрішньочеревному — $> 10^8$ КУО/тварину, при надходженні через верхні дихальні шляхи — $> 10^8$ КУО/тварину. Не чинить ембріотоксичної, гонадотоксичної та тератогенної дії [16].

Згідно з гігієнічними регламентами допустимого вмісту хімічних і біологічних речовин у повітрі робочої зони, затвердженими наказом Міністерства охорони здоров'я України 14 липня 2020 року № 1596, який зареєстрований в Міністерстві юстиції України 3 серпня 2020 року за № 742/35025: ГДК у повітрі робочої зони *Bacillus thuringiensis* — 20 000 кл/м³ (а), 4 клас небезпечності.

Metarhizium anisoplia

За даними літератури [7], дослідження гострої пероральної токсичності проведені на щурах при одноразовому введенні штаму ТАЕ-001 у дозі 5000 мг/кг. Клінічних симптомів інтоксикації та загибелі тварин за 14 діб спостереження не спостерігалось.

$$LD_{50} > 5000 \text{ мг/кг.}$$

Дослідження гострої дермальної токсичності вивчали при одноразовому нанесенні *Metarhizium anisopliae* штаму F52 на шкіру щурів у дозі 2000 мг/кг. Клінічних ознак інтоксикації та загибелі тварин не виявлено.

$$LD_{50} > 2000 \text{ мг/кг.}$$

Гостру легеневу токсичність *Metarhizium anisopliae* штам F52 вивчали на щурах. $LD_{50} > 1,17 \cdot 10^8$ КУО/тварина.

Гостру внутрішньочеревну токсичність *Metarhizium anisopliae* штам F52 вивчали на щурах. Штам F52 не є патогенним для щурів при дозі $1,0 \cdot 10^7$ КУО/тварина.

Подразнюючу дію на слизові оболонки очей вивчали при дії *Metarhizium anisopliae* штам F52, висновок — ЛК₅₀ не може бути визначене за рахунок одноразового дозування.

Сенсибілізуючі властивості вивчали на морських свинках породи Гвінея, *Metarhizium anisopliae* штам F52 (порошок) у дозі $2,37 \cdot 10^9$ КУО/тварина. За даних умов досліду штам гриба не був шкірним сенсибілізатором.

Beauveria Bassiana

Не володіє токсичністю при різних шляхах введення (перорально, дермально, підшкірно та внутрішньовенно) у дозах до десятків грамів у режимах одноразових чи багаторазових експозиції. У тварин спостерігався лише помірний лейкоцитоз, моноцитоз і еозинофілія.

Медичне обстеження осіб, які працювали на виробництві біологічних препаратів на основі *Beauveria Bassiana*, виявило ряд захворювань органів дихання (риніт, ларингіт, астматичний бронхіт, хронічний тонзиліт) [17].

Згідно з гігієнічними регламентами допустимого вмісту хімічних і біологічних речовин у повітрі робочої зони, затвердженими наказом Міністерства охорони здоров'я України 14 липня 2020 року № 1596, який зареєстрований в Міністерстві юсти-

ції України 3 серпня 2020 року за №742/35025: ГДК у повітрі робочої зони (по аналогії з раніше зареєстрованими препаратами на основі *Beauveria bassiana*) — $5,0 \cdot 10^4$ КУО/м³, (а), 3 клас небезпечності.

Узагальнену порівняльну характеристику діючих чинників препарату INSECTA BBM, ЗП наведено в таблиці.

Висновки

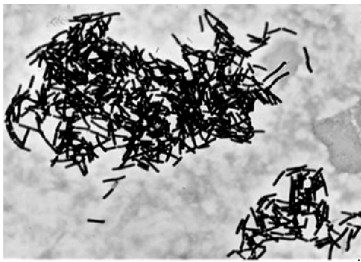
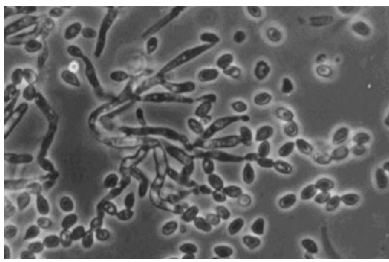
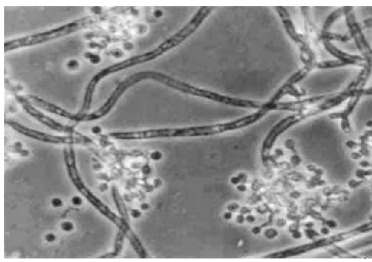
1. Здатність деяких видів грибів долати великі географічні бар'єри (тобто космополітичні за своєю природою) не означає, що застосування грибкових патогенів як сільськогосподарських біопестицидів забезпечить стійкість грибів. Навпаки, потрібне дослідження відповідності грибкового патогена, що є специфічним для цільового середовища, включаючи взаємодію окремих біотичних/абіотичних факторів. Зусилля повинні бути спрямовані на те, щоб зосередитися на ендемічних грибкових спільнотах і застосовуватися в рамках похідної системи. Регіональні відмінності між відповідним типом застосування грибів, діапазоном господарів (тобто загальний фахівець проти спеціаліста) і домінуючими факторами навколишнього середовища (біотичні/абіотичні) на продуктивність патогенів можуть краще передбачити довгостроковий успіх ентомопатогенного біоконтролю та допомогти запобігти спалахам комах [21].
2. За механізмом дії діючі чинники біологічного препарату мають однонаправлену дію, а саме проникають через кутикулу шкідника, руйнуючи внутрішню оболонку, що призводить до смерті.
3. Діючі чинники препарату — штами *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium anisopliae* (*robertsi*), *Beauveria bassiana* належать до групи авірулентних мікроорганізмів.
4. Препарат INSECTA BBM, ЗП на основі *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium anisopliae* (*robertsi*) та *Beauveria bassiana* може бути застосований для боротьби зі шкідниками, забезпечуючи ефективний захист рослин, при виконанні необхідних заходів безпеки та контролю за їхнім використанням.
5. Використання біологічних препаратів дозволяє зменшити використання хімічних пестицидів, що сприяє збереженню природного середовища та зменшенню негативного впливу на здоров'я людини та навколишнє середовище.

Таблиця

Кількість посилань за 2017–2022 роки в пошукових системах за основними ключовими словами

	Діючий чинник		
	<i>Bacillus thuringiensis</i> [18]	<i>Metarhizium anisopliae</i> (robertsi) [19]	<i>Beauveria bassiana</i> [20]
Механізм дії	Активований у кишковому тракті токсин викликає пошкодження внутрішньої оболонки кишечника гусениці, у результаті чого порушується осмотична рівновага, що призводить до просочування лужного вмісту кишечника в тіло гусениці. Це просочування може привести до загибелі комах або викликати в неї такі зміни, які створюють умови для розвитку спор, що містяться в препараті, або розвиток постійно присутньої в комах кишкової мікрофлори, у результаті чого проявляється септицемія	Гриб інфікує комах через прямий контакт зі спорами. Після потрапляння на тіло комах спори проростають і проникають крізь кутикулу, ростуть всередині комах та в результаті призводять до смерті	Ентомопатогенний гриб, який інфікує різні види комах, включаючи жуки, мух та міль. Гриб проникає в тіло своєї жертви, де розвивається та призводить до її смерті. Одним з головних механізмів його дії є гідразин, який проникає крізь екзоскелет комах та руйнує клітини її тіла
Застосування	Застосовується проти гусениць і личинок молодших віків листовійок, п'ядениць, волнянок, шовкопрядів, молі, вогнівок, пильщиків та ін. на листяних і хвойних породах (дуб, береза, черемшина та інші); зареєстровано для боротьби з шкідниками картоплі (картопляна міль), капусти та інших овочевих культур (капустяна совка (гусені 1–2 віку), ріпакова і капустяна білани, вогнівки (гусені 1–2 віку), капустяна міль), яблуні, сливи, абрикоса, черешні, груші та інших плодових дерев (американський білий метелик (гусениці 1–3 віку), плодова та яблунева міль (гусениці 1–3 віку), п'ядуна, золотогуски, шовкопряди (гусениці 1–3 віку), листовійки весняної групи) та ін.	Використовується як біологічний засіб контролю за комахами для управління шкідниками, такими як жуки, мухи, комарі та сарана. Він інфікує комах-господарів, призводячи до їхньої смерті зазвичай протягом кількох днів. Гриб здатний зберігати і надавати м'який, багаторічний вплив на ґрунт, стримуючи своєю присутністю розмноження комах, які шкодять саду та городу	Використовується для контролю шкідників на різних культурах. Він може бути застосований у вигляді біологічних препаратів, таких як розпилення або гранули, для боротьби з жуками, мілью та іншими шкідливими комахами. Важливою перевагою є те, що він не викликає шкоди некомпірітним організмам і не залишає негативного впливу на навколишнє середовище
Токсична дія	Накопичується в рослинах і не впливає на їхній розвиток, швидко розкладається в ґрунті. Речовина нешкідлива для людини та теплокровних, не робить шкідливого токсичного впливу на рибу, бджіл і ентомофагів (токсичний для тутового та дубового шовкопряду)	Вважається відносно безпечним для довкілля, оскільки він специфічно націлений на комах і не шкодить іншим організмам, таким як рослини, тварини або людина. Крім того, він природно зустрічається в ґрунті	Оскільки цей гриб є специфічним для комах, він вважається безпечним для людини та інших тварин

Продовження таблиці

	Діючий чинник		
	<i>Bacillus thuringiensis</i> [18]	<i>Metarhizium anisopliae</i> (robertsi) [19]	<i>Beauveria bassiana</i> [20]
Токсикологічний профіль	Механізм дії: виробляє кристалічний білок – δ-ендотоксин, який не токсичний для ссавців при надходженні через шлунково-кишковий тракт. Токсичність: LD_{50} для щурів і мишей: $>10^9$ КУО/тварину перорально, $>10^8$ КУО/тварину внутрішньочеревно, $>10^8$ КУО/тварину через верхні дихальні шляхи. Не ембріотоксичний, гонадотоксичний і тератогенний. Допустимий вміст у повітрі робочої зони: $20\,000$ КУО/м³ (а), клас 4 небезпечності	Не спостерігалось токсичності в щурів: LD_{50} при пероральному введенні: > 5000 мг/кг. LD_{50} при дермальному нанесенні: > 2000 мг/кг. LD_{50} для гострого вдихання: $> 1,17 \cdot 10^8$ КУО/тварину. Не є патогенним для щурів при дозі $1,0 \cdot 10^7$ КУО/тварину при внутрішньочеревному введенні. Не встановлено LC_{50} для подразнення слизової оболонки очей внаслідок одноразової дії. Не є сенсibilізатором шкіри у морських свинок при дозі $2,37 \cdot 10^9$ КУО.	Не спостерігалось токсичності в щурів при введенні в дозах до десятків грамів різними шляхами. При медичному обстеженні виявлені захворювання органів дихання в працівників, які працювали з препаратами на його основі. Допустимий вміст у повітрі робочої зони: $5,0 \cdot 10^4$ КУО/м³ (а), клас 3 небезпечності
Загальний вигляд	 Photo by Ansel Oommen, Bugwood.org	 Photo by Svetlana Y. Gouli, University of Vermont, Bugwood.org	 Photo by Svetlana Y. Gouli, University of Vermont, Bugwood.org

6. За результатами проведеної токсикологічної оцінки препарату, токсикологічних характеристик діючих чинників — штамів мікроорганізмів, що використовується при виробництві препарату, можна зробити висновок про достатній ступінь безпеки біопрепарату для здоров'я людини та природного навколишнього середовища при дотриманні рекомендацій зі застосування та норм витрат.

7. Препарат INSECTA ВВМ, ЗП за параметрами гострої інгаляційної, пероральної, дермальної токсичності відноситься до 4 класу небезпечності, не подразнює шкіру, чинить слабку подразнюючу дію на слизові оболонки очей, не проявляє сенсibilізуючих властивостей [22].

Література

1. Bacteria as Biological Control Agents of Plant Diseases. A. Bonaterra, E. Badosa, N. Daranas et al. *Microorganisms*. 2022. Vol. 10 (9). P. 1759. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091759>.

2. Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика: монографія. В. В. Волкогон, О. В. Надкержнича, Т. М. Ковалевська, Л. М. Токмакова та ін.; за ред. В. В. Волкогона. Київ : Аграрна наука, 2006. 312 с.

3. Бидай В. И. Микроскопические грибы – продуценты антибиотиков. Киев : Изд-во АН УССР, 1961. 181 с.

4. Гупта С., Дікшіт А. К. Біопестициди: екологічний підхід до боротьби зі шкідниками. *Журнал біопестицидів*. 2010. Вип. 3 (1). С. 186–188.

5. Usta C. *Microorganisms in Biological Pest Control – A Review (Bacterial Toxin Application and Effect of Environmental Factors)*. Current Progress in Biological Research. Ed. M. Silva-Opps. IntechOpen, 2013. <https://doi.org/10.5772/55786>.

6. Паспорт штаму мікроорганізму. Досьє фірми ТОВ «КОМПАНІЯ «ІМЕКС АГРО», Україна.
7. US Environmental Protection Agency. Office of Pesticide Programs. Biopesticides registration action document: Metarhizium anisopliae strain F52 (PC Code 029056). 2000. 40 p.
8. Faria M. R., Wraight S. P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol. Control*. 2007. Vol. 43 (3). P. 237–256. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.08.001>.
9. Current status and future prospects of entomopathogenic fungi: a potential source of biopesticides. J. Rajula, S. Karthi, S. Mumba et al. Recent Advancement in Microbial Biotechnology: Agricultural and Industrial Approach; Ed. Surajit De Mandal, Ajit Kumar Passari. Academic Press, 2021. P. 71–98. URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/metarhizium-anisopliae>. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822098-6.00013-6>.
10. Metarhizium anisopliae: New Trend Entomopathogenic Fungus for Management of Sucking Pests in Vegetable Crops. P. S. Chintkuntlawar, A. Pramanik, R. Solanki, A. Rathod. *Popular Kheti*. 2015. Vol. 3, No. 1. P. 98–101.
11. Висновок щодо дослідження вірулентності штаму Beauveria bassiana L-8 на моделі білих мишей. Ін-т мікробіології і вірусології НАН України. Київ, 2021. 4 с.
12. База даних/Пестициди/ dictionary/pesticide. URL: <http://www.pesticide.ru/dictionary/pesticide>.
13. Entomopathogenic fungus Beauveria: Host specificity, ecology and significance of morpho-molecular characterization in accurate taxonomic classification. A. Imoulan, M. Hussain, P. M. Kirk et al. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 2017. Vol. 20, No. 4. P. 1204–1212. <https://doi.org/10.1016/J.ASPEN.2017.08.015>.
14. Кузнецова Л. Н. Отечественные энтомопатогенные биопрепараты на основе *Bacillus thuringiensis*. *Бюлетень Інституту сільськогосподарської мікробіології*. 1999. № 4. С. 22–24.
15. Кандыбин Н. В. Биопестициды. Теория и практика. *Защита растений*. 1991. № 1. С. 10–13.
16. Омелянець Т. Г., Головач Т. М. Оцінка впливу біопрепаратів на основі бактерій *Bacillus thuringiensis* на організм теплокровних. *Довкілля та здоров'я*. 2008. № 2. С. 65–68.
17. Справочник по пестицидам (гигиена применения и токсикология); под ред. акад. АМН СССР, проф. Л. И. Медведя. Київ : Урожай, 1974. 448 с.
18. ІАС «Аграрії разом». База пестицидів та агрохімікатів. Діючий чинник: bacillus-thuringiensis-var-kurstaki. URL: <https://agrarii-razom.com.ua/active-ingredients/bacillus-thuringiensis-var-kurstaki> (дата звернення: 01.03.2024).
19. База даних/Пестициди/Діючий чинник: Metarhizium anisopliae. URL: https://www.pesticide.ru/active_substance/metarhizium_anisopliae.
20. База даних/Пестициди/Діючий чинник: Beauveria bassiana. URL: https://www.pesticide.ru/active_substance/Beauveria_bassiana.
21. McGuire A. V., Northfield T. D. Tropical Occurrence and Agricultural Importance of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae: mini review article. *Front. Sustain. Food Syst.* 2020. Vol. 4 (6). <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00006>.
22. Державні санітарні правила та норми ДСанПіН 8.8.1.2.002-98. Пгієнічна класифікація пестицидів за ступенем небезпечності. Організація і здійснення державного санітарно-епідеміологічного нагляду за використанням пестицидів і агрохімікатів: збірник основних законодавчих та нормативних документів. Київ, 1999. С. 249–267.

Prygunova V. V., Dontsova D. O., Kovalenko V. F., Ishcheykin K. Ye.

FEATURES OF USING BIOLOGICAL INSECTICIDAL PREPARATIONS BASED ON *BACILLUS THURINGIENSIS*, *METARHIZIUM ANISOPLIAE* (ROBERTSI), *BEAUVERIA BASSIANA* IN AGRICULTURE

State Institution «Kundiiev Institute of Occupational Health of the National Academy of Medical Science of Ukraine», Kyiv

Introduction. The population of planet Earth largely depends on agricultural production of plants and animals to meet the food demand. However, humans are not the only organisms that eagerly consume these products. Every year, insect pests cause serious damage to agriculture. Loss of productivity and the high cost of chemical pesticides increase the cost of production. Continuous use of chemical pesticides creates selective pressure, leading to the development of pest resistance. Excessive residues of chemical pesticides also pollute the environment, including soil and water. Therefore, biological control of insect pests in agriculture becomes more important due to food safety and environmental concerns. In this regard, bacterial insecticides offer a better alternative to chemical pesticides. This not only helps establish food security by combating insect pests but also ensures the safety of food products.

The aim of the research – is to substantiate the conditions for the safe application of biological insecticidal preparations in agriculture.

Materials and methods of the research. Objects of study: Biological insecticidal preparation INSECTA BBM, LLC (active ingredients – *Bacillus thuringiensis*, not less than $1,0 \cdot 10^9$ CFU/g, *Metarhizium anisopliae* (robertsi), not less than $1,0 \cdot 10^8$ CFU/g, *Beauveria bassiana*, not less than $1,0 \cdot 10^8$ CFU/g), toxicological and hygienic assessment from the perspective of safety for human health and the natural environment, expert-analytical methods for studying scientific information on toxicological properties., hygiene, risk assessment

Results. Entomopathogenic fungi of the *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* preparations are capable of penetrating through the chitinous and other coverings of pests, affecting the fatty tissue and gastrointestinal tract. They decompose chitin and form a cottony mycelial growth on the bodies of pests, causing disruption of all organism functions. The chitinases of fungi decompose the chitin of phytopathogens, contributing to the destruction of plant disease agents. Fungi have the property of establishing themselves in the soil, providing the biological preparation with long-lasting action – suppressing the reproduction of insects. A promising direction of research is the combination of strains for the production of preparations that would be universal and affect more species of insect pests, as well as prolong the shelf life of entomopathogenic preparations.

Conclusions. The use of mycoinsecticides represents a crucial alternative for combating a complex of soil pests and can reduce the use of broad-spectrum pesticides on vegetable crops, thereby enhancing natural control by increasing the number of natural enemies. Scientific data regarding the features of technology for producing biological insecticidal preparations based on *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium anisopliae* (robertsi) and *Beauveria bassiana* have been summarized. Based on the results of the toxicological evaluation of the drug, it can be concluded that the biological product is safe enough for human health and the environment.

Key words: toxicological and hygienic assessment, biological preparation with insecticidal action, *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium anisopliae* (robertsi), *Beauveria bassiana*, agriculture

References

1. Bonaterra A, Badosa E, Daranas N, Francés J, Roselló G, Montesinos E. Bacteria as Biological Control Agents of Plant Diseases. *Microorganisms*. 2022;10(9):1759. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091759>.
2. Volkohon VV, Nadkernychna OV, Kovalevska TM, Tokmakova LM, et al. [Microbial preparations in agriculture. Theory and practice: Monograph]. Volkohon VV, editor. Kyiv: Agrarian Science; 2006. 312 p. Ukrainian.
3. Bilay VI. [Microscopic fungi – producers of antibiotics]. Kyiv: Academy of Sciences of the Ukrainian; 1961. 181 p. Russian.
4. Gupta S, Dikshit AK. Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. *Journal of Biopesticides*. 2010;3(1):186-8.
5. Usta C. Microorganisms in Biological Pest Control – A Review (Bacterial Toxin Application and Effect of Environmental Factors). In: Silva-Opps M, editor. *Current Progress in Biological Research*. IntechOpen; 2013. DOI: <https://doi.org/10.5772/55786>. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/44118>.
6. Passport of the strain of microorganism/Dossier of the company LLC «IMEX AGRO», Ukraine.
7. US Environmental Protection Agency. Office of Pesticide Programs. Biopesticides registration action document: *Metarhizium anisopliae* strain F52 (PC Code 029056). 2000. 40 p.
8. Faria MR, Wraight SP. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol. Control*. 2007;43(3):237-56. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.08.001>.
9. Rajula J, Karthi S, Mumba S, Pittarate S, Thungrabeab M, Krutmuang P. Current status and future prospects of entomopathogenic fungi: a potential source of biopesticides. In: Surajit De Mandal, Ajit Kumar Passari, editors. *Recent Advancement in Microbial Biotechnology: Agricultural and Industrial Approach*. Academic Press; 2021. P. 71-98. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822098-6.00013-6>.
10. Chintkuntlawar PS, Pramanik A, Solanki R, Rathod A. *Metarhizium anisopliae*: New Trend Entomopathogenic Fungus for Management of Sucking Pests in Vegetable Crops. *Popular Kheti*. 2015;3(1):98-101.
11. Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine [Conclusion on the study of the virulence of *Beauveria bassiana* L-8 strain in the model of white mice]. 2021. 4 p. Ukrainian.
12. Database/Pesticides/ dictionary/pesticide. [Internet]. Available from: <http://www.pesticidy.ru/dictionary/pesticide>.
13. Imoulan A, Hussain M, Kirk PM, El Meziane A, Yao Yi-J. Entomopathogenic fungus *Beauveria*: Host specificity, ecology and significance of morpho-molecular characterization in accurate taxonomic classification. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 2017; 20(4): 1204-12. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.ASPEN.2017.08.015>.
14. Kuznetsova LN. [Domestic entomopathogenic biological products based on *Bacillus thuringiensis*]. *Bulletin of the Institute of Agricultural Microbiology*. 1999;4:22-4. Ukrainian.
15. Kandybin NV. [Biopesticides. Theory and practice]. *Zashchyta rastenyi*. 1991;1:10-3. Russian.

16. Omelyanets TG, Golovach TM. [The estimation of pathogenic action of biopreparation on the basis of *Bacillus thuringiensis* on warm-blooded organism]. Environment & Health. 2008;2:65-8. Ukrainian.
17. Medved LI, editor. [Reference book on pesticides (hygiene of application and toxicology)]. Kyiv: Urozhay; 1974. 448 p. Russian.
18. IAS «Agrarians together». Pesticides and agrochemicalsbase. Active factor: bacillus-thuringiensis-var-kurstaki. [Internet]. [cited 2024 Mar 01]. Available from: <https://agrarii-razom.com.ua/active-ingredients/bacillus-thuringiensis-var-kurstaki>
19. Database/Pesticides/Active factor: metarhizium_anisopliae. [Internet]. Available from: https://www.pesticide.ru/active_substance/metarhizium_anisopliae.
20. Database/Pesticides/Active factor: Beauveria_bassiana. [Internet]. Available from: https://www.pesticide.ru/active_substance/Beauveria_bassiana.
21. McGuire AV, Northfield TD. Tropical Occurrence and Agricultural Importance of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*: mini review article. Front. Sustain. Food Syst. 2020, Jan 29;4(6). DOI: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00006>.
22. State Sanitary Rules and Norms DSanPiN 8.8.1.2.002-98. [Hygienic Classification of Pesticides by Degree of Hazard]. In: [Organization and Implementation of State Sanitary and Epidemiological Supervision over the Use of Pesticides and Agrochemicals]: Collection of Basic Legislative and Regulatory Documents. 1999. p. 249-67. Ukrainian.

ORCID ID співавторів та їхній внесок у підготовку та написання статті:

Пригунова В. В. (ORCID ID 0000-0002-4143-488X) — збір даних літератури, написання окремих розділів статті, підготовка статті до друку;

Донцова Д. О. (ORCID ID 0000-0003-3676-1672) — збір даних літератури, підготовка статті до друку;

Коваленко В. Ф. (ORCID ID 0000-0003-1157-3560) — аналіз та узагальнення отриманих даних;

Ищейкін К. Є. (ORCID ID 0000-0001-7887-0995) — аналіз та узагальнення отриманих даних.

Інформація щодо джерел фінансування дослідження: дослідження проведені в рамках планових науково-дослідних робіт ІН.107.19, номер державної реєстрації 0119U100916 (Токсиколого-гігієнічна оцінка Біологічного препарату інсектицидної дії INSECTA ВВМ, ЗП (д. ч. *Bacillus thuringiensis*, не менше $1,0 \cdot 10^9$ КУО/г, *Metarhizium anisopliae* (robertsi), не менше $1,0 \cdot 10^8$ КУО/г, *Beauveria bassiana*, не менше $1,0 \cdot 10^8$ КУО/г), заявленого на реєстрацію ТОВ «КОМПАНІЯ «ІМЕКС АГРО» для застосування у сільському господарстві: звіт про науково-дослідну роботу. ДУ «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва НАМН України». 2023. 33 с.) на базі Науково-дослідного центру з комплексних випробувань пестицидів та агрохімікатів, акредитованого згідно з вимогами стандарту ДСТУ EN ISO/IEC 17025:2019 «Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій» (атестат про акредитацію від 11.12.2019 № 201652).

Надійшла: 4 березня 2024 р.

Прийнята до друку: 26 березня 2024 р.

Контактна особа: Пригунова Вікторія Вікторівна, молодший науковий співробітник, лабораторія токсикології пестицидів та гігієни праці при їх застосуванні, ДУ «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва НАМН України», буд. 75, вул. Саксаганського, м. Київ, 01033. Тел.: + 38 0 44 289 09 08, + 38 0 63 813 87 77.