

УДК 632.937

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННОГО ГРИБА *METARHIZIUM ROBERTSII* ПРОТИВ РИЗОКТОНИОЗА КАРТОФЕЛЯ

© 2023 г. Е. М. Шалдыева<sup>1,2,\*</sup>, Ю. В. Пилипова<sup>2,\*\*</sup>, О. Г. Томилова<sup>1,3,\*\*\*</sup>, В. В. Глупов<sup>1,\*\*\*\*</sup>

<sup>1</sup>Институт систематики и экологии животных СО РАН, 630091 Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский государственный аграрный университет, 630039 Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, 196608 Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: elenashaldyaeva@mail.ru

\*\*e-mail: pyuv260565@mail.ru

\*\*\*e-mail: toksina@mail.ru

\*\*\*\*e-mail: skif61@list.ru

Поступила в редакцию 12.03.2022 г.

После доработки 15.06.2022 г.

Принята к публикации 22.11.2022 г.

Впервые в Западной Сибири проведены производственные испытания экспериментального прототипа препарата на основе энтомопатогенного гриба *Metarhizium robertsii*. Показана его способность существенно сдерживать развитие ризоктониоза картофеля на протяжении всего периода вегетации. Установлено достоверное снижение гибели ростков и развития ризоктониоза на стеблях в сравнении с контролем и химическим протравителем. На участке с применением *M. robertsii* отмечено существенное увеличение количества здоровых клубней (в 2.5 раза), количество клубней со склероциями уменьшилось в 2.8 раза по сравнению с контролем. Эффективность применения *M. robertsii* в подавлении ризоктониоза была высокой на всех этапах онтогенеза картофеля и составляла 52–84%. В лабораторных экспериментах в присутствии *M. robertsii* установлено достоверное ингибирование формирования склероциев *Rhizoctonia solani* на клубнях, снижение их жизнеспособности и размера.

**Ключевые слова:** биологическая эффективность, пораженность, ризоктониеподобные грибы, энтомопатогены

DOI: 10.31857/S0026364823020095, EDN: NJCLEU

### ВВЕДЕНИЕ

Фитопатогенный гриб *Rhizoctonia solani* Kuhn регистрируется во многих типах почв и вызывает на картофеле комплексное заболевание, проявляющееся в форме сухой язвенной гнили ростков, стеблей и столонов, что приводит к изреживанию, задержке и выпадом всходов этой культуры (Baker, 1970; Carling, Leiner, Westphale, 1989; Wilson et al., 2008). На клубнях картофеля симптомы болезни также многообразны: склероции, углубленная пятнистость и сетчатый некроз, которые приводят к снижению качества и урожайности культуры во всех зонах возделывания. В Западной и Восточной Сибири потери урожая от ризоктониоза достигают 30–45%. Поражение картофеля ризоктониозом в условиях резко континентального климата региона может достигать максимально 67–70.8% при распространенности заболевания на уровне 80–100%, а заселенность клубней склероциями достигает 56.2% (Shaldyaeva et al., 2006; Tsgor, 2010).

Перспективное направление в защите картофеля от заболевания – использование препаратов

на основе биологических агентов, в первую очередь микроорганизмов, часто обладающих полифункциональным действием. Они стимулируют рост и развитие растений, их устойчивость к абиотическим стрессам и вредным организмам. Использование биопрепаратов на основе микроорганизмов приобретает в современных условиях большое значение и инициирует активный поиск новых, более эффективных штаммов микроорганизмов для подавления патогенов. Появляется все больше доказательств того, что применение микроорганизмов, колонизирующих ризосферу и сами растения (например, бактерии *Pseudomonas* и *Bacillus*, грибы арбускулярной микоризы и грибы-эндофиты), имеет высокий потенциал в качестве средств биологической защиты от фитопатогенов, позволяющих снижать заболеваемость и стимулировать рост растений (Wilson et al., 2008). Установлено, что энтомопатогенные грибы *Metarhizium* и *Beauveria* находятся в мутуалистических взаимоотношениях с растениями, выступая поставщиками азота, производителями вторичных метаболитов, промоторами роста, антагонистами грибных

и вирусных фитопатогенов (Vega, 2018) и могут быть использованы в качестве микопестицидов с перспективой долгосрочной замены синтетических пестицидов (Lednev et al., 2019).

Так, подавление фитопатогенных грибов после обработки растений различными видами грибов родов *Metarhizium* и *Beauveria* было показано в следующих системах: *Pythium myriotylum* и *Rhizoctonia solani* – растения томатов и хлопчатника (Ownley et al., 2008), *Fusarium oxysporum* – лук (Flori, Roberti, 1993), мучнистая роса – огурец (Kim et al., 2010), вирус желтой мозаики – тыква (Jaber, Salem, 2014).

Аскомицет *Metarhizium robertsii* является одним из наиболее распространенных в почве видов энтомопатогенных грибов, поражающий насекомых разных отрядов. Жизненный цикл этого гриба как факультативного сапротрофа включает разные стадии: патогенную, проходящую на насекомых, и покоящуюся, когда конидии гриба попадают во внешнюю среду (почва, различные части растений и др.). Исследования (Hu, Leger, 2002; Bruck, 2010) показали, что на последней стадии гриб способен к колонизации растений и размножению в их ризосфере. Являясь известными энтомопатогенами, в лабораторных условиях грибы рода *Metarhizium* (*M. robertsii*, *M. anisopliae*) подавляли фитопатогенные организмы родов *Pythium*, *Fusarium* и *Rhizoctonia* (Ownley et al., 2010; Sasan, Vidochka, 2013). Проведенные нами предварительные полевые испытания *Metarhizium robertsii* в борьбе с ризоктониозом показали (Tomilova et al., 2020), что предпосадочная обработка клубней картофеля конидиями гриба сдерживает развитие ризоктониоза картофеля в период вегетации в условиях Западной Сибири.

Целью данного исследования было изучение эффективности применения прототипа препарата на основе конидий *M. robertsii* против ризоктониоза в производственных агроэкосистемах картофеля лесостепи Приобья.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные исследования проводили на базе Института систематики и экологии животных СО РАН и Новосибирского ГАУ. Производственные испытания проведены в ЗАО “Приобское” Новосибирской области (2021 г.). Объектами исследований являлись сорт картофеля Ред Скарлет, штамм энтомопатогенного гриба *Metarhizium robertsii* (изолят Р-72) и возбудитель ризоктониоза *Rhizoctonia solani*.

В работе использован энтомопатогенный гриб *Metarhizium robertsii* (штамм Р-72) из коллекции микроорганизмов Института систематики и экологии животных СО РАН Российской академии наук. Штамм выделен из погибших личинок колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say на территории Латвии в 1972 г. (Serebrov et al., 2007). Ви-

довая идентификация гриба проведена на основе секвенирования региона гена фактора элонгации EF1 $\alpha$  (Kryukov et al., 2017).

В лабораторных условиях проводили оценку антагонистической активности *Metarhizium robertsii* в отношении фитопатогенного гриба *Rhizoctonia solani* по методике совместного культивирования (Sobowale et al., 2010) на картофельно-глюкозном агаре (КГА). Агаровые блоки (диаметр 10 мм) с пятидневной культурой *Metarhizium robertsii* размещали на расстоянии 3 см от края чашек Петри (диаметр 90 мм). Через 2 сут на противоположную сторону чашек Петри помещали аналогичные блоки *Rhizoctonia solani*. Контроль содержал только *R. solani*. Чашки инкубировали при 25°C в темноте. Ингибирование формирования склероциев оценивали по плотности мицелиальных зачатков склероциев при одиночном росте фитопатогена и его совместном культивировании с *M. robertsii* с фиксацией параметров на 10, 20 и 50-е сут. Плотность мицелия оценивали по интенсивности окраски с помощью программы ImageJ (Abramoff et al., 2004). Эксперимент проводили дважды в шести повторностях.

Производственные испытания прототипа препарата на основе конидий *Metarhizium robertsii* проводили в ЗАО “Приобское” Новосибирской обл. на участке производства семенного картофеля.

Производственный эксперимент включал три варианта: 1) обработку клубней водой (контроль); 2) обработку клубней грибом *M. robertsii*; 3) обработку клубней химическим препаратом Эместо квантум (эталон).

Обработку клубней картофеля сорта Ред Скарлет конидиями *M. robertsii* проводили непосредственно перед посадкой. Использовали малообъемное опрыскивание клубней в производственных контейнерах (расход экспериментального прототипа препарата с титром  $5 \times 10^9$  конидий/г составил 0.6 кг/т, расход рабочей суспензии – 12 л/т клубней), в контрольном варианте проводили обработку водой (12 л/т), обработку системным инсекто-фунгицидным препаратом Эместо квантум осуществляли в рекомендованной дозе 0.3 л/т с расходом рабочей жидкости 12 л/т. Площадь каждой делянки – 0.5 га. Посадку осуществляли 14.05.2021 механизированным способом с использованием картофелесажалки Grimme GL 34 KG. Посадку клубней проводили на глубину 6–8 см, схема посадки 75 × 20 см. Фрезерование гребней осуществляли Grimme GF 75-4 через 5 сут после посадки для создания прочного рыхлого гребня вокруг клубня.

Перед закладкой эксперимента провели анализ заселенности почвы грибом *Rhizoctonia solani* методом множественных почвенных таблеток (Henis et al., 1978) с использованием селективной среды (Ko and Hora, 1971). Согласно этому методу, почву просеивали через сито с мешем 2 мм и хранили в

картонных коробках. Непосредственно перед работой уровень влажности почвы доводили до 18–22%. Почву запрессовывали в трубки пробоотборника и выкладывали почвенные таблетки (по 15 шт.) на агаризованную среду в чашки Петри в 10-кратной повторности на вариант. Средняя масса таблеток  $104–115 \pm 1.77$  мг. Чашки с таблетками инкубировали при 20–24°C в течение 18–24 ч и просматривали визуально и под микроскопом на присутствие типичного мицелия *R. solani*.

Пораженность картофеля ризоктониозом учитывали в два этапа (первый учет 15.06.2021 – через пять недель после посадки, фаза всходов; второй учет 08.07.2021 – через семь недель после посадки, фаза бутонизации–цветения). Анализировали по 15 растений в четырехкратной повторности (60 растений на вариант) по методике Франка (Frank, Leach, Webb, 1976) по следующей шкале: 0 баллов – нет поражений; 1 балл – наличие одного поражения длиной менее 25 мм; 2 балла – одно поражение длиной 26–50 мм или несколько мелких поражений длиной менее 50 мм; 3 балла – одно или несколько поражений более 50 мм, но не околовывающих стебель; 4 балла – одно или несколько поражений менее 25 мм, околовывающих стебель; 5 баллов – одно или несколько поражений длиной более 25 мм, околовывающих стебель.

Для каждого растения рассчитывали индекс развития болезни по общепринятой формуле путем суммирования произведений количества стеблей (ростков) на соответствующий балл шкалы и деления на произведение суммы количества стеблей на высший балл шкалы, выраженное в процентах.

На том же материале определяли процент погибших ростков, а также опавших и поврежденных столонов от общего их числа.

Оценку пораженности клубней ризоктониозом проводили с определением склероциального индекса (Shaldyaeva, Pilipova, 1999) по вариантам опыта (урожай с 25 растений в четырехкратной повторности). Склероциальный индекс подсчитывали по формуле:  $Si = (hy + 3.5l + 5m + 6h) / (c + hy + l + m + h)$ , где  $c$ ,  $hy$ ,  $l$ ,  $m$ ,  $h$  – масса клубней;  $c$  – клубни, свободные от ризоктониоза;  $hy$  – клубни с мицелиальной формой (в форме сетчатого некроза, углубленной пятнистости);  $l$  – клубни поражены в слабой степени (склероции от единичных и занимающих 10% поверхности клубня);  $m$  – клубни поражены в средней степени (склероции занимают 25% поверхности клубня);  $h$  – клубни поражены в сильной степени (склероции занимают 50% и более поверхности клубня); 3.5, 5, 6 – цифровые коэффициенты формулы, отражающие степень вредоносности отдельных форм проявления ризоктониоза.

В процессе анализа образцов картофеля клубни (не менее 100 шт. на повторность) распределяли по группам ( $c$ ,  $hy$ ,  $l$ ,  $m$ ,  $h$ ), а затем каждую из них

взвешивали по отдельности и их массу использовали для подсчета склероциального индекса.

Изучение жизнеспособности склероциев с клубней нового урожая проводили на картофельно-глюкозном агаре (КГА), помещая пять склероциев в чашку Петри по вариантам производственного опыта (контроль, *Metarhizium robertsii* химический эталон) в 10-кратной повторности. Склероции отделяли с 50 клубней среднего образца из четырех повторностей. Чашки инкубировали при 22–24°C в темноте в течение 5 сут. Жизнеспособность возбудителя оценивали по количеству проросших склероциев и диаметру колоний.

Анализ данных проводили с использованием Statistica 8 (StatSoft Inc., США) и PAST 3 (Hammer et al., 2001). Нормально распределенные данные были проанализированы с помощью однофакторной ANOVA с последующим тестом Тьюки, ненормально распределенные данные – с использованием анализа Крускал–Уоллиса с последующим тестом Данна.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Перед закладкой эксперимента был выполнен анализ фитосанитарного состояния почвы и посадочного материала картофеля. Установлено, что уровень почвенной инфекции был ниже порога вредоносности, однако отмечен высокий уровень пораженности клубней ризоктониозом (распространенность форм ризоктониоза на клубнях составляла 78%, склероциальный индекс – 2.24, табл. 2). Таким образом, исследования проводили на высоком естественном инфекционном фоне пораженности ризоктониозом семенного материала.

При оценке выпадов всходов отмечено значительное снижение количества погибших от ризоктониоза ростков после применения *M. robertsii* и в варианте с химическим эталоном, различия достоверны в сравнении с контролем (Тест Данна,  $P = 0.005$ ). В этот же период отмечено существенное снижение индекса развития болезни (ИРБ) на стеблях в 3.8 раза после обработки *M. robertsii* по сравнению с контролем (табл. 1).

В фазу цветения (семь недель) максимальный эффект по снижению ИРБ получен после обработки клубней *M. robertsii*, различия по снижению пораженности стеблей достоверны как по сравнению с контролем, так и с химическим протравителем ( $P \leq 0.0009$ ). Впервые отмечено достоверное снижение количества пораженных (в 3.6 раза) и опавших столонов (в 23 раза) после обработки *M. robertsii* по сравнению с контролем ( $P \leq 0.003$ ). Применение химического эталона обеспечило достоверное снижение только опавших столонов по сравнению с контролем (в 4.4 раза,  $P = 0.004$ ).

Предпосадочная обработка грибом *M. robertsii* положительно влияла на качество клубней нового

**Таблица 1.** Развитие ризоктониоза картофеля на фоне применения *Metarhizium robertsii*, %

Показатели	Контроль	<i>M. robertsii</i>	Химический эталон
Погибшие ростки (15.06)	10.5 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
Развитие болезни на стеблях (15.06)	44.9 <sup>a</sup>	11.9 <sup>b</sup>	20.6 <sup>b</sup>
Развитие болезни на стеблях (08.07)	53.7 <sup>a</sup>	25.9 <sup>b</sup>	50.1 <sup>a</sup>
Поврежденные столоны (08.07)	10.6 <sup>a</sup>	2.95 <sup>b</sup>	6.4 <sup>ab</sup>
Опавшие столоны (08.07)	13.8 <sup>a</sup>	0.6 <sup>b</sup>	3.1 <sup>b</sup>

Примечание. Различные буквы указывают на существенные различия между вариантами (однофакторная ANOVA, тест Тьюки,  $P < 0.05$ ).

**Таблица 2.** Влияние *Metarhizium robertsii* на распространенность форм проявления ризоктониоза на клубнях

Показатели	Распространенность форм на посадочных клубнях (%)	Распространенность форм на клубнях нового урожая (%)		
		контроль	<i>M. robertsii</i>	химический эталон
Свободные от ризоктониоза	21.8	20.00 ± 2.31 <sup>a</sup>	49.6 ± 3.40 <sup>b</sup>	33.6 ± 5.67 <sup>b</sup>
Сетчатый некроз	29.6	10.0	25.2	30.7
Склероции всего:	49.2	69.9	25.2	35.8
в том числе:				
единичные	14.8	18	14.9	19.8
на 1/10 поверхности клубня	18.0	32.3	9.3	11.7
на 1/4 поверхности клубня	13.7	14.8	1.0	3.3
на 1/2 поверхности клубня	2.7	4.8	0	1.0
Si (склероциальный индекс)	2.24	2.83 ± 0.12 <sup>a</sup>	1.18 ± 0.16 <sup>b</sup>	1.63 ± 0.27 <sup>b</sup>
Размеры склероциев, мм		3.025 ± 0.46	1.825 ± 0.36	2.70 ± 0.48
Проросшие склероции после периода хранения, %		62	12	57

Примечание. Различные буквы указывают на существенные различия между вариантами (однофакторная ANOVA, тест Тьюки,  $P < 0.05$ ).

урожая. Отмечено существенное увеличение количества здоровых клубней на участке с применением *M. robertsii* как в сравнении с контролем ( $P = 0.002$ ), так и с химическим препаратом ( $P = 0.049$ ). Значения склероциального индекса (Si) как обобщенного показателя пораженности клубней всеми формами ризоктониоза были достоверно ниже контрольных как после химической, так и после обработки грибом ( $P \leq 0.004$ , табл. 2). Установлено, что в варианте с *M. robertsii* количество здоро-

вых клубней увеличилось в 2.5 раза, а количество клубней со склероциями снизилось в 2.8 раза по сравнению с контролем, что в итоге привело к существенному снижению склероциального индекса в 2.4 раза.

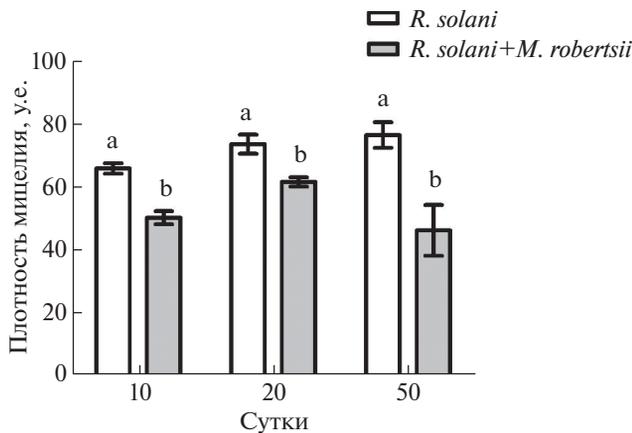
Биологическая эффективность применения *M. robertsii* для снижения ризоктониоза (%) была высокой на всех этапах онтогенеза картофеля и составляла:

на ростках	на стеблях	на столонах	на клубнях	в среднем по растению
73.5	51.8	83.9	58.6	66.9

Кроме того, в лабораторных экспериментах установлено, что применение *M. robertsii* снижало жизнеспособность и размеры склероциев *Rhizoctonia solani*, сформированных на клубнях нового урожая. Так, в контрольном варианте количество проросших склероциев составляло 62%, в то время как после применения *Metarhizium robertsii* только 12% склероциев образовали колонии на

агаре с добавлением антибиотиков, рост гриба был слабым, диаметр колоний в 7 раз меньше контрольных. Размеры склероциев, формирующихся на клубнях после обработки энтомопатогенным грибом, были в 1.65 раза меньше контрольных значений.

Результаты дополнительных лабораторных экспериментов показали, что при совместном



**Рис. 1.** Плотность мицелиальных зачатков склероциев *Rhizoctonia solani* при одиночном росте и совместном культивировании с *Metarhizium robertsii*. Плотность мицелия измерена по интенсивности окраски колонии (под блоком *Rhizoctonia solani*) в программе ImageJ. Различные буквы указывают на существенные различия между вариантами ( $P < 0.05$ , T-тест).

культивировании *M. robertsii* вызывал задержку образования склероциев *Rhizoctonia solani* (рис. 1, 2). При сравнении плотности мицелиальных зачатков склероциев при одиночном росте фитопатогена (рис. 2, а) и его совместном культивировании с *Metarhizium robertsii* (рис. 2, в) установлено достоверное ингибирование формирования склероциев *Rhizoctonia solani* в присутствии *Metarhizium robertsii* на протяжении всего периода наблюдений (T-тест,  $P \leq 0.015$ ).

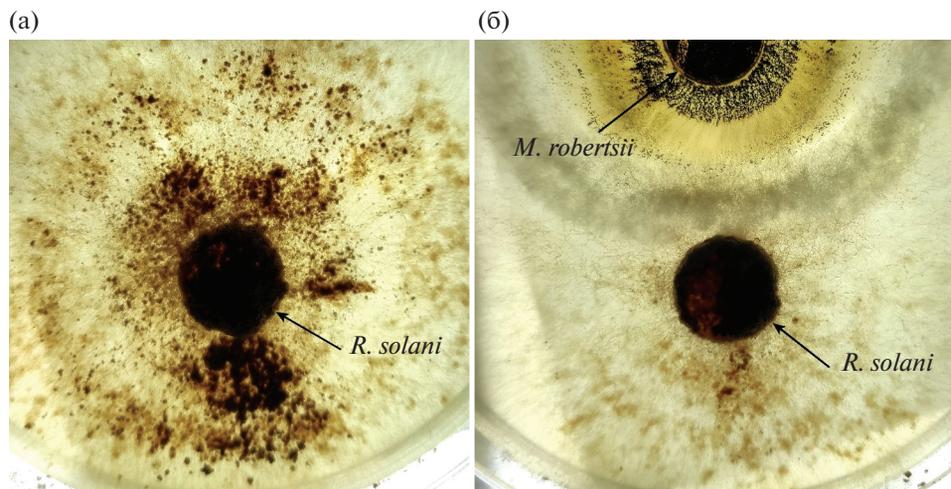
## ОБСУЖДЕНИЕ

Возбудитель ризоктониоза картофеля формирует обильную популяцию склероциев на клубнях (от 9 до 180 на один клубень) и в почве, достигая численности в агроэкосистемах картофеля более

50 пропагул на 100 г (Shaldyaeva et al., 2006). Энтомопатогенный гриб *M. robertsii* способен колонизировать подземные органы растений, в результате чего происходит стимулирование ряда биохимических процессов в растениях, сопряженных с повышением иммунитета. Многие авторы предполагают ключевую роль метаболитов энтомопатогенных грибов в ингибировании фитопатогенов. Причем влияние грибов на растение может быть опосредовано как воздействием непосредственно метаболитов гриба, так и собственно взаимодействием между грибом и растением (паттерн-распознающие структуры гриба могут выступать в качестве своеобразных элиситоров). Эти предположения были подтверждены в экспериментах с использованием бесклеточных фильтратов культур (Renwick et al., 1991; Bark et al., 1996; Sasan, Bidochka, 2013; Lozano-Tovar et al., 2017).

Для пояснения механизмов полифункционального действия энтомопатогенных грибов ряд авторов выдвигают следующие гипотезы: конкуренцию за субстрат (Ownley et al., 2004, 2008), антагонизм (Collemare et al., 2014; Ríos-Moreno et al., 2016; Garrido-Jurado et al., 2017) и активацию защитных систем растений в результате стресса (Ownley et al., 2010; Maksimov et al., 2015).

Предварительные лабораторные исследования антагонистических свойств штамма *M. robertsii* свидетельствовали об активном подавлении им гриба *Rhizoctonia solani*. Так, при длительном совместном культивировании энтомопатогена с *R. solani* отмечен эффект оплетания гиф и некротизации поверхностного мицелия возбудителя ризоктониоза (Tomilova et al., 2020). Проведенная нами количественная оценка плотности мицелиальных зачатков склероциев *R. solani* показала достоверное ингибирование формирования склероциев



**Рис. 2.** Сравнительная морфология культуры *Rhizoctonia solani* (а) и совместной культуры фитопатогена с *Metarhizium robertsii* (б). Плотность мицелия измеряли по интенсивности окраски в области под блоком *Rhizoctonia solani* с помощью программы ImageJ (10-е сут культивирования).

фитопатогена в присутствии *Metarhizium robertsii* на протяжении 50-ти суток культивирования.

Впервые в условиях производственных экспериментов установлено, что обработка клубней методом малообъемного опрыскивания суспензией конидий *M. robertsii* перед посадкой существенно сдерживает развитие ризоктониоза в течение всего вегетационного периода. На фазе полных всходов нами установлено достоверное снижение гибели ростков и индекса развития ризоктониоза на стеблях в результате обработки *M. robertsii*. В проведенных ранее исследованиях нами было отмечено, что начало колонизации растений грибами сопровождалось достоверным ростом активности защитных ферментов: пероксидазы в тканях корней (в 1.5 раза) и полифенолоксидазы в листьях (Tomilova et al., 2020), что свидетельствует об изменении иммунного статуса колонизируемых растений и соотносится с данными других исследователей (Hirano et al., 2008; Maksimov et al., 2015). Возможно, защитный эффект от ризоктониоза, обусловленный применением *M. robertsii*, сочетается как антагонистические свойства, так и активизацию защитной системы растения-хозяина.

Инокуляция картофеля энтомопатогенным грибом *M. robertsii* обеспечивала значительное улучшение семенных качеств полученных клубней в условиях Западной Сибири. Обобщенный показатель проявления заболевания (склероциальный индекс) снижался в 2.4 раза, а распространенность клубней со склероциями – в 2.8 раза по сравнению с контролем (табл. 2). Таким образом, обработка клубней *M. robertsii* позволит не только снизить ризоктониоз картофеля, но и контролировать распространение фитопатогенного гриба *Rhizoctonia solani*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 19-14-00138.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abramoff M.D., Magelhaes P.J., Ram S.J. Image processing with Image. J. Biophotonics Int. 2004. V. 11 (7). P. 36–42.
- Baker K.F. Types of *Rhizoctonia* diseases and their occurrence. In: J. R. Parmeter (ed.). *Rhizoctonia solani*: Biology and pathology. San-Francisco, 1970. P. 125–148.
- Bark Y.G., Lee D.G., Kim Y.H. et al. Antibiotic properties of an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, on *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea*. Korean J. Plant Pathology. 1996. V. 12. P. 245–250.
- Bruck D.J. Fungal entomopathogens in the rhizosphere. Biocontrol. 2010. V. 55. P. 103–112. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9236-7>
- Carling D.E., Leiner R.H., Westphale P.C. Symptoms, signs and yield reduction associated with *Rhizoctonia* disease on potato induced by tuberborne inoculum of *Rhizoctonia solani* Ag-3. American Potato J. 1989. V. 66. P. 693–701.
- Collemare J., Griffiths S., Yuichiro L. et al. Secondary metabolism and biotrophic lifestyle in the tomato pathogen *Cladosporium fulvum*. PLOS One, 2014. V. 9. e85877. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085877>
- Flori P., Roberti R. La concia dei bulbi di cipolla con antagonisti fungini per il contenimento di *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. La difesa delle piante. 1993. V. 16. P. 5–12.
- Frank J.A., Leach S.S., Webb R.A. Evaluation of potato clone reaction to *Rhizoctonia solani*. Plant Dis. Rep. 1976. V. 60 (11). P. 910–912.
- Garrido-Jurado I., Resquín-Romero G., Amarilla S.P. et al. Transient endophytic colonization of melon plants by entomopathogenic fungi foliar applications for the control of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). J. Pest. Sci. 2017. V. 90 (1). P. 319–330. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0767-2>
- Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica. 2001. V. 4 (1). P. 1–9.
- Henis Y., Ghaffar A.R., Baker R. A new pellet soil-sample and its use for the study of population dynamics of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology. 1978. V. 19. P. 1269–1273.
- Hirano E., Koike M., Aiuchi D. et al. Pre-inoculation of cucumber roots with *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium muscarium*) induces resistance to powdery mildew. Res. Bull. Obihiro Univ. 2008. V. 29. P. 82.
- Hu G., St Leger R.J. Field studies using a recombinant mycoinsecticide (*Metarhizium anisopliae*) reveal that it is rhizosphere competent. Appl. Envir. Microbiol. 2002. V. 68 (12). P. 6383–6387. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.12.6383-6387.2002>
- Jaber L.R., Salem N.M. Endophytic colonisation of squash by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) for managing Zucchini yellow mosaic virus in cucurbits. Biocontrol Sci. Technol. 2014. V. 24(10). <https://doi.org/10.1080/09583157.2014.923379>
- Kim J.J., Goettel M.S., Gillespie D.R. Evaluation of *Lecanicillium longisporum*, Vertalec® against the cotton aphid, *Aphis gossypii*, and cucumber powdery mildew, *Sphaerotheca fuliginea* in a greenhouse environment. Crop Protection. 2010. V. 29 (6). P. 540–544.
- Ko W., Hora F.K. A selective medium for the quantitative determination of the *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathology. 1971. V. 61. P. 707–710.
- Kryukov V.Y., Yaroslavtseva O.N., Tyurin M.V. et al. Ecological preferences of *Metarhizium* spp. from Russia and neighboring territories and their activity against Colorado potato beetle larvae. J. Invertebr. Pathol. 2017. V. 149. P. 1–7.
- Lednev G.R., Levchenko M.V., Pavlyushin V.A. Modern approaches to the development and use of mycoinsecticides to reduce the number of harmful arthropods. In: Abstracts of IV All-Russian Congress on Plant Protection with international participation “Phytopathology technologies in ensuring the independence and competitiveness of the agro-industrial complex of Russia”. St. Petersburg, 2019 (in Russ.).
- Lozano-Tovar M.D., Garrido-Jurado I., Quesada-Moraga E. et al. *Metarhizium brunneum* and *Beauveria bassiana* release secondary metabolites with antagonistic activity against *Verticillium dahliae* and *Phytophthora megasperma* olive pathogens. Crop Protection. 2017. V. 100. P. 186–195.
- Maksimov I.V., Sorokan A.V., Nafikova A.R. et al. On principal ability and action mechanisms of joint use of *Bacillus subtilis* 26D and *Beauveria bassiana* Ufa-2 preparation for potato protection against *Phytophthora infestans* and

- Leptinotarsa decemlineata*. Mikologiya i fitopatologiya 2015. V. 49 (5). P. 317–324.
- Ownley B.H., Pereira R.M., Klingeman W.E. et al. *Beauveria bassiana*, a dual purpose biological control with activity against insect pests and plant pathogens. In: R.T. Lartey and A.J. Caesar (eds). Emerging Concepts in Plant Health Management. Research Signpost, Delhi, 2004, pp. 255–269.
- Ownley B.H., Dee M.M., Gwinn K. Effect of conidial seed treatment rate of entomopathogenic *Beauveria bassiana* 11-98 on endophytic colonization of tomato seedlings and control of *Rhizoctonia* disease. Phytopathology. 2008. V. 98. P. 118.
- Ownley B.H., Gwinn K.D., Vega F.E. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. BioControl. 2010. V. 55. P. 113–128. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9241-x>
- Renwick A., Campbell R., Coe S. Assessment of in vivo screening systems for potential biocontrol agents of *Gaeumannomyces graminis*. Plant Pathol. 1991. V. 40. P. 524–532.
- Ríos-Moreno A., Garrido-Jurado I., Resquín-Romero G. et al. Destruxin A production by *Metarhizium brunneum* strains during transient endophytic colonisation of *Solanum tuberosum*. Biocontrol Sci. Technol. 2016. V. 26 (11). P. 1574–1585.
- Sasan R.K., Bidochka M.J. Antagonism of the endophytic insect pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* against the bean plant pathogen *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. Can. J. Plant Pathol. 2013. V. 35 (3). P. 288–293. <https://doi.org/10.1080/07060661.2013.823114>
- Serebrov V., Maljarchuk A., Shrelnshis M., Spontaneous variability of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) sor. strains as an approach for enhancement of insecticidal activity. Plant Sci. (Sofia) 2007. V. 44. 236e239.
- Shaldyaeva E.M., Pilipova Yu.V. Potato rhizoctoniosis: sclerocial index. Zashchita i karantin rasteniy. 1999. V. 5. P. 16–17 (in Russ.).
- Shaldyaeva E.M., Pilipova Yu.V., Konyaeva N.M. Monitoring of rhizoctoniosis in agroecosystems of potatoes in Western Siberia. Novosibirsk, 2006 (in Russ.).
- Shaldyaeva E.M., Pilipova Yu.V. Harmful organisms of potato agroecosystems in the forest-steppe of Western Siberia and their evolutionary and ecological adaptations. Sibirskiy vestnik selskokhozyaystvennoy nauki. 2017. V. 41 (1). P. 65–73 (in Russ.).
- Tomilova O.G., Shaldyaeva E.M., Kryukova N.A. et al. Entomopathogenic fungi decrease *Rhizoctonia* disease in potato in field conditions. St. Petersburg, 2020.
- Tsrer L. Biology, ecology and management of *Rhizoctonia solani* on potato. J. Phytopathol. 2010. V. 158. P. 649–658.
- Vega F.E. The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: a review. Mycologia. 2018. V. 110 (1). P. 4–30. <https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1418578>
- Wilson P.S., Ahvenniemi P.M., Lehtonen M.J. et al. Biological and chemical control and their combined use to control different stages of the *Rhizoctonia* disease complex on potato through the growing season. Annls Appl. Biol. 2008. V. 153. P. 307–320.
- Леднев Г.Р., Левченко М.В., Павлюшин В.А. (Lednev et al.) Современные подходы к разработке и применению микоинсектицидов для снижения численности вредных членистоногих // Сборник тезисов докладов IV Всероссийского съезда по защите растений с международным участием “Фитосанитарные технологии в обеспечении независимости и конкурентоспособности АПК России”. СПб., 2019.
- Шалдяева Е.М., Пилипова Ю.В. (Shaldyaeva, Pilipova) Ризоктониоз картофеля: склероциальный индекс // Защита и карантин растений. 1999. № 5. С. 16–17.
- Шалдяева Е.М., Пилипова Ю.В., Коняева Н.М. (Shaldyaeva et al.) Мониторинг ризоктониоза в агроэкосистемах картофеля Западной Сибири. Новосибирск, 2006. 200 с.
- Шалдяева Е.М., Пилипова Ю.В. (Shaldyaeva, Pilipova) Вредные организмы агроэкосистем картофеля лесостепи Западной Сибири и их эволюционно-экологические адаптации // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2017. Т. 41. № 1. С. 65–73.

## Efficiency of the Use of Entomopathogenic Fungus *Metarhizium robertsii* Against Potato Rhizoctoniosis

E. M. Shaldyaeva<sup>a,b,#</sup>, Yu. V. Pilipova<sup>b,##</sup>, O. G. Tomilova<sup>a,c,###</sup>, and V. V. Glupov<sup>a,####</sup>

<sup>a</sup>Institute of Systematics and Ecology of Animals of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>b</sup>Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

<sup>c</sup>All-Russian Research Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

<sup>#</sup>e-mail: elenashaldyaeva@mail.ru

<sup>##</sup>e-mail: pyuv260565@mail.ru

<sup>###</sup>e-mail: toksina@mail.ru

<sup>####</sup>e-mail: skif61@list.ru

For the first time in Western Siberia, production tests of an experimental prototype of the drug based on the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* were carried out. Its ability to significantly restrain the development of potato rhizoctoniosis throughout the entire growing season is shown. A significant decrease in the death of sprouts and the development of rhizoctoniosis on the stems was established in comparison with the control and chemical protectant. In the area with the use of *M. robertsii*, a significant increase in the number of healthy tubers (by 2.5 times) was noted, the number of tubers with sclerotia decreased by 2.8 times compared to the control. The effectiveness of *M. robertsii* in the suppression of rhizoctoniosis was high at all stages of potato ontogeny and amounted to 52–84%. In laboratory experiments in the presence of *M. robertsii*, a significant inhibition of the formation of *Rhizoctonia solani* sclerotia on tubers was established, as well as a decrease in their viability and size.

**Keywords:** biological effectiveness, entomopathogens, prevalence, *Rhizoctonia*-like fungi