

СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКІ НАУКИ

DOI: <https://doi.org/10.32839/2304-5809/2021-3-91-3>

УДК 579.64

Бровко І.С., Подгурська І.О.,
Гриневич І.О., Жмур О.В., Куденко А.В.
ТОВ «Інститут агробіології»

ДОСЛІДЖЕННЯ ІНСЕКТИЦИДНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ШТАМІВ *METARHIZIUM ANISOPLIAE*, *BEAUVERIA BUSSIANA*, *BACILLUS THURINGIENIS* ТА *STREPTOMYCES AVERMITILIS* НА ЛИЧИНКАХ II–III ВІКУ КОЛОРАДСЬКОГО ЖУКА *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA*

Анотація. Колорадський жук *Leptinotarsa decemlineata* вважається одним з найбільш небезпечних шкідників картоплі, який є причиною суттєвих економічних збитків для вітчизняного агровиробника. Дане дослідження присвячене вивченню впливу чотирьох штамів мікроорганізмів *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bussiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212 та *Streptomyces avermitilis* eko/302, а також їхніх комбінацій, які володіють високою інсектицидною активністю проти широкого спектра шкідників сільськогосподарських культур, на личинок колорадського жука II–III віку. Личинки колорадського жука у кількості 20 особин поміщали на молоді рослини картоплі, листя якої попередньо обробляли культурою досліджуваних штамів мікроорганізмів. Дослід закладали у трьох повторностях. Було досліджено наступні варіанти обробки листя рослин картоплі: 1. Обробка культуральною рідиною *Metarhizium anisopliae* eko/107 з титром $2,5 \cdot 10^8$ КУО/мл. 2. Обробка культуральною рідиною *Beauveria bussiana* eko/106 з титром $2,5 \cdot 10^8$ КУО/мл. 3. Обробка культуральною рідиною *Bacillus thuringiensis* eko/212 з титром $2,5 \cdot 10^8$ КУО/мл. 4. Обробка культуральною рідиною *Streptomyces avermitilis* eko/302 з титром $2,5 \cdot 10^8$ КУО/мл. 5. Обробка культуральною рідиною суміші *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bussiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212 з загальним титром $2,5 \cdot 10^8$ КУО/мл. 6. Обробка культуральною рідиною суміші *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bussiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212, *Streptomyces avermitilis* eko/302 з загальним титром $2,5 \cdot 10^8$ КУО/мл. Горщики з обробленими рослинами після поміщення личинок колорадського жука накривали перфорованими пластиковими ємностями. Тривалість дослідження складала 7 днів, облік загиблих личинок проводили на 1, 3 та 7 добу, мертвих личинок одразу вилучали. В результаті проведення лабораторного експерименту було встановлено, що найвищу смертність личинок колорадського жука II–III віку спостерігали на 7 день при обробці рослин культурою *Metarhizium anisopliae* eko/107 (85,0%), а також при обробці сумішшю *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bussiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212 (90,0%) та сумішшю *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bussiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212, *Streptomyces avermitilis* eko/302 (95,0%). Результати дослідження свідчать про перспективність застосування вищезгаданих композицій мікроорганізмів як способу ефективного біоконтролю популяції колорадського жука.

Ключові слова: Біоконтроль, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bussiana*, *Bacillus thuringiensis*, *Streptomyces avermitilis*, колорадський жук *Leptinotarsa decemlineata*, картопля *Solanum tuberosum*.

Brovko Iryna, Podhurska Iryna,
Hrynevych Ivanna, Zhmur Olesia, Kudenko Anastasiia
LLC "Institute of Agrobiology"

STUDY OF INSECTICIDAL PROPERTIES OF STRAINS OF *METARHIZIUM ANISOPLIAE*, *BEAUVERIA BUSSIANA*, *BACILLUS THURINGIENIS* AND *STREPTOMYCES AVERMITILIS* ON THE LARVES OF THE II–III AGE OF THE COLORADIAN BEETLE *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA*

Summary. Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* is considered one of the most dangerous pests of potatoes, which is the cause of significant economic losses for domestic farmers. This study examines the effects of four strains *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bussiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212 and *Streptomyces avermitilis* eko/302 and their combinations, which have a high insecticidal activity against a wide range of crop pests, on the Colorado potato beetle larvae II–III age. Colorado potato beetle larvae in the amount of 20 individuals were placed on young potato plants, the leaves of which were pre-treated with a culture of the studied strains of microorganisms. The experiment was set up in three repetitions. The following options for processing the leaves of potato plants were studied: 1. Treatment with culture fluid *Metarhizium anisopliae* eko/107 with a titer of $2.5 \cdot 10^8$ CFU/ml. 2. Treatment with culture fluid *Beauveria bussiana* eko/106 with a titer of $2.5 \cdot 10^8$ CFU/ml. 3. Treatment with culture fluid *Bacillus thuringiensis* eko/212 with a titer of $2.5 \cdot 10^8$ CFU/ml. 4. Treatment with culture fluid *Streptomyces avermitilis* eko/302 with a titer of $2.5 \cdot 10^8$ CFU/ml. 5. Treatment with culture fluid mixture of *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bussiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212 with a total titer of $2.5 \cdot 10^8$ CFU/ml. 6. Treatment with a culture fluid of a mixture of *Metarhi-*

zium anisopliae eko/107, *Beauveria bassiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212, *Streptomyces avermitilis* eko/302 with a total titer of $2.5 \cdot 10^8$ CFU/ml. Pots with treated plants after placing the larvae of Colorado potato beetle were covered with perforated plastic containers. The duration of the study was 7 days, the record of dead larvae was performed on days 1, 3 and 7, dead larvae were immediately removed. As a result of a laboratory experiment, it was found that the highest mortality of Colorado potato beetle larvae of II–III age was observed on day 7. The heist effect was observed for *Metarhizium anisopliae* eko/107 (85.0%) and combinations consisted of *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bassiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212 (90.0%) and of *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bassiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212, *Streptomyces avermitilis* eko/302 (95, 0%). The results of the study indicate the prospects for the use of the above compositions of microorganisms as a way of effective biocontrol of Colorado potato beetle population.

Keywords: Biocontrol, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Bacillus thuringiensis*, *Streptomyces avermitilis*, potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*, potato *Solanum tuberosum*.

Постановка проблеми. Колорадський жука – це один з найбільш розповсюджених шкідників картоплі на теренах України, який спричиняє значні економічні збитки [1]. Неконтрольоване розмноження популяції цього шкідника на обмеженій ділянці може призвести до повної втрати врожаю [2], а тому застосування спеціальних агрозаходів для стримування поширення та розвитку *Leptinotarsa decemlineata* є обов'язковим.

На сьогодні найбільш поширеним високоефективним методом захисту картоплі від колорадського жука є застосування токсичних інсектицидів шлунково-кишкової дії на основі імідаклоприду, тіаметоксаму, тіаклоприду [3]. Основною проблемою застосування даних хімічних речовин у боротьбі проти *Leptinotarsa decemlineata* є висока токсичність діючих речовин інсектицидів для об'єктів ґрунтової, наземної та водної біоти [4; 5], а також загроза отруєння бджіл та людини [6; 7]. Крім того, регулярне застосування інсектицидів з однією й тією ж діючою речовиною призводить до появи резистентності наступних популяцій колорадського жука до цих сполук [8; 9].

У зв'язку з низкою проблем, які виникають при регулярному застосуванні інсектицидів для стримування популяції колорадського жука, а також посиленні вимог екологічного законодавства [10; 11; 12] все більшої популярності набувають методи біологічного контролю шкідника, суть яких полягає в застосуванні властивостей деяких видів бактерій та мікроміцетів пригнічувати життєдіяльність личинок жука та/або дорослих особин, а також спричиняти їх загибель. Серед бактерій з доведеною інсектицидною активністю виділяють вид *Bacillus thuringiensis*, інсектицидна дія якого забезпечується наявністю унікального δ -ендотоксину. До найбільш вивчених мікроміцетів з інсектицидною активністю належать *Metarhizium anisopliae* та *Beauveria bassiana*, які є ентомопатогенами [13], а також стрептоміцет *Streptomyces avermitilis*, який є продуцентом токсичних для комах речовин авермектинів [14]. Перспективним напрямком розвитку методів біоконтролю шкідників є дослідження властивостей вищезазначених мікроорганізмів пригнічувати життєдіяльність личинок та імаго шкідників сільськогосподарських культур як при застосуванні окремого штаму, так і при комбінуванні декількох з них.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. В останні роки інтерес вчених прикутий до мікроорганізмів, що могли б використовуватись для боротьби зі шкідниками аграрного комплекс-

су, зокрема – з колорадським жуком *Leptinotarsa decemlineata*. Чимало публікацій присвячені інсектицидному чи акарцидному впливу мікроміцетів *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, бактерій *Bacillus thuringiensis*, актиноміцетів *Streptomyces avermitilis* на живі організми. Автори публікації [15] описують вплив *Metarhizium anisopliae* на павутинного кліща та загальний механізм дії патогену: гриб проникає до комахи-господаря через кутикулу, згодом завдяки високій ферментативній активності конідії *Metarhizium anisopliae* проростають всередину жертви. Під час зараження тіла хазяїна продукується та виділяються численні екзогенні токсини. Згодом комаха перестав харчуватись і гине, інфекція триває від 7 до 12 днів.

Інша група дослідників [16; 17] аналізувала вплив мікроміцета *Beauveria bassiana*, інсектицидна дія якого полягає в проникненні конідій гриба в порожнину тіла комахи та поступового отруєння організму хазяїна продуктами метаболізму гриба-паразита.

Робота науковців [18; 19] присвячена дослідженню бактерії *Bacillus thuringiensis*, яка продукує специфічні кишкові токсиканти, небезпечні для комах. Бактерія здатна виробляти декілька класів інсектицидних білків, включаючи δ -ендотоксини. У науковій роботі [19] як один з цільових об'єктів використовували *Leptinotarsa decemlineata* Say. У ході дослідження у личинок спостерігалось зниження харчової активності, відставання в розвитку та рості.

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми. Аналіз сучасного наукового доробку з вивчення способів біоконтролю популяції *Leptinotarsa decemlineata* свідчить про необхідність продовження ґрунтовних досліджень у цій галузі та пошуку нових, раніше не досліджених комбінацій штамів бактерій та мікроміцетів, які демонструють високу інсектицидну активність проти даного шкідника. Поєднання кількох видів мікроорганізмів-біоінсектицидів, які володіють різними механізмами впливу на комаху-шкідника, дозволить закласти наукові основи створення сучасних високоефективних методів біологічного контролю колорадського жука, які будуть відрізнятися комплексним ефектом та швидкодією.

Мета статті. Визначення найбільш ефективної комбінації штамів мікроорганізмів *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bassiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212 та *Streptomyces avermitilis* eko/302 для боротьби з личинками колорадського жука II–III віку.

Виклад основного матеріалу. Експериментальні дослідження проводилися в лабораторії ТОВ «Інститут Агробіології».

Штами мікроорганізмів *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bussiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212 та *Streptomyces avermitilis* eko/302 були виділені з природних агроєкосистем фахівцями ТОВ «Інститут Агробіології» в 2017 році методами аналітичної селекції та задепоновані в депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Заболотного НАН України під номерами ІМВ F-100115, ІМВ F-100114, ІМВ B-7634 та ІМВ Ас-5037 відповідно.

Для проведення експерименту штами мікроорганізмів вирощували в рідкому картопляно-глюкозному поживному середовищі [20] протягом 14 днів за температури 28°C для завершення споруутворення. Для проведення експерименту було використано по 1 мл культури мікроорганізмів (суміші мікроорганізмів) із загальним титром $2,5 \cdot 10^8$ КУО/мл на один варіант досліді (на одну рослину картоплі) у відповідності до схеми:

1. *Metarhizium anisopliae* eko/107.
2. *Beauveria bussiana* eko/106.
3. *Bacillus thuringiensis* eko/212.
4. *Streptomyces avermitilis* eko/302.

5. Суміш *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bussiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212, взятих у рівних співвідношеннях.

6. Суміш *Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bussiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212, *Streptomyces avermitilis* eko/302, взятих у рівних співвідношеннях.

Для обробки рослин картоплі застосовували суспензію культури мікроорганізмів в дистильованій воді: 1 мл культури мікроорганізмів розчиняли в 9 мл дистильованої води і наносили на листову поверхню шляхом розпилювання. Вплив кожного мікроорганізму (суміші мікроорганізмів) досліджувався у трьох повтореннях.

Личинок колорадського жука II–III віку було зібрано в достатній для проведення експерименту кількості на зараженій популяції даного шкідника ділянці в с. Високе Брусилівського р-ну Житомирської обл., на картоплі сорту Конкорд. Личинки жука у кількості по 20 штук на рослину поміщали на листя картоплі сорту

Конкорд, яка вирощувалася протягом 14 днів в окремих горщиках та була оброблена суспензією відповідного мікроорганізму (їх суміші), як було описано вище. Після поміщення личинок на рослини кожен горщик було ізольовано шляхом накривання перфорованою пластиковою ємністю.

Облік смертності личинок колорадського жука проводили щодня протягом 7 днів з дня закладання досліді, мертвих особин одразу вилучали з дослідних ємностей. Смертність личинок виражали у відсотках (табл. 1).

Результати дослідження показали відмінності у термінах впливу різних видів мікроорганізмів на смертність личинок. Так, наприклад, мікроміцет *Metarhizium anisopliae* eko/107 на 1 день проведення досліді демонстрував найслабший вплив на смертність личинок (38,5%) в порівнянні з іншими досліджуваними мікроорганізмами, проте вже на 3 день смертність личинок, що піддавалися впливу *Metarhizium anisopliae* eko/107, була вищою, ніж спостерігалось для інших видів мікроміцетів та бактерій.

Використання ж суміші штамів для обробки рослини вже на перший день давало найкращі результати: смертність личинок при обробці композицією з трьох штамів була вищою, ніж за використання окремих мікроорганізмів. Перший день обліку показав кращі результати за використання трьох штамів, проте на 3 та 7 день смертність личинок на рослинах, оброблених сумішшю з чотирьох штамів, вже була вищою в середньому на 5%.

Висновки. В результаті дослідження було встановлено, що найбільш перспективним напрямком реалізації стратегії біологічного контролю популяції колорадського жука на картоплі є використання одразу кількох видів мікроорганізмів з різними механізмами впливу на цільовий об'єкт. В порівнянні з варіантами, де використовувалися лише окремі види бактерій або мікроміцетів, суміш одразу трьох штамів мікроорганізмів (*Metarhizium anisopliae* eko/107, *Beauveria bussiana* eko/106, *Bacillus thuringiensis* eko/212) підвищувала смертність личинок жука на 5,0 – 18,5%. Додавання ж до такої композиції четвертого мікроорганізму – *Streptomyces avermitilis* eko/302 дозволило досягнути зростання смертності ще на 5%.

Таблиця 1

Вплив штамів мікроорганізмів (суміші мікроорганізмів) на личинок II–III віку колорадського жука *Leptinotarsa decemlineata*

Варіант обробки	Смертність личинок, %		
	1 день	3 день	7 день
<i>Metarhizium anisopliae</i> eko/107	38,5±0,5	75,0±0,3	85,0±1,0
<i>Beauveria bussiana</i> eko/106	40,0±0,8	70,0±0,7	78,5±0,5
<i>Bacillus thuringiensis</i> eko/212	43,5±1,2	61,5±1,2	80,0±0,8
<i>Streptomyces avermitilis</i> eko/302	45,0±0,7	65,0±1,8	71,5±0,3
Суміш <i>Metarhizium anisopliae</i> eko/107, <i>Beauveria bussiana</i> eko/106, <i>Bacillus thuringiensis</i> eko/212	48,5±2,0	78,5±1,8	90,0±2,2
Суміш <i>Metarhizium anisopliae</i> eko/107, <i>Beauveria bussiana</i> eko/106, <i>Bacillus thuringiensis</i> eko/212, <i>Streptomyces avermitilis</i> eko/302	46,5±0,8	83,5±1,2	95,0±2,0

Список літератури:

1. Ващишин О.А. Колорадський жук у Західному Лісостепу України. *Передгірне та гірське землеробство і тваринництво*. 2016. Вип. 59. С. 32–39.
2. Akbarian J., Ghosta Y., Shayesteh N., Safavi S.A. Pathogenicity of some isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin on 2nd and 4th larval instars of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col.: Chrysomelidae), under laboratory conditions. *African Journal of Microbiology Research*. 2012. Vol. 6(34). P. 6407–6413.
3. Дубовик В.І., Дубовик О.О. Використання інсектицидів на посадках картоплі. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2017. Вип. 2(33). С. 35–39. URL: <http://repo.snau.edu.ua/bitstream/123456789/5761/1/8.pdf> (дата звернення: 03.02.2021).
4. Kimura-Kuroda J. Nicotine-like effects of the neonicotinoid insecticides acetamiprid and imidacloprid on cerebellar neurons from neonatal rats. *PLoS One*. 2012. № 7(2). DOI: 10.1371/journal.pone.0032432
5. Bal R., Türk G., Tuzcu M., Yilmaz O., Kuloglu T., Gundogdu R., Gür S., Agca A., Ulas M., Cambay Z., Tuzcu Z., Gencoglu H., Guvenc M., Ozsahin A.D., Kocaman N., Aslan A., Etem E. Assessment of imidacloprid toxicity on reproductive organ system of adult male rats. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 2012. Iss. 47(5). P. 434–444. DOI: 10.1080/03601234.2012.663311
6. Окрушко С.Є. Безпека сучасних інсектицидів для корисної ентомофауни. *International independent scientific journal*. 2020. № 16. С. 6–12. URL: <http://socrates.vsau.org/repository/getfile.php/25224.pdf> (дата звернення: 03.02.2021).
7. Kolianchuk Y.V. The problem of assessment of reproductive toxicity (gonadotoxic) pesticides. *Medical and Clinical Chemistry*. 2018. № 2. P. 123–130. DOI: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i2.9136>
8. Єльцов А.Л., Сіренко А.Г. Мікроеволюційні процеси в популяціях *Leptinotarsa Decemlineata* (SAY, 1824) під впливом застосування інсектицидів. Аналіз процесів 2004–2006 років. *Вісник Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника. Серія Біологія*. 2008. Вип. XI. С. 16–36.
9. Alyokhin A., Dively G., Patterson M., Castaldo C., Rogers D., Mahoney M., Wollam J. Resistance and cross-resistance to imidacloprid and thiamethoxam in the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest Management Science*. 2007. Volume 63. Issue 1. P. 32–41. DOI: 10.1002/ps.1305
10. Про Основні засади (стратегію) державної екологічної політики України на період до 2030 року : Закон України від 28 лютого 2019 р. № 2697-VIII / Верховна Рада України. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2697-19#Text> (дата звернення: 05.02.2021).
11. Про пестициди і агрохімікати : Закон України від 16 жовтня 2020 р. № 86/95-ВР / Верховна Рада України. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/86/95-%D0%B2%D1%80#Text> (дата звернення: 05.02.2021).
12. Про Цілі сталого розвитку України на період до 2030 року : Указ Президента України від 30 вересня 2019 р. № 722/2019 / Президент України. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/722/2019#Text> (дата звернення: 05.02.2021).
13. Сікура О.А., Сікура О.О. Роль біологічних агентів у регуляції чисельності західного кукурудзяного жука. *Захист і карантин рослин*. 2014. Вип. 60. С. 334–343.
14. Ісаєнко В.М., Давидова К.О., Гетнарович О.А. Токсикологічна оцінка пестицидів за допомогою гідробіонтів. *Вісник Національного Авіаційного Університету*. 2005. Том 23. № 1. С. 153–155.
15. Чабанюк Я.В., Бровко І.С., Подгурська І.О., Куденко А.В. Вплив *Metarhizium anisopliae* на яйця павутинного кліща *Tetranychus urticae*. *Екологічні науки*. 2019. № 4(27). С. 197–200.
16. Максимова Ю.В. Биологические методы защиты леса : учебное пособие. Томск, 2014. 172 с.
17. Mulock B., Chandler L. Field-cage studies of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliaceae) for the suppression of adult western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Biocontrol Science and Technology*. 2000. Vol. 10. P. 51–60. DOI: 10.1080/09583150029387
18. Bravo A., Soberon M., Gill S.S. *Bacillus thuringiensis*: Mechanism and Use. *Comprehensive Molecular Insect Science*. 2005. Vol. 6. P. 175–206.
19. Бойко М.В. Функціональні біотехнологічні агенти *Bacillus Thuringiensis* для контролю популяції колорадського жука : автореф. дис. ... кандидата с.-г. наук : спец. 03.00.20 «Біотехнологія»; Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2019. 23 с.
20. Murao S., Tanaka N. Isolation and identification of a microorganism producing bilirubin oxidase. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1982. Vol. 46(8). P. 2031–2034. DOI: <https://doi.org/10.1080/00021369.1982.10865379>

References:

1. Vashchyshyn O.A. (2016) Koloradskiy zhuk u Zakhidnomu Lisostepu Ukrainy [Colorado potato beetle in the Western Forest-Steppe of Ukraine]. *Foothill and mountain agriculture and animal husbandry*, vol. 59, pp. 32–39.
2. Akbarian J., Ghosta Y., Shayesteh N., Safavi S.A. (2012) Pathogenicity of some isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin on 2nd and 4th larval instars of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col.: Chrysomelidae), under laboratory conditions. *African Journal of Microbiology Research*, vol. 6(34), pp. 6407–6413.
3. Dubovyk V.I., Dubovyk O.O. (2017) Vykorystannia insektytsydiv na posadkakh kartopli [Use of insecticides on potato plantings]. *Visnyk Sumskoho Natsionalnoho Ahrarnoho Universytetu* [Bulletin of Sumy National Agrarian University] (electronic journal), vol. 2(33), pp. 35–39. Available at: <http://repo.snau.edu.ua/bitstream/123456789/5761/1/8.pdf> (accessed 03 February 2021).
4. Kimura-Kuroda J. (2012) Nicotine-like effects of the neonicotinoid insecticides acetamiprid and imidacloprid on cerebellar neurons from neonatal rats. *PLoS One*, no. 7(2). DOI: 10.1371/journal.pone.0032432
5. Bal R., Türk G., Tuzcu M., Yilmaz O., Kuloglu T., Gundogdu R., Gür S., Agca A., Ulas M., Cambay Z., Tuzcu Z., Gencoglu H., Guvenc M., Ozsahin A.D., Kocaman N., Aslan A., Etem E. (2012) Assessment of imidacloprid toxicity on reproductive organ system of adult male rats. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, iss. 47(5), pp. 434–444. DOI: 10.1080/03601234.2012.663311
6. Okrushko S.Ye. (2020) Bezpeka suchasnykh insektytsydiv dlia korysnoi entomofauny [Safety of modern insecticides for useful entomofauna]. *International independent scientific journal* (electronic journal), no. 16, pp. 6–12. Available at: <http://socrates.vsau.org/repository/getfile.php/25224.pdf> (accessed 03 February 2021).
7. Kolianchuk, Y.V. (2018) The problem of assessment of reproductive toxicity (gonadotoxic) pesticides. *Medical and Clinical Chemistry*, no. 2, pp. 123–130. DOI: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i2.9136>

8. Yeltsov A.L., Sirenko A.H. (2008) Mikroevoliutsiini protsesy v populiatsiakh *Leptinotarsa Decemlineata* (SAY 1824) pid vplyvom zastosuvannya insektytsydiv. Analiz protsesiv 2004–2006 rokiv [Microevolutionary processes in populations of *Leptinotarsa Decemlineata* (SAY, 1824) under the influence of insecticides. Analysis of processes in 2004–2006]. *Bulletin of Vasyl Stefanyk Precarpathian National University. Biology series*, vol. XI, pp. 16–36.
9. Alyokhin A., Dively G., Patterson M., Castaldo C., Rogers D., Mahoney M., Wollam J. (2007) Resistance and cross-resistance to imidacloprid and thiamethoxam in the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest Management Science*, vol. 63, issue 1, pp. 32–41. DOI: 10.1002/ps.1305
10. Law of Ukraine on the Basic Principles (Strategy) of the State Environmental Policy of Ukraine for the period up to 2030 № 2697-VIII (2019, February 28). *Vidomosti Verkhovnoyi Rady Ukrayiny*. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2697-19#Text> (accessed 05 February 2021). (in Ukrainian)
11. Law of Ukraine on Pesticides and Agrochemicals of № 86/95-BP (2020, October 16). *Vidomosti Verkhovnoyi Rady Ukrayiny*. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/86/95-%D0%B2%D1%80#Text> (accessed 05 February 2021). (in Ukrainian)
12. Decree of the President of Ukraine on the Sustainable Development Goals of Ukraine for the period up to 2030 № 722/2019 (2019, September 30). *Prezydent Ukrainy*. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/722/2019#Text> (accessed 05 February 2021). (in Ukrainian)
13. Sikura O.A., Sikura O.O. (2014) Rol biolohichnykh ahentiv u rehuliyatsii chyselnosti zakhidnoho kukurudzianoho zhuka [The role of biological agents in the regulation of the number of western corn beetle]. *Plant protection and quarantine*, vol. 60, pp. 334–343.
14. Isaienko V.M., Davydova K.O., Hetnarevych O.A. (2005) Toksykologichna otsinka pestytsydiv za dopomohoiu hidrobiontiv [Toxicological evaluation of pesticides using aquatic organisms]. *Bulletin of the National Aviation University*, vol. 23, no. 1, pp. 153–155.
15. Chabaniuk Ya.V., Brovko I.S., Podhurska I.O., Kudenko A.V. (2019) Vplyv *Metarhizium anisoplie* na yaitsia pavutynnoho klishcha *Tetranychus urticae* [Influence of *Metarhizium Anisoplie* on the eggs of the spider mite *Tetranychus Urticae*]. *Environmental sciences*, no. 4(27), pp. 197–200.
16. Maksymova Yu.V. (2014) *Biologicheskie metody zashchity lesa: uchebnoe posobie* [Biological methods of forest protection: a textbook]. Tomsk: Publishing House of Tomsk State University. (in Russian)
17. Mulock B., Chandler L. (2000) Field-cage studies of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliaceae) for the suppression of adult western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Biocontrol Science and Technology*, vol. 10, pp. 51–60. DOI: 10.1080/09583150029387
18. Bravo A., Soberon M., Gill S.S. (2005) *Bacillus thuringiensis*: Mechanism and Use. *Comprehensive Molecular Insect Science*, vol. 6, pp. 175–206.
19. Boiko M.V. (2019) *Bacillus Thuringiensis functional biotechnological agents for colorado potato beetle population control*. Extended abstract of candidate's thesis. Kyiv: National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. (in Ukrainian)
20. Murao S., Tanaka N. (1982) Isolation and identification of a microorganism producing bilirubin oxidase. *Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 46(8), pp. 2031–2034. DOI: <https://doi.org/10.1080/00021369.1982.10865379>