

Լ.Ա.Շիլ-Աօփյան, Զ.Կ.Աֆրիկյան, Ա.Ս.Իսմաիլովա,
Ի.Ա.Կիրակոսյան, Լ.Ս.Սալինյան, Կ.Օ.Շիլինգարյան

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТУР ГРУППЫ

BAC. CEREUS -THURINGIENSIS

Для разработки бактериальных средств борьбы с вредными насекомыми большой интерес представляет изучение энтомопатогенных культур группы *Bac. thuringiensis*. Данная группа неоднородна как биологически, так и по энтомоцидным свойствам и родственна широко распространенному виду *Bac. cereus*.

В этой связи вопросы выделения культур новых разновидностей и их систематики представляют сейчас значительный интерес.

В 1958 г. Хеймпель и Ангус (Heimpel, Angus, 1958) впервые предложили "ключ" для идентификации разновидностей кристаллоферов, основанный на использовании таких признаков, как образование ацетилметилкарбинола, фосфолипазы С, пленки на питательном бульоне и других морфо-физиологических особенностей культуры.

Де Баржак и Бонфеу (De Barjac, Bonnefoi, 1962, 1967; Bonnefoi, de Barjac, 1963) предложили свой "ключ", основанный на определении серолого-биохимических особенностей. Наряду с биохимическими тестами, предложенными ранее (Heimpel, Angus, 1958;

Toumanoff, Le Coroller, 1959), они использовали новые: усвоение салицина, эскулина, сахарозы, крахмала, интенсивность протеолиза. Серологические свойства предполагают дифференциацию культур по образованию ими жгутикового (H) антигена. Оказалось, что реакция жгутиковой агглютинации совпадает с классификацией, основанной на их биохимических свойствах. Хеймпель (Heimpel, 1967) предложил новую схему "ключа" для идентификации кристаллоносных культур, разделив их на два основных вида: *Bac. thuringiensis* и *Bac.*

finitimus.

Ценным признаком дифференциации этих разновидностей явилось определение эстераз по методу, разработанному Норрисом (Norris, 1964). У культур группы *Bac. thuringiensis* обнаружено 9 типов разных спектров, полностью совпадающих с серологической группировкой (Norris, Burgess, 1965).

В настоящее время чаще всего используется классификация *Vac.thuringiensis*, предложенная Де Баржак и Бонфуа. Нами также использовано большинство предлагаемых ими в "ключе" биохимических признаков для характеристики группы культур нового серотипа *caucasicus*, описываемого как новая разновидность *Vac.thuringiensis* (Африкян, Чил-Акопян, 1968; Африкян и др., 1968, 1969).

Систематическая значимость образования параспоральных включений культурами группы *Vac.thuringiensis* неоднократно оспаривалась рядом авторов (Томанов, 1955; Toumanoff, Le Coroller, 1959). Если исключить признак образования этих включений, культуры кристаллофоров практически невозможно отличать от некристаллофоров. С другой стороны, описан ряд культур группы *Vac. cereus-thuringiensis*, а именно — *Vac. fowleri*, *Vac. medusae*, которые образуют параспоральные включения, свойственные штаммам *Vac.thuringiensis*, но не обладают энтомоцидным действием (Fitz-James, Young, 1959; Fowler, Harrison, 1952; Hainau, 1961). В литературе описаны штаммы *Vac.cereus*, не образующие параспоральных включений, но обладающие выраженным энтомопатогенным действием на комаров (Ибуки, Фудзисеки, 1967), пилильщиков и других насекомых (Heimpel, 1961; Stephens, 1952, 1957).

Изложенное показывает условность принятой терминологии вида *Vac.thuringiensis* и определенную необоснованность руководствоваться в работах по изысканию продуцентов энтомоцидных препаратов из группы *Vac.cereus-thuringiensis* признаком образования параспоральных кристалловидных включений.

Целью настоящей работы является изучение антигенных и физиолого-биохимических свойств группы культур *Vac.cereus-thuringiensis* различного происхождения, образующих и не образующих энтомоцидные кристаллы.

Особое внимание уделялось выявлению вариабельности этих признаков внутри отдельных разновидностей и установлению наиболее стабильных признаков их дифференциации.

Материал и методы исследований

Материалом для серотипизации послужили 208 культур группы *Vac.cereus-thuringiensis*, кристаллофоры и некристаллофоры, в ос-

новном, из коллекции лаборатории бактериальных метаболитов Института микробиологии АН Арм.ССР.

Культуры были выделены сотрудниками этой лаборатории и авторами при исследовании нормальной и патогенной микрофлоры тутового шелкопряда, его подстилки, эпифитной микрофлоры листа шелко-вицы и из некоторых насекомых - вредителей сельского хозяйства (Чил-Акопян и др., 1968, 1970). Серотипировались также 15 культур некристаллофоров, выделенных из различных почв.

В работе использованы коллекционные культуры известных серотипов из разных музеев, а также некоторые неидентифицированные культуры, полученные в 1956-58 гг. от А.Б.Гукасяна из ВИЗР. Сведения о происхождении серотипировавшихся культур представлены в таблицах 1, 2 и 3.

Антигенные свойства изучались серотипированием культур по методу Де Баржак и Бонфуа. К штаммам 805, 8II, 837, определенным как представители нового серотипа *caucasicus* (Африкян, Чил-Акопян, 1968; Африкян и др. 1968, 1969), сыворотки получены нами по вышеуказанному методу. Сыворотки к коллекционным культурам получены Де Баржак и Э.К.Африкяном в Институте Пастера в Париже. Часть культур серотипировалась сыворотками, полученными от Л.И.Бурцевой из лаборатории микробиологии насекомых Биологического института СО АН СССР^х.

Титры сывороток, использованных нами при серотипизации культур, были следующие: *berliner* - 15000 и 6400; *finitimus*, *galleriae* - 12000 и 6400; *sotto* , *caucasicus* (штамм 837) - 12000; *dendrolimus* - 20000 и 6400; *entomocidus* , *subtoxicus* - 40000; *subtoxicus* , *tolworth* - 6400; *caucasicus* (штамм 805, 8II) - 25000.

Большинство серотипировавшихся культур, а также часть несеротипируемых подвергнуты физиолого-биохимическим исследованиям. Из тестов, указанных в "ключе", нами исследовались по общепринятым методам следующие: образование ацетил-метил-карбинола (АМК), лецитино-вителлиновая реакция (ЛВР), образование пигмента, уреазы, амилазы (крахмал), усвоение сахарозы и маннозы. Дополнительно оп-

^х) Авторы приносят благодарность сотрудникам указанной лаборатории за предоставление нам для работы агглютинирующих сывороток к кристаллофорам.

ределяли способность культур восстанавливать нитраты в нитриты, т.к. ранее нами было отмечено, что некоторые штаммы лишены этого свойства. Исследовались гемолитические свойства.

Изучалось также аукосонографическим методом усвоение культурами различных источников углерода.

Для упрощения таблиц данные представлены в виде положительной и отрицательной реакций, несмотря на значительное различие в их интенсивности.

Обсуждение результатов исследований

1) Серотипизация культур

Серотипированием культур группы *Vas.cereus-thuringiensis* из коллекций нашей лаборатории и небольшого числа штаммов, полученных из других источников, установлено, что широко распространены культуры пяти серотипов: *berliner* (I), *alesti* (III), *votto-dendrolimus* (IV), *galleriae* (V), *morrisoni* (VIII). Среди серотипированных культур выявлено 6 штаммов I серотипа, 6-III, 34-IV, 9-VIII серотипов /табл. I/.

Представители серотипа *caucasicus* - 40 штаммов - обнаружены в значительном количестве образцов из Армении и Грузии и один - из Узбекистана (табл. 2). Ни один штамм, выделенный в районах Северного Кавказа, не серотипировался как *caucasicus*. Среди исследованных штаммов не обнаружено ни одного представителя серотипа *finitimus* (II), *entomocidus* (VI), *aizawai* (VII), *tolworth* (IX). Сыворотками *darmstadtensis* (X) и *thompsoni* (XI) мы не располагали.

Штаммы перечисленных серотипов обнаруживались как в здоровом, так и в погибшем тутовом шелкопряде, его подстилке, в различных насекомых-вредителях, в эпифитной микрофлоре листа шелковицы и в почве.

Среди серотипировавшихся штаммов, кроме кристаллофоров с различной степенью кристаллообразования, выявлены и некристаллофоры, в том числе *Vas.cereus*, выделенные из почвы: IO48, IO49 - серотип III, IO50, IO69 - IV, IO47 - V.

Некоторые кристаллофоры и некристаллофоры, выделенные нами из эпифитной микрофлоры листа шелковицы, типировались как серотип I (990), IV (617 и 898) у (813, 815, 904, 892) и *caucasicus* (871, 893, 911, 914, 915, 917, 924).

Таблица I

Происхождение и кристаллообразование культур группы *Bac. cereus-thuringiensis*, серотипируемых сыворотками *Bac. thuringiensis*

Серотип	Место выделения	Источник выделения	Кристалло-образование XX	№ штам-мов X	Год вы-деления
I-berliner	Арм. ССР равнинные р-ны	Тутовый шелкопряд Лист шелковицы	+++	647	1959
			+	949	1963
			+	990	1963
			+++	995	1965
II-alesti	РСФСР, Европей- ская часть	Дубовый шелкопряд Азиатская саранча	++	1025	1965
			+	1028	1957
	Арм. ССР равнинные р-ны	Тутовый шелкопряд	-	946	1963
			+++	890	1965
	РСФСР Северн. Кавказ РСФСР, Европей- ская часть	Тутовый шелкопряд	-	683, 710	1959
			-	1048, 1049	1955

x) Указываются номера штаммов по коллекции культур лабораторий бактериальных мезаболитов Института микробиологии АН Арм. ССР (сокращено ИМНИ Арм.)

- xx) +++ - интенсивность кристаллообразования 70-100 %;
 ++ - интенсивность кристаллообразования 30-70%;
 + - интенсивность кристаллообразования до 30%;
 - - отсутствие кристаллообразования.

I	2	3	4	5	6
IV-sotto-den-drolimus	Арм.ССР равнинные р-ны	Тутовый шелкопряд	+	608,657 603,606,607, 609	1957,1959
			-		1957
			-	610,612,613,614	1958
		-	631,635,652,664	1959	
	Арм.ССР горные районы	Лист шелковицы Насекомое-вредитель Подстилка	+	958	1963
			-	617	1957
			+++	898	1965
			-	938	1963
	Северный Кавказ	Тутовый шелкопряд	-	923	1965
			-	626,627 769,933	1959 1961,1962
			+	784,793	1961
			-		
РСФСР, Сибирь	Тутовый шелкопряд	+	682	1959	
		-	690,714	1959	
РСФСР, Сибирь	Почва	-	1050	1957	
		++	1006	1958	
		+	1023,1024,1029, 1039		

I	2	3	4	5	6
γ-galleriae	Армянская ССР, равнинные р-ны	Тутовый шелкопряд	-	60I	1957 1963
			+++	812, 838, 840, 842, 843, 845, 846, 847, 849, 850, 851, 856, 857, 859, 860 883, 894, 897, 922	1964 1965
			+	877	1965
			+++	818	1963
		Подстилка	+++	813, 815, 892, 904	1965
		Насекомое-вредитель	+++	86I	1964
		Лист шелковицы	+++		
		Медоносная пчела	+++		
	Армянская ССР, горные р-ны	Тутовый шелкопряд	+++	906	1965
		Насекомое-вредитель	+++	820, 821, 822, 829, 833	1963
γII-morrisoni	РСФСР	Насекомое-вредитель	++	1027	1958
	Китай	Почва	-	1047, 1069	1955
		Тутовый шелкопряд	++	920 902	1965
	Армянская ССР, равнинные р-ны		-	398, 615, 629, 676 693, 715, 722	1957 1959
	РСФСР, Северн. Кавк.		-		

Таблица 2

Происхождение и кристаллообразование культур новых серотипов

Серотип	Место выделения	Источник выделения	Кристаллообразование	№ штаммов и/или Арм.	Год вы- деления
I	2	3	4	5	6
	Армянская ССР, равнинные р-ны	Тутовый шелкопряд	+++	811	1962
				839, 841	1964
				880, 884, 887, 888, 889, 891	
				879, 895, 919	1965
caucasicus			+	844, 853	
				876, 896, 905	
				918, 921	
				641	1959
		Подстилка	++	873	1964
				875	1965
		Насекомое-вредитель Лист шелковицы	+	828	1963
				871, 893, 911	
			++	914, 915	1965
				917, 924	
	Арм. ССР, горные р-ны	Насекомое-вредитель	+++	831	1959
	Грузин. ССР, Тбили- си	Тутовый шелкопряд	+++	805	1961
			++	839, 957	1963
				837, 925, 926, 927, 928	1963
	Узбекская ССР	Тутовый шелкопряд	++	950	1959

I	2	3	4	5	6
Несеротипуемые	Ари.ССР, различные р-ны	Тутовый шелкопряд	+++	854, 860 881,	1964 1965
			++	855	1964
			+	852	1964
			+	808, 809, 810	1962
				600, 602, 611	1957
				621	1958
				630, 695, 701, 719, 720, 721, 723, 760, 761, 762	1959
				763, 765, 766, 768, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 794, 796, 804, 806, 807	
				858	1961
				951	1964
		Подотидина Лист шелковицы		899, 900,	1963
			+++	903	1965
			+++	913	1965
			-	616	1957
				874 954	1965 1965

I	2	3	4	5	6
Несерогипируемые	Арм. ССР, равнинные р-ны	Насекомое- вредитель	-	801, 802	1961
				932, 956	1962
				930, 953, 958	1963
	Арм. ССР, горные р-ны	Пчела	+++ -	862	1964
				798	1961
				827	1963
	РСФСР, Европ. часть	Почва	-	623, 624, 625 1042, 1044	1958 1957
				1043	1957
РСФСР, Сибирь	Почва	-	622 1040, 1041, 1045, 1046	1958 1955	

Таблица 3
Культуры, использованные для сравнения, при изучении
выделенных штаммов

Сери- типы	№ по ИНМИ Арм.	Оригинальное название	Крис- талло- образо- вание
1	2	3	4
I	728	<i>Bac. thuringiensis</i> Cw CCEB-058	+
	735	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> CCEB-457	+
	736	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>subtoxicus</i> CCEB-458	+
	742	<i>Bac. thuringiensis</i> CCEB-159	+
	745	<i>Bac. thuringiensis</i> CCEB-206	+
	746	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>sotto</i> CCEB-207	+
	748	<i>Bac. ephestiae</i> CCEB-390	-
	IO13	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>galleriae</i> Allemagne (Krieg)	+
	IO25	<i>Bac. sp</i> дуб.шелкопряд № 3, ВИЗР	+
	IO28	<i>Bac. sp</i> "Азиатская саранча", ВИЗР	+
II	741	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>alesti</i> CCEB-463	+
	744	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>alesti</i> CCEB-205	+
	IO12	Штамм АВ; получен от К.Туманова (Париж)	+
	IO20	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>anduze</i> CCEB-558 (An- duz-Alesti B)	+
	IO21	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>euxoa</i>	+
IV	IO01	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>dendrolimus</i> Tal.49-3	+
	IO02	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>sotto</i> (Париж, Ин-т Пастера, 1963)	+
	IO06	<i>Bac. tuviensis</i> Krass.et Guk. (А.Б.Гука - сян, 1964)	+
	IO10	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>kenyae</i> (Япония, 1965)	+
	IO23	Штамм № 351, возб. болезни шелкопряда, Томск, 1959, Гукасян	+
	IO24	Штамм № 350, Томск, Гукасян	+
	IO29	<i>Bac. sp.</i> , из черепашки шт. "Митрофановка" ВИЗР	+

I	2	3	4
IV	I039	Штамм № 10 возб. болезни хохлатки, Тува, 1958, Гукасян	+
	733	<i>Bac. cereus</i> CCEB-363	-
У	I000	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>galleriae</i> CCEB-I59	+
	I005	<i>Bac. insectus</i> Guk. А. В. Гукасян, 1964	+
	I027	<i>Bac. cereus</i> из пилильщика <i>Neodiprion sertif</i> , ВИЗР	+
УІ	I003	<i>Bac. entomocidus</i> var. <i>entomocidus</i> (Париж, Ин-т Пастера, 1963)	+
	I004	<i>Bac. entomocidus</i> var. <i>subtoxicus</i> - " -	+
УІІ	I009	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> (Япония, 1965)	+
УІІІ	I008	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>morrisoni</i> - " -	+
ІХ	I007	<i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>tolworth</i> - " -	+
несе- роти- пируе- мые	730	<i>Bac. thuringiensis</i> CCEB-208	-
	732	<i>Bac. cereus</i> CCEB-362	-
	I022	<i>Bac. sp.</i> ЧБ № 2 ВИЗР	-
	I026	Штамм № 352 возб. болезни шелкопряда, Чадан, 1958, Гукасян	+

Полученные результаты свидетельствуют о широком распространении в природе представителей культур группы *Bac. cereus* - *thuringiensis* разных серотипов и родстве антигенного строения кристаллофоров и некристаллофоров. Следовательно, серотипирование не может служить способом выявления кристаллоносных и вирулентных штаммов. Для дифференциации кристаллофоров следует пользоваться комплексом морфо-физиологических признаков.

Среди культур группы *Bac. cereus* - *thuringiensis* обнаружены штаммы, не серотипировавшиеся ни одной из использованных серотипов, в том числе *saucavicus*. Если среди этих культур не окажется серотипов X и XI, возможно, они представляют новые серотипы.

Активное кристаллообразование некоторых из этих культур служит основанием для дальнейшего их изучения с целью практического использования.

2) Физиолого-биохимические особенности культур

Физиолого-биохимические свойства культур исследовались с целью выяснения дифференциальных признаков нового серотипа *saucasicus* и несеротипируемых бактерий. Одновременно ставилась задача оценки постоянства дифференциальных признаков известных серотипов. Для сравнения со вновь выделенными штаммами исследовались имевшиеся у нас известные культуры, а также культуры, полученные от различных авторов и приведенные в таблице 3.

Как показали наши исследования, большинство штаммов серотипа *saucasicus* (табл. 4) представляют достаточно однородную группу. Изученные физиолого-биохимические свойства у большинства штаммов аналогичны свойствам известного серотипа *alesti*. С этим серотипом сближает также оригинальное свойство последнего образовывать пигмент (Тошманов, 1954; Швецов, Зурабова, 1966). В отличие от темно-красного пигмента *alesti*, пигментация большинства штаммов *saucasicus* ярко-розовая. Однако, этот признак нестабилен для культур данного серотипа, т.к. наряду со штаммами, отличающимися очень интенсивной окраской (828, 879, 881, 889, 891), имеются отдельные штаммы, пигментирующие очень слабо (888, 921) и вовсе не пигментирующие (925, 926, 927, 928, 939, 957).

Культуры, которые отличаются от остальных штаммов различной способностью пигментировать среду с яичным желтком, как правило, отличаются от группы типичных *saucasicus* одним или большим числом признаков. Так, штаммы 896 и 921 слабо усваивают сахарозу, 888 не восстанавливают нитратов,

Особенно следует отметить оригинальность штамма 911, выделенного из эпифитной микрофлоры листа шелковицы в 1965 году. Серотипируемый как *saucasicus*, этот штамм по большинству признаков резко отличается от типичных штаммов (АМК-, ЛВР-, пигмент-, уреазат+, сахарозат+).

Таким образом, при относительной однородности культур серотипа *saucasicus*, для многих штаммов характерна вариабельность ряда физиолого-биохимических признаков.

Таблица 4

Физиолого-биохимические свойства культур
серотипа caucasicus

№ штаммов (ИНМИ Арм.)	Кристал- лы	АМК	ЛВР	Протео- лиз	Пигмент	Уреазы	Сахаро- за	Манноза	Крахмал	Денитри- фикация
805, 811, 831, 837, 839, 841, 844, 853, 871, 873, 875, 876, 880, 887, 893, 895, 905, 914, 915, 917, 918, 919, 924	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
828, 879, 884, 889, 891	+	+	+	+	++	-	-	-	+	+
896	+	+	+	+	+	-	++	-	+	+
921	+	+	+	+	+	-	++	-	+	+
888	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
925, 926, 927, 928, 939, 957	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
911	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+

Примечание: Здесь и далее условные сокращения: АМК - ацетилметилкарбинол, ЛВР - лецитинвителлиновая реакция.

В таблице № 5 приведены данные усвоения изучаемыми культурами различных источников углерода. Не включены в таблицу те источники, которые не усваиваются всеми 38-ю штаммами данного серотипа. Так, все штаммы не усваивают арабинозу, рамнозу, ксилозу, галактозу, маннозу, сорбозу, лактозу, меллибозу, мелеситозу, рафинозу, талозу, инулин, маннит, сорбит, дульцит, инозитол, эритрин, уксусную, янтарную, фумаровую, винную, бензойную и галловую кислоты.

Данные таблицы 5 свидетельствуют о том, что штаммы серотипа caucasicus по усвоению источников углерода значительно отличаются. Выявлены всего четыре группы по несколько штаммов с

Таблица 5
Усвоение различных источников углерода культурами
серотипа *caucasicus*

Штаммы (ИНМИ Арм.)	рибоза	глюкоза	фруктоза	мальтоза	целлобиоза	трегалоза	глицерин	Аммонийные соли кислот					
								мареле- вой	молоч- ной	лимон- ной	фталев- вой	сульфа- мидовой	салици- ловой
828,839,844,873, 879,895,918	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
831,880,919,920	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
884,889,915,917	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-
841	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
875	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-
887	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
888	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-
893	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
905	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
914	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
805,811,837,853	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
911	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
921	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
924	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
925	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
926	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
927	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-
928	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-
939	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
957	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-

аналогичными свойствами. Однородность этих групп по усвоению источников углерода коррелирует с остальными физиолого-биохимическими признаками. Обнаружены, однако, штаммы (805,911), сходные по усвоению источников углерода, но совершенно различные по биохимическим признакам.

Таблица 6
Физиолого-биохимические свойства несеротипируемых
культур кристаллофоров

Штаммы	АМК	ЛВР	Пигмент	Уреаза	Сахароза	Манноза	Крахмал	Денитри- фикация
730,808,	+	+	-	-	++	-	+	+
742	+	+	-	-	+	++	+	+
827	+	+	+	-	+	-	+	+
848	+	+	+	-	-	+	+	+
881	+	+	+	-	-	-	+	+
903	+	+	+	-	-	-	+	+
862	+	+	+	-	++	+	+	+
899	+	+	++	-	++	+	+	++
809	+	+	-	+	++	-	+	+
858,912	+	-	++	-	++	-	+	+
913	+	-	++	-	++	-	+	+
874	+	-	++	-	++	++	+	+
900	+	-	-	+	-	-	+	+
810,854	+	+	-	-	++	-	+	+
852	-	+	-	-	++	-	+	+

Значительное число изученных нами кристаллофоров и некристаллофоров, как указывалось выше, не серотипировались ни одной из использованных сывороток. Физиолого-биохимические свойства этих культур, представленные в таблицах 6 и 7, показывают значительную вариабельность их признаков, что свидетельствует также в пользу возможной принадлежности к иным серотипам.

Физиолого-биохимические свойства культур известных серотипов представлены в таблицах 8 и 9. Штаммы распределены соответственно их серотипам. За основу для сравнения выбраны типовые культуры. Первое отличительное свойство культур *Bac. thuringiensis*

Таблица 7

Физиолого-биохимические свойства некристалло-
форов, несеротипируемых использованными сыво-
ротками *Bac. thuringiensis*

Штаммы (ИНМИ Арм.)	АМК	ЛВР	Пиг- мент	Крах- мал	Де- нит- рифа- ция
611, 621, 624, 732, 780, 785, 899	+	+	++	+	+
774, 790	+	+	+	+	+
740	+	+	++	+	-
777, 779, 791	+	+	+	+	+
778	+	±	+	+	±(+)
616, 623, 625, 719, 763, 765, 771, 772, 773, 775, 776, 792, 787, 788, 794, 796, 789, 826, 930, 951, 1002, 1026	+	+	-	+	+
945, 1045	+	+	-	+	-
953	±	+	-	+	+
1040	-	-	-	+	+

по "ключу" - образование ацетилметилкарбинола. Реакция эта положи-
тельна для всех серотипов, кроме 6-го. По нашим данным, среди
культур серотипа I (таблица 8) почти половина имеет отрицатель-
ную реакцию на АМК, в том числе и штаммы 728 и 736, у которых по
Де Баржак и Бонфуа (1962) эта реакция положительна. Возможно, куль-
туры способны к утрате этого признака. У остальных серотипов эта
реакция положительна. Реакция АМК отрицательна лишь у некристалло-
носного штамма из почвы 1047 (серотип У) и вышеупомянутого штам-
ма 911 (серотип *caucasicus*).

По лецитино-вителлиновой реакции серотипы I и III однородны.
Среди штаммов серотипа IV отличается отрицательной реакцией один
некристаллоносный штамм (898), выделенный из микрофлоры листа
шелковицы. Для серотипа У типична отрицательная ЛВР. Отклонение
у *Bac. insectus* (штамм 1005), дающего очень слабую, и штамма

Ю47 - наоборот, интенсивную положительную реакцию. У штамма 9II эта реакция отрицательна, при характерной для серотипа *saucasicus* положительной реакции.

Таблица 8

Физиолого-биохимические свойства культур серотипов I, III и IV

Штаммы (ИНМИ Арм.)	Кристал- лы	АМК	ЛВР	Пигмент	Уреаза	Сахароза	Манноза	Крахмал	Дезинтри- фикация
I	735	+	+	+	-	++	++	+	+
	748, 949, Ю25	+	+	+	-	++	-	+	+
	745	+	+	+	-	+	+	+	+
	728, 990, Ю13	+	-	+	-	++	++	+	+
	647, 736, Ю28	+	-	+	-	++	-	+	+
	По ключу	+	+	+	-	+	+	+	+
III	741, 744, Ю12	+	+	+	-	-	-	+	+
	Ю39	+	+	+	-	++	-	+	+
	890, Ю20, 7Ю	±/-	±	+	++	-	-	+	+
	По ключу	+	+	+	+	-	-	+	+
IV	Ю001, Ю23	+	+	+	-	-	-	+	+
	626, 627, 769, 793, 938	-	+	+	-	++	-	+	+
	898	-	+	-	-	+	-	+	+
	923, Ю29	+	+	+	-	++	-	+	+
	Ю06	+	+	+	-	-	-	+	+
	746, Ю02, Ю21, Ю24	+	+	+	-	+	-	+	+
	784	+	+	+	++	+++	-	+	+
	ЮЮЮ	+	+	+	-	+	-	+	+
	По ключу	+	+	+	-	+	-	+	+

Таблица 9

Физиолого-биохимические свойства культур
серотипа у

Штаммы (ИНМИ Арм.)	Кристал- лы	АМК	ЛФР	Пигмент	Уреаза	Сахароза	Манноза	Крахмал	Денитри- фикация
820,821,829,845, 846,847,850,851, 859,861,877,892, 897,906,922,1000, 1011	+	+	-	-	+	-	-	+	+
1005	+	+	+	-	+	-	-	+	+
818,856,857,860, 1027	+	+	-	-	-	-	-	+	+
883	+	+	-	-	+	+	-	+	+
904	+	+	-	-	-	++	-	+	+
601,733	-	+	-	+	-	+++	-	+	+
1047	-	-	+	-	-	-	-	+	+
По ключу	+	+	-	-	(+)	-	-	+	

Согласно литературным сведениям (Шведова, Зурабова, 1966; Toumanoff, 1954), пигментообразование — это свойство, присущее культурам серотипа III. Однако среди изученных нами шести культур этого серотипа четыре не проявляли указанного признака, видимо, потеряв его. Среди них такие культуры, как *Bac.thuringiensis* var. *alesti* ССБВ-463 (ИНМИ Арм., 741) и *Bac.thuringiensis* var. *alesti* ССБВ-205 (ИНМИ Арм., 744).

Интенсивной окраской отличались лишь выделенный нами штамм 890 и *Bac.thuringiensis* var. *anduze* ССБВ-558 ИНМИ Арм. (Anduze — Alesti B.)

Как указано нами выше, свойство пигментообразования характерно также для большинства культур серотипа *saucasicus*. Таким образом, серотип *saucasicus* — второй из известных серотипов, для

большинства штаммов, которым характерен этот признак.

Однако среди культур, относимых к другим серотипам, обнаружены также пигментообразующие штаммы, например, 784 (серотип IV), 60I и 733 (серотип V). Выявлено большое число пигментообразующих штаммов среди несеротипирующихся кристаллоносных и некристаллоносных бактерий (таблицы 6 и 7). Таким образом, это свойство, возможно, является характерным и для других новых серотипов. Пигментообразующие штаммы выделены в основном в Армении и частично в Грузии. Вероятно, в Закавказье вообще распространено большое число пигментообразующих форм этих бактерий.

Отсутствие образования уреазы — постоянный признак для культур серотипа I, III, IV (кроме *keduae*) и *caucasicus*. У последнего серотипа положительной реакцией отличается только штамм 9II. Для серотипа V по "ключу" характерно слабое образование уреазы. По нашим данным, большинство штаммов отличается интенсивной положительной реакцией. Для значительного числа штаммов эта реакция отрицательна (таблицы 8 и 4).

По усвоению сахарозы и маннозы получены результаты, сильно отклоняющиеся от данных в "ключе" (таблицы 4, 8 и 9). Штамм IO39 (серотип III) усваивает сахарозу, а несколько штаммов (IO25, 949, 736, IO28, 647, 7IO) серотипа I не усваивают маннозу. Многие штаммы серотипа IV не усваивают сахарозу. Меньше отклонений по этому признаку среди штаммов серотипа V. Слабо усваивает сахарозу культура IOOO (*Bac. thuringiensis* var. *galleriae*), 883 и хорошо — некристаллоносные штаммы 60I, 733, IO47. Все штаммы серотипа V усваивают маннозу. Культуры серотипа *caucasicus* оба сахара не усваивают, за исключением усвоения штаммами 896 и 92I. Все изученные культуры определенных серотипов усваивали крахмал и восстанавливали нитраты в нитриты (кроме штамма 888 серотипа *caucasicus*).

Данные, полученные при изучении денитрифицирующей способности, не выявляют различий между культурами разных серотипов. Образование определенного типа гемолизина не оказалось специфическим для какого-либо серотипа.

Сводные результаты сравнительной оценки признаков сведены нами в табл. IO, с целью выявления степени вариационности в группе каждого серотипа. Как видно из таблицы, большинство культур известных серотипов различаются по 1-2 признакам, отличаясь таким

же образом от типичных культур. Эти отличия можно отметить еще больше, если учесть вариабельность в усвоении различных источников углерода (таблица 5). Сильную вариабельность этих культур, по всей вероятности, можно объяснить разнообразием происхождения. И, наоборот, относительная однородность группы серотипа *caucasicus*, возможно, объясняется ареалом их распространения и относительно одновременным выделением (1961-1965 гг.).

В целом можно сделать заключение, что большинство изученных признаков не абсолютно постоянны для культур одного серотипа.

По данным, полученным нами при изучении вышеуказанных культур, в таблице II приводим тесты, оказавшиеся совершенно или в основном стабильными для разных серотипов. Полностью постоянными признаками оказались: АМК для III и IV серотипов, ЛВР - для I и III, пигмент - для I, уреазы - для I и III, сахара - для I, манноза и крахмал - для всех. У остальных серотипов эти признаки в некоторых случаях отклонялись.

Таблица 10

Степень вариабельности признаков у культур
разных серотипов *Vas.thuringiensis*

Серотип	Кол-во изучен- ных культур	Кол-во идентич- ных штаммов	Кол-во штаммов, отличающихся по признакам	
			одному- двум	трем и более
berliner	II	I	10	-
alesti	7	3	I	3
sotto-dendrolimus	17	2	15	-
galleriae	28	18	7	3
caucasicus	38	23	14	I

Таблица II

Постоянство признаков, характеризующих свойства
культур разных серотипов *Vas.cereus-thuringiensis*

Серотипы	АМС		АБР		Пигмент		Уреазы		Сахароза-розы		Манноза		Крахмал		Денитри-фикация	
	ПОСТО-ЯННО	В ОС-НОВ-НОМ	ПОСТО-ЯННО	В ОС-НОВ-НОМ	ПОСТО-ЯННО	В ОС-НОВ-НОМ	ПОСТО-ЯННО	В ОС-НОВ-НОМ	ПОСТО-ЯННО	В ОС-НОВ-НОМ	ПОСТО-ЯННО	В ОС-НОВ-НОМ	ПОСТО-ЯННО	В ОС-НОВ-НОМ	ПОСТО-ЯННО	В ОС-НОВ-НОМ
I-berli-ner		+	+		-		-		+				+		+	
II-alesti	+		+			+	-		-				+		+	
IV-sotto-dendroli-mus				+				-	+				+		+	
V-galleriae	+			-				+	-				+		+	
caucasica	+			+		+			-				+		+	+

В ы в о д ы

1. Исследованы штаммы группы *Bac.cereus-thuringiensis*, выделенные из образцов, полученных из Закавказья, Северного Кавказа и некоторых других районов. Выявлены культуры *Bac.thuringiensis* серотипов *berliner*, *alesti*, *sotto-dendrolimus*, *galleriae morrisoni*. Серотип *caucasicus* обнаружен, за исключением одного случая (из Узбекистана), в образцах Армении и Грузии. Серотипы *finitimus*, *entomocidus*, *tolworth*, *aizawai* не обнаружены.

2. Обнаружены культуры некристаллофоров, серотипирующихся сыворотками к кристаллофорам, что свидетельствует об их антигенном родстве, а следовательно, и о не строгой специфичности этой реакции для культур *Bac.thuringiensis*.

3. Выявлены культуры кристаллофоров, не серотипирующихся ни одной из использованных сывороток, и установлены их различия в биохимических признаках, что указывает на наличие культур новых серотипов *Bac.thuringiensis*. Активное образование кристалловидных токсинов у некоторых из этих культур служит основанием для дальнейшего изучения их с целью практического использования.

4. Штаммы нового серотипа *caucasicus*, изученные по некоторым биохимическим свойствам, предлагаемым в "ключе" Де Баржак и Бонфуа для дифференциации и идентификации разновидностей *Bac.thuringiensis*, оказались неоднородными. Наряду с культурами, аналогичными по всем изученным свойствам, обнаружены штаммы, отличающиеся одним или более признаками.

5. Внутри каждого серотипа выявлены значительные различия в физиолого-биохимических особенностях культур, что указывает на биологическую разнокачественность штаммов, объединяемых в отдельные серотипы *Bac.thuringiensis*. На материале изучения большого числа штаммов дана характеристика физиолого-биохимических свойств серотипов и их вариабельности.

6. При систематике культур *Bac.thuringiensis* необходимо использовать комплекс морфо-физиологических и серологических признаков исследуемых культур.

Bac. THURINGIENSIS ԽՄՔԻ ԿՈՒՆՏՐՈՒՐԱՆԵՐԻ
 ԲԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԱՌԽԵՋԵԱԼԱՏՅԱՆ ԿՈՒՅՑՈՒՆԵՆԵՐԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Աշխատանքում բերվում է *Bac. cereus-thuringiensis* ԽՄՔԻ 208 ինֆեկցիոնալ կուլտուրաների ֆիզիոլոգո-բիոքիմիական և սեռոլոգիական բնութագրերը:

Հասարակած է հասկանիշների մեծամասնության փոփոխված և ությունը, որն Օգոստոսից մինչև *Bac. thuringiensis* ԽՄՔԻ տարբեր սերոտիպերի դասակարգման համար *Bac. thuringiensis* ԽՄՔԻ կուլտուրաների մեջ, որոնք մեկուսացված են կովկասի տարբեր շրջաններից ստացված թթենու շերտաձուրդի Օրգանիզմից և ալևալ բյուրներից, նկատվում են հիմնականում նոր սերոտիպի՝ *caucasicus*, ինչպես նաև *gallerias*, *sotto-dendrolimus* և *morrisoni* սերոտիպերի ներկայացուցիչներ, քիչ քանակությամբ հայտնաբերվում են *berliner*, *alesti* սերոտիպերի ներկայացուցիչներ, իսկ *finitimus*, *entomocidus*, *aizawai* և *tolworth* սերոտիպեր չեն հայտնաբերվում:

Ուսումնասիրությունների ժամանակ հայտնաբերվել են նաև էնտոմոգիդ բյուրեղներ արտադրող կուլտուրաներ, որոնք սերոտիպիկացիայի չեն ենթարկվել *Bac. thuringiensis* ԽՄՔԻ տարածեսակների համար արդեն հայտնի շիճուկների կողմից: Այդ շտամները դասվում են որպես նոր սերոտիպեր: Հայտնաբերված ոչ կրիստալաֆոր կուլտուրաները սերոտիպիկացիայի են ենթարկվել կրիստալաֆոր կուլտուրաներին յուրահատուկ շիճուկներով, որը հաստատում է նրանց անտիգենային նմանությունը, հետևաբար և *Bac. thuringiensis* ԽՄՔԻ կուլտուրաների՝ այդ ռեսպոնսի նկատմամբ ունեցած ոչ խիստ սպեցիֆիկությունը:

L.A.Chil-Hakobian, E.K.Afrikan, A.Y.Ismailova,
I.A.Kirakossian, L.P.Pashinian, K.O.Chilingarian

BIOLOGICAL PECULIARITIES OF BACTERIA OF BAC-CEREUS-
THURINGIENSIS GROUP

S u m m a r y

The comparative study of 208 original cultures of Bac. cereus-thuringiensis group, their physiological, biochemical and serological properties have been conducted. The variability of most of these properties, which are used for classification of different species of this group and serotypes of Bac.thuringiensis, has been studied.

The most part of Bac.thuringiensis cultures isolated from silkworm and other sources from Caucasia belongs to new serotype caucasicus then galleriae, sotto-dendrolimus, morrisoni and very rare as barliner, alesti. Serotypes finitimus, entomocidus, aizawai, tolworth have not been found.

Among Bac.cereus cultures there are strains which are serotyped as Bac.thuringiensis by means of H-antigen serums. Among isolated new strains of Bac.thuringiensis cultures, which are not serologically identified as known, are new serotypes.

Considerable variability of biochemical properties in the same serotypes of Bac.thuringiensis is evident of their biological differensis.