

Биол. ж. Армения, т. 41, № 11, 1988 г.

УДК 576.8:632.937

МЕТОД БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНСЕКТИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИИ *BACILLUS THURINGIENSIS*

Л. А. ЧИЗ-АКОУЯН, Л. А. КОНДРАТЬЕВА, Е. Д. ХИСТОВСКИЙ,
М. О. АДАМЯН, М. А. КИНОСЯН, Е. Г. АРУТЮНЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян, Северо-Кавказский
НИИ фитопатологии, г. Краснодар

Инсектицидные параметры—тутовый шелкопряд—искусственный корм—биотестирование.

Основными микробными инсектицидами, широко применяемыми в настоящее время в сельском и лесном хозяйствах, являются препараты, приготовленные на основе БТ, эффективные против более чем 250 видов вредителей [4]. В нашей стране на этой основе разработаны и применяются дендробациллин, энтобактерин, инсектин, гомелин, биотоксибациллин, БИП, лепидоцид и др.

Энтомопатогенный эффект бактериальных препаратов осуществляется воздействием на насекомых инсектицидного комплекса состоящего из спор, вегетативных клеток, ряда токсинов и ферментов. Значительная часть инсектицидного действия приходится на белковый кристалл—протоксин, приобретающий токсичность под воздействием протеаз кишечника насекомых. Поэтому качество бактериальных инсектицидных препаратов оценивается преимущественно биологическим способом—испытанием на тест-насекомых.

Использование в роли тест-объектов различных насекомых [5] приводит к несопоставимости полученных данных о вирулентности препаратов. Методики определения вирулентности на этих насекомых, в том числе и применяемая для биооценки отечественных препаратов методика с использованием непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.), имеют ряд существенных недостатков, влияющих на исход испытаний или затрудняющих работу с ними.

Рядом преимуществ в качестве тест-объекта отличается тутовый шелкопряд (*Bombyx mori* L.): широкий спектр чувствительности, воз-

Сокращения: БТ—*Bacillus thuringiensis*; БИП—бактериальный инсектицидный препарат; ИК—искусственный корм; К₁ХК₂—Кавказская 1ХКавказская 2; ИМПА—краткое наименование коллекции культур Института микробиологии АН АрмССР; ЦММ—краткое наименование коллекции культур Центрального музея промышленных микроорганизмов; КЖ—культуральная жидкость; ДПС—дрожже-полисахаридная среда; БВК—белково-витаминный концентрат.

возможность круглогодичного использования полученной промышленным способом грены (яйцекладок), удобные размеры гусениц, поверхностное расположение их на корме, доступность и дешевизна ИК.

В настоящей работе приводятся результаты испытаний тутового шелкопряда в качестве тест-объекта при биотестировании отечественных бактериальных инсектицидных препаратов, используемых против листогрызущих вредоносных насекомых.

Материал и методика. В опытах использована гrena тутового шелкопряда гибрида $K_1 \times K_2$ с гренажного завода г. Георгиевска Ставропольского края. Яйцекладки оживляли в соответствии с правилами ее инкубации из гренажных заводов [2]. Гусениц выращивали в чашках Петри на ИК [3] в нашей модификации, используя следующий состав корма, %: порошок листьев шелковицы—14; порошок пшеничных зародышей—11; пшеничная мука—16; глюкоза—3; смесь минеральных солей Вессона—0,5; аскорбиновая кислота—0,5; лимонная кислота—0,2; пропионовая кислота—0,5; вода стерильная—остальное.

Режим выращивания: $t 26^\circ \pm 1$, относительная влажность 75—80%. В работе использованы штаммы п. вида КЖ *B. thuringiensis subsp. caucasicus*, хранившийся в коллекции культур микроорганизмов Института микробиологии АН АрмССР под номером ИИМНА В 844 (ЦМММ В 3017) и *B. thuringiensis subsp. galleriae* ИИМНА В 1055 (штаммы 69-6), служащие основой препаратов БИП и энтобактерина соответственно. КЖ получали выращиванием на питательной среде ДПС (БВК—3,0%, кукурузная мука—1,5%) до полной споруляции. Титр спор определяли рассеvom и в счетной камере Горяева.

Методика испытаний вирулентности культур на тутовом шелкопряде, приводимая ниже, разработана нами с учетом методик биотестирования других насекомых и технических условиях на бактериальные инсектицидные препараты.

Инсектицидную активность определяли по гибели гусениц от КЖ штаммов, исследуемых в четырех последовательных десятикратных разведениях. Исследуемые концентрации КЖ в количестве 0,3 мл тщательно смешивали с 3 г ИК и в виде ломтиков помещали в чашки Петри на кружок бумаги с 15 гусеницами. В контрольном опыте вместо суспензии КЖ в ИК добавляли такое же количество стерильной воды. Опыт ставили в 3-х повторностях. Инсектицидную активность определяли по учету гибели гусениц ежедневно в течение 7 дней после подкормки препаратом.

Гибель гусениц с поправкой на таковую в контрольном опыте определяли по формуле Лобота, а ЛК₅₀—методом Кербера [1].

Результаты и обсуждение. При определении вирулентности штамма ИИМНА В 844 на гусеницах тутового шелкопряда обнаружена очень низкая летальность насекомых на ИК в составе, предлагаемом в литературе [3], в отличие от полной и быстрой гибели на листе шелковицы. Это наводило на мысль о наличии в ИК компонента, инактивирующего препарат. Испытание препарата на ИК с варьированием содержания антисептиков показало, что снижение его вирулентности обусловлено эритромицином. От пропионовой кислоты вирулентность не понижалась. В последующих опытах в качестве эритромициника к корму добавляли эту кислоту. На модифицированном таким образом ИК и на листе шелковицы исследовали в сравнительном аспекте вирулентность к тутовому шелкопряду разных концентраций КЖ штаммов ИИМНА В 844 и ИИМНА В 1055.

Приведенные в таблице данные показывают динамику гибели гусениц тутового шелкопряда в течение 5 дней учета. Анализируя результаты, следует отметить более значительный процент гибели насе-

комых, подкармливаемых листом шелковицы, чем ИК, при аналогичной степени инфицированности корма. По-видимому, причина в значительно большем объеме поглощения гусеницами листа шелковицы.

Сравнительная вирулентность культур *B. thuringiensis* subsp. *excoecator* ИНИИА В 84-4 и *B. thuringiensis* subsp. *galleriae* ИНИИА В 1075

Штаммы	Вид корма	Концентрация, млн. спор/г	Гибель гусениц по дням %				
			1	2	3	4	5
	Лист шелковицы	90	95	100	100	100	100
		9	50	85	90	90	100
		0.9	0	10	20	20	30
		0.09	0	0	0	0	35
		без культуры	0	0	0	0	30
844-3	ИК	90	55	80	90	95	100
		9	5	20	20	20	75
		0.9	0	0	0	0	30
		0.09	0	0	0	0	5
		без культуры	0	0	0	0	0
69-6	ИК	53	10	65	90	100	100
		5.3	5	5	15	25	30
		0.5	0	0	0	0	20
		0.05	0	0	0	0	10
		без культуры	0	0	0	0	5

чем ИК, и соответственно в различной степени инфицирования гусениц при выкармке на разном корме. Этим же, вероятно, объясняется растянутость процесса гибели гусениц по дням при выкармке на ИК.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности проведения биопытаний вирулентности культур БТ на тутовом шелкопряде при скормливаниях ИК. Методика биотестирования, однако, требует дальнейшего совершенствования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Либинская А. С. Микробиология с технологией микробиологических исследований. М., 1978.
2. Основные правила по приготовлению промышленной грены тутового шелкопряда на гренажных заводах. М., 1984.
3. Руднев Е. А., Улистовский Е. Л., Шабалта О. М., Кондратова Л. А. Авторский патент, № 1106457, 1984.
4. Фрэнц Н., Крис А. Биологические методы борьбы с вредителями. М., 1984.
5. Хорхордин Е. Г., Шагов Е. М. Сельскохозяйственная биология, 4. 37-43, 1987.

Поступило 6 VII 1988 г.