

являющихся основой производства бактериальных инсектицидных препаратов против вредителей-чешуекрылых. Данные получены при проведении опыта в полном соответствии с условиями разработанной методики. Аналогичные данные получены при разведении КЖ с шагом 1:2.

Проведенные исследования позволяют рекомендовать тутовый шелкопряд в качестве тест-объекта для оценки активности бактериальных инсектицидных препаратов из культур *Bt*, используемых против вредоносных насекомых отряда чешуекрылых.

Выполнение данной работы частично финансировалось грантом ИНТАС 93-3512.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. 180, Л., 1962.
2. Лескова А.Я., Рыбина Л.М., Строева И.А. Идентификация культур *B. thuringiensis* и оценка их патогенных свойств. Методические указания. Л., 1984.
3. Основные правила по приготовлению промышленной грены тутового шелкопряда на гренажных заводах. М., 1984.
4. Руднев Е.Д., Хлистовский Е.Д., Шаболта О.М., Кондратьева Л.А. А.С. СССР 1106457, Бюлл. N29, 1984.
5. Хорходин Е.Г., Шагов Е.М. Сельхоз. биология, 4, 37-43, 1987.
6. Чил-Акопян Л.А., Кондратьева Л.А., Хлистовский Е.Д., Адамян М.О., Киносян М.А., Арутюнян Е.Г. Биолог. журн. Армении, 41, 11, 938-940, 1988.

Поступила 17.VIII.1995.

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 579.66:632.951

ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И РЕПРОДУКЦИЯ ИНСЕКТИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ЛАРВИЦИДНЫХ КУЛЬТУР *BACILLUS THURINGIENSIS* И *BACILLUS SPHAERICUS* В ПОЧВЕ

К.О. ЧИЛИНГАРЯН

Республиканский Центр депонирования микробов НАН
и Министерства образования и науки РА, 378510, г. Абовян

Изучалась степень сохранения жизнеспособности и инсектицидной активности культур, рекомендуемых в качестве продуцентов новых бактериальных препаратов против комаров в трех типах почв.

Показано резкое снижение титра культур во всех типах почвы в течение первого месяца, в дальнейшем, от 5 месяцев до года, отмечалось повышение титра у культур *B. thuringiensis* в черноземной почве, а у *B. sphaericus* во всех типах почв. Вирулентность культур сохранялась в течение всего срока наблюдений на высоком уровне.

Ուսումնասիրվել են նոր բակտերիալ մոճակասպան պրեպարատների համար երաշխավորված կոլտուրաների կենսունակության պահպանման աստիճանը և ինսեկտիցիդային ակտիվությունը երեք տիպի հողերում:

Ցույց է տրվել, որ բոլոր տիպի հողերում առաջին ամսվա ընթացքում հետազոտված կոլտուրաների տիտրը կտրուկ իջել է: Հետագայում հինգերորդ ամսից մինչև 1 տարվա ընթացքում նկատվել է *B. thuringiensis* կոլտուրաների տիտրի բարձրացում սնահողում, իսկ

B.sphaericus կուլտուրաների՝ բոլոր տիպի հողերում: Հետազոտման ամբողջ ժամանակահատվածում բոլոր շտամների վիրուլենտությունը պահպանվել է բարձր մակարդակի վրա:

Degree of preservation of viability and insecticide activity of active cultures, recommended as producers of new bacterial preparations against mosquitoes in three types of soils were studied. During the first month the titer of cultures in all types of soils quickly decreased. Further, after the 5th month till a year the increase of titer was observed for cultures of *B.thuringiensis* in *czernozyoms* and cultures of *B.sphaericus* in all types of soils. High level of cultures virulence was preserved during the whole period of experiments.

Ларвицидные бактерии - жизнеспособность - хранение

Сохранение спор и вегетативных клеток культур *Bacillus thuringiensis* и *Bacillus sphaericus*, в особенности их ларвицидных серотипов, в почве и других природных субстратах вызывало значительный научно-практический интерес [1,3,7-10].

Показано, что споры *B.thuringiensis subsp. kurstaki* - продуцента препарата "Динел" - в черноземных почвах находят благоприятные условия для размножения и процент приживаемости исключительно высок [3].

Споры *B.thuringiensis subsp. thuringiensis* и *subsp. morrisoni* в стерильной почве прорастали и их количество увеличивалось, а в нестерильной почве происходило снижение жизнеспособности клеток и спор [7].

Для штамма *B.thuringiensis subsp. aizawai* установлено, что в автоклавированной почве жизнеспособность спор снижалась медленнее, чем в стерильной [9,10].

Целью данной работы являлось изучение степени сохранения жизнеспособности и ларвицидной активности культур, рекомендуемых в качестве продуцентов новых ларвицидных препаратов.

Материал и методика. Объектом исследования служили штаммы *B.thuringiensis subsp. israelensis* (ВТi) ИИМИА 2477 и *B.sphaericus* (BS) серотипа H5 ИИМИА 2626, выделенные в Институте микробиологии НАН Армении и предлагаемые для производства новых ларвицидных препаратов [4,5].

Исследованы также типовые штаммы тех же видов из коллекции Республиканского Центра депонирования микробов (РЦМ): *B.thuringiensis subsp. israelensis* ИИМИА 1125 и *B.sphaericus* серотипа H5 ИИМИА 2630 [2].

Культуры выращивались на твердом рыбно-пептонном агаре (РПА) при 30° в течение 72 часов до полной споруляции. Затем культуры смывались стерильным физ.раствором, подсчитывался титр в камере Горяева и проверялась ларвицидная активность к личинкам второго возраста *Aedes aegypti*. Постановка опытов проводилась общепринятым методом [6].

Суспензии спор оставляли при комнатной температуре в течение трех месяцев при 25-28°. Спустя три месяца рассевом на РПА в чашках Петри подсчитывался титр спор и клеток, а также кристаллообразование. Из указанных суспензий проводили заражение почвы. Навески почвы по 25 г вносились в сосуды, причем каждый образец почвы использовался как в стерильном (стерилизация 121°, 30 минут), так и в нестерильном виде. В каждый сосуд вносились по 25 мл суспензий исследуемых штаммов. Сосуды хранились при комнатной температуре в течение года. Температура инкубации - в пределах 18-32°. В работе использовались образцы почвы, полученные из Института почвоведения РА, со следующими характеристиками. Торф, pH 5,0; чернозем карбонатный, Армавирский район, из-под озимой пшеницы, pH 7,5, гумус 4,5 %; горно-луговая дерновая почва, Гегамский хребет, альпийский луг, pH 5,0, гумус 16,8 %.

Результаты и обсуждение. Спустя 3 месяца во всех водных суспензиях титр культур как *B.thuringiensis*, так и *B.sphaericus* значительно снизился, однако

РЕПРОДУКЦИЯ ИНСЕКТИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ

жизнеспособность культур сохранилась, так же как и способность продуцировать энтомоцидные токсины (табл. 1).

Таблица 1. Сохранение жизнеспособности культур *B.thuringiensis* и *B.sphaericus* в воде.

№ штаммов по ИИМИА	Вид, разновидность	Титр спор в суспензии, млн.кл/мл		Процент спорообразования
		исходный	спустя 3 месяца	
1125	<i>B.thuringiensis</i> <i>subsp. israelensis</i> типовой штамм	26,8	0,52	90-100
2477	<i>B.thuringiensis</i> <i>subsp. israelensis</i> оригинальный штамм	28	0,79	90-100
2630	<i>B.sphaericus</i> H5 типовой штамм	32	0,001	50-90
2626	<i>B.sphaericus</i> H5 оригинальный штамм	34,8	0,1	50-90

При хранении в почве у культур вида *B.thuringiensis subsp. israelensis* в течение первого месяца титр резко снижается с 1340-1400 млн/г до соответственно 0,5-34 и 1,4-35,6 млн/г в разных типах почв, причем наименьшее снижение титра для обоих штаммов (ИИМИА 1125 и 2477) отмечалось при хранении в черноземе (табл.2).

Таблица 2. Сохранение жизнеспособности культур *B.thuringiensis* и *B.sphaericus* в почве.

№ штамма по ИИМИА	Субстрат		Титр спор (млн/г) спустя				
			исходный	1 мес.	2 мес.	5 мес.	12 мес.
<i>BTh</i> 1125	Т	стер.	1340	6,25	3	5,3	0,8
		не стер.		1,5	1,5	1,0	0,5
	ГЛ	стер.		34,1	6,1	4,6	>16
		не стер.		16,1	>19	4,5	>5
<i>BTh</i> 2477	Т	стер.	1400	0,8	5,7	1,9	3,6
		не стер.		0,5	4,4	0,4	3
	Ч	стер.		1,7	5	0,7	5,1
		не стер.		2,8	2,5	0,5	4,4
<i>BS</i> 2630	Ч	стер.	1600	> 40	>20	41	> 44
		не стер.		21,6	8,3	7,2	> 30
	ГЛ	стер.		35,6	1,2	0,8	4
		не стер.		1,4	1	0,7	3,1
<i>BS</i> 2626	Т	стер.	1740	4,5	1	0,8	0,4
		не стер.		3	0,8	7,6	> 20
	Ч	стер.		7,2	8,25	7,9	> 18
		не стер.		6	8,5	15	> 17,5
<i>BS</i> 2626	ГЛ	стер.	1740	33	8	1,9	5,4
		не стер.		3	5,4	0,5	4,5
	Т	стер.		7,5	1	1,1	> 15
		не стер.		2,55	2,5	0,2	> 20
Ч	стер.	25	6,7	8,3	> 42		
	не стер.	6,9	6,3	12,8	> 20		
ГЛ	стер.	22	0,5	0,3	1,1		
	не стер.	4,5	3,4	2,6	0,4		

* Условные обозначения: Т - торф, Ч - чернозем, ГЛ - горно-луговая почва.

Для всех типов почв в стерильных вариантах титр был выше, чем в нестерильных вариантах. Дальнейшее понижение титра во всех вариантах почв в течение последующего периода от 2 месяцев до года происходило более плавно. После 2 месяцев хранения для обоих штаммов отмечается значительное снижение титра в черноземной почве и повышение его в горно-луговой почве. Через 5 месяцев хранения для обоих штаммов снова отмечается повышение титра в черноземной почве, что, по-видимому, подтверждает данные болгарских авторов [3] о приживаемости

B.thuringiensis в черноземных почвах и размножении в них. Спустя год хранения в почве для оригинального штамма ИНМИА 2477 отмечаются более высокие титры по сравнению с эталонным штаммом ИНМИА 1125 во всех типах почвы, правда, следует отметить отчетливое возрастание титра в черноземе и горно-луговой почве.

Вирулентность обоих штаммов сохраняется спустя год во всех вариантах опыта.

Для культур вида *B.sphaericus*, как и в случае со штаммами *B.thuringiensis*, отмечается резкое падение титров обоих исследованных штаммов в течение первого месяца хранения с 1600-1740 млн спор/г до нескольких млн спор/г. В отличие от штаммов *B.thuringiensis*, для штаммов *B.sphaericus* отмечается довольно хорошая приживаемость в течение месяца, наряду с черноземом, в горно-луговой почве. Для обоих штаммов титр в стерильной почве в несколько раз выше, чем в нестерильной почве (табл. 2).

Через 2 месяца титры заметно снижаются в горно-луговой почве у обоих штаммов, но для коллекционного штамма ИНМИА 2630 отмечается его возрастание в черноземе. Спустя 5 месяцев повышается титр в черноземе у оригинального штамма ИНМИА 2626. Спустя год отмечается повышение титра у обоих штаммов во всех вариантах почв, что подтверждает хорошую приживаемость культур данного вида в почве. Вирулентность культур данного вида сохранялась в течение всего срока наблюдений на высоком уровне.

Выполнение данной работы частично финансировалось грантом ИНТАС 93-3512.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранова В.И. Автореф. канд. дисс., 1972.
2. Каталог культур микроорганизмов. Республиканский Центр депонирования микробов (РЦДМ), под ред. Африкян Э.Г., Хачатурян А.А., изд-во "Гитутюн" ИАН Армении. 260, Ереван, 1996.
3. Кузманова Й., Артинова Н. Почвозн. и агрохим. 19, 6, 91-97, 1984.
4. Меликсетян В.Ш., Карпов Э.Г., Чилингарян К.О., Африкян Э.Г., Кулькова Т.А., Алексеев А.П., Попов А.И., Григорянц О.Е., Вишникина М.И. А.С. СССР 1231873, 1986.
5. Меликсетян В.Ш., Кулькова Т.А., Чилингарян К.О., Африкян Э.Г., Алексеев А.П., Карпов Э.Г., Игнатъев В.И. А.С. СССР 1398120, 1987.
6. Орманян Ж.Х., Татевосян П.Е., Киносян М.А. Биолог. журн. Армении, 48, 1, 67-71, 1995.
7. Akiba Y. Appl. Entomol. and Zool., 21, 1, 76-80, 1986.
8. West A.W. Soil. Biol. and Biochem., 16, 4, 357-360, 1984.
9. West A.W., Burges H.D., Wyborn C.H. J. Invertebr. Pathol., 44, 2, 121-127, 1984.
10. West A.W., Burges H.D., White R.J., Wyborn C.H. J. Invertebr. Pathol., 44, 2, 128-133, 1984.

Поступила 12. XII 1995